

TEORÍA Y APLICACIONES DE LA QUÍMICA ANALÍTICA EN MÉXICO

Número 1, enero-diciembre 2023

TEORÍA Y APLICACIONES DE LA QUÍMICA ANALÍTICA EN MÉXICO, Número 1, enero-diciembre 2023, es una publicación anual editada por la Asociación Mexicana de Química Analítica A.C. (AMQA), San Francisco 1626, Despacho 808, Colonia del Valle, Benito Juárez, 03100 Ciudad de México, teléfono: 8186580264, <https://taqam.amqa.org.mx/> y editortaqam@amqa.org.mx. Editor responsable: Marsela Garza Tapia. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2024-052812125300-102, ISSN: 3061-7758, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Asociación Mexicana de Química Analítica, San Francisco 1626, Despacho 808, Colonia del Valle, Benito Juárez, 03100 Ciudad de México, Gian Arturo Álvarez Romero, fecha de última modificación: 19 de septiembre de 2023.

El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores y no refleja el punto de vista de los árbitros, del Editor o de la AMQA. Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

Editorial

Asociación Mexicana de Química Analítica, A.C.

Editores

Marsela Garza Tapia

Giaan Arturo Álvarez Romero

ISSN: 3061-7758

Revista de difusión de la ciencia

Comité editorial

Miembro	Universidad
Dr. Alberto Rojas Hernández	Universidad Autónoma Metropolitana
Dr. Carlos Andrés Galán Vidal	Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Dr. Carlos Mario Morales Bautista	Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Dr. Eugenio Octavio Reyes Salas	Universidad Nacional Autónoma de México
Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero	Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Dr. Jorge Martínez Guerra	Universidad Autónoma Metropolitana
Dr. José Antonio Reyes Aguilera	Universidad de Guanajuato
Dr. José Antonio Rodríguez Ávila	Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo
Dr. Ricardo Navarro Mendoza	Universidad de Guanajuato
Dr. Ulrich Briones Guerash Silva	Universidad Nacional Autónoma de México
Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo	Universidad Autónoma De Baja California
Dra. Iliana Margarita de la Garza Rodríguez	Universidad Autónoma de Coahuila
Dra. María del Pilar González Muñoz	Universidad De Guanajuato
Dra. María Gabriela Vargas Martínez	Universidad Nacional Autónoma De México
Dra. Minerva Monroy Barreto	Universidad Nacional Autónoma De México
Dra. Norma Rodríguez Laguna	Universidad Nacional Autónoma de México
M. en C. Alberto Colín Segundo	Universidad Nacional Autónoma De México
M. en C. Gabriel Palacios Huerta	Universidad de Guadalajara
M. en C. Silvia Citlalli Gama González	Universidad Nacional Autónoma de México

Prefacio

Es un honor presentar a ustedes este compendio de resúmenes en extenso que representa el relanzamiento de la revista “Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México”, en la que una vez más exploramos las fronteras de esta ciencia en nuestro país. La Química Analítica es una disciplina esencial en el mundo de la investigación científica y en la industria, y en México es innegable que contamos con una comunidad, tanto profesional como estudiantil, comprometida con su avance y evolución.

En esta edición, hemos logrado recabar una amplia variedad de investigaciones, donde se refleja el estado actual de la Química Analítica en nuestro país. Los autores abordan una amplia gama de temas que son fundamentales para comprender y resolver los desafíos científicos y tecnológicos actuales.

A través de esta revista, esperamos fomentar la comunicación y la colaboración entre los profesionales de esta disciplina para la resolución de problemas cada vez más complejos, y que muchas veces impactan en la mejora de los problemas a los que se enfrenta la sociedad en general.

Agradecemos sinceramente a todos los autores, revisores y colaboradores que hicieron posible esta revista, su dedicación y experiencia son fundamentales para mantener los estándares de excelencia que caracterizan a la AMQA.

Esperamos que disfruten de esta edición y que encuentren inspiración para sus propias investigaciones y aplicaciones prácticas; juntos continuaremos avanzando en la frontera del conocimiento en el apasionante mundo de la Química Analítica.

Índice

01	ALIMENTOS	11
	EVALUACIÓN DE CATÁLISIS BÁSICA HETEROGENEA EN LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN ACEITE DE OLIVA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES	12
	EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE REACCIÓN DE L-CISTEÍNA Y L-GLUTATIÓIN CON ACRILAMIDA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS	18
	CARACTERIZACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS PRESENTES EN DOS VARIEDADES DE GARBANZO CULTIVADAS EN MÉXICO POR HPLC	24
02	APLICACIONES DIVERSAS	31
	DETERMINACIÓN DE LA DEGRADACIÓN RADIOLÍTICA DEL ÁCIDO 4-HIDROXIBENZOICO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS.....	32
	APLICACIÓN DE ADSORBENTES BASADOS EN CARBÓN ACTIVADO Y POLIESTIRENO RECICLADO PARA LA DETERMINACIÓN DE TARTRAZINA.....	39
	RELEVANCIA DEL POTENCIAL ZETA EN LA OPTIMIZACIÓN DE FORMULACIONES DE TOALLITAS DESINFECTANTES COMERCIALES.....	45
	BIOSENSOR PARA EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTES BASADO EN LA INMOVILIZACIÓN DE LACASA EN UNA RED DE B-CD.....	51
	DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN LA SEPARACIÓN DE 1- NAFTOL Y 2- NAFTOL POR ELECTROFORESIS CAPILAR.....	57
	BIOSENSOR MONOENZIMÁTICO DE TRIGLICÉRIDOS BASADO EN UN SENSOR VOLTAMPEROMÉTRICO DE PH.....	63
	ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE MICROMUESTRAS DEL PANEL MURAL PAISAJE ABSTRACTO DE RAFAEL CORONEL.....	69
	CUANTIFICACIÓN DE BISFENOL A MEDIANTE UN ELECTRODO MODIFICADO DE CARBÓN VÍTREO CON ÓXIDO DE GRAFENO, ÓXIDOS METÁLICOS Y B-CICLODEXTRINA ELECTROPOLIMERIZADA.....	76
	FORMACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE MICROGOTAS EN DISPOSITIVOS DE MICROFLUÍDICA PARA LA GENERACIÓN DE BIORREACTORES.....	83
	RETO DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE MICROMUESTRAS DE PINTURA MURAL DE DAVID ALFARO SIQUEIROS.....	90
03	EDUCACIÓN	97
	SIMULADOR DE FLUORESCENCIA RECURSO DE APOYO PARA EL APRENDIZAJE.....	98
	RETOS ACTUALES Y PERSPECTIVAS EN LA ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA ANALÍTICA.....	104
	ESTRATEGIA DE MEJORA DE LA INFRAESTRUCTURA EN UN COLEGIO DE BACHILLERATO TECNOLÓGICO PARA LA ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA ANALÍTICA A NIVEL MEDIO SUPERIOR.....	109
	TUTORÍA DE RECUPERACIÓN (REMEDIAL) PARA ALUMNOS DE MÉTODOS CUANTITATIVOS APLICADOS EN LA UPIBI-IPN.....	116

04	ESTUDIOS FUNDAMENTALES 121	121
	ESTUDIO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE UV DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE GUANINA CON B-CICLODEXTRINA EN MEDIO ACUOSO.....	122
	INTERACCIÓN ENTRE EL IÓN VANADILIO (VO^{2+}) Y $H_2PO_4^-$	128
	EFFECTO DE LA OXIDACIÓN DE P-AMINOFENOL SOBRE ADENINA, VIA ELECTROQUÍMICA.....	133
	METFORMINA: DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE PKA POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV.....	140
	DETECCIÓN DE GLUTATIÓN BASADA EN UN SENSOR ELECTROQUÍMICO.....	146
	CARACTERIZACIÓN DEL NUEVO MONÓMERO 2-(2-(((4-HIDROXIFENIL)CARBAMOIL)OXI)ETOXI)ETILO.....	151
	OBTENCIÓN EXPERIMENTAL DE LA ENTALPÍA ESTÁNDAR DE FORMACIÓN DEL ÁCIDO TRIMELÍTICO Y SU PREDICCIÓN MEDIANTE REGRESIÓN CON SOPORTE VECTORIAL.....	156
	EVIDENCIA EXPERIMENTAL DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DE LA NEOCUPROÍNA EN MEDIO ACUOSO Y SU REFINAMIENTO MEDIANTE EL PROGRAMA COMPUTACIONAL SQUAD.....	161
	MEDIO AMBIENTE 166	166
05	APLICACIÓN DE POLIESTIRENO RECICLADO EN DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN PUNTA DE PIPETA SEGUIDO DE HPLC-FLD.....	166
	MODIFICACIÓN DEL PERFIL METABÓLICO DE HOJAS DE LACTUCA SATIVA L. DEBIDO A LA PRESENCIA DE BISFENOL A EN EL MEDIO HIDROPÓNICO MEDIANTE UAE-GC-MS.....	174
	RECUPERACIÓN DE NAPROXENO PROVENIENTE DE TABLETAS MEDIANTE SISTEMAS ACUOSOS BIFÁSICOS.....	181
	REMOCIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA NATURAL UTILIZANDO DOS ADSORBENTES: CÁSCARA DE NUEZ Y FERRITA DE NÍQUEL.....	189
	CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CR (III) SOBRE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON B-CICLODEXTRIN.....	195
	FRACCIONES DE LOS HIDROCARBUROS EN DERRAMES AÑEJOS EN SUELOS: CONSIDERACIONES EN LAS LINEAS BASES AMBIENTALES.....	200
	SEPARACIÓN DE FTALATOS Y BISFENOLES POR HPLC PARA SU POSIBLE CUANTIFICACIÓN EN MUESTRAS DE AGUA PURIFICADA.....	206
	DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DITIOCARBAMATOS (DTC) POR FIA.....	211
	MATERIALES 217	217
06	DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE AS(III) EN AGUA POTABLE MEDIANTE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON POLÍMEROS DE IMPRESIÓN DE IONES A PARTIR DE MAA / 2-MT.....	218

	PREPARACIÓN DE ELECTRODOS DE CARBONO VÍTREO MODIFICADOS CON ÓXIDO DE IRIDIO Y SU APLICACIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE INSULINA.....	225
	EXTRACCIÓN DE PLOMO EMPLEANDO DICARBOXILATO DE CELULOSA NANOCRISTALINA ENTRECruzADO CON CALCIO.....	232
	EFFECTO DE LA ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES EN LA RECUPERACIÓN DE AU(III) CON LÍQUIDOS IÓNICOS ENCAPSULADOS.....	239
	SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL MONÓMERO ALIL 4 -HIDROXIFENILCARBAMATO (A4HPHC)	246
	DESARROLLO DE UN HIDROGEL DE ACRILAMIDA FUNCIONALIZADO CON ALIQUAT 336 PARA LA ELIMINACIÓN DE CADMIO EN MUESTRAS ACUOSAS.....	252
	MACHINE LEARNING APLICADO A LA TERMODINÁMICA: ENTALPÍA DE FORMACIÓN, ENTALPÍA DE COMBUSTIÓN Y ENTALPÍA DE SUBLIMACIÓN.....	259
	MACHINE LEARNING APLICADO A LA PREDICCIÓN DE ENTALPÍAS DE COMBUSTIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS INVOLUCRADOS EN EL COMPOSTAJE.....	265
07	MEDICINA, FARMACIA Y SALUD	271
	ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE TETRACICLINA EN MEDIO ACUOSO.....	272
	MÉTODO PARA LA DETECCIÓN DE GASES ENDÓGENOS EN EL ALIENTO HUMANO PRODUCIDOS POR HELICOBACTER PYLORI, MEDIANTE MEFS-CG-EM.....	279
	RED NEURONAL ARTIFICIAL PARA LA CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE ÁCIDO ÚRICO EN PRESENCIA DE ÁCIDO ASCÓRBICO, PARACETAMOL Y ÁCIDO OXÁLICO.....	284
	METABOLÓMICA BASADA EN RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR APLICADA AL SECTOR SALUD.....	294
08	JÓVENES INVESTIGADORES (ESTUDIANTILES)	301
	EXTRACTOS VEGETALES UNA ALTERNATIVA LIMPIA PARA LA RECUPERACIÓN DE PLATA METÁLICA DE DESECHOS DE LA INDUSTRIA FOTOGRAFICA.....	302
	ESTUDIO TEÓRICO DEL ORDEN DE DESPROTONACIÓN DE TAUTÓMEROS DEL ÁCIDO-5-AMINOLEVULÍNICO.....	309
	OBTENCIÓN DE NANOCRISTALES DE CELULOSA A PARTIR DE DESECHOS TEXTILES.....	315
	SÍNTESIS CONTROLADA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE TITANIO PARA APLICACIÓN COMO SOPORTE DE ELECTROCATALIZADORES.....	322
	RECUPERACIÓN DE CLORFENIRAMINA EMPLEANDO COMPONENTES NATURALES MEDIANTE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.....	328
	QUÍMICA ANALÍTICA COMO HERRAMIENTA DE CONTROL DE CALIDAD Y DETERMINACIÓN DEL FPS DE UNA EMULSIÓN DÉRMICA ELABORADA CON EXTRACTOS DE CHIMALACATE (VIGUIERA DENTATA) Y ACEITE ESENCIAL DE ACEITILLO (BURSERA SCHLECHTENDALII)	334
	DISEÑO, PREPARACIÓN Y CONTROL DE UNA FAMILIA DE DISOLUCIONES AMORTIGUADORAS DEL TIPO BRITTON-ROBINSON PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS ELECTROQUÍMICOS.	342
	SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ADITIVOS ALIMENTARIOS MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR.....	350

OXIDACIÓN ELECTROCATALÍTICA DE GLICEROL EMPLEANDO CATALIZADORES MONO Y BIMETÁLICOS DE NANOPARTÍCULAS DE CU, AU Y CUAU SOPORTADOS EN NANOTUBOS DE CARBONO Y ÓXIDO DE CERIO (IV).....	357
RESIDUOS DE EUPHORBIA ANTISYPHILITICA ZUCC COMO BIOADSORBENTE PARA LA REMOCIÓN DE CD, CR, NI Y PB PRESENTE EN AGUA.....	364
DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE SEMILLAS DE CACAO MEXICANO.....	371
REMOCIÓN DE METALES PESADOS PRESENTES EN AGUAS NATURALES UTILIZANDO CATÁFILAS DE ALLIUM SATIVUM L COMO ADSORBENTE.....	379
DETERMINACIÓN DE GLICEROL EN BIODIESEL MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR.....	386
PROCESOS QUÍMICO ANALÍTICOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE HIDROMIEL.....	393
DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD EN MUESTRAS DE MIELES MEXICANAS Y SU RELACIÓN CON EL PORCENTAJE DE CENIZAS.....	400
ACIDEZ TITULABLE EN JUGO DE GUAYABA Y NARANJA.....	408
COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SULFATOS EN MUESTRAS DE AGUA NATURALES.....	414
CURVA TEÓRICA DE VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DEL CITRATO DE OXOLAMINA EN SOLUCIÓN ACUOSA MEDIANTE UN MÉTODO ROBUSTO DE CÁLCULO PARA AJUSTAR LA CURVA EXPERIMENTAL.....	420
PREDICCIÓN Y AJUSTE DE LA CURVA DE VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE PIPERAZINA EN SOLUCIÓN ACUOSA MEDIANTE UN MÉTODO ROBUSTO DE CÁLCULO.....	427
DETERMINACIÓN DE LOS CONTAMINANTES PRESENTES EN LOS RCD ARRASTRADOS POR EL AGUA DE LLUVIA QUE ALTERAN LA COMPOSICIÓN NATURAL DEL AGUA.....	433
CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN DE UV-VIS DE DIMETRIDAZOL EN MEDIO ACUOSO.....	438
ESTUDIO ELECTROQUÍMICO SOBRE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ÁCIDO CARMÍNICO CON COBRE (II)	444
EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE CANNABIDIOL EN MUESTRAS COMERCIALES DE SNACKS PARA MASCOTAS MEDIANTE DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS Y CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS.....	449
DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS COMO UNA OPCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA VERDE PARA LA EXTRACCIÓN DE BISFENOLES EN TÉ Y SU ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS.	455
EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE UN REMEDIO HERBOLARIO PARA LA DIABETES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	461
DETERMINACIÓN DE CBD EN REFRESCOS MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA SEGUIDA DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN.....	468
DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE LA CONSTANTE DE FORMACIÓN DEL COMPLEJO GLIBENCLAMIDA CON HPBCICLODEXTRINA.....	473

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO SISTEMAS EMULSIONADOS Y EXTRACTOS DE CHAYA MAYA COMO AGENTE REDUCTORA.....	478
DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE MELATONINA.....	485
TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS CON HIERRO POR MEDIOS ELECTROQUÍMICOS.....	490
ESTRATEGIA DIDÁCTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COLORANTES GRADO ALIMENTICIO EN CAMELOS.....	497
ELABORACIÓN, APLICACIÓN Y EVALUACIÓN DE MATERIAL DE APRENDIZAJE ACTIVO EN LA ENSEÑANZA EXPERIMENTAL DE TÉCNICAS INSTRUMENTALES.....	503
DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NITRATOS EN AGUA DE POZO.....	510
EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE FLORES COMO INDICADORES ÁCIDO-BASE.....	513
PERFIL METABOLÓMICO DE LACTARIUS ÍNDIGO USANDO RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	520
MANEJO EFECTIVO DE LA FERTILIZACIÓN CON N PARA MEJORAR LA NUTRICIÓN EN CULTIVOS DE PLANTAS DE VERDOLAGA (PORTULACA OLERACEA L.): UN ENFOQUE DE METABOLÓMICA BASADO EN RMN.....	526
COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS EN UN EQUIPO FOTOMÉTRICO CONSTRUIDO EN EL LABORATORIO CON ESPECTROFOTÓMETROS COMERCIALES EN LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALMIDÓN EN DIFERENTES MUESTRAS.....	532
ESTUDIO METABOLÓMICO BASADO EN RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE JUGO DE LIMÓN.....	539
ENSAYO PRELIMINAR PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE TIOCIANATO EN AGUA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS.....	546
CARACTERIZACIÓN POR ATR-FTIR Y RMN DE PIGMENTOS DE USO ARTISTICO.....	550
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE PROCESOS ELECTROQUÍMICOS.....	556
CIENCIA EN CASA; FABRICACIÓN DE UNA COLUMNA CROMATOGRÁFICA PARA SEPARAR PIGMENTOS NATURALES.....	561
ANÁLISIS NUTRIMENTAL DE UN ALIMENTO FUNCIONAL A BASE DE BAGAZO CERVECERO ADICIONADO DE NUTRACÉUTICOS.....	568
DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ELECTROANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA B1 BASADA EN UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOPARTÍCULAS DE CUO.....	576
DETERMINACION DE Cr, Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Na Y K POR MP-AES EN LEVADURAS ENRIQUECIDAS CON Cr (III).....	582
CARACTERIZACION DE LEVADURAS ENRIQUECIDAS CON Cr (III).....	589
DETERMINACIÓN DEL ALUMINIO EN LIXIVIADOS EN RELINE DE ENVASES TETRA PAK USADOS.....	595
ESTUDIO DE LA INCLUSIÓN DE DIFLUNISAL EN A, B Y Γ CICLODEXTRINA.....	599
UN NUEVO MÉTODO DE ANÁLISIS DE PARABENOS POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA Y CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA.....	605
ELECTRORECUPERACIÓN DE LANTANO A PARTIR DE LA LIXIVIACIÓN DE LAS BATERÍAS DE NI-HM USADAS MEDIANTE DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDO.....	610

OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE DISOLVENTES EMPLEADOS EN LA MICROEXTRACCIÓN LIQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA EL ANÁLISIS DE BENZOFENONAS EN MUESTRAS DE AGUA POTABLE.....	616
SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO USANDO EXTRACTO DE MALVA COMO AGENTE REDUCTOR.....	622
DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS APLICADOS A LA EXTRACCIÓN DE RODAMINA B EN PRODUCTOS COSMÉTICOS Y SU ANÁLISIS POR ESPECTROFOTOMETRÍA VISIBLE Y CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS.....	629
OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS DE LIMONENO PRESENTE EN ACEITE ESENCIAL DEL FLAVEDO DE CÁSCARA DE NARANJA.....	634
REMOCIÓN DE Cu^{2+} EN AGUAS PURIFICADAS PROBENIENTES DEL POZO LEANDRO VALLE.....	641
APLICACIÓN DE UN MÉTODO DE MIL'S-DLLME PARA LA DETERMINACIÓN DE PARABENOS EN MUESTRAS DE CUIDADO PERSONAL.....	646
DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA EXTRACCIÓN DE AS(V) POR SISTEMAS ACUOSOS DE DOS FASES FORMADOS POR POLÍMERO/SAL.....	652

01

Alimentos



EVALUACIÓN DE CATÁLISIS BÁSICA HETEROGENEA EN LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN ACEITE DE OLIVA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES

Enoch Olvera-Ureña^a, J. Andrés Tavizón-Pozos^b, José A. Rodríguez^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2202, *e-mail: josear@uaeh.edu.mx

^b Investigadores por México de CONAHCYT - Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2202

Introducción

Los lípidos son un grupo de compuestos que incluyen grasas, aceites y esteroides. Se clasifican en lípidos simples que incluyen grasas y ceras, triglicéridos y ácidos grasos libres. Los lípidos complejos se refieren a fosfolípidos, glucolípidos, sulfolípidos y aminolípidos. Los ácidos grasos comúnmente forman ésteres con el glicerol, dando lugar a los triglicéridos que son los componentes principales de los lípidos. Existe una diversidad de ácidos grasos que varían en la longitud de cadena, grado de insaturación, geometría y posición de los enlaces dobles. Pueden clasificarse como saturados cuando sólo están presentes enlaces sencillos de carbono-carbono, monoinsaturados cuando presentan un enlace doble carbono-carbono, y poliinsaturados cuando presentan más de un enlace doble carbono-carbono. Por su parte, los triglicéridos se estructuran por cadenas de carbono que poseen en los extremos de la cadena alifática un grupo metilo y un grupo carboxilo unido al glicerol. Por lo tanto, es importante caracterizar y determinar los ácidos grasos unidos al glicerol, el cual se denomina perfil de ácidos grasos y es característico del origen de los lípidos [1].

El perfil de ácidos grasos se determina principalmente por cromatografía de gases debido a su alta sensibilidad y reproducibilidad. Los métodos cromatográficos actuales equipados con columnas capilares de alta resolución permiten su aplicación a casi todo tipo de muestras. Sin embargo, dado que los triglicéridos son compuestos no volátiles, no pueden ser analizados de una manera directa. En consecuencia, es necesario derivatizar los analitos para que sean adecuados para el análisis mediante esta técnica. La reacción de transesterificación de triglicéridos es el proceso de derivatización comúnmente empleado en el análisis por cromatografía de gases. Esta reacción se basa en la formación de ésteres de cadena corta a partir de un triglicérido con un alcohol, cuando se utiliza metanol se forman ésteres metílicos de ácidos grasos que son la forma más aplicada en el análisis del perfil de ácidos grasos. Para que la reacción de derivatización proceda, se requiere usar un catalizador homogéneo ácido o básico. El trifluoruro de boro es el catalizador ácido más empleado en la formación de ésteres metílicos. Sin embargo, se ha descrito que tiene como desventajas la formación de isómeros en los sistemas conjugados, además de ser tóxico y corrosivo [1].

A pesar de presentar rendimientos altos, el uso de catalizadores homogéneos supone un problema para su reutilización ya que son difíciles de recuperar para ser usados en más de un proceso. Para evitar esos problemas, se ha propuesto el uso de catalizadores heterogéneos básicos, basados en óxido de calcio (CaO), en la obtención de ésteres metílicos mediante transesterificación.

El CaO es un buen candidato como catalizador heterogéneo ya que es abundante, su producción es económica y presenta una reactividad aceptable en la reacción de transesterificación de triglicéridos para formar biodiesel. El CaO puede obtenerse de piedra caliza y de materiales que son considerados desperdicios como cáscara de huevo, huesos, residuos de la industria de la construcción, entre otros [2]. El presente trabajo propone evaluar la factibilidad del uso de CaO en la obtención de ésteres metílicos para la determinación del perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gases, empleando aceite de oliva como muestra conocida.

Parte Experimental

El catalizador de CaO se sintetizó a partir de cal comercial, la cual se calcinó a 800 °C por 4 horas para favorecer la formación del óxido. Considerando la reacción de transesterificación, se evaluaron relaciones molares MeOH/Aceite de oliva para garantizar la formación de los productos durante la síntesis para el análisis del perfil de ácidos grasos en aceite de oliva. Se realizaron tres experimentos bajo las siguientes condiciones: temperatura de 70 °C, 0.07 g de catalizador, 1.5 h de reacción y tres diferentes cantidades de metanol en relación molar metanol/aceite (10.0, 12.5 y 15.0). Las reacciones de transesterificación de aceite de oliva se realizaron en una ampollita de vidrio de 5 mL a la que se le adicionó catalizador, metanol y aceite. La ampollita se sella y se introduce a un horno precalentado a 70 °C durante el tiempo antes mencionado. Concluida la reacción, se observa la presencia de 3 fases: sólida (inferior), fase oleosa (intermedia) y fase polar (superior). Con una micropipeta se aspiran 40 µL de la fase oleosa y se mezcla con 400 µL de una solución de naftaleno (100 mg L⁻¹, en hexano). La mezcla se inyecta (0.5 µL, sin división de flujo) en un cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama (FID, Agilent Technologies 6890N Network GC System) empleando una columna SGE-BPX70 (30 mx0.32 mm, 70 % de cianopropil polisilfenileno siloxano). La rampa de temperatura de separación es de 5 °C/min desde 50 °C hasta 220 °C teniendo un tiempo de análisis de 44 min.

La evaluación de la exactitud se realizó comparando los resultados obtenidos utilizando BF₃ como catalizador [4]. Se pesan 0.3 g de aceite, se agregan 6 mL de metóxido de sodio y se hace reaccionar a reflujo por 10 minutos a 120 °C. Al finalizar el tiempo se agregan 6 mL de BF₃ y se mantiene a reflujo por 15 minutos, al terminar la reacción, se realiza una extracción con 6.0 mL de hexano, analizando la fase de hexano en el cromatógrafo de gases a las mismas condiciones instrumentales.

Resultados y Discusión

Las cantidades adicionadas de metanol se encuentran en exceso (relación molar MEOH/aceite de 10.0) porque se ha descrito que el uso en exceso de metanol promueve el desplazamiento de la reacción hacia la formación de ésteres metílicos [2]. Se realizaron los análisis de perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases correspondientes a los tres experimentos a distintas relaciones molares MeOH/aceite, 10.0/1.0, 12.5/1.0 y 15.0/1.0.

Los cromatogramas obtenidos (Figura 1) muestran las señales asignadas a los cinco ácidos grasos predominantes en aceite de oliva: ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoleico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1) y ácido linoleico (C18:2). Los resultados son congruentes con la composición del aceite de oliva descrito por el codex alimentarius [5]. Utilizando la relación de las señales del C18:1/Estándar interno (Figura 2), se puede observar que la relación de señales disminuye conforme aumenta la relación de reactivos, se ha descrito que, al adicionar un exceso de metanol con una relación molar MeOH/aceite mayor a 12.0, el equilibrio se desplaza hacia los reactivos. En reacciones de síntesis de biodiesel se ha descrito que el valor adecuado de la relación molar MeOH/Aceite está en alrededor de 12.0 [3].

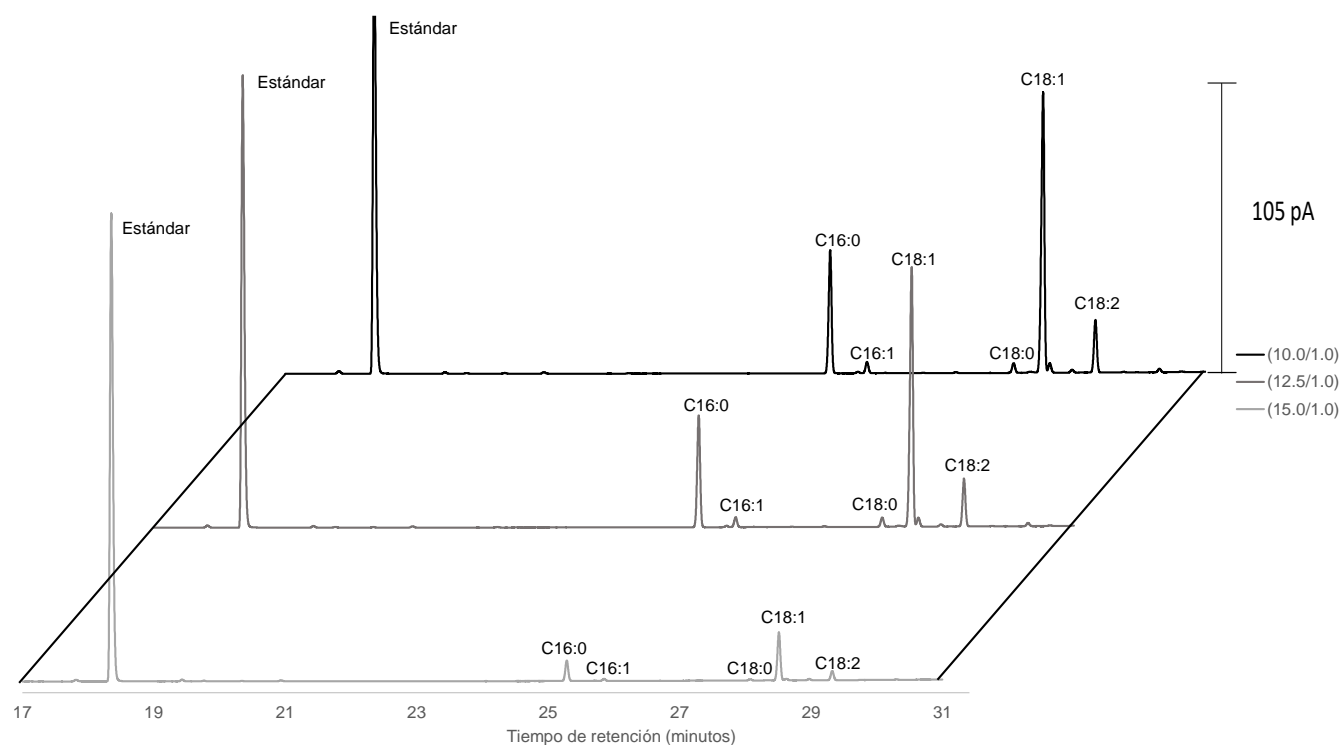


Figura 1. Cromatogramas de los experimentos de transesterificación de aceite de oliva a diferentes relaciones molares MeOH/Aceite.

Considerando que el perfil de ácidos grasos se obtiene mediante sumatoria de áreas, se determinó el perfil en las tres relaciones mencionadas empleando el catalizador de CaO, y la metodología oficial (BF₃/MeOH) [4], los resultados se presentan en la Tabla 1. El análisis de varianza del contenido de ácidos grasos no presenta diferencia significativa entre las tres relaciones ($p > 0.05$), adicionalmente al compararse los resultados con la metodología oficial tampoco existen diferencias significativas ($p > 0.05$).

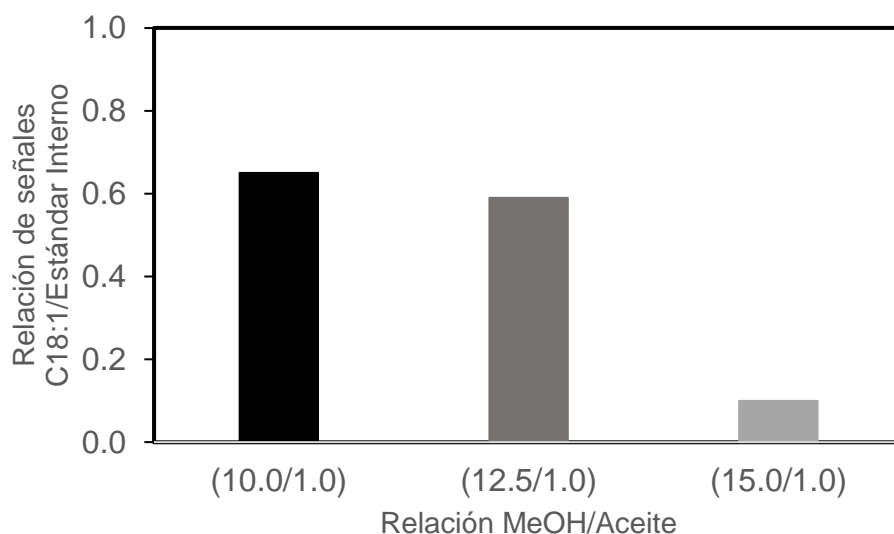


Figura 2. Relación de señales C18:1/Estándar Interno obtenidas empleando CaO como catalizador y variando la relación molar MeOH/aceite.

Tabla 1. Proporciones obtenidas de ésteres metílicos a las relaciones molares de 10.0/1.0, 12.5/1.0, 15.0/1.0, BF₃.

Ácidos grasos	10.0/1.0	12.5/1.0	15/1.0	BF ₃ /MeOH
C16:0	24.9	24.9	25.0	25.5
C16:1	2.3	2.3	2.6	1.4
C18:0	2.1	2.2	1.9	2.7
C18:1	59.9	60.1	59.3	61.0
C18:2	10.7	10.5	11.3	9.5

Con la finalidad de evaluar la vida útil del catalizador heterogéneo propuesto, se determinó el número de ciclos que puede utilizarse. El catalizador una vez obtenido se lava con hexano y se seca a 100°C, bajo estas condiciones se puede utilizar para tres reacciones. Con la finalidad de identificar los reactivos involucrados en la transesterificación, se realizó el análisis de Difracción de Rayos X de polvos del catalizador antes y después de ser utilizado. La Figura 2 muestra que el catalizador original (Fig. 3A) es una mezcla de Ca(OH)₂ y CaO mientras que en el catalizador usado

(Fig. 3B) se observa un decremento de las señales de CaO, lo que indica que la fase activa es el CaO.

Conclusiones

El catalizador de CaO sintetizado a partir de cal presentó resultados favorables en la obtención de ésteres metílicos a partir de aceite de oliva para el análisis del perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gases. Sin embargo, tras el uso en varios ciclos, el catalizador requiere ser recalcinado, ya que el aumento de la formación de Ca(OH)_2 disminuye su actividad.

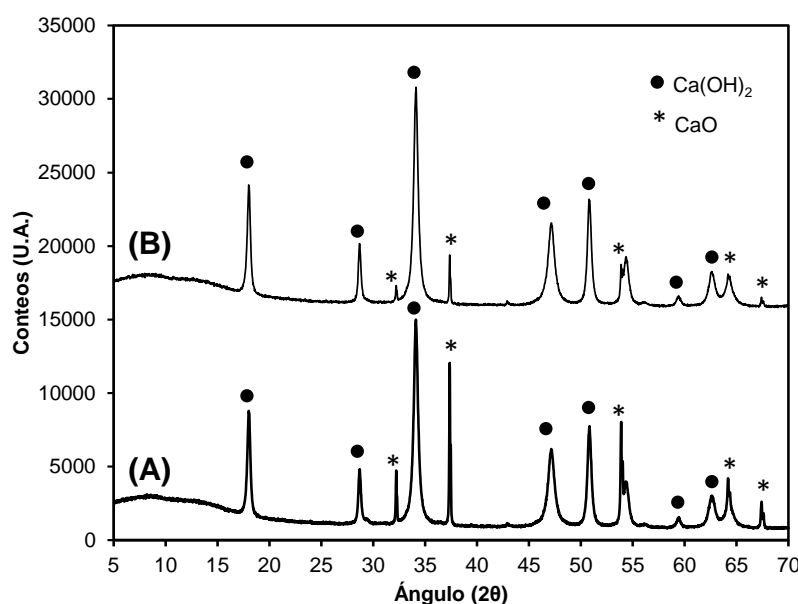


Figura 3. Difracción de rayos X del catalizador de CaO (A) sin utilizar y (B) con un ciclo de uso.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo (número: 821934) brindado para la realización del presente proyecto.

Referencias

- [1] Chiu, H. H., & Kuo, C. H. Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28, 60-73 (2020).
- [2] Kouzu, M., Kasuno, T., Tajika, M., Sugimoto, Y., Yamanaka, S., & Hidaka, J. Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and its application to biodiesel production. *Fuel*, 87, 2798-2806 (2008).

- [3] Kouzu, M., Fujimori, A., Suzuki, T., Koshi, K., Industrial feasibility of powdery CaO catalyst for production of biodiesel. Fuel Processing Technology. (2017).
- [4] International Standard. Animal and vegetable fats and oils-Preparation of methyl esters of fatty acids. ISO 5509-2000. (2000).
- [5] Organización Mundial de la Salud. Norma para los aceites de oliva y aceites de orujo de oliva. Codex Alimentarius. (1981).

EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE REACCIÓN DE L-CISTEÍNA Y L-GLUTATIÓN CON ACRILAMIDA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.

Sandra Ramírez Montes, Luis Ángel Zárate Hernández, Eva María Santos López, Julián Cruz Borbolla, José Antonio Rodríguez Ávila*

Área Académica de Química. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5. Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 2202, e-mail: josear@uaeh.edu.mx.

Introducción

La acrilamida ($H_2C=CHCONH_2$) es un compuesto volátil (amida insaturada) que se forma durante el proceso térmico de alimentos como galletas, pan, cereales, café, cacao y papas fritas [1]. Existen dos rutas de reacción para la formación de la acrilamida, las reacciones de Maillard y a través de la acroleína. Las reacciones de Maillard involucran a un aminoácido (comúnmente asparagina) y azúcares reductores que por la eliminación de agua del azúcar-proteína conjugado se forma la base de Schiff. El producto descarboxilado de esta base genera a la acrilamida mediante la eliminación de la imina o después de la hidrolización. El otro precursor de acrilamida es la acroleína que se forma en el calentamiento de aceites comestibles sobre su punto de humo. A esta temperatura, el glicerol se degrada dando lugar a la acroleína. La acroleína al oxidarse forma ácido acrílico y produce acrilamida en presencia de asparagina [2].

La acrilamida tiene efectos citotóxicos, carcinogénicos y mutagénicos. En las células, es metabolizada por la conjugación con glutatión por tres mecanismos diferentes: (1) no enzimática, (2) enzimática (glutatión-S-transferasa) y (3) reacción de epoxidación mediante el citocromo P-450 CYP2E1. El metabolito de la reacción es glicidamida que en contraste con la acrilamida eleva la estabilidad de la formación de aductos con el ADN induciendo carcinogénesis [1].

Debido a los posibles efectos adversos a la salud se han desarrollado diversas estrategias para la mitigación de acrilamida, las cuales incluyen la selección de ingredientes, almacenamiento y temperatura de proceso [3]. La acrilamida puede estar involucrada en diferentes reacciones: adiciones nucleofílicas, Diels-Alder y radicales libres debido a la reactividad del doble enlace vinílico. El ataque nucleofílico con tioles ($R-SH$) y aminas ($R-NH_2$) en el carbono electrofílico del vinilo de la acrilamida forma productos secundarios que disminuyen la concentración de acrilamida libre. Cuando la reacción de adición conjugada es catalizada por un nucleófilo fuerte se genera una base fuerte, produciendo el enolato zwitteriónico, que es el intermediario responsable de la desprotonación del nucleófilo [4]. Por lo que, la formación de aductos mediante la reacción de acrilamida y tioles (ej. glutatión, cisteína y derivados) puede ser una estrategia para mitigar a la acrilamida [5]. El objetivo de este trabajo es estudiar la cinética de la reacción de moléculas modelo (L-cisteína y L-glutatión) y acrilamida para comprender el mecanismo de reacción en la mitigación de acrilamida.

Parte Experimental

Reactivos

L-cisteína (L-Cys), L-glutati6n (L-GSH), 6cido 5,5'-ditiobis-(2-nitro-benzoico) (DTNB), acrilamida (ACR) y fosfato de sodio monob6sico monohidratado se adquirieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). NaOH se adquiri6 de Meyer (Ciudad de M6xico, M6xico). Agua desionizada (sistema Milli-Q) con una resistencia de 18.2 M Ω cm (Millipore Bedford, MA, EUA).

Estudio cin6tico

La evaluaci6n consisti6 en dos reacciones diferentes: L-Cys (6.4x10⁻⁴ M, 25.0 mL) y L-GSH (6.4x10⁻⁴ M, 25.0 mL) con ACR (1.054x10⁻⁴ M, 25.0 mL), todas las soluciones se prepararon en una soluci6n amortiguadora de fosfatos (PBS, 60.0 mM, pH 7.3). Las reacciones se realizaron a 70.0, 80.0 y 90.0 $^{\circ}$ C en un sistema de reflujo durante 60 min, tomando al6cuotas de 0.1 mL cada 10 minutos. La concentraci6n molar de tioles [R-SH] sin reaccionar se determin6 mezclando las al6cuotas muestreadas con 0.5 mL de DTNB (5.0 mM, en PBS) aforando a 5.0 mL con PBS. La mezcla se analiz6 a una longitud de onda de 412 nm en un espectr6metro Perkin Elmer Lambda 40 (Waltham, MA, EUA) usando el software Perkin Elmer WinLab. La constante de velocidad de pseudo primer orden (k_{obs}) se calcul6 de acuerdo con [6]:

$$\ln\left(\frac{[R-SH]}{[R-SH]_0}\right) = -k_{obs}t \quad (1)$$

donde [R-SH] es la concentraci6n de tioles a determinado tiempo y [R-SH]₀ es la concentraci6n inicial de tioles.

Estudio te6rico

El c6lculo de la estructura electr6nica de los reactantes se llev6 a cabo mediante el software Gaussian16 con el funcional wB97XD y PBE, el set b6sico 6-311+G** para ambos funcionales. Agua como solvente se incluy6 en el c6lculo de PBE con el modelo SMD.

Resultados y Discusi6n

Estudio cin6tico

La determinaci6n de la concentraci6n de tioles ([R-SH]) se basa en el uso del DTNB para formar 6cido 5-tio-2-nitrobenzoico de color amarillo, el cual se detecta espectrofotom6tricamente a $\lambda=412$ nm [7]. En el estudio cin6tico se observ6 la disminuci6n de la concentraci6n de tioles respecto al tiempo (Figura 1a, 1b). A partir de los datos obtenidos se elaboraron los gr6ficos de $\ln([R-SH]/[R-SH]_0)$ vs. tiempo (Figura 1c, 1d) present6ndose una linealidad, permitiendo ajustar las reacciones a un pseudo primer orden ($R^2 > 0.9542$). La velocidad de reacci6n es dependiente de la concentraci6n

de tioles, lo que posibilita incluir ingredientes ricos en grupos tiol durante el tratamiento térmico de alimentos que ayuden a disminuir la concentración de acrilamida. Asimismo, de las ecuaciones de línea recta con pendiente igual a $-k_{obs}$ se calcularon las constantes de velocidad, siendo mayor la constante para la reacción con L-GSH que con L-Cys (Tabla 1) ($t_{obs}: 4.69 > t_{crit}: 4.30$), lo que indica que la reacción es más favorable con L-GSH y que la estructura química tiene un efecto sobre la velocidad de reacción. De igual forma, la energía de activación se calculó a través de la ecuación de Arrhenius determinando valores de 62.19 y 30.05 kJ mol^{-1} para la reacción L-Cys-ACR y L-GSH-ACR, respectivamente, indicando que se requiere más energía en la reacción de L-Cys-ACR. Tomando en cuenta el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción se puede esperar que a las temperaturas de los procesos térmicos de los alimentos la acrilamida generada reaccione con tioles añadidos.

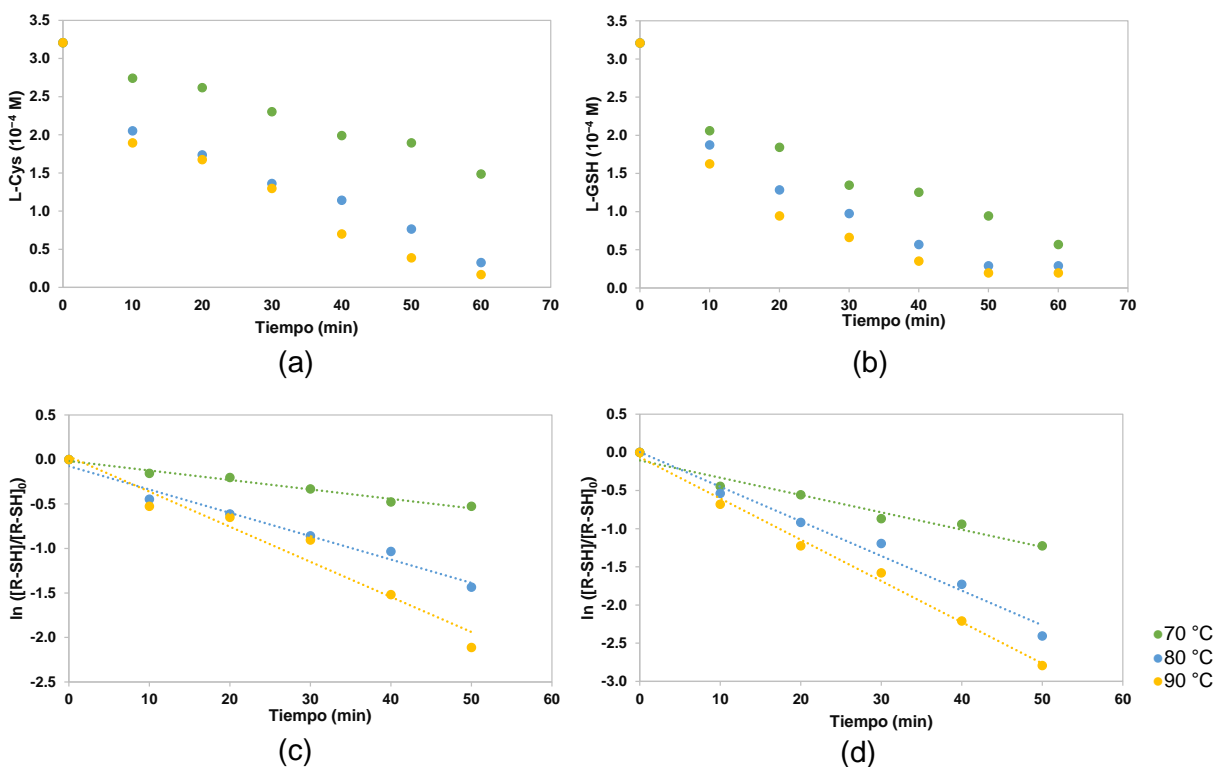


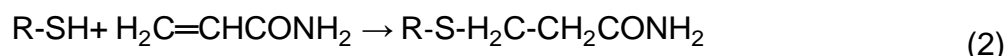
Figura 1. Seguimiento de la disminución de la concentración de (a) L-Cys y (b) L-GSH en reacción con ACR a pH 7.3 y temperaturas de 70, 80 y 90°C. Gráficos de $\ln([R-SH]/[R-SH]_0)$ vs. tiempo para (c) L-Cys-ACR y (d) L-GSH-ACR.

Tabla 1. Constantes de velocidad de pseudo primer orden (10^{-4} s^{-1}) para la reacción de $6.4 \times 10^{-4} \text{ M}$ de L-Cys y L-GSH con $1.054 \times 10^{-4} \text{ M}$ ACR a temperaturas de 70.0, 80.0 y 90.0 °C.

Temperatura (°C)	L-Cys	L-GSH
70.0	1.98 ± 0.37	4.33 ± 0.11
80.0	4.37 ± 0.21	5.84 ± 0.67
90.0	6.57 ± 0.26	7.73 ± 0.46

Estudio teórico

La reacción entre ACR y los tioles ocurre en dos pasos: la ruptura del enlace S-H, seguido de la formación de aductos a través de la adición conjugada [8], que por la migración del hidrógeno del azufre al α -carbón se estabiliza la reacción:



La ruptura del enlace S-H se analizó por dos vías (radical e iónica) siguiendo la aproximación del estado de transición con las especies aisladas para conocer la naturaleza electrónica de la migración del hidrógeno y entender la cinética en la formación de sulfuro. Los resultados de energía de los reactivos, productos y ambos estados de transición de radicales y especies iónicas obtenidos se describen en la Tabla 2 para la reacción de L-Cys-ACR y L-GSH-ACR. Dado los valores obtenidos, se puede observar que la reacción de L-GSH-ACR requiere menos energía, por lo que es más rápida que la reacción con L-Cys coincidiendo con los resultados experimentales obtenidos.

Tabla 2. Parámetros termodinámicos de las reacciones de ACR con L-Cys y L-GSH en kcal mol^{-1} .

Estado de transición	Tiol	Método	ΔE	ΔH	ΔG
Radical	L-Cys	wB97XD	75.3	72	75
Iónico	L-Cys	wB97XD	351.4	347.4	351.2
Radical	L-Cys	PBE (SMD)	70	67.1	72.5
Iónico	L-Cys	PBE (SMD)	159.1	155.4	160
Radical -Z	L-Cys	PBE (SMD)	70.5	67.5	71.7
Iónico-Z	L-Cys	PBE (SMD)	152.9	150.3	155.9
Radical	L-GSH	wB97XD	63.5	60.2	69
Iónico	L-GSH	wB97XD	290.9	287.8	296.1
Radical	L-GSH	PBE (SMD)	68.2	64.9	71.7
Iónico	L-GSH	PBE (SMD)	160.8	157.3	162.5
Radical -Z	L-GSH	PBE (SMD)	68.4	65	70.5
Iónico-Z	L-GSH	PBE (SMD)	160.8	157.1	161.7

Energía total a 0 K (ΔE), entalpía a 298 K (ΔH), energía libre de Gibbs a 298 K (ΔG), zwitterion (Z).

La reactividad local se analizó a través de los orbitales moleculares, así como las funciones de Fukui f^+ , f^- y f^0 . Los orbitales a resaltar son el LUMO en ACR ubicado a lo largo de los orbitales π deslocalizados o grupo vinilo y los orbitales HOMO en L-Cys y L-GSH ubicados en el átomo de azufre del grupo tiol. Estos resultados son consistentes con el mecanismo propuesto de un ataque nucleofílico inicial del azufre sobre el grupo vinilo. Las funciones de Fukui permiten identificar áreas locales susceptibles a ataques electrofílicos (f^-), nucleofílicos (f^+) y de radicales libres (f^0). En la Figura 2, las funciones de Fukui se muestran en colores verde y azul para las partes positiva y negativa de la función, respectivamente. En el caso de ACR, la mayor parte de la función de Fukui f^- esta sobre el átomo de oxígeno, lo que indica que el oxígeno es susceptible a los ataques electrofílicos, mientras que la función de Fukui f^+ se ubica sobre el carbono β . Por otro lado, la función de Fukui f^- para L-Cys y L-GSH se ubican sobre el azufre, sugiriendo la capacidad de estas moléculas para reaccionar como nucleófilos con el carbono β de la ACR. La función de Fukui f^0 se ubica sobre la superficie de los átomos de azufre de L-Cys y L-GSH, haciéndolos susceptibles al ataque de radicales libres, mientras que en ACR, esta función de Fukui indica que los radicales libres están dispersos alrededor de la molécula. La formación de radicales libres en la migración intermolecular del hidrógeno en una ruta homolítica es la ruta más viable. Esta vía explicaría porque ocurre una reacción más rápida de ACR con L-GSH que con L-Cys.

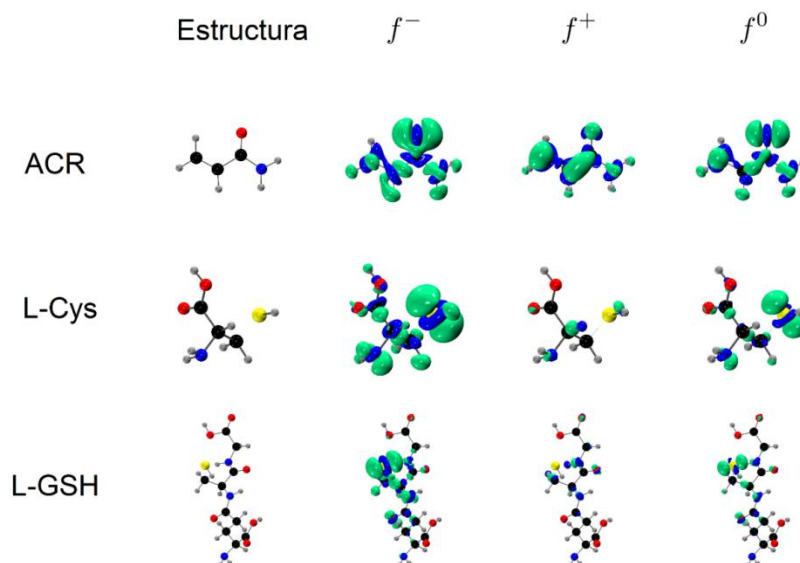


Figura 2. Funciones de Fukui calculadas para los compuestos estudiados.

Conclusiones

Las reacciones L-Cys-ACR y L-GSH-ACR presentaron un comportamiento de pseudo primer orden, dependiente de la concentración de tioles. Asimismo, se obtuvo una

constante de velocidad mayor en la reacción con L-GSH en comparación con L-Cys, además, mediante estudios teóricos se logró explicar el favorecimiento de la reacción L-GSH-ACR. Por otro lado, se observó que en la reacción tioles-ACR, la ruptura del enlace S-H puede llevarse a cabo mediante dos vías (iónica y radical). El uso de tioles de fuente natural puede ser una alternativa en la mitigación de acrilamida en muestras de alimentos.

Agradecimientos

S.R.M. agradece a CONACyT por la beca No. 815449. L.A.Z.H y J.C.B. agradecen a CONACYT por el apoyo 1561802

Referencias

- [1] A. Koszucka, A. Nowak. Food Science and Nutrition. **59**, 3579-3596 (2019).
- [2] A.A. Maan, M.A. Anjum, M.K.I. Khan, A. Nazir, F. Saeed, M. Afzaal, R.M. Aadil. Food Reviews International. **38**, 70-87 (2020).
- [3] EFSA CONTAM Panel. EFSA Journal 2015. **13**, 4104 (2015).
- [4] D.A. Augustine, G.A. Bent, P.N. Nelson. Food Additives & Contaminants: Part A. **38**, 1324-1331 (2021).
- [5] Y. Zhu, Y. Luo, G. Sun, P. Wang, X. Hu, F. Chen. Food Chemistry. **326**, 126982 (2020).
- [6] G.C. Tong, W.K. Cornwell, G.E. Means. Toxicology Letters. **147**, 127-131 (2004).
- [7] S. Sahoo, J. P. Awasthi, R. Sunkar, S.K. Plant stress tolerance. Humana Press. New York, NY. (2017).
- [8] G.A. Bent, P. Maragh, T. Dasgupta, R.A. Fairman, L. Grierson. Toxicology Research. **4**, 121-131 (2015).

CARACTERIZACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS PRESENTES EN DOS VARIEDADES DE GARBANZO CULTIVADAS EN MÉXICO POR HPLC

Selene Pascual Bustamante^a, María Gabriela Vargas Martínez^{a*}, María Andrea Trejo Márquez^a, Cesar Leobardo Aguirre Macilla^b, Juan Gabriel Ramírez Pimentel^b, Juan Carlos Raya Pérez^b

^aUniversidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, C. P. 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. Mex, México. Tel: (55) 10680107, e-mail: mgvargasm@gmail.com

^bTecnológico Nacional de México / IT de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, C.P. 38110, Celaya, Guanajuato, México.

Introducción

El garbanzo es de los cultivos más antiguos, debido a que presenta bajos requerimientos durante su siembra. Se ha cultivados desde hace más de 9500 años, en donde los principales vestigios se han dado en Turquía hasta Irán [1,2].

Los centros de biodiversidad del garbanzo se encuentran en Pakistan-Afganistan, Iraq, Turquía y Líbano [3]. Considerando la distribución geográfica, el garbanzo se puede clasificar en dos tipos, “desi” (originario de la India) y “Kabuli” (originario del Mediterráneo). En México el tipo de garbanzo que se cultiva es proveniente del mediterráneo (Francia, España e Italia) y de la región asiática (India y Afganistán); el tipo de garbanzo proveniente del mediterráneo es el que se emplea para consumo humano (kabuli), mientras que el garbanzo proveniente de la región asiática es el que se considera como garbanzo forrajero (desi) [4].

El garbanzo es un grano de gran importancia a nivel mundial, ya que es una leguminosa que se destaca por su contenido en carbohidratos y proteína. De esta última puede llegar a contener hasta 22 % de su composición [5]. Dentro de las proteínas presentes en el garbanzo destacan las de reserva, en donde el 70 % del contenido proteico del grano son globulinas, mientras que del 10 al 20 % corresponde a albuminas [6]. En algunos estudios se ha observado diferencias en la concentración de proteínas ente el garbanzo tipo desi y kabuli. Debido a que en su mayoría son proteínas de reserva, estas presentan baja cantidad de aminoácidos que contienen azufre, como son la metionina y cisteína, pero es rico en lisin y arginina [7].

El objetivo de este trabajo es la identificación de los aminoácidos presentes en dos variedades de garbanzo perteneciente al tipo desi y kabuli cultivadas en México, con la finalidad de evaluar el aporte nutricional de la proteína que contiene cada una.

Parte Experimental

Materia prima

En este trabajo se emplearon granos de garbanzo de dos variedades, la primera del tipo kabuli “Costa 2004” y la segunda tipo desi “El Patrón”, las cuales fueron cultivadas en el Celaya Guanajuato, correspondientes a la cosecha 2018.

Caracterización química del garbanzo

Para caracterizar los granos de garbanzo, en primer lugar, se realizó el análisis proximal de los granos determinando el contenido de proteína, humedad, cenizas y lípidos según lo reportado por Pearson [8].

Identificación de aminoácidos en los granos de garbanzo

Hidrolisis. Para la identificación de aminoácidos primero se realizó una hidrolisis de la proteína presente en los granos, en donde se colocó la muestra con una solución de HCl 6 M a una temperatura de 120 °C por 24 h, para posteriormente agregar una solución de NaOH 8 M hasta llegar a un pH 2.2, y se almacenaron en frascos ámbar hasta su posterior uso [9].

Equipo. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Shimadzu (Kyoto, Japón), con bomba LC-10ATvp, mezclador SIL-10A, desgasificador DGU-14A, horno CTO-10Avp, controlador CBM-20A y detectores de fluorescencia RF-20A y de arreglo de diodos SPD-M20A (DAD), acoplados a una computadora con software LC Solutions.

Derivatización. De las muestras hidrolizadas se colocaron 5 µL en viales, agregando 30 µL de agua destilada y 25 µL de OPA/2ME (125 mg de o-Ftalaldehído, 2 mercaptanol, tetrahidrofurano diluido en 1 mL de metanol con 50 µL de mercaptanol, aforado a 5 mL con solución saturada de borato de sodio pH 10). Se agitaron por 1 min y se inyectó en los siguientes 2 min [10].

Separación. Se inyectaron 5 µL del derivado en una columna de fase inversa Amino Acids C18, 60Å, 4 µm, 3.9 mm X 150 mm, con un flujo de la fase móvil de 1 mL/min, monitoreando la señal fluorescencia a una $\lambda_{ex}=360$ nm y una $\lambda_{em}=455$ nm. La fase móvil fueron las siguientes soluciones, en el gradiente descrito en la Tabla 1.

Eluente A: Buffer de fosfato 0.08 M pH 7.2

Eluente B: Metanol-Buffer fosfato 0.08 M pH 7.2 (55:45)

Tabla 1. Descripción del gradiente de composición vs tiempo para el análisis de aminoácidos por HPLC.

Tiempo (min)	% Eluente A	% Eluente B
0	100	0
15	70	30
45	30	70
70	0	100

Identificación. Para la identificación de los aminoácidos se empleó una mezcla de estándares de la marca Fluka (09418) en una concentración de 0.01 M en solución de ácido clorhídrico 0.1 M.

Resultados y Discusión

Caracterización química de las variedades de garbanzo

La composición química de los garbanzos estudiados es una fuente importante de información, dado que a partir de las propiedades químicas que presenten estos granos se puede establecer posibles usos para el desarrollo de nuevos productos, en específico de una bebida vegetal, ya que se requiere un alto contenido de proteína. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del análisis proximal.

Tabla 2. Composición química de garbanzo ‘El patrón’ y ‘Costa 2004’ por cada 100 g de producto.

Las letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Componente / variedad	‘El Patrón’	‘Costa 2004’
Carbohidratos (g)	63.83±1.03 ^a	67.88±1.39 ^b
Proteína (g)	14.08±0.85 ^b	11.45±0.56 ^a
Grasa (g)	2.84±0.18 ^a	5.99±0.04 ^b
Humedad (g)	10.11±0.30 ^b	8.41±0.14 ^a
Fibra (g)	9.44±0.88 ^b	2.73±0.32 ^a
Cenizas (g)	3.33±0.03 ^a	3.54±0.01 ^b

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede observar que los garbanzos de la variedad ‘El Patrón’ presentaron mayor contenido de proteína alrededor de 3 % más comparados con los granos de garbanzo variedad ‘Costa 2004’, esto está relacionado con las condiciones y el tipo de suelo de cultivo; aspectos genéticos y características propias de esta variedad, lo que ha hecho que esta variedad, principalmente sea empleado como alimento animal, ya que se requiere mayor contenido de este compuesto para el crecimiento de ganado. En cuanto al garbanzo ‘Costa 2004’, el contenido de carbohidratos fue mayor, alrededor de 4% más, en comparación con el garbanzo ‘El Patrón’, teniendo diferencia significativa ($p < 0.05$), esto lo hace una buena fuente de almidones puesto que estos son los principales carbohidratos presentes en leguminosas. Otro componente de sumo interés es la fibra, ya que está relacionada con el desarrollo de alimentos funcionales, por lo que su presencia en un producto aumenta su valor en el mercado, observando que el garbanzo ‘El Patrón’ presentó 5 veces más fibra comparado con la variedad ‘Costa 2004’: presentando diferencia significativa ($p < 0.05$), lo cual concuerda con lo reportado en la literatura [11–15]; en donde se menciona que el garbanzo tipo desi (forrajero) presenta mayor contenido de fibra en comparación con el garbanzo tipo kabuli (blanco). También es importante destacar el alto contenido de lípidos que presentaron ambas variedades, siendo al menos del doble de lo reportado por la

literatura (5%), lo cual puede estar relacionado con el tipo de variedad; así como las condiciones de cultivo que tuvo el grano.

Dentro de los parámetros evaluados a los granos de garbanzo también se determinó la presencia de aflatoxinas, con la finalidad de evaluar si el grano presentaba las características de inocuidad necesarias para la elaboración del producto. En ambos casos no presentaron aflatoxinas indicando con ello que el garbanzo puede ser procesado para la elaboración de la bebida vegetal y que fue almacenado de forma correcta.

Identificación de aminoácidos presentes en granos de garbanzos de dos variedades

En la Figura 1 se presenta el cromatograma con los resultados obtenidos correspondiente a la variedad "Costa 2004"

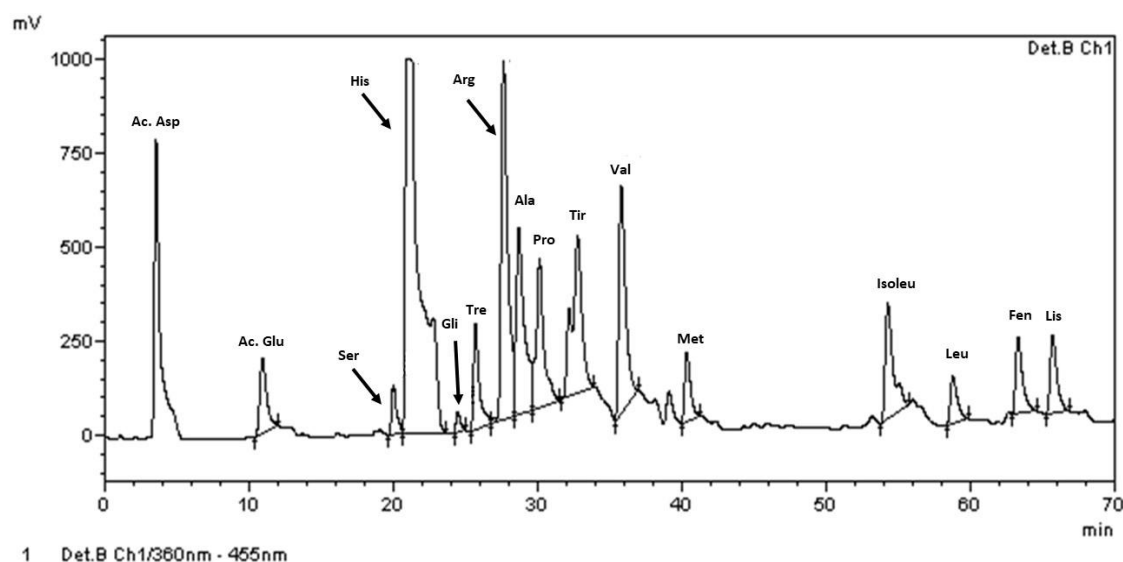


Figura 1. Identificación de aminoácidos presentes en el grano de garbanzo variedad "Costa 2004"

La identificación de cada señal del cromatograma de la variedad Costa, fue realizada en base a: 1) la comparación con los tiempos de retención del cromatograma de la mezcla de estándares de aminoácidos y 2) por adición de estándares seleccionados a las muestras problema y aumento en su altura.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede observar que dentro del grano de garbanzo se encuentran presentes los diferentes aminoácidos esenciales, con excepción del triptófano y cisteína, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura, puesto que el garbanzo es deficiente en aminoácidos azufrados [6].

En el caso de la variedad el patrón se presenta el cromatograma correspondiente a la identificación de aminoácidos en la figura 2.

La identificación se realizó utilizando el mismo procedimiento del cromatograma de la Figura 1. Al igual que en el caso de la variedad “Costa 2004”, en la Figura 2 del garbanzo de la variedad “El Patrón”, no tenemos presencia de triptófano y cisteína. Es importante mencionar que la presencia de la histidina dentro de los granos de garbanzo se destaca con una señal más intensa con respecto a los otros aminoácidos. Por otro lado, de acuerdo con algunos autores [16], el contenido de Ac. Aspártico, Ac. Glutámico y arginina puede llegar a alcanzar hasta los 42.16 g / 100 g de proteína contenida en el grano, lo cual es muy relevante ya que, aunque en este estudio no se cuantificó el contenido de aminoácidos, se puede llegar a deducir que la suma de estos aminoácidos presentes en el grano puede llegar a ser relevante, comprobando así que el garbanzo es una fuente importante de estos aminoácidos.

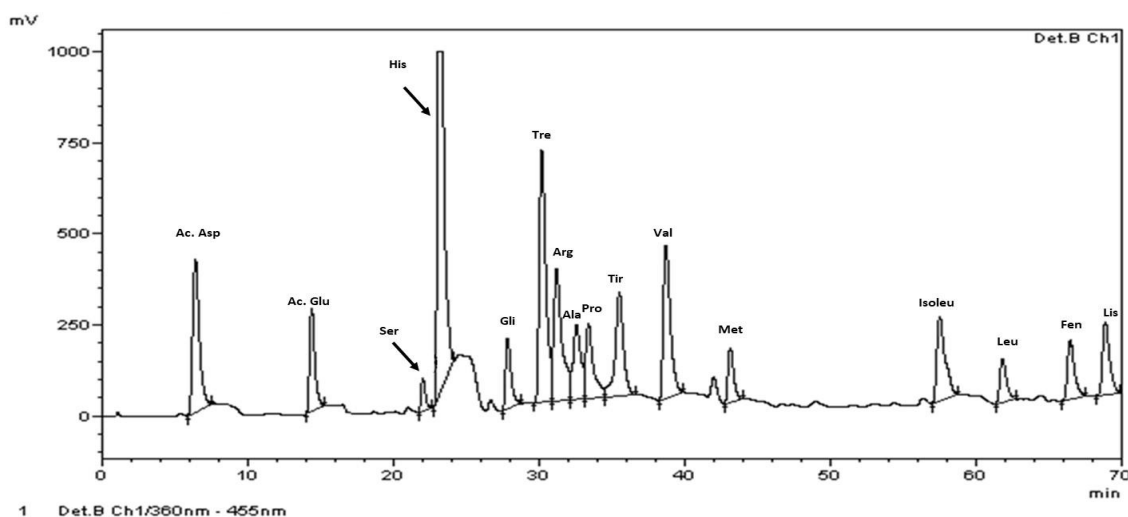


Figura 2. Identificación de aminoácidos presentes en el grano de garbanzo variedad “El Patrón”

Conclusiones

Es importante destacar que el contenido de proteína es mayor (aproximadamente 3 %) en la variedad “El Patrón”. De acuerdo con los resultados obtenidos, los granos de garbanzo de las variedades estudiadas presentan dentro de su composición proteica los aminoácidos esenciales, a excepción de triptófano en ambos casos. Destaca la presencia de histidina con una señal intensa en ambas variedades. En el caso de la variedad “Costa 2004” la presencia de Ac. Aspártico y Arginina destaca con respecto a otros aminoácidos presentes y en el caso de la variedad “El Patrón” la treonina destaca después de la histidina. Concluyendo que ambas variedades de garbanzo poseen un potencial tecnológico para el desarrollo de productos ricos en proteínas, de una fuente barata como es el garbanzo, además de ser un cultivo viable para nuestro territorio por requerir poco consumo de agua y ser resistente a la sequía.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por el proyecto Desarrollo tecnológico para el aprovechamiento integral de frutas y hortalizas (PAPIIT IT202419) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM y la Cátedra de Investigación. “Aplicación de ultrasonido para la elaboración de una bebida vegetal y su efecto en parámetros microbiológicos, químicos, nutricionales y sensoriales” con clave C12246. 2022.

Referencias

- [1] R. Redden, J.D. Berger. History and origin of chick-pea. In: Chickpea Breeding and Management. (2007).
- [2] A. Frimpong. A study of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed starch concentration, composition and enzymatic hydrolysis properties [Internet]. University of Saskatchewan, Department of Plant Sciences. (2010). Available from: https://search.proquest.com/docview/1288411223?accountid=26642%0Ahttp://link.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:dissertation&genre=dissertations+%26+theses&sid=ProQ:ProQuest+Dissertations+%26+Theses+Globa
- [3] R. Talebi, A. M. Najji, F. Fayaz. Geographical patterns of genetic diversity in cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.) characterized by amplified fragment length polymorphism. *Plant Soil Environment*. 54(10):447–52 (2008).
- [4] J. A. Morales-Gómez, L.J. Durón-Noriega, G. Martínez-Díaz, J. H. Núñez-Moreno, A. A. Fu-Castillo. Cultivo de garbanzo blanco en Sonora. INIFAP-SAGARPA; (2004).
- [5] V. G. Aguilar Raymundo, J. F. Vélez-Ruiz. Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos* [Internet]. 7(2):25–34. (2013). Available from: https://www.researchgate.net/publication/319185894_Propiedades_nutricionales_y_funcionales_del_garbanzo_Cicer_arietinum_L
- [6] F. Roy, J. I. Boye, B. K. Simpson. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International* [Internet]. 43(2):432–42. (2010). Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>
- [7] M. Duranti. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*.(22): 67–72. (2006).
- [8] D. Person. *Laboratory techniques in food analysis*. 3rd ed. Zaragoza, España: Acribia; (1998).
- [9] AOAC INTERNATIONAL. *Official methods of analysis of AOAC International*. 21st ed. (2019).
- [10] M. de la L. Salazar Cavazos. *Aminoácidos por cromatografía de líquidos de alta resolución, estudio de perfiles de frutos de diferentes especies de Karwinskia* [Maestría]. [México]: Universidad Autónoma de Nuevo León. (1993).

- [11] J.K. Chavan, S.S. Kadam, D.K. Salunkhe. Biochemistry and technology of chickpea (*cicer arietinum* L.) seeds. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 25(2):107–58. (1987)
- [12] A. K. Jukanti, P. M. Gaur, C. L. L. Gowda, R.N. Chibbar RN. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *British Journal of Nutrition*. Aug;108(SUPPL. 1). (2012)
- [13] M. K. Khan, M. Imran, M.H. Ahmad, S. Hassan, S. Sattar. Ultrasound for beverage processing. In: *Design and Optimization of Innovative Food Processing Techniques Assisted by Ultrasound*. Elsevier. 189–215. (2021).
- [14] U. Singh. Antinutritional factors of chickpea and pigeonpea and their removal by processing. *Plant Foods for Human Nutrition*. 38:251–61. (1988)
- [15] R. Ravi. Reología de suspensiones de harina de garbanzo (*Cicer Arietinum* L.) y caracterización del producto frito. [Tesis Doctorado]. [India]: Universidad de Mysore; (2005).
- [16] A. M. Ghribi, I. M. Gafsi, C. Blecker, S. Danthine, H. Attia, S. Besbes. Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *J Food Eng*. Nov 1;165:179–88. (2015)

02

Aplicaciones diversas



DETERMINACIÓN DE LA DEGRADACIÓN RADIOLÍTICA DEL ÁCIDO 4-HIDROXIBENZOICO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

María Guadalupe Albarrán Sánchez*, Edith Mendoza Villavicencio

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias Nucleares, Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Av. Universidad 3000, Circuito Exterior, Cd. Universitaria, 04510. Cd. de México. Tel: +52 55 5623 3370, ext. 2215, e-mail: albarran@nucleares.unam.mx

Introducción

Los compuestos fenólicos, tal como el ácido 4-hidroxibenzoico (4-HBz), son muy comunes en una gran variedad de las aguas residuales provenientes de agroindustrias. Principalmente de industrias de extracción de aceite de oliva, producción de aceitunas y de destilación de fracciones de vinos, los cuales producen una alta contaminación de las aguas residuales. Específicamente, muchas de estas aguas contaminadas han sido descritas con propiedades tóxicas y con un poder de inhibir tratamientos biológicos para su degradación [1].

Varios estudios se han realizado sobre el tratamiento de este tipo de aguas residuales para eliminar los compuestos fenólicos utilizando bacterias en condiciones aeróbicas y anaeróbicas [2]. Otros métodos utilizados para la degradación del 4-HBz han sido los procesos de oxidación avanzados por oxidación con radicales libres generado en el sistema (OH principalmente). Así, por ejemplo, mediante ozonización foto asistida [3], mediante oxidación directa con radiación UV (fotólisis) y TiO_2 [4], por el reactivo Fenton [5], radiación ionizante [6]. Sin embargo, poco se ha realizado sobre la degradación de este compuesto mediante radiólisis en solución acuosa. El objetivo del trabajo es analizar la degradación radiolítica del ácido 4-hidroxibenzoico (4-HBz) en solución acuosa, en diferentes ambientes, mediante la cromatografía de líquidos y por la demanda de oxígeno químico (COD).

Parte Experimental

Reactivos

Los reactivos y estándares fueron de la más alta pureza encontrados en el mercado, el ácido 4-HBz, ácido 3,4-dihidroxibenzoico (3,4-DHBz), ácido 2,4-dihidroxibenzoico (2,4-DHBz), benzoquinona (BQ), catecol (Cat), ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (3,4,5-THBz), ácido 2,3,4-trihidroxibenzoico (2,3,4-THBz), Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , metanol de grado CHROMASOLV CLAR, ácido acético, fueron obtenidos de la marca Aldrich. N_2O grado absorción atómica y Helio grado ultra alta pureza de la marca Praxair. El agua utilizada fue obtenida de un purificador compacto Milli-Q Plus (Millipore), Water System, para todos los experimentos de irradiación y las disoluciones patrón.

Preparación de Muestras

Soluciones acuosas del ácido 4-HBz de 0.25 mmol/dm³ se prepararon, alícuotas de tres mL se colocaron en viales o tubos para ser tratadas de la siguiente manera: viales herméticamente cerrados a) saturadas con N₂O, b) eliminando el aire de la solución burbujeando helio y c) tubos abiertos conteniendo O₂ del aire disuelto.

Irradiación de las Muestras

Tanto los viales como los tubos fueron irradiados con rayos gamma provenientes de una fuente de Cobalto-60, tipo Gamma-beam PT 651, localizada en el Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM. La razón de dosis utilizada fue de 87.7 Gy/min. La determinación de la razón de dosis se realizó usando el dosímetro de Fe-Cu.

Análisis de las Muestras Irradiadas

Como la radiación ionizante induce cambios químicos, las muestras fueron analizadas inmediatamente después de una dosis de radiación aplicada. Para ello se utilizó un cromatógrafo de líquidos Agilent 1100 LC, el cual cuenta con un detector UV-visible de arreglo de diodos y un detector de masas. Para los análisis se requirió de una columna Phenomenex, Luna 5 µm, C18 (2), 150 × 4.6 mm y como eluyente, 87 % de una solución amortiguadora de fosfatos 10 mmol/dm³ a pH 3 y 13 % metanol y un flujo de 0.45 mL/min. En el caso de utilizar el detector de masas, el eluyente cambio a 90 % de solución acuosa con un 1 % de ácido acético y 10 % de metanol y el detector fue usado con una fuente API-ES en modo de polaridad negativa. Todos los productos (picos en el cromatograma) fueron identificados por su tiempo de retención, su espectro UV y su patrón de fragmentación de masas, todo esto fue comparado con muestras auténticas. La concentración de los productos formados de la degradación del ácido 4-HBz fueron determinados de las áreas del pico obtenido utilizando el software Chemstation, integrando los picos en su máxima longitud de onda.

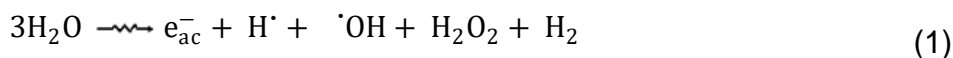
Demanda Química de Oxígeno (COD por sus siglas en inglés)

Se preparó una curva de calibración a partir de un estándar de la demanda química de oxígeno, solución (Hach) de 300 mg/dm³ de ftalato ácido de potasio. Para la obtención del COD, alícuotas de 2 mL de la solución irradiada se adicionó a tubos de digestión de la marca Hach 150 mg/dm³ de COD, los tubos se calentaron en un reactor por 2 horas a 150°C. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y fueron analizadas usando un espectrofotómetro de luz UV a 450 nm. Los resultados se obtuvieron como el promedio de un mínimo de tres muestras.

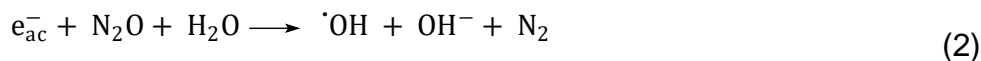
Resultados y Discusión

Consideraciones

En la radiólisis del agua se generan las siguientes especies [7]



Además, si antes de la radiólisis se burbujea el agua con N_2O , el electrón acuoso es convertido al radical hidroxilo según la siguiente reacción [8] haciendo la solución totalmente oxidante.



Formación de los Productos de Degradación del Ácido 4-HBz

La Figura 1 muestra un cromatograma de los productos de descomposición radiolítica de una solución 0.25 mmol/dm^3 del ácido 4-HBz que fue irradiada a una dosis de 10.7 kGy en un ambiente airado.

De los productos primarios de la degradación del 4-HBz, el producto que se forma principalmente por la reacción del radical OH con el anillo aromático es el ácido 3,4-DHBz. Su mayor concentración respecto a los otros productos formados es debido a que la posición 3 y 5 son altamente activadas por la presencia del grupo -OH que está en la posición 4, además de que el grupo -COOH es un orientador meta y es un grupo desactivante. Estos dos efectos se suman y hacen que el radical OH ataque primordialmente a las posiciones 3 y 5. El 2,4-DHBz se produce en muy poca cantidad ya que la posición 2 y 6 no están activados por ninguno de los dos grupos situados en el anillo aromático. En el caso de la BQ, este compuesto es la oxidación de la hidroquinona, el cual se forma por el ataque del radical OH al grupo -COOH eliminando este grupo.

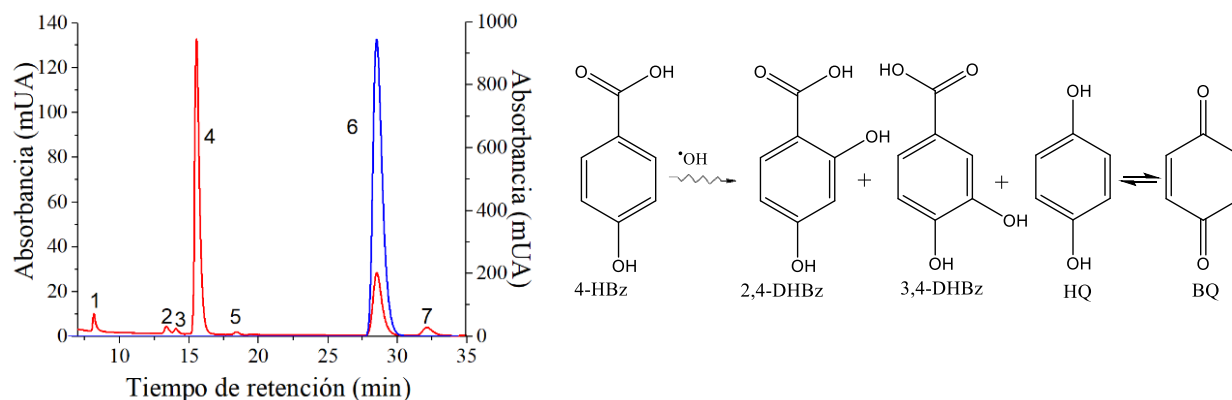


Figura 1. Cromatograma de los productos de descomposición de una solución 0.25 mmol/dm^3 del ácido 4-HBz en ambiente airado e irradiado a 10.7 kGy (rojo y absorbancia a la izquierda), en azul muestra sin irradiar (absorbancia a la derecha). Los picos corresponden a los siguientes productos: 1) 3,4,5-THBz, 2) BQ, 3) 2,3,4-THBz, 4) 3,4-DHBz, 5) Cat, 6) 4-HBz y 7) 2,4-DHBz. Reacción de oxidación del ácido 4-HBz de una solución saturada con N_2O y sus productos radiolíticos primarios.

Para proseguir con la degradación del ácido 4-HBz se tiene la producción de otros compuestos secundarios, ya que mientras la radiólisis continua también la producción del radical OH continua, por lo que se identificaron y cuantificaron tres productos secundarios

que se forman principalmente por el ataque del radical OH al 3,4-DHBz, estos son el 3,4,5-THBz, 2,3,4-THBz y el Cat.

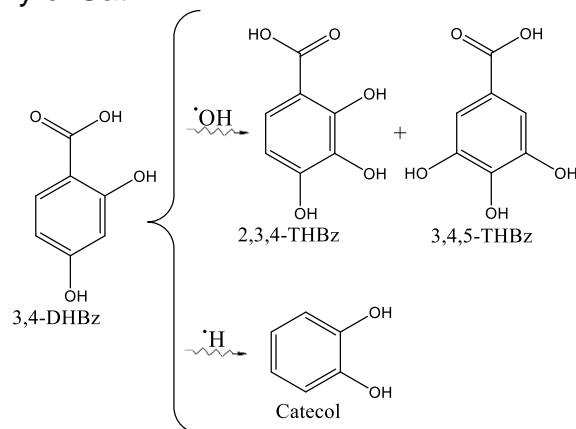


Figura 2. Formación de los productos secundarios a dosis.

Los resultados obtenidos con el detector de masas indicaron que los tres productos primarios tienen un peso molecular 153 Da y dos de los secundarios de 169 Da y otro secundario de 109 Da con API-ES negativo.

Degradación del Ácido 4-HBz.

Usando la cromatografía de líquidos fase reversa, fue posible determinar el decrecimiento de la concentración del ácido 4-HBz y la consecuente producción y su posterior degradación de los productos formados de este ácido en solución acuosa y en tres ambientes diferentes: a) saturada con N₂O, b) libre de oxígeno y c) solución aireada. La Figura 2 muestra este comportamiento. Como se puede ver en la figura, el ácido 4-HBz se degrada totalmente a una dosis de 3.5 kGy en un ambiente muy oxidante como es la solución que está saturada con N₂O. En este caso únicamente se tienen radicales OH, los cuales son muy oxidantes. En el caso de la solución aireada y sin oxígeno la degradación total se realizó hasta 13 kGy, este resultado es debido a la existencia de radicales reductores (átomo de hidrógeno, electrón acuoso), así como oxidante (OH) dando como resultado una degradación muy similar en ambos casos.

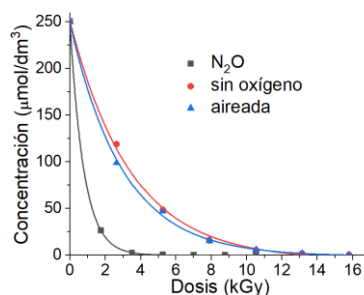


Figura 3. Degradación del ácido 4-HBz en diferentes ambientes.

La Figura 4 muestra la formación y degradación de los productos primarios de una solución 0.25 mM del ácido 4-HBz. Para el caso de la solución saturada con N₂O, únicamente existe el radical OH, así que las posiciones 3 y 5 del anillo aromático son favorecidas para el ataque de este radical, formando principalmente el ácido 3,4-DHBz cercano al 100% y su destrucción empieza de inmediato a 1.8 kGy. Mientras que en las otras dos soluciones fue necesario administrar una dosis mayor para alcanzar el máximo de la producción y degradación de estos productos.

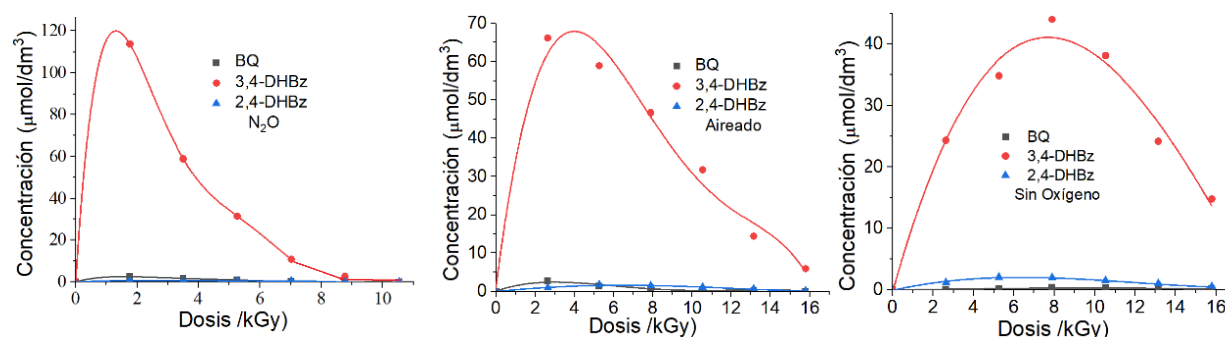


Figura 4. Producción y destrucción de los productos primarios a diferentes dosis de radiación de soluciones acuosas del ácido 4-HBz en diferentes ambientes.

En las soluciones airada y libre de oxígeno existen todos los radicales formados en la radiólisis del agua, por lo que hay reacciones de oxidación y reducción, así que el ácido 3,4-DHBz se forma en un 57 % en la solución aireada y en un 38 % en la solución libre de oxígeno respecto a la solución saturada con N₂O. Para los otros dos productos primarios, su formación es mínima.

La Figura 5 muestra la formación y degradación de los productos secundarios, observados en el cromatograma, identificados con compuestos auténticos mediante su tiempo de retención y espectro UV. Como la radiólisis de la solución continua, se forman el ácido 3,4,5-THBz y el ácido 2,3,4-THBz, estos productos provienen principalmente por el ataque del radical OH al ácido 3,4-DHBz. El catecol se forma por el ataque de un radical hidrógeno a la posición ipso del ácido 3,4-DHBz en el caso de las soluciones que contiene oxígeno y libre de oxígeno. Sin embargo, casi no se forma en la solución de N₂O debido a que no hay el radical hidrógeno en esa solución. Nuevamente el principal producto es formado por el ataque del radical OH a la posición 5 en las tres soluciones. El ácido 2,3,4-THBz se forma en menor cantidad ya que se tiene impedimento estérico por la presencia del grupo ácido. Tanto en la solución aireada como en la libre de oxígeno, el catecol alcanza un máximo de producción hasta los 8 y 10 kGy, respectivamente.

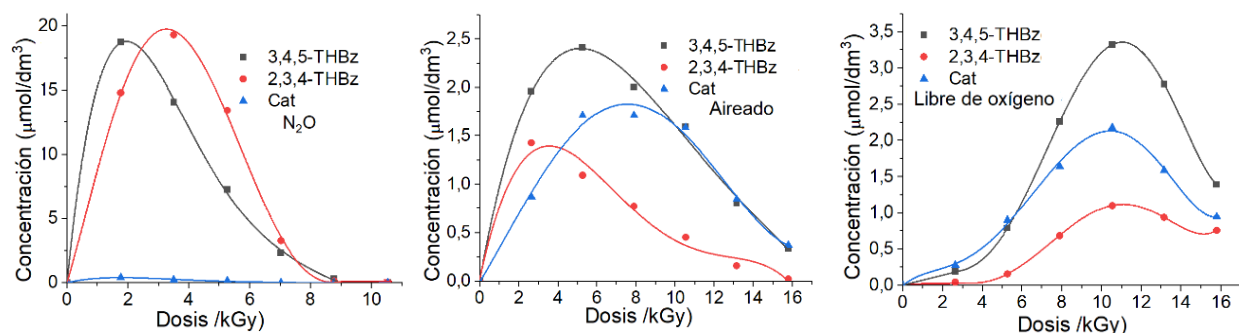


Figura 5. Formación y degradación de los productos secundarios formados en la degradación de ácido 4-HBz en tres diferentes ambientes.

Demanda Química de Oxígeno

La rápida oxidación de compuestos orgánicos en solución acuosa puede ser caracterizado mediante el COD. Examinando los cambios del COD después de la irradiación de los tres diferentes ambientes de la solución acuosa 0.25 mmol/dm³ del ácido 4-HBz, se puede observar en la Figura 5 que el COD decrece al incrementar la dosis de radiación.

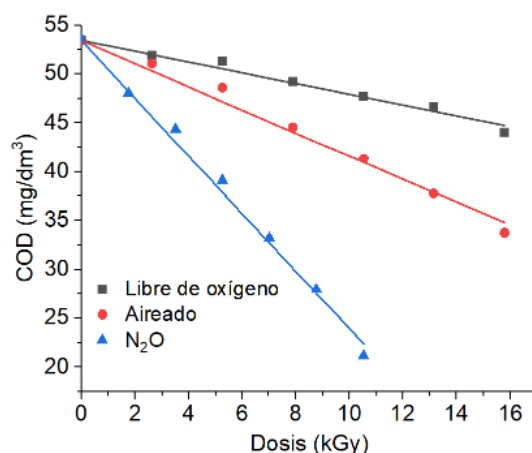


Figura 6. Demanda Química de oxígeno de una solución acuosa del ácido 4-HBz irradiada a diferentes dosis y en tres ambientes diferentes.

La pendiente del COD como función de la dosis corresponde a la cantidad de miligramos de oxígeno que fue consumido. Así, el COD de la solución en ausencia de oxígeno fue la menor ($-0.55 \text{ mg de O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ kGy}^{-1}$), en presencia de oxígeno fue de $-1.18 \text{ mg de O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ kGy}^{-1}$, ya que esta solución además de tener los radicales formados en la radiólisis del agua, también se tiene el oxígeno que reacciona con el electrón acuoso y con el átomo de hidrógeno produciendo peróxidos, haciendo que la solución sea más oxidante. Como se muestra en la Figura 4 la solución más oxidante (saturada con N₂O) fue la que presentó

mayor rapidez de degradación mostrado por el valor del COD de $-2.95 \text{ mg de O}_2 \text{ dm}^{-3} \text{ kGy}^{-1}$, además, de que su degradación fue total a una dosis menor.

Conclusiones

Mediante cromatografía de líquidos acoplada a un detector de arreglo de diodo de luz UV y a un detector de masas, fue posible identificar los productos primarios y secundarios de la degradación radiolítica del ácido 4-HBz en solución acuosa. La degradación de este ácido también se observó mediante la cromatografía, los resultados indican que la degradación depende del ambiente en que se irradia la solución, siendo mayor en la solución saturada con N_2O , seguida por la solución que contiene oxígeno (aire) y en menor proporción aquella libre de oxígeno. El COD observado por espectrometría de luz UV indica que la solución más oxidante destruye al ácido en estudio más rápidamente.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con el apoyo económico de PAPIIT-UNAM (34-IN201023). Las autoras agradecen al Fis. Javier Gutiérrez Romero por la irradiación de las muestras.

Referencias

- [1] M. Hamdi, C. Festino, C. Aubart. *Process Biochem.* **27**, 37-42(1992).
- [2] S.E. Agarry, A.O. Durojaiye, B.O. Solomon. *Int. J. Environ. Pollut.* 2008. **32**, 12-28 (2008).
- [3] J. Beltrán-Heredia, J. Torregrosa, J.R. Dominguez, J.A. Peres. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **76**,1235-1242 (2001).
- [4] J. Beltrán-Heredia, J. Torregrosa, J.R. Dominguez, J.A. Peres. *J. Hazard. Mater. B.* **83** 255–264 (2001).
- [5] F.J. Rivas, F.J. Beltrán, J. Frades, P. Buxeda. *Water Res.* **35**, 387–396 (2001).
- [6] J. Criquet, N.K. Vel Leitner. (2015) *Radiat. Phys. Chem.* **106**, 307-314 (2015).
- [7] G.V. Buxton, C.L. Greenstock, W.P. Helman. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **17**, 512-886 (1988).
- [8] E. Janata, R.H. Schuler. *J. Phys. Chem.* **86**, 2078-2084 (1982).

APLICACIÓN DE ADSORBENTES BASADOS EN CARBÓN ACTIVADO Y POLIESTIRENO RECICLADO PARA LA DETERMINACIÓN DE TARTRAZINA.

Karen A. Escamilla-Lara^a, Ma. Elena Páez-Hernández^a, José A. Rodríguez Ávila^{a*}

^a 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: +52 (771) 717 2000 ext. 2220, e-mail: josear@uaeh.edu.mx

Introducción

La tartrazina también conocida como Amarillo 5 o E 102, es uno de los colorantes azoicos más empleados actualmente en la industria de los alimentos incorporándose en bebidas, dulces, repostería, helados, gelatinas, entre otros. Este colorante es un aditivo que se emplea para mejorar la apariencia de los alimentos, sin embargo, se le ha relacionado con una amplia gama de problemas de salud, daños en el riñón e hígado, neurotoxicidad, genotoxicidad e incluso cáncer, por mencionar algunos [1]. Debido a sus efectos secundarios la organización mundial de la salud ha establecido una ingesta diaria admisible de 7.5 mg kg⁻¹ de peso corporal por día [2], además, a partir del 2010 los alimentos que contengan tartrazina deberán llevar la advertencia “puede alterar la actividad y la atención en niños”. En México, este colorante, está regulado de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 la cual permite como cantidad máxima 100 mg L⁻¹ de tartrazina en bebidas comerciales, por ello se requieren técnicas que permitan su determinación y cuantificación de manera adecuada, entre las técnicas más utilizadas se encuentran: 1) La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), esta es la técnica más aplicada para la determinación debido a su alta sensibilidad y selectividad [3], sin embargo, resulta costosa y su aplicación a menudo requiere el uso de cantidades significativas de solventes y 2) la espectrofotometría UV-Vis, a pesar de ser ampliamente utilizada para la determinación de tartrazina, carece de especificidad y puede sufrir una mayor interferencia debida a los componentes en la matriz [4], por lo que se requiere la aplicación de tratamientos de muestra para la limpieza y así eliminar componentes que pueden interferir en el análisis.

Dentro de las estrategias para limpieza y extracción de tartrazina se han preferido aquellas basadas en fase sólida y sus variantes debido a su versatilidad y fácil operación. Las técnicas de extracción en fase sólida se basan en el uso de materiales adsorbentes donde el analito es retenido y posteriormente eluido con el solvente adecuado. Se han empleado materiales adsorbentes como C₁₈, estructuras metal orgánicas, polímeros molecularmente impresos, polímeros conductores y compuestos carbonosos [2]; de estos últimos siendo el carbón activado el más destacado y preferido para el análisis de colorantes debido a que posee una estructura microcristalina laminar formada por capas paralelas de anillos regulares de 6 átomos de carbono. La capacidad adsorbente del carbón activado depende del área superficial interna que generalmente se encuentra entre 500-1500 m² g⁻¹. Químicamente el carbón activado se compone además de carbón, de una pequeña porción de minerales, hidrógeno y oxígeno que se enlazan para formar grupos funcionales como carbonilo y fenol, confiriendo un carácter ácido-base y la

abundancia de diversos grupos funcionales [5]. A pesar de su versatilidad, el carbón activado tiene el inconveniente de ser difícil de separar de la matriz acuosa donde se ha dispersado. Con la finalidad de compensar esta limitante se han desarrollado alternativas para la incorporación de este material aplicando métodos de síntesis para inmovilizar y/o depositar el carbón activado, no obstante, requieren de protocolos laboriosos y consumo elevado de reactivos. Recientemente se ha descrito la fabricación de adsorbentes a partir de desechos plásticos. Entre los polímeros reciclados se encuentra el poliestireno (PS) empleado como adsorbente o soporte, el cual presenta una versatilidad para transformarse en diversas morfologías, por ejemplo: películas, partículas y fibras, los cuales son materiales adsorbentes de fácil y económica preparación [6].

Por lo anterior, el presente trabajo propone la evaluación de fases adsorbentes fabricadas a partir de carbón activado y desechos de PS como soporte para la determinación y cuantificación de tartrazina en muestras de bebidas no alcohólicas mediante espectrofotometría UV-Vis.

Parte Experimental

Fabricación de fases adsorbentes

Se sintetizaron las siguientes tres fases adsorbentes a partir de PS reciclado y carbón activado en polvo de origen vegetal:

1. Esferas PS:Carbón activado (1:1, p:p): Se disolvió el PS reciclado en dimetilformamida (15% p/v), a la disolución se adicionó carbón activado y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla se goteó en un vaso de precipitado que contenía agua en agitación. Las esferas son retiradas del medio acuoso y se reservan para posteriores pruebas.
2. Columnas monolíticas PS:Carbón activado (1:1, p:p): Se disolvió PS en acetona (15% p/v) y se agregó carbón activado. Se formó una esfera con el total de la mezcla que se depositó en una jeringa de cristal. La jeringa se colocó en una estufa a 60.0°C por 12 horas para secar la mezcla.
3. Películas de carbón activado soportadas en papel filtro: Se preparó una disolución de PS en tetrahidrofurano al 15% p/v. Un trozo de papel filtro de 1.0 x 2.0 cm fue sumergido en la disolución de PS previamente preparada. El disolvente se evaporó a temperatura ambiente hasta la sequedad total de la película. Posteriormente, la película fue sumergida en dimetilformamida e inmediatamente se introdujo en un recipiente con carbón activado para su deposición superficial.

Evaluación de la capacidad adsorbente de las fases sólidas

Existen diversos factores que influyen significativamente en el proceso de retención de colorantes, por ejemplo, la naturaleza y masa del adsorbente o el tiempo de contacto. Con la finalidad de conocer las mejores condiciones para llevar a cabo la retención de tartrazina se aplicó un diseño experimental Taguchi L₉, la Tabla 1 muestra los factores y niveles evaluados, se aplicó la modalidad de extracción en fase sólida dispersiva para

todas las fases adsorbentes. Para los experimentos del diseño experimental se empleó una disolución estándar de tartrazina de 10.0 mg L⁻¹, el tanto por ciento de extracción fue seleccionado como variable de salida.

Tabla 1. Niveles y factores evaluados para determinar la capacidad adsorbente de las fases sólidas.

Factor	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Volumen muestra (v_m , mL)	10.0	20.0	30.0
Masa adsorbente (m_{ads} , mg)	100.0	200.0	300.0
Fase adsorbente (f_{ads})	Esfera (E)	Columna (C)	Película (P)
Tiempo de contacto (t, min)	15	30	45

Análisis de muestras

Se analizaron 6 muestras de bebidas no alcohólicas por triplicado que contienen tartrazina, las muestras se desgasificaron mediante ultrasonido por 5 minutos, se tomaron 2.0 mL de cada una de las muestras y se diluyeron con agua desionizada a un volumen de 10.0 mL.

La metodología optimizada para el análisis de tartrazina comprende las siguientes etapas: a) 200.0 mg de película soportada en papel filtro se activaron con 2.0 mL de MeOH seguido de un lavado con 2.0 mL de agua desionizada; b) 10.0 mL de muestra se adicionaron a la película activada; c) la mezcla se agitó mecánicamente durante 45 minutos; d) se retiró la película de la disolución y se lavó con 1.0 mL de agua desionizada con el objetivo de eliminar cualquier compuesto que no sea de interés; e) la elución del analito se llevó a cabo adicionando 2.0 mL de NaOH 0.25 M en metanol a las películas y se agitó la mezcla por 1 minuto; f) se reservó la fase líquida para su análisis mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 434 nm. La cuantificación de tartrazina se realizó mediante interpolación en la línea de calibrado construida mediante disoluciones estándar de tartrazina en la disolución de elución (2.0 -30.0 mgL⁻¹).

Resultados y Discusión

Optimización de las condiciones de retención de tartrazina

En el presente trabajo se evaluó la capacidad adsorbente de las fases sólidas elaboradas a partir de desechos de PS y carbón activado mediante pruebas de retención de tartrazina en disolución acuosa. Se fabricaron tres morfologías distintas (Figura 1); esferas, columnas monolíticas y películas de carbón soportadas en PS y papel filtro, estas morfologías fueron seleccionadas para comparar su capacidad adsorbente debido a que se han descrito que presentan propiedades adecuadas para su aplicación en diferentes matrices y analitos. Las tres morfologías poseen alta área superficial, adecuada

distribución de poro, excelente estabilidad química y la posibilidad de ser retirados fácilmente del medio donde se han dispersado [6].

Una vez obtenidas las tres diferentes morfologías y con el fin de comparar su capacidad de adsorción hacia tartrazina y las condiciones adecuadas para la retención de la misma se aplicó un diseño factorial Taguchi L_9 . Los factores evaluados fueron: cantidad de muestra (10.0, 20.0 y 30.0 mL), masa del adsorbente (100.0, 200.0 y 300.0 mg), morfología del adsorbente (E; esferas, C; columnas monolíticas, P; películas de carbón activado soportadas en PS y papel filtro) y tiempo de contacto (15, 30 y 45 minutos).



Figura 1. Fases adsorbentes fabricadas a partir de carbón activado y PS.

Las mejores condiciones para la extracción de tartrazina se obtuvieron a partir del análisis de los resultados e interpretación del gráfico de medias que se muestra en la Figura 2, las cuales son: 10.0 mL de muestra se mezclan con 200.0 mg de películas de carbón soportadas en PS y papel filtro, la mezcla se debe agitar 45 minutos. Estas condiciones se evaluaron por triplicado obteniendo un valor óptimo de 95.5 (%DER=1.8). Entre las variables evaluadas, la morfología del adsorbente es relevante debido a que nos permite seleccionar la fase que muestra una mayor capacidad de adsorción y afinidad hacia el analito. Las películas de carbón activado soportadas en PS y papel filtro proporcionan los mayores resultados de recuperación de tartrazina, a pesar de que es el adsorbente con la menor proporción de carbón activado (4.0%) en comparación con las columnas y esferas (50.0%), esto se puede atribuir a que el carbón activado se encuentra mayormente disponible en esta morfología y le proporciona una mayor área superficial a la fase adsorbente. Posterior a la retención de tartrazina se procedió a la elución del colorante como se mencionó en la parte experimental.

Parámetros analíticos y validación de la metodología

La determinación de tartrazina se realizó construyendo una línea de calibrado utilizando disoluciones de tartrazina disuelta en el eluyente en un intervalo de concentraciones entre 2.0-30.0 mg L^{-1} . La línea de calibrado presenta un $R^2 = 0.9995$ con un intervalo lineal de

3.3-30.0 mg L⁻¹. Se obtuvo un límite de detección y de cuantificación de 1.1 y 3.3 mg L⁻¹ respectivamente, la metodología propuesta permite cuantificar tartrazina en bebidas de acuerdo a lo establecido en la NOM.

La precisión del método se evaluó mediante el análisis de disoluciones acuosas de tartrazina (7.0, 17.0 y 27.0 mg L⁻¹), las muestras se analizaron por triplicado durante tres días, los valores de desviación estándar relativa (%DER n=3) obtenidos para cada nivel de concentración evaluada fueron 2.4, 0.9 y 2.1%, respectivamente.

La exactitud del método se evaluó mediante el análisis de 6 muestras de bebidas no alcohólicas adquiridas en el supermercado, las muestras fueron analizadas mediante la metodología propuesta y el método de referencia (HPLC), los resultados se muestran en la Tabla 2. Para cada muestra se obtuvo el promedio de las concentraciones de tartrazina usando ambos métodos y comparándose mediante una prueba t para datos emparejados, el valor de $t_{\text{experimental}}$ (2.3) es menor al valor de $t_{\text{crítico}}$ (2.6, $\alpha=0.05$) por lo que estadísticamente no hay diferencias significativas entre los resultados provenientes de cada método.

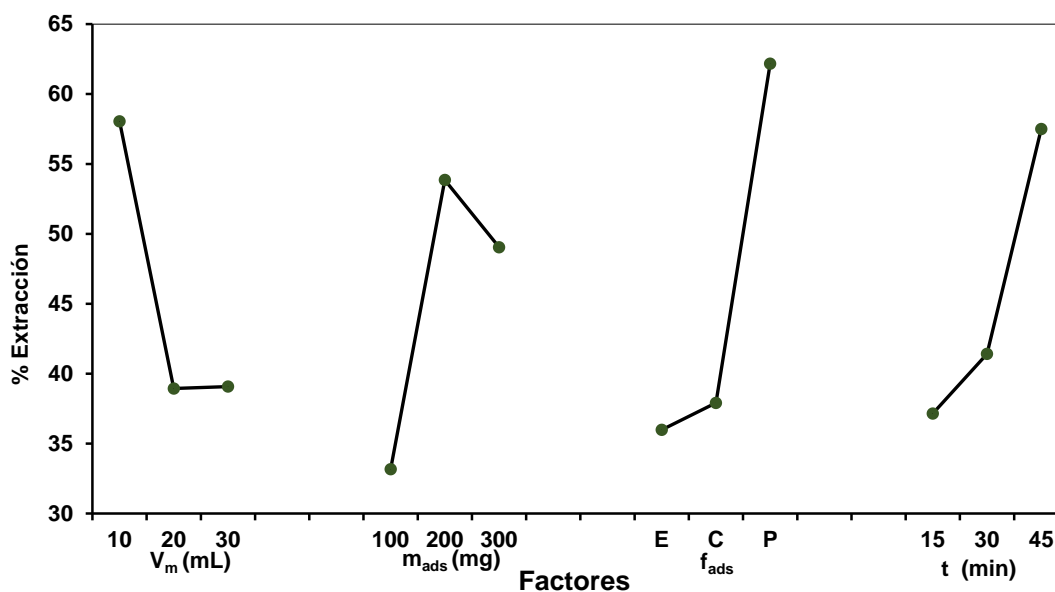


Figura 2. Gráfico de medias para los factores involucrados en la retención de tartrazina

Tabla 2. Contenido de tartrazina (media y %DER, n=3) en muestras de bebidas no alcohólicas determinado por el método de análisis propuesto y HPLC (media).

Muestra	Metodología propuesta (mg L ⁻¹ , %DER, n=3)	HPLC (mg L ⁻¹)
1	19.3 (0.7)	19.8
2	36.2 (2.3)	36.5
3	30.3 (1.7)	30.7
4	30.8 (0.2)	31.2
5	9.3 (0.6)	9.5
6	22.9 (2.1)	23.3

Conclusiones

La película de carbón activado soportada en PS y papel filtro fue la fase adsorbente que proporciona las mejores condiciones para la extracción de tartrazina. Bajo las condiciones óptimas para la retención de tartrazina es posible obtener valores superiores al 95.0% de recuperación del analito en matrices acuosas y permite diseñar una metodología de análisis de tartrazina contenida en muestras de bebidas no alcohólicas obteniendo resultados de análisis precisos y exactos con una metodología más económica respecto al a la metodología oficial de análisis.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo otorgado (No. 815952) para realizar este trabajo.

Referencias

- [1] K. Yamjala, M. S. Nainar, N. R. Ramiseti. Food chemistry. **192**, 813-824 (2016).
- [2] K. Rovina, S. Siddiquee, S. M. Shaarani. Critical Reviews in Analytical Chemistry. **47**, 309-324 (2017).
- [3] E. Dinç, A. H. Aktaş, D. Baleanu, Ö. Üstündağ. Journal of food and drug analysis. **14**, 284-291 (2006)
- [4] R. Sahraei, A. Farmany, S. S. Mortazavi. Food chemistry. **138**, 1239-1242 (2013).
- [5] J. A. Rodríguez, K. A. Escamilla-Lara, A. Guevara-Lara, J. M. Miranda, M. Páez-Hernández. International journal of analytical chemistry. **291827**, (2015).
- [6] K. A. Escamilla-Lara, J. Lopez-Tellez, J. A. Rodriguez. Chemosphere. **13159** (2023).

RELEVANCIA DEL POTENCIAL ZETA EN LA OPTIMIZACIÓN DE FORMULACIONES DE TOALLITAS DESINFECTANTES COMERCIALES

Marbella Ramírez Pérez^a, Romeo Villarreal Morales^a, Alejandro Rivera Hernández^a

^aGrupo AIEn - Boulevard Díaz Ordaz 1000, Privada Durango, Santa Catarina, C.P. 66150 Santa Catarina, Nuevo León, e-mail: marbella.ramirez@alen.com.mx.

Introducción

Hoy en día el uso de sanitizantes en presentación de toallitas húmedas se ha incrementado tanto en la industria como en los hogares. Las toallitas húmedas modernas desempeñan un papel importante en la prevención de la contaminación cruzada y transmisión de agentes infecciosos. Están prehumedecidas con una amplia variedad de fórmulas para limpiar y desinfectar diversos tipos de superficies.

Comúnmente, el material que constituye las toallitas posee una carga neta positiva en sus fibras, mientras que los microbios tienen una carga neta negativa. Cuando estas cargas interactúan, los microbios quedan atrapados dentro de la toallita evitando prácticamente su liberación, así como el potencial de contaminación cruzada entre superficies [1].

Ciertos procesos están fuertemente relacionados con las propiedades de la superficie textil y con sus interacciones con el medio ambiente, por ejemplo, procesos como el teñido, abrillantado, de suavizado, operaciones de acabado y/o de rendimiento. Se puede utilizar la medición del potencial zeta de la superficie para controlar y caracterizar superficies sólidas como los textiles. La comprensión de las propiedades de la superficie permite su funcionalización y el desarrollo de textiles con propiedades y aplicaciones específicas [2].

El potencial zeta es la propiedad de los materiales que mide el potencial electrocinético en sistemas coloidales [3]; corresponde a la diferencia de potencial entre el medio de dispersión y la capa estacionaria unido a la partícula dispersada (Figura 1). El potencial zeta de la fibra depende de los siguientes factores: i) superficie de la fibra, según esté modificada física o químicamente y ii) medio polar en que está inmersa la fibra [4].

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar diversas toallitas sanitizantes para superficies a través de la interacción entre textil – tensoactivo de diferentes productos en el mercado. Para ello se realizó un estudio electrocinético sobre la adsorción y desorción del componente activo en los diferentes tipos de fibras.

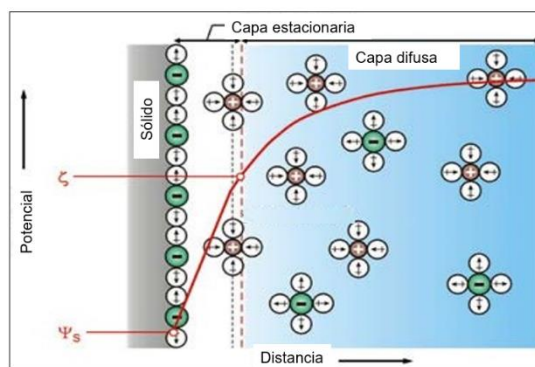


Figura 1. Modelo de la doble capa electroquímica en un interfaz sólido – líquido. (Luxbacher, 2014)

Parte Experimental

Para la evaluación del método se utilizó un estándar del componente activo, un compuesto cuaternario de amonio (QAT) de cuarta generación (mezcla de cloruros de dimetil bencil amonio, dimetil octil decil amonio, dimetil dioctil amonio y de dimetil didecil amonio) (Figura 2).

Se utilizó tela 100 % de algodón, de 0.5 a 1.5 g de muestra por análisis. Se evaluó la contribución individual de cada componente de un prototipo de fórmula desinfectante sobre la carga de la tela.

La fórmula se comparó contra 3 tipos de telas de productos en el mercado. Se utilizó agua ASTM Tipo II (RICCA) y solución electrolítica de cloruro de potasio (KCl) a una concentración de 1 mM (Sigma Aldrich). El equipo empleado fue SurPASS 3 (Anton Paar) para el análisis de las superficies.

Para el análisis y comparación de las muestras se implementó la técnica de “*streaming potential*” [2] la cual nos permite conocer el efecto de la interacción entre una superficie sólida con un analito determinado en una solución homogénea por medio del potencial zeta (Zp). Esta técnica evalúa pruebas de adsorción y desorción del analito de interés sobre la superficie. Las condiciones medidas en cada prueba se presentan en la Tabla 1:

Tabla 1. Condiciones de medición utilizadas

Parámetro	Unidad de medición
pH	----
Conductividad	mS/m
Índice de permeabilidad	*
Potencial zeta	mV

*Valor absoluto, permitido entre 90 – 110.

Desarrollo de metodología

Se colocó 1 mL de la solución de activo a una concentración de 0.445 % en 200 mL de solución electrolítica. A partir de esa cantidad de volumen se estableció el número de ciclos de análisis. Un ciclo de análisis corresponde a una medición de potencial zeta de la superficie de la tela bajo las condiciones establecidas. Un mayor número de ciclos favorece la reproducibilidad de la prueba y el equilibrio de la concentración del analito a lo largo del sistema y en la toalla. Posteriormente se seleccionó la cantidad de volumen de activo adicionado.

Las condiciones de operación utilizadas se muestran en la Tabla 2. Se seleccionaron 6 ciclos (Figura 3) y 5 mL de muestra (Figura 4). Posteriormente se analizó un estándar de

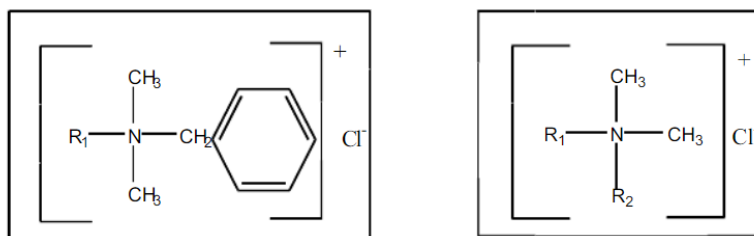


Figura 2. Cuaternarios de amonio

QAT con las condiciones optimizadas (Figura 5), en el cual se obtuvo un potencial zeta (Z_p) = 18.1 mV

Tabla 2. Optimización de condiciones de método

Id prueba	Cantidad activo (mL)	Peso muestra (g)	Índice de permeabilidad	pH	Conductividad (mS/m)	Ciclo 1	Ciclo 2	ciclo 3	ciclo 4	ciclo 5	ciclo 6
Tela con electrolito	1	0.5067	112	5.67	14.35	-12.35	-	-	-	-	-
Tela y estándar QAT 0.445 %	1		110	5.71	14.74	-12.03	-2.16	-0.031	1.09	1.86	2.31
	2		111	5.82	15.45	-0.19	5.63	7.15	7.8	8.194	8.97
	3		111	5.93	16.27	6.48	10.94	12	12.32	12.47	12.56
	4		111	5.96	16.95	11.04	14.63	15.13	15.3	15.42	15.47
	5		109	5.99	17.61	14.89	17.49	16.99	17.84	18.16	18.07
	6		110	5.97	18.27	16.62	19.72	19.05	20.04	19.18	20.26
	7		108	5.96	18.87	18.9	20.23	20.86	21.44	21.75	22.26

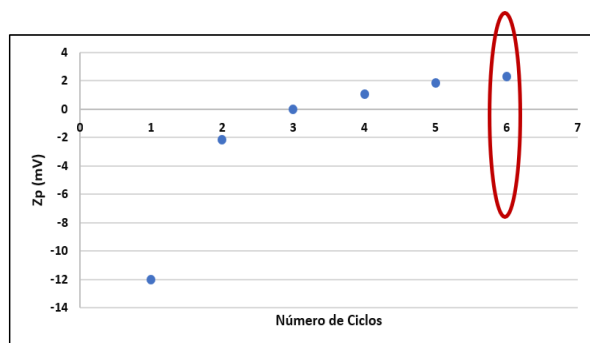


Figura 3. Optimización de número de ciclos

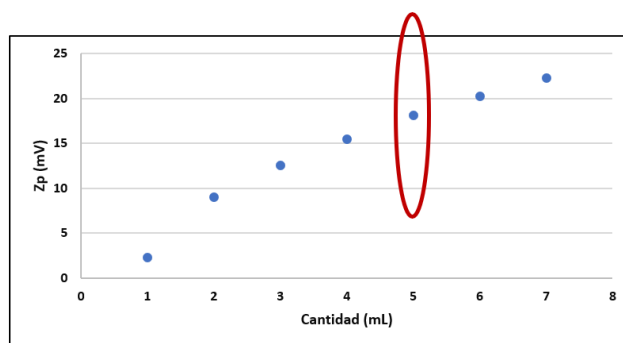


Figura 4. Optimización de volumen de activo

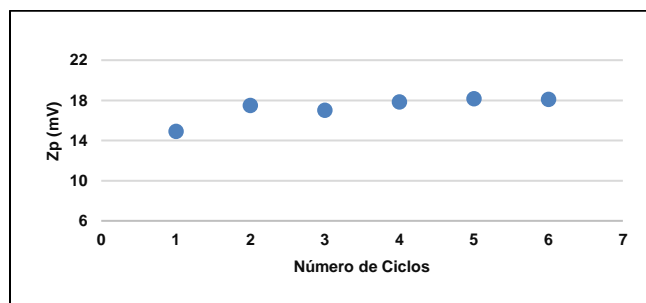


Figura 5. Análisis de estándar QAT 0.445 %, 5 mL, 6 ciclos.

Resultados y Discusión

Caracterización de formulación

Se realizó por triplicado un análisis del efecto independiente de cada componente de la fórmula propuesta sobre la tela 100 % algodón: cuaternario en agua, cuaternario en solventes utilizados, fórmula sin fragancia y fórmula completa. Se analizó también un placebo sin y con fragancia. En la Tabla 3 se muestran las condiciones del análisis.

Tabla 3. Condiciones de análisis de la formulación

Identificación	Volumen solución	Peso tela	pH	Índice de permeabilidad	Conductividad	Zeta Potential
	mL	g	-	-	mS/m	mV
Tela	N/A	0.5556	5.955	105.05	13.98	-11.37
Placebo sin fragancia	5	0.5597	9.470	101.00	17.17	-10.32
Placebo con fragancia		0.5555	8.874	92.74	16.60	-8.61
QAT y agua		0.5556	6.356	105.64	17.08	15.78
QAT y solventes		0.5578	9.025	98.67	19.84	13.12
Fórmula sin fragancia		0.5512	9.383	93.44	19.60	3.40
Fórmula con fragancia		0.5551	10.083	98.97	20.52	4.72

n ciclos = 6

QAT = compuestos cuaternarios de amonio

Placebo = fórmula prototipo evaluada sin QAT

Solventes = Mezcla de compuestos orgánicos inocuos que favorecen la integración de los ingredientes

Fórmula = prototipo evaluado (composición de carácter confidencial)

Se determinó una carga negativa para la tela de -11.37 mV como se muestra en la Figura 6. El Zp del cuaternario en agua (a la misma concentración de la formulación) fue de 15.78 mV, un resultado más alto que el de la formulación de 4.72 mV lo que indica que los otros componentes le están restando carga a la formulación.

Análisis de desorción

Se evaluó la actividad de desorción en toallitas sanitizantes de diversas marcas.

La desorción es el proceso de remover los componentes de interés de una fase estacionaria sólida. Al hacer pasar solución electrolítica a través de la tela se van desorbiendo los QAT y una serie de 5 ciclos realizados lo identificamos como “un lavado”. Este proceso se realiza con la finalidad de obtener la carga inicial de la superficie, en este caso la toallita, y la diferencia de potencial total. Este valor nos permite comparar la afinidad que presentan distintas telas utilizadas comercialmente con el analito de interés

(QAT). Esta información nos permite seleccionar el material óptimo a utilizar para este tipo de productos.

A mayor diferencia de potencial, se promoverá el proceso de adsorción/desorción del activo (QAT) y se tendrá una mayor disponibilidad del mismo en su aplicación (lo que tiene un efecto directo en su desempeño de desinfección) [5, 6].

El análisis de desorción consistió en realizar una serie de 5 lavados con solución electrolítica de KCl 1 mM. Se utilizaron 100 mL de KCl para cada lavado.

Se seleccionaron dos toallitas de competencia denominadas como marca 01 y marca 02 las cuales se compararon contra un producto desarrollado internamente marca 03.

En la Figura 7 se muestra un resumen de la comparación del análisis de desorción de cada una de las marcas evaluadas.

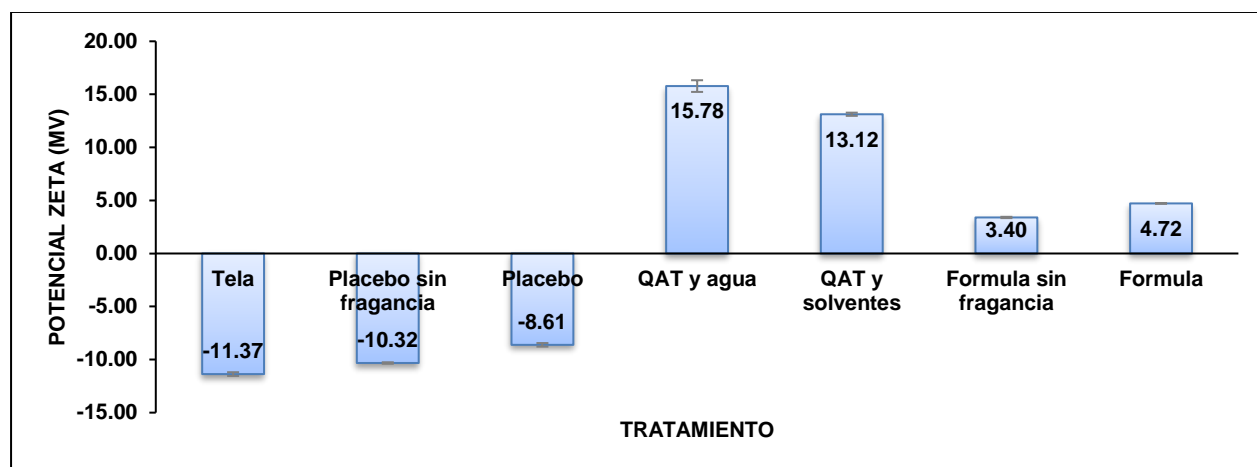


Figura 6. Resultados de la caracterización de la formulación y tela. n=6.

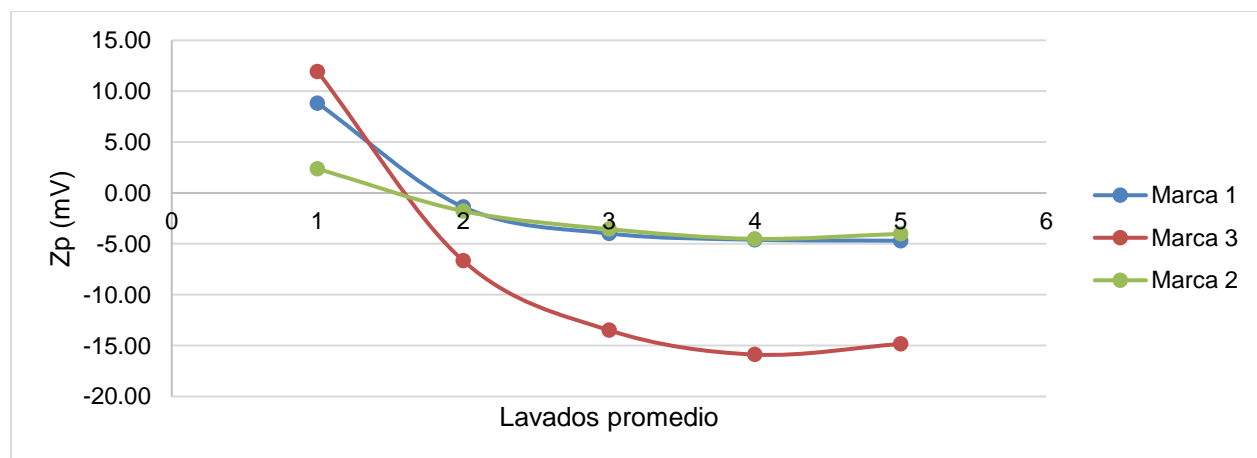


Figura 7. Resumen del análisis de desorción en Competencia

La diferencia de potencial total calculada se muestra en la Tabla 4, particularmente para la *marca 03* la diferencia de potencial fue de 26.78 este valor nos indica que la adsorción es muy buena entre fórmula – material por lo que se puede deducir que la *marca 03* presenta una mejor eficiencia de adsorción en comparación con las otras telas.

Tabla 4. Eficiencia de adsorción de las muestras Competencia

Marca comercial	Diferencia de potencial total (mV)
<i>marca 1</i>	13.52
<i>marca 2</i>	6.4
<i>marca 3</i>	26.78

Conclusiones

Se logró desarrollar un método para caracterizar la interacción entre textil – fórmula, este análisis nos permite observar en resultados medibles qué tan compatible es nuestra formulación con el material estacionario, así como el comportamiento que tendrá después de desorberse.

Se puede concluir que existe una alta interacción entre la fórmula a caracterizar con el material sorbente. Dicha fórmula presenta una eficiencia de adsorción alta, sin embargo, analizando la fórmula fraccionada se observó que otros componentes de la fórmula le pueden estar restando carga.

Referencias

- [1] 3M Commercial Solutions Division. Ciencia aplicada a la vida. Toallitas para atrapar Microorganismos. 3M DeZinnia. Estados Unidos. (2021).
- [2] T. Luxbacher. The Zeta Potential for Solid Surface Analysis. 1a ed. Anton Paar. Austria. (2014).
- [3] J. Batalla, A. Cuadros, E. San Martín-Martínez. Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Lat. Am. J. Phys. Educ.* **8(4)**, 4319-1 – 4319-7. (2014).
- [4] F. J. Carrión. Potenciales zeta del algodón en presencia de la mezcla de tensioactivos las (aniónico) con alquilpoliglucósido (no iónico). *Boletín INTEXTER (U.P.C.)*. **131(1)**, 17 – 25. (2007).
- [5] L.Ripoll, C. Bordes, P.Marote, S. Etheve, A. Elaissari, H. Fessi. Electrokinetic properties of bare or nanoparticle-functionalized textile fabrics, *Colloids and Surfaces A. Relevance of zeta potential analysis for textiles. Physicochemical and Engineering Aspects*, **(397):1**. (2012). Anton Paar GmbH.
- [6] D. Marchon, S. Mantellato, A.B. Eberhardt, R.J. Flatt. Adsorption of chemical admixtures. Indirect measurement of adsorption using zeta potential. *Science and Technology of Concrete Admixtures*. (2016). 219-256.

BIOSENSOR PARA EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTES BASADO EN LA INMOVILIZACIÓN DE LACASA EN UNA RED DE β -CD

Jorge Juárez-Gómez^{a*}, Tania Bautista-Hernández^a, Liceidy Robles-Delgado^a, Dafne Sarahia Guzmán-Hernández^b, Alberto Rojas-Hernández^a, María Teresa Ramírez-Silva^a

^a Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias básicas e ingeniería, Departamento de Química, Área de Química Analítica. e-mail: el_inge85@hotmail.com

^b CONACHYT-UAM, Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias básicas e ingeniería, Departamento de Química, Área de Química Analítica

Introducción

En química las reacciones de óxido-reducción (redox) son muy comunes. Un oxidante es definido como una especie química capaz de aceptar electrones después de la reacción redox, y un reductor es la especie química capaz de donar esos electrones, es decir, las reacciones redox no pueden suceder sin la presencia de un oxidante y un reductor. Por ejemplo, metales alcalinos como el potasio suelen ser especies químicas altamente reductoras capaces de ser oxidadas por el agua y produciendo cationes del metal ($K_{(s)} + H_2O_{(l)} \rightarrow K_{(aq)}^+ + e^-$). En los sistemas biológicos, las reacciones redox son muy importantes ya que especies oxidantes como las especies reactivas de oxígeno ($O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet-}$, etc.) son responsables de la oxidación biológica y estrés oxidativo [1,2]. Estas especies reactivas de oxígeno son capaces de oxidar paredes celulares, lípidos, proteínas, cadenas de ADN y demás moléculas tan importantes en el cuerpo humano [1-3].

Existen especies reductoras de interés biológico llamadas antioxidantes, estas especies son capaces de ser oxidadas por las especies reactivas de oxígeno antes de que oxiden a su blanco biológico, es decir, las antioxidantes de alguna manera actúan como protectores biológicos frente a especies muy reactivas [3,4]. Si bien es cierto que la presencia de especies oxidantes son necesarias para el buen funcionamiento de los sistemas biológicos, también es cierto que una concentración elevada de estas especies desencadena enfermedades como el cáncer, Alzheimer y más enfermedades neurodegenerativas [5,6]. Por esta razón, las especies antioxidantes han atraído la atención de la comunidad científica para proponer nuevos y mejores métodos para la determinación de la capacidad antioxidante y así prevenir problemas tan graves para la salud.

En la actualidad existen diversos métodos que evalúan de cierto modo la capacidad antioxidante de frutas y bebidas. Uno de los más usados es el llamado método del DPPH, el cual se basa en el uso del radical DPPH[•] que es una especie relativamente estable y se puede tener almacenada en el refrigerador de un laboratorio, éste es un método colorimétrico donde se monitorea la absorbancia del radical a 514 nm frente a diferentes concentraciones de una especie antioxidante estándar (comúnmente Trolox) y frente a una muestra real [7-10]. Por otro lado el método ORAC (oxygen radical absorbance capacity) utiliza radicales hidroxilo para acatar a la fluoresceína que presenta el fenómeno de fluorescencia la cual disminuye con el ataque de los radicales, entonces se usan

moléculas antioxidantes para protegerla y así se evalúa su capacidad antioxidante [9,11,12].

También se han propuesto biosensores electroquímicos basados en la enzima *Lacasa* y membranas de glutaraldehído [13] o alcohol polivinílico [14] para la estimación de la capacidad antioxidante de bebidas. Si bien existen más métodos para evaluar dicha capacidad de varias muestras, existe una búsqueda constante de mejoras que propongan al mismo tiempo nuevos métodos que puedan ser asequibles, simples de realizar, calibrar y validar, aunque principalmente ahorran tiempo [15-17].

En este trabajo se propone la fabricación de un nuevo biosensor amperométrico para la medida de la capacidad antioxidante en muestras reales. El biosensor se basa en la inmovilización de *Lacasa* en una red electropolimerizada de β -Ciclodextrina sobre un electrodo de carbon vitrio.

Parte Experimental

Materiales y métodos

Todos los reactivos fueron grado analítico. La enzima *Lacasa de Trametes versicolor* (LTv) 13,6 U/mg, betaciclodextrina (bCD) al 97%, metanol, ácido sulfúrico e hidroquinona (HQ) al 99% se obtuvieron de Sigma-Aldrich. Acetato de sodio al 99.5%, ácido acético al 99.7%, fosfato monobásico al 100.2%, fosfato dibásico al 99.9% todos obtenidos de J.T. Baker. Todas las soluciones acuosas se prepararon con agua desionizada ultrapura ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

Las medidas electroquímicas se realizaron en un potenciostato Epsilon BASi utilizando una celda electroquímica de tres electrodos, utilizando un electrodo de carbon vitrio como electrodo de trabajo, Ag/AgCl (3.0 M) como referencia y un alambre de platino como electrodo auxiliar.

Membrana biosensora

Antes de la electropolimerización de la biomembrana, la superficie del electrodo de carbón vitrio se limpió electroquímicamente usando voltamperometría cíclica, el electrodo fue ciclado de -500 mV a 1.6 V en H_2SO_4 0.5 M hasta tener una respuesta estable.

Después de la limpieza electroquímica, el electrodo se enjuagó con agua desionizada. Inmediatamente después, la membrana biosensora se fabricó en una disolución de bCD 6 mM, LTv 68 U/mL, preparada con buffer de fosfatos 0.05 M pH 5.0. La voltamperometría cíclica se realizó desde -1.0 V y hasta 2.0 V vs. Ag/AgCl a una velocidad de barrido de 100 mV/s durante 30 ciclos. Después, el biosensor se lavó con agua desionizada para eliminar el monómero y la enzima que no se quedó atrapada. Para estabilizar la señal del biosensor, se aplicó un potencial constante de 0.5 V vs. Ag/AgCl por alrededor de 15 minutos en buffer de acetatos. Una vez estabilizada la señal amperométrica del biosensor, se probó su respuesta haciendo adiciones sucesivas de HQ 1 y 10 mM en una celda termostatada a 25 °C y en buffer de acetatos 0.1 M pH 4.5. En la figura 1 se

presenta una representación esquemática de la membrana biosensora y su funcionamiento.

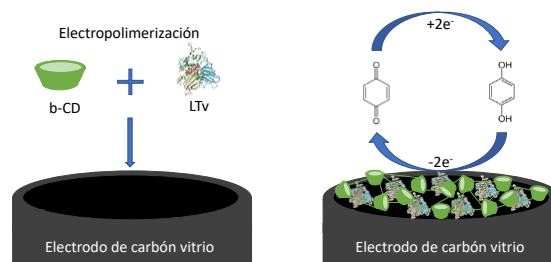


Figura 1. Representación gráfica del biosensor y su funcionamiento.

Resultados y Discusión

Electropolimerización de bCD sobre carbón vitrio

Inicialmente, el estudio se condujo en la electropolimerización de bCD sobre la superficie de un electrodo de carbón vitrio (ECV). En primer lugar, la superficie del electrodo de trabajo se limpió electroquímicamente en una disolución de H₂SO₄ 0.5 M desde un potencial de 500 mV y hasta 1.6 V a 100 mV/s por 20 ciclos. La electropolimerización de bCD fue realizada a pHs de 2, 3, 4 y 5 comenzado en un potencial de -1 V y hasta un potencial de 2 V por 30 ciclos. Los voltamperogramas cíclicos para el proceso de electropolimerización de bCD sobre el electrodo de carbón vitrio se muestran en la figura 2.

A todos los valores de pH probados se puede ver que en el primer ciclo se presenta un pico catódico (I) en aproximadamente -0.4 V. Para el cuarto ciclo se forman dos picos anódicos en 0.25 V (II) y 1.5 V (III) aproximadamente; sin embargo, el pico (II) solo se observa a pHs de 2 y 4, en cambio el pico (III) se puede observar a todos los pHs. A pH de 5 y a partir del tercer ciclo se puede ver (figura 2d) un cuarto pico catódico alrededor de -0.6 V.

La corriente de los picos incrementa en cada ciclo indicando que la membrana polimérica de bCD se está formando sobre la superficie del carbón vitrio. También se observa que la corriente incrementa rápidamente hasta el noveno ciclo y para el décimo ciclo el incremento ya es mucho menor.

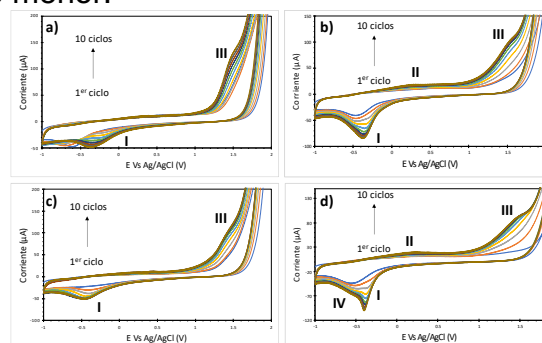


Figura 2. Voltamperogramas cíclicos de la electropolimerización de bCD sobre la superficie de un electrodo de carbón vitrio: a) pH 2, b) pH 3, c) pH 4 y d) pH 5.

Electropolimerización de la membrana sensora

El biosensor (ECV-poly β CD-LTv) fue sintetizado por la electropolimerización bCD en presencia de LTV en buffer de fosfatos pH 5 y 0.05 M, sobre la superficie de un electrodo de carbón vitrio. Se realizaron barridos de potencial desde -1 V y hasta 2 V durante 30 ciclos y los voltamperogramas cíclicos del crecimiento de la membrana sensora se muestran en la figura 3. Se pueden observar los picos típicos del proceso de electropolimerización de la bCD, esto implica que la presencia de la enzima no afecta en la formación de la membrana.

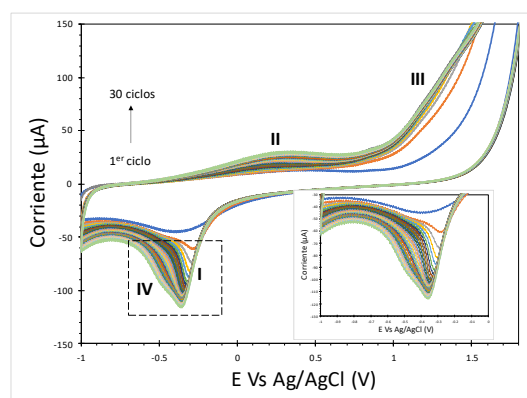


Figura 3. Voltamperogramas cíclicos de la síntesis del biosensor ECV-poly β CD-LTv.

Evaluación de biosensor

El biosensor ECV-poly β CD-LTv se probó amperométricamente en 10 mL de buffer de acetatos 0.1 M pH 4.5 en una celda termostataada a 25°C. Para estabilizar la corriente del biosensor se impuso un potencial de 0.5 V por aproximadamente 15 minutos, después el electrodo se enjuagó con agua desionizada y la solución buffer de la celda se reemplazó. Finalmente, se hicieron adiciones de HQ de concentración 1 mM y 100 mM. La respuesta amperométrica del biosensor a diferentes concentraciones de HQ se presenta en la figura 4a, se puede ver que después de transcurridos los 15 minutos necesarios para la estabilidad de la corriente en el sistema la señal amperométrica tarda en estabilizarse aproximadamente 3 minutos en cada repetición. El biosensor presenta una respuesta estable antes y después de la adicción de diferentes alícuotas de HQ de diferentes concentraciones. El tiempo de respuesta del biosensor es de aproximadamente 10 s para cada adicción.

La figura 4b muestra la respuesta amperométrica del biosensor ECV-poly β CD-LTv para adiciones sucesivas de HQ 1 mM, demostrando con esto la estabilidad amperométrica del biosensor. Finalmente en la figura 4c se presenta la curva de calibración del biosensor, esta curva presenta una linealidad de la corriente en función de la concentración de HQ desde 10 μ M.

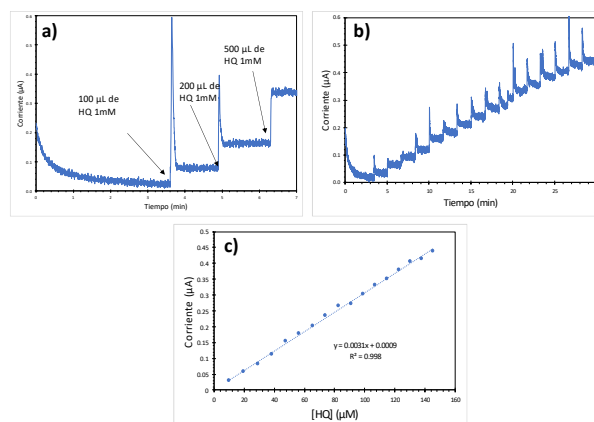


Figura 4. a) Respuesta amperométrica del biosensor ECV-poly β CD-LTv para distintas concentraciones de HQ. b) Curva de corriente vs tiempo del biosensor para adiciones sucesivas de HQ 1mM y c) Curva de calibración del biosensor.

Conclusiones

La síntesis de la membrana de bCD no se ve afectada por la presencia de LTV en el medio de reacción. La enzima LTV queda inmovilizada en la red polimérica de bCD y esto lo demuestra la señal constante de las amperometrías. El biosensor ECV-poly β CD-LTv presenta gran estabilidad en la corriente y presenta un aumento de la señal amperométrica al aumentar la concentración de HQ en el sistema. El biosensor podría ser utilizado para medir la capacidad antioxidante en muestras reales.

Agradecimientos

TBH y LRD agradecen al área de Química Analítica de la UAMI por las facilidades para realizar su servicio social. JJG, DSGH, ARH y MTRS agradecen al SNI por el estímulo recibido.

Referencias

- [1] N.J. Temple. Antioxidants and disease: More questions than answers. *Nutr. Res.* **20**, 449-459 (2000).
- [2] R.I. Shobha and B. Andallu. Oxidative stress and cancer: Role of anticarcinogenic herbs and spices. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics.* **3**, 351-369 (2013).
- [3] J. Dawson and M. Walters. Uric acid and xanthine oxidase: future therapeutic targets in the prevention of cardiovascular disease? *Br. J. Clin. Pharmacol.* **62**(6), 633-644 (2006).
- [4] D. Huang, B. Ou, R.L. Prior. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **53**(6), 1841-1856 (2005).

- [5] J. A. Sonnen, J. C. Breitner, M. A. Lovell, W. R. Markesbery, J. F. Quinn, T. J. Montine. Free radical-mediated damage to brain in Alzheimer's disease and its transgenic mouse models. *Free Radical Biol. Med.* **45**, 219-230 (2008).
- [6] A. H. K. Tsang, K. K. K. Chung. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *BBA-Mol. Basis Dis.* **1792**, 643-650 (2009).
- [7] M.S. Blois. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* **181**, 1199-1200 (1958).
- [8] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* **28**, 25-30 (1995).
- [9] S. Milardovic, D. Ivekovic, Bozidar, S. Grabaric. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochem.* **68**, 175-180 (2006).
- [10] K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, D. Hawkind-Byrne. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* **19**, 669-675 (2006).
- [11] G. Cao, H.M. Alessio, R.G. Cutler. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol. Med.* **14**, 303-311 (1993).
- [12] R.L. Prior, H. Hoang, L. Gu, X. Wu, M. Bacchiocca, L. Howard, M. Hampsch-Woodill, D. Huang, B. Ou, R. Jacob. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 3273-3279 (2003).
- [13] E. Rodríguez-Sevilla, M.T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, P. Ibarra-Escutia, M. Palomar-Pardavé. Electrochemical Quantification of the Antioxidant Capacity of Medicinal Plants Using Biosensors. *Sensors.* **14**, 14423-14439 (2014).
- [14] P. Ibarra-Escutia, J. Juárez-Gómez, C. Calas-Blanchard, J.L. Marty, M.T. Ramírez-Silva. Amperometric biosensor based on a high resolution photopolymer deposited onto a screen-printed electrode for phenolic compounds monitoring in tea infusions. *Talanta.* **81**, 1636-1642 (2010).
- [15] Z. Yu, Y. Tang, G. Cai, R. Ren, & D. Tang. Paper Electrode-Base Flexible Pressure for Point-of-Care Immunoassay with Digital Multimeter. *Analytical Chemistry.* **91**, 1222-1226 (2019).
- [16] R. Zeng, Z. Luo, L. Zhang, D. Tang. Platinum Nanozyme-Catalyzed Gas Generation for Pressure-Based Bioassay Using Polyaniline Nanowires-Functionalized Graphene Oxide Framework. *Analytical Chemistry.* **90**, 12299-12306 (2018).
- [17] Y. Lin, Q. Zhou, D. Tang, R. Niessner and D. Knopp. Signal-On Photoelectrochemical Immunoassay for Aflatoxin B₁ Based on Enzymatic Product-Etching MnO₂ Nanosheets for Dissociation of Carbon Dots. *Analytical Chemistry.* **89**, 5637-5645 (2017).

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN LA SEPARACIÓN DE 1-NAFTOL Y 2-NAFTOL POR ELECTROFORESIS CAPILAR

David Aurelio Soria^a, María Elena Páez Hernández^a, José Antonio Rodríguez Ávila^a, Irma Pérez Silva^a, Rosa Luz Camacho Mendoza^a, Salvador Pérez Estrada^a e Israel Samuel Ibarra Ortega^{a*}

^aUniversidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2216, *e-mail: israel_ibarra@uaeh.edu.mx

Introducción

El 1-naftol (1-NAP) y 2-naftol (2-NAP) son contaminantes orgánicos derivados del naftaleno (NAP), que están presentes en el ambiente como resultado de procesos industriales, biogeoquímicos, así como productos de degradación de otros compuestos [1]. En 2002 La Conferencia Americana de Higienistas Industriales estableció al 1-NAP y 2-NAP como los principales metabolitos de la exposición al NAP [2]. Investigaciones indican sobre la genotoxicidad 1-NAP, por otra parte, el 2-NAP es aún más tóxico que el 1-NAP y puede causar intoxicaciones sistémicas, afectar la circulación sanguínea y causar daños en el hígado y riñones [3]. La figura 1 muestra las estructuras de 1-NAP y 2-NAP.

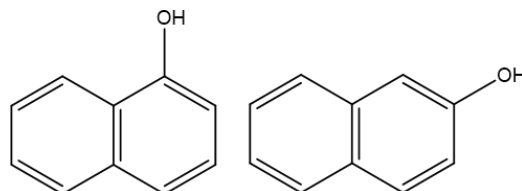


Figura 1. Estructura química del 1-naftol y 2-naftol.

Estos contaminantes son altamente persistentes, no son susceptibles a degradación biológica o química, por lo que coexisten en aguas residuales industriales y cuerpos de agua potable. Debido a su elevada toxicidad, se han desarrollado diversas metodologías analíticas para su determinación, entre las que se destacan los métodos espectrofotométricos [4,5], técnicas electroquímicas [6], cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)[7, 8, 9] y electroforesis capilar (CE) [1]. Estas metodologías han sido aplicadas en la determinación de 1-NAP y 2-NAP en muestras de agua y orina principalmente.

Desde el punto de vista químico, la cuantificación de 1-NAP y 2-NAP presenta dos principales retos; el primero es la separación de los analitos pues estos son isómeros y el segundo tiene que ver con la concentración de los analitos que se encuentran presentes en las muestras en concentraciones del orden de $\mu\text{g L}^{-1}$ [2]. De acuerdo con lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo establecer las condiciones óptimas de separación del 1-naftol y 2-naftol por electroforesis capilar y su posible incorporación a un sistema de preconcentración en línea.

Parte Experimental

Reactivos

Tetraborato de sodio (99%), hidróxido de sodio (98%) y ácido clorhídrico (36%) fueron obtenidos de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). 1-naftol (99%), 2-naftol (99%) y ácido 1-naftalenacético (99%) fueron obtenidos de Sigma (St, Lois, MO, USA).

Equipo

Los análisis se realizaron en un equipo Beckman Coulter P/ACE 5500, con detector de arreglo de diodos (DAD) a longitud de onda (λ) de 214 nm. Los datos obtenidos fueron adquiridos y analizados mediante el software P/ACE MDQ versión 2.3. Se utilizó un capilar de sílice fundida (41.7 cm x 75 μ m de diámetro interno) y un potenciómetro (modelo 450; Corning Science Products, NY, USA) para el ajustar el pH de las soluciones.

Análisis

La activación del capilar se realiza mediante el paso de una solución de NaOH 1.0 M durante 15 min, NaOH 0.1 M durante 10 min, agua desionizada durante 10 min y finalmente, 10 min de electrolito soporte.

Entre análisis se realizaban lavados del capilar en el siguiente orden: NaOH 1.0 M durante 2 min, NaOH 0.1 durante 1 min, agua desionizada durante 1 min y electrolito soporte durante 2 min. Todos los lavados se realizaron a una presión de 20 psi.

Las condiciones del análisis fueron: inyección hidrodinámica a 0.5 psi por 10 seg, voltaje de separación: 12 kV, polaridad: normal, longitud de onda: 214 nm y 7 minutos de tiempo de análisis.

Resultados y Discusión

Las separaciones electroforéticas se originan por diferencias en las movilidades electroforéticas de los analitos en un medio conductor, dicha movilidad electroforética depende de la carga, forma y tamaño, así como el voltaje aplicado durante la separación. Es por esto que, para establecer las condiciones óptimas de separación para los analitos, se evalúa la composición del electrolito soporte: efecto del pH y concentración, así como el voltaje aplicado en la separación.

Efecto del pH

El efecto del pH se evalúa en el intervalo de 8 a 11 empleando sales de boratos o fosfatos de acuerdo al pH de interés. Para realizar los experimentos, las concentraciones del 1-NAP, 2-NAP y estándar interno (ácido 1-naftalenacético) se mantienen en 10 mg L⁻¹. Condiciones de separación: Concentración de electrolito soporte = 20 mM, 18 kV a 214 nm. En la figura 2 se muestran los electroferogramas obtenidos, se observa que a valores de pH inferiores a 9, los analitos no se encuentran ionizados en un grado que permita una movilidad electroforética adecuada, por tanto, no es factible la separación. A valores de pH superiores a 10 el 1-NAP y 2-NAP se encuentran ionizados y al no haber

diferencias entre sus pesos moleculares pueden presentar la misma movilidad electroforética, es por esto que se observa una pérdida en la resolución a pH =10.5, mientras que a pH = 11 se observa el traslape de las señales analíticas. A partir de los electroferogramas se observa que la separación es factible en el intervalo de pH 9-10, sin embargo, se elige pH = 9.5 debido a la resolución proporcionada.

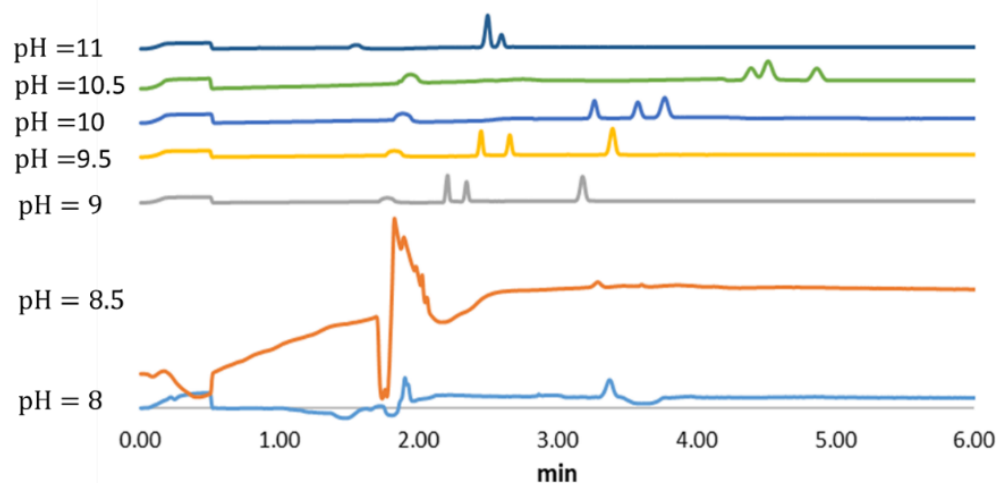


Figura 2. Electroferogramas obtenidos de la evaluación del pH de trabajo en la separación.

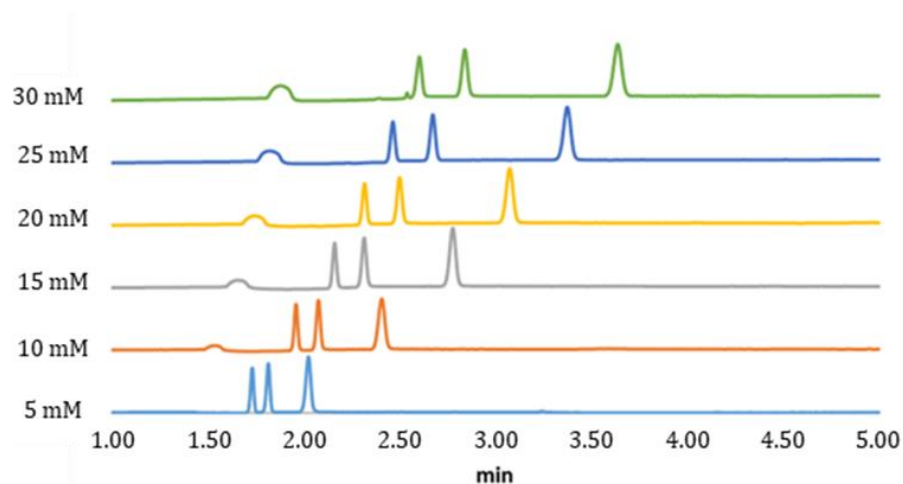


Figura 3. Electroferogramas obtenidos de la evaluación de la concentración del electrolito soporte.

Concentración de electrolito soporte

La concentración del electrolito soporte se evaluó en el intervalo de 5 a 20 mM, las condiciones fueron: pH = 9.5, 18 kV, a 214 nm, los electroferogramas obtenidos se muestran en la Figura 3.

A bajas concentraciones del electrolito soporte (5 mM) la movilidad electroforética de los analitos aumenta debido a la baja viscosidad del medio [10] y esto provoca una disminución en la resolución de la separación. Por otra parte, a partir de 10 mM la resolución en la separación es adecuada en todos los casos, sin embargo, a medida que aumenta la concentración del electrolito soporte, aumenta la viscosidad del medio y esto tiene como consecuencia una reducción en la movilidad electroforética de los analitos que se refleja en la prolongación del tiempo de análisis, así como en el incremento de la intensidad global de corriente durante la separación [10]. Es por esto que se selecciona 10 mM como concentración óptima del electrolito soporte.

Voltaje de separación

El voltaje aplicado durante la separación regula la corriente y por tanto la velocidad de migración [10], es por esto que el voltaje se evalúa en el intervalo de 8-20 kV. Conforme la Figura 4, los voltajes de 8 y 10 kV proveen de una resolución adecuada, sin embargo, se observa un ensanchamiento de pico que afecta la sensibilidad de la metodología. Por otro lado, los voltajes 12, 14 y 16 kV proveen de una resolución adecuada, no obstante, se elige 12 kV pues es el voltaje más bajo que provee de una buena resolución, evitando así los problemas de reproducibilidad asociados a la aplicación de voltajes elevados durante las separaciones electroforéticas. Finalmente, durante la aplicación de voltajes elevados (18-20 kV), la velocidad de migración aumenta reduciendo el tiempo de análisis, la desventaja es que este incremento en la velocidad de migración con lleva a la pérdida de la resolución analítica.

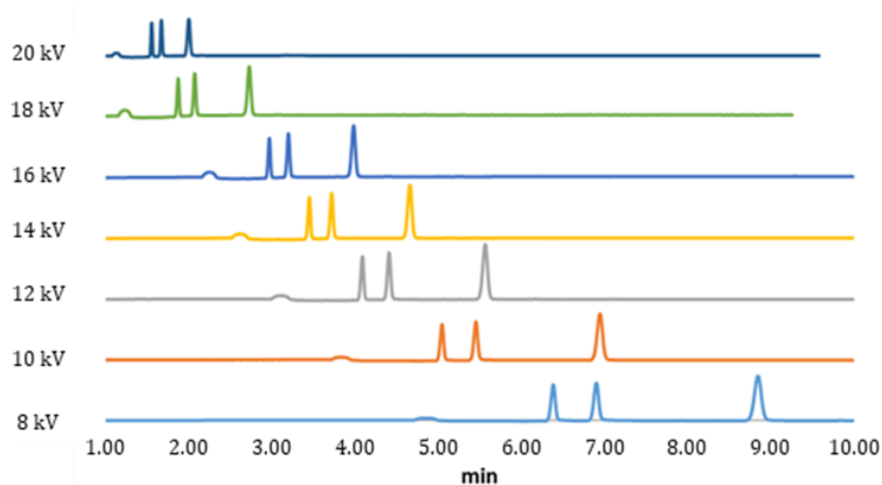


Figura 4. Electroferogramas obtenidos de la evaluación del voltaje aplicado en la separación.

Como resultado de los experimentos descritos anteriormente, se establece que las condiciones óptimas para la separación de 1-NAP y 2-NAP son: pH = 9.5, Concentración del electrolito soporte = 10 mM, 12 kV y 214 nm de longitud de onda para las determinaciones.

Identificación de las señales

Bajo las condiciones óptimas de separación se realizó la identificación de las señales a través de la sensibilidad analítica, para esto se procedió como sigue; se leyeron muestras que contenían a los analitos en diferentes concentraciones, los electroferogramas obtenidos se muestran en la figura 5.

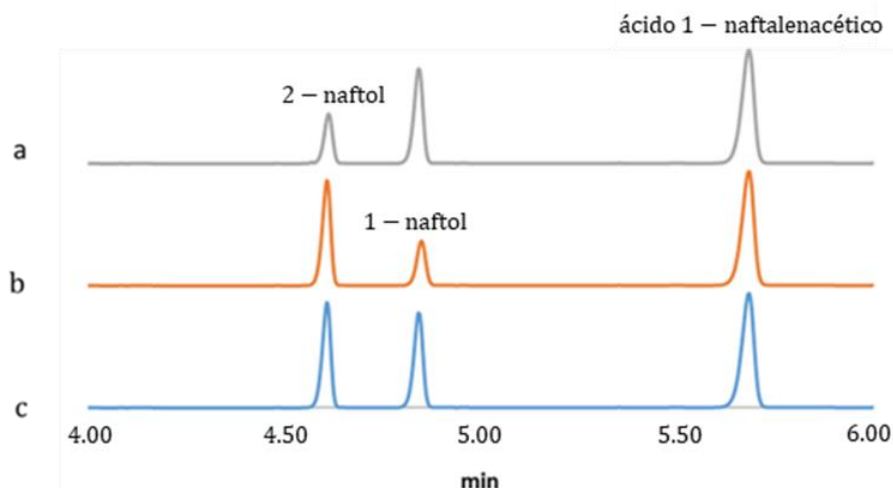


Figura 5. Electroferogramas de mezclas de 1-naftol y 2-naftol y ácido 1 -naftalenacético en diferentes concentraciones. a) 10 mg L⁻¹ 1 -naftol, 10 mg L⁻¹ 2 -naftol, 10 mg L⁻¹ ácido 1 -naftalenacético. b) 5 mg L⁻¹ 1-naftol, 10 mg L⁻¹ 2 -naftol, 10 mg L⁻¹ ácido 1-naftalenacético. c) 10 mg L⁻¹ 1-naftol, 5 mg L⁻¹ 2-naftol, 10 mg L⁻¹ ácido 1-naftalenacético.

Parámetros analíticos

Bajo las condiciones óptimas de análisis se construyó la curva de calibración para el 1-NAP y 2-NAP, el intervalo de trabajo fue de 0.10 a 20.00 mg L⁻¹, la concentración del estándar interno se mantuvo constante en 10.00 mg L⁻¹. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 3. El límite de detección (LOD) fue de 0.29 y 0.19 mg L⁻¹, mientras que el límite de cuantificación (LOQ) es de 0.91 y 0.61, para 1-NAP y 2-NAP, respectivamente. La precisión de la metodología se evaluó al determinar la repetitividad y reproducibilidad en términos del porcentaje de desviación estándar relativa (%DER) a dos niveles de concentración (5.00 y 10.00 mg L⁻¹), esto a partir del análisis por triplicado (n=3) de soluciones patrón que contenían a los analitos en concentraciones conocidas, obteniendo en todos los casos %DER menores al 10.00 % (tabla 1).

Tabla 1. Parámetros analíticos metodología CE-UV.

Analito	Pendiente	Ordenada	r^2		Intervalo Lineal (mg L ⁻¹)	
	$b_1 \pm ts(b_1)$	$b_0 \pm ts(b_0)$				
1-naftol	0.6650 ± 0.0009	0.0037 ± 0.0063	0.9998		0.9058 - 15.00	
2-naftol	0.6390 ± 0.0006	0.0032 ± 0.0042	0.9999		0.6067 - 15.00	
Analito	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	Rep (%DER)		Repr (%DER)	
			5.000 mg L ⁻¹	10.00 mg L ⁻¹	5.000 mg L ⁻¹	10.00 mg L ⁻¹
1-naftol	0.2980	0.9058	3.800	1.750	8.300	2.64
						0
2-naftol	0.1996	0.6068	4.150	1.720	7.860	3.41
						0

Conclusiones

Las condiciones óptimas de separación son: solución electrolito, [B₄O₇²⁻]= 10 mM, pH=9.5, voltaje de separación de 12 kV, longitud de onda de 214 nm, permiten la de separación de 1-NAP y 2-NAP, así como la del estándar interno (ácido 1-naftalenácetico). Conforme los parámetros analíticos se obtienen límites de detección de 0.29 y 0.19mg L⁻¹ en un intervalo lineal de 0.91 -15.00 mg L⁻¹ y 0.61-15.00 mg L⁻¹ para 1-NAP y 2-NAP respectivamente. La metodología propuesta presenta una repetitividad y reproducibilidad adecuada con %RSD < 10% en todos los casos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías CONAHCYT por las distinciones en el SNI, así como a las becas otorgadas.

Referencias

- [1] S. Zhong, S.N Tan, L. Ge, W. Wang, J. Chen. *Talanta*. **85**, 488-492 (2011)
- [2] F. Omid, F. Dehgnani, S.J. Shahtaheri. *Journal of Chromatography B*. **1160**, 122353-122360 (2020)
- [3] Q. Zhou, M. Lei, K. Zhao, Y. Liu. *Journal of Chromatography A*. **1441**, 1-7 (2016)
- [4] J. Parsons, W. Seaman, J. Woods. *Analytical Chemistry*. **27**, 21-24 (1955)
- [5] G. A. Pearse. *Analytical Chemistry*. **35**, 1954-1955 (1963)
- [6] Y. Pang, Y. Zhang, W. Li, H. Ding, X. Shen. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **769**, 89-96 (2016)
- [7] K.A. Massey, D.L. Van Egelen, I.M. Warner. *Talanta*. **42**, 1457-1463 (1995)
- [8] L.H. Wang, Y.P. Kuo. *Chromatographia*. **49**, 208-211 (1999)
- [9] Q. Zhou, G. Wang, G. Xie. *Analytical Methods*. **6**, 187-193 (2014)
- [10] S.F.Y. Li. *Capillary electrophoresis: principles, practice and applications*. Elsevier. Amsterdam (1992)

BIOSENSOR MONOENZIMÁTICO DE TRIGLICÉRIDOS BASADO EN UN SENSOR VOLTAMPEROMÉTRICO DE pH

Josué Grijalva Canales^a, Carlos Andrés Galán Vidal^{a*}, María Elena Páez Hernández^a,
Irma Pérez Silva^a, Israel Samuel Ibarra Ortega^a, José Antonio Rodríguez Ávila^a

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área Académica de Química. Ciudad de Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Col. Carboneras. 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. Tel. +52(771)7172000 + 2202. E-mail: galanv@uaeh.edu.mx.

Introducción

El pH, definido por primera vez en 1909, se ha convertido en uno de los parámetros químicos más importantes, debido a que desempeña un papel vital en una gran diversidad de procesos [1]. Desde la creación del primer sensor de pH en 1921 por Billman, se han desarrollado diversas metodologías para su medición como lo son las tiras de pH, los sensores ópticos, másicos, potenciométricos, amperométricos y voltamperométricos. Actualmente, el sensor más ampliamente utilizado para la medición del pH es el electrodo de vidrio; sin embargo, presenta ciertos inconvenientes que limitan su uso [2, 3]. En busca de nuevas alternativas, los sensores voltamperométricos presentan algunas ventajas para cumplir con esta tarea, no requieren de una calibración, son fácilmente miniaturizables y tienen un desempeño similar al del electrodo de vidrio en la evaluación del pH [4].

El principio de transducción más simple usado para el desarrollo de biosensores es la medición de un cambio de pH debido a la acción de una enzima donde el sustrato o producto de reacción está relacionado con un equilibrio ácido-base. Con esto en mente, algunos sensores de pH se han utilizado para el diseño de biosensores, como es el caso del electrodo de vidrio, el cual se ha empleado para la cuantificación de glucosa y urea por mencionar algunos ejemplos [5].

A partir de las ideas anteriormente mencionadas en el presente trabajo se presenta un nuevo biosensor monoenzimático para la cuantificación de triglicéridos empleando la enzima lipasa y un transductor voltamperométrico de pH basado en un electrodo de carbón vítreo con una membrana de polidopamina. Los triglicéridos además de cubrir importantes funciones en el organismo, cuando sus niveles son superiores a los normales, pueden desencadenar diversos padecimientos como hipertensión, diabetes y disfunción renal, entre otros [6,7].

Parte Experimental

Reactivos y soluciones

Todas las soluciones fueron preparadas con reactivos comerciales de grado analítico, sin ningún tratamiento previo; dopamina, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , CH_3COOH , H_3BO_3 , tributirina, NaOH, HCl, Nafion 5% (v/v), lipasa de *Candida rugosa* (E.C. 3. 1. 1. 3) $5.3 U \cdot mg^{-1}$ proteína, goma arábiga (Sigma-Aldrich).

La emulsión de tributirina (TB) $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, se prepara dispersando el reactivo en una solución de goma arábiga al 4 % (p/v) como emulsionante. La mezcla generada se dispersa en un baño ultrasónico por 30 minutos.

Instrumentación

Las medidas de pH se realizaron en un potenciómetro pH 510 Series Oakton con un electrodo combinado de pH. Todos los estudios voltamperométricos se llevaron a cabo con un potencióstato Autolab PGSTAT302N Metrohm mediante una celda conformada con un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un contraelectrodo de Pt y como electrodos de trabajo un electrodo de carbón vítreo (GC) con y sin modificación.

Transductor voltamperométrico de pH

El electrodo de carbón vítreo se pulió con una solución de alúmina al 1% y se enjuagó con agua desionizada (Fig. 1a), para posteriormente electropolimerizar dopamina sobre su superficie siguiendo la metodología de Amiri et. al., con algunas modificaciones [3]. Se depositaron $10 \mu\text{L}$ de Nafion sobre la superficie del GC (Fig. 1b) y se dejó secar a 40°C durante 30 minutos (Fig. 1c). Para electropolimerizar la dopamina se realizan 5 barridos consecutivos por voltamperometría cíclica en la ventana de potencial de -0.4 a $+1.5 \text{ V}$, a una velocidad de 50 mV/s en una solución 5 mM de dopamina en buffer de fosfatos (PBS) 0.1 M a pH 7 (Fig. 1d).

Una vez construido el transductor se evalúa realizando mediciones por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) en la ventana de potencial de -0.3 a $+0.8 \text{ V}$ a pH 3, 5, 7, 9 en buffer Britton-Robinson 0.05 M . Antes de cada medición se dejó que la membrana se hidratara durante un minuto.

Optimización del transductor voltamperométrico

Con el objetivo de mejorar la sensibilidad el sensor voltamperométrico de pH se realizó una optimización del proceso de electropolimerización mediante un diseño Taguchi L_9 (3^3) donde la variable a optimizar fue la pendiente de la curva de calibración. Con el dispositivo optimizado se determinaron los parámetros analíticos: intervalo lineal, sensibilidad, reproducibilidad, repetitividad, precisión y exactitud contrastando el desempeño contra un electrodo de vidrio, incluyendo al análisis de muestras de bebidas comerciales.

Biosensor de triglicéridos

El biosensor se construyó a partir del traductor voltamperométrico de pH en las condiciones optimizadas. Una vez construido este transductor, se agregaron $20 \mu\text{L}$ de un coctel enzimático (Fig. 1e), compuesto por la mezcla de $110 \mu\text{L}$ de buffer PBS 1 mM , $30 \mu\text{L}$ de Nafion al 5% y 1.9 mg de lipasa y se dejó secar a temperatura ambiente durante 20 minutos (Fig. 1f). El biosensor desarrollado fue evaluado mediante curvas de calibración con soluciones estándar de TB a pH = 7.5 en buffer de fosfatos con goma arábiga al 4%.

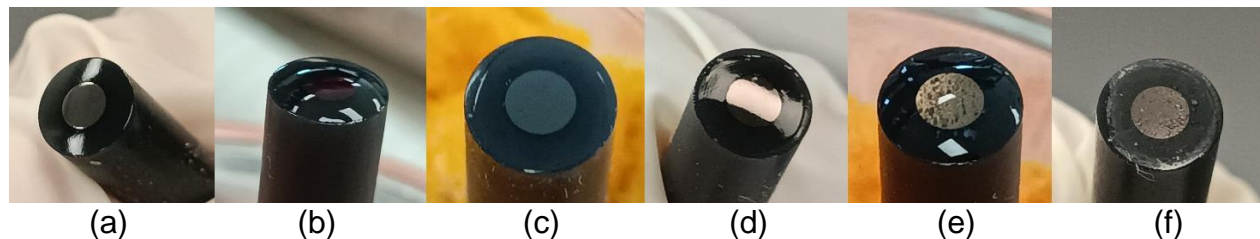


Figura 1. Construcción del transductor voltamperométrico de pH y del biosensor de triglicéridos. a) Electrodo de carbón vítreo pulido. b) Adición de 10 μ L de Nafion al 5% al electrodo de carbón vítreo. c) Membrana de Nafion depositada. d) Transductor voltamperométrico de pH: polidopamina presente en el electrodo con Nafion. e) Adición de 20 μ L del coctel enzimático. f) Biosensor de triglicéridos.

Análisis de aceite de canola comercial.

El biosensor de triglicéridos se probó en la cuantificación de triglicéridos en una muestra comercial de aceite de canola mediante curvas de adición patrón, empleando tributirina como solución estándar. Después de cada adición de la muestra o del estándar se agitó la solución durante un minuto y se esperó 14 minutos adicionales antes de realizar cada medición.

Resultados y Discusión

Con la finalidad de mejorar la sensibilidad del transductor de pH, la técnica utilizada fue voltamperometría diferencial de pulsos (DPV). La pendiente obtenida en el intervalo de pH de 3 a 9 fue de 34.4 mV/pH con buena linealidad $r^2=0.992$. Para aumentar el valor de la pendiente o sensibilidad analítica se decidió realizar una optimización del proceso de electropolimerización.

En la tabla 1 se recopila el diseño de experimentos y la pendiente obtenida en cada experimento a temperatura ambiente (20 °C). Las condiciones óptimas fueron: una concentración de dopamina de 5 mM y 5 ciclos en un intervalo de -0.4 a +1.3. Se observó que a mayor cantidad de ciclos la pendiente disminuye como se menciona en [3], mientras que el aumento en la concentración de dopamina aumenta la intensidad de las señales, pero disminuye el valor de la pendiente.

El sensor voltamperométrico de pH con Nafion en las condiciones optimizadas presenta una pendiente nernstiana de 61.0 mV/pH \pm 1.6 mV/pH, que indica la transferencia de dos protones y dos electrones. Se obtiene una buena linealidad en el intervalo de 0.5 a 13.0 de pH, una excelente repetitividad de la pendiente con una desviación estándar relativa (RSD) de 1.8% (3 transductores diferentes, mismo día), buena reproducibilidad de la pendiente (RSD=3.8%) (3 transductores diferentes, diferentes días) y una buena reproducibilidad en el proceso de construcción con RSD=2.7% en el valor de la pendiente (6 transductores diferentes).

Tabla 1. Diseño Taguchi L₉ para la optimización del sensor voltamperométrico de pH.

Experimento	Factores			Respuesta
	A: Concentración de dopamina (mM)	B: Número de ciclos	C: Intervalo de potencial	Sensibilidad (mV/pH)
1	5	5	[-0.4 a +1.3]	47.0
6	5	10	[-0.4 a +1.4]	35.5
4	5	15	[-0.4 a +1.5]	30.4
8	7.5	5	[-0.4 a +1.4]	31.4
3	7.5	10	[-0.4 a +1.5]	32.3
5	7.5	15	[-0.4 a +1.3]	34.8
9	10	5	[-0.4 a +1.5]	26.8
7	10	10	[-0.4 a +1.3]	35.5
2	10	15	[-0.4 a +1.4]	29.7

En la figura 2a se presentan los voltamperogramas diferenciales de pulso a diferentes pH, se observa como los potenciales de oxidación de la polidopamina se desplazan hacia potenciales menores con el aumento de pH, así como una disminución en la intensidad de las señales con este mismo aumento de pH. En la figura 2b se observa una curva de calibración a partir de los potenciales de oxidación de la polidopamina.

En la tabla 2 se recopilan los promedios de mediciones por triplicado del pH en bebidas comerciales con el sensor desarrollado y del electrodo de vidrio. Un análisis de comparación de medias t de student ($p \leq 0.05$) revela que no existen diferencias significativas entre el pH promedio obtenido con el transductor voltamperométrico en comparación con el electrodo de vidrio. Mientras que la precisión del sensor en las mediciones por triplicado tuvo una RSD menor al 3%.

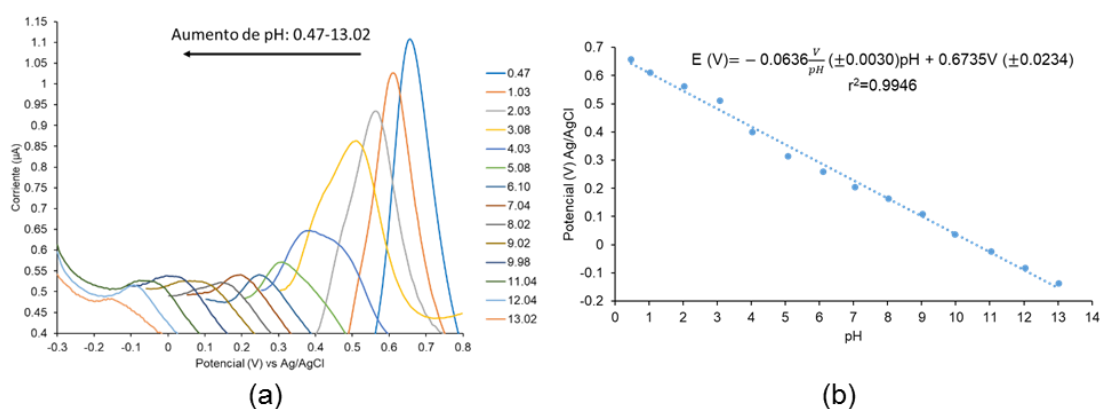


Figura 2. Transductor voltamperométrico de pH. a) Voltamperogramas diferenciales de pulso a diferentes valores de pH 0.47-13.02 en buffer Britton-Robinson 0.05M (step: 005V; Modulation amplitude: 0.025V; Modulation time: 0.05s; Interval time: 0.5s). b) Curva de calibración del sensor voltamperométrico de pH con polidopamina y Nafion a partir de las señales de oxidación de la polidopamina a diferentes pH.

Tabla 2. Mediciones pH en muestras comerciales.

Muestra	pH de electrodo de vidrio	Sensor voltamperométrico de pH desarrollado	Error absoluto
Jugo de manzana	3.02 (± 0.02)	2.93 (± 0.06)	-0.09
Bebida rehidratante	3.49 (± 0.03)	3.40 (± 0.10)	-0.09
Suero rehidratante	3.98 (± 0.01)	4.10 (± 0.10)	+0.12

El principio de traducción empleado para el diseño de este biosensor se basa en un cambio de pH. En este caso, la lipasa hidroliza los triglicéridos para formar una molécula de glicerol y liberar tres ácidos carboxílicos, los cuales disminuyen el pH de la solución, de esta manera a mayor concentración de triglicéridos se produce una disminución mucho mayor del pH. El transductor voltamperométrico detecta este cambio de pH debido a que los potenciales de oxidación de la polidopamina se desplazan hacia potenciales mayores con el aumento de la concentración de triglicéridos (TB como estándar) como se muestra en la figura 3a. De esta manera se pueden cuantificar los triglicéridos.

Con la finalidad de aumentar la selectividad del biosensor, se decidió seguir en el biosensor la señal de oxidación de la polidopamina que se ubica aproximadamente a -0.1 V a pH 7. Esta señal presenta igualmente un comportamiento nernstiano de 58.9 mV/pH, lo que sugiere la transferencia de un número igual de protones y electrones, con buena linealidad $r^2=0.999$ en un intervalo de pH de 3 a 7.

En la figura 3b se muestra una curva de calibración de triglicéridos empleando TB como estándar, donde se observa una buena linealidad en un rango de concentración de 0.17 a 1.32 mM. El biosensor desarrollado presenta buena reproducibilidad de la pendiente (RSD=1.3%) (3 biosensores diferentes) y fue empleado para la cuantificación de triglicéridos en una muestra de aceite de canola mediante curvas de adición patrón obteniendo una concentración de 0.96 ± 0.03 M, base trioleína, valor que es congruente con el contenido de triglicéridos en este tipo de aceite.

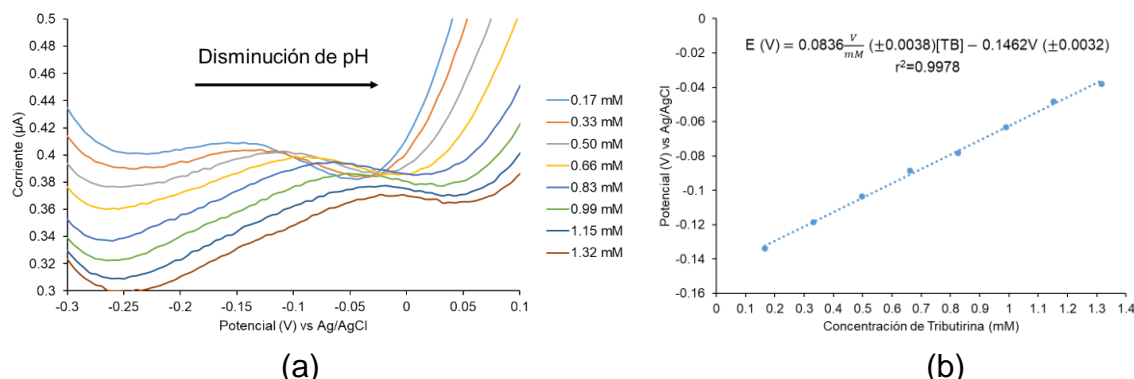


Figura 3. Biosensor de triglicéridos. a) Voltamperogramas diferenciales de pulso del biosensor (step: 005V; Modulation amplitud: 0.025V; Modulation time: 0.05s; Interval time: 0.5s). b) Curva de calibración del biosensor a diferentes concentraciones de tributirina.

Conclusiones

Se desarrolló un nuevo biosensor monoenzimático para la cuantificación de triglicéridos, empleando la enzima lipasa y un transductor voltamperométrico de pH basado en un electrodo de carbón vítreo con Nafion y polidopamina. El biosensor es simple, de fácil construcción, tiene buena reproducibilidad, trabaja en un rango de potencial cercano a cero, lo que aumenta su selectividad y es viable para la cuantificación de triglicéridos en muestras de aceites vegetales. Por otra parte, el sensor voltamperométrico de pH presenta una pendiente nernstiana de $61.0 \text{ mV/pH} \pm 1.6 \text{ mV/pH}$ que indica la transferencia de dos protones y dos electrones. Posee buena linealidad en el intervalo de 0.5 a 13.0 de pH, una excelente repetitividad y reproducibilidad de la pendiente; así como buena reproducibilidad en el proceso de construcción, y es capaz de medir el pH en muestras comerciales.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado gracias al apoyo de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y del CONAHCyT (Ref: 242677). CAGV, MEPH, IPS, ISIO y JARA agradecen al SNI-CONAHCyT la distinción otorgada. JGC agradece al CONAHCyT la beca otorgada para realizar estudios de Maestría.

Referencias

- [1] F. Vivaldi, D. Santalucia, N. Poma, A. Bonini, P. Salvo, L. Del Noce, B. Melai, A. Kirchhain, V. Kolivoška, R. Sokolová, M. Hromadová, F. Di Francesco. *Sensors and Actuators: B. Chemical*. **322**, 128650 (2020).
- [2] G. X. Tham, A. C. Fisher, R. D. Webster. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **283**, 495–503 (2019).
- [3] M. Amiri, E. Amali, A. Nematollahzadeh, H. Salehniya. *Sensors and Actuators B*. **228**, 53-58 (2016).
- [4] F. M. Rabboh, G. D. O'Neil. *Electrodes. Analytical Chemistry*. **92**, 14999–15006 (2020).
- [5] A. M. Pisoschi. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. **5**, 164 (2016).
- [6] C. S. Pundir, V. Narwal. *Biosensors and Bioelectronics*. **100**, 214–227 (2018).
- [7] F. Lang. *Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease (Vol. 1)*. Springer. Alemania. (2009).

ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE MICROMUESTRAS DEL PANEL MURAL *PAISAJE ABSTRACTO* DE RAFAEL CORONEL

Pablo Arturo Aguilar Rodríguez^a, Sandra Zetina Ocaña^b, Nuria Esturau Escofet^{a*}

^aUniversidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear, Circuito exterior s/n Circuito de la Investigación Científica, C.U. Coyoacán, 04510, CDMX. Tel.: +52 (55) 562 247 70 ext. 45648, pablo.aguilar@iquimica.unam.mx, nesturau@iquimica.unam.mx

^bUniversidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Estéticas, Laboratorio de Diagnóstico de Obras de Arte, Calle Mario de La Cueva S/N, C.U., Coyoacán, 04510 CDMX. Tel.: +52 (55) 562 275 46 ext. 220 y 292, sandra.zetina@gmail.com

Introducción

La conservación y restauración del patrimonio cultural es un campo interdisciplinario en el que la caracterización química de los materiales constitutivos es fundamental para promover la toma de decisiones que garanticen la protección y conservación eficaz de las obras. El Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC) es una iniciativa interdisciplinaria para conocer y preservar el patrimonio mexicano, uno de sus objetivos es desarrollar estrategias de caracterización de los materiales constitutivos del patrimonio cultural. Como parte de las actividades del LANCIC se analizó el panel mural *Paisaje Abstracto* expuesto en la Biblioteca Nacional de Antropología e Historia (INAH), una pieza experimental del pintor Rafael Coronel cuya composición era desconocida (figura 1).



Figura 1. Panel mural: *Paisaje Abstracto*, 1964, de Rafael Coronel Arroyo. Registro fotográfico posterior al develado y limpieza de la obra en 2013.

Se tiene registro de que en 1998 el Centro Nacional Conservación y Registro del Patrimonio Artístico Mueble veló la obra para su desmontaje. Este proceso consiste en fijar una tela de algodón (manta de cielo) con engrudo como adhesivo. En 2013, durante

los trabajos de restauración de esta obra se retiró el velado. En el reporte de restauración se menciona que al desprender el velado “... *el adhesivo se encontraba envejecido y había perdido el poder adherente...*” Después del desprendimiento de la manta de cielo se observó “... *que el engrudo ya había migrado de la tela a la capa pictórica, por lo cual la tela había perdido adherencia con la superficie de la obra, dejando grandes residuos del adhesivo en la capa pictórica...*”. En el informe se detalla que para retirar los residuos de adhesivo se empleó agua tibia, disolución de etanol-agua (50:50 %V) y una mezcla agua con un tensoactivo comercial (Canasol, 1 gota en 250 mL). Finalmente, se menciona que, en las regiones donde el agua tibia no resultaba eficiente para remover el adhesivo, se emplearon compresas de algodón remojadas en la disolución de etanol-agua para hacer migrar el engrudo de la capa pictórica a la tela.¹

Parte Experimental

Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier

Los espectros fueron obtenidos con un espectrómetro Cary 670 FTIR (Agilent Technologies). Con resolución de 4 cm⁻¹. Intervalo de trabajo de 400 a 4000 cm⁻¹. El muestreo se realizó con ATR por lo que la muestra sólida no requirió tratamiento previo. Se empleó el software Origin 8.5 para el procesamiento y análisis de los espectros.

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

Para el análisis por RMN se pesaron aproximadamente 5 mg de muestra en viales de 4 mL. Se adicionaron 0.6 mL de cloroformo deuterado (CDCl₃) con grado de deuteración 99.8 %. Posteriormente se sonicaron por cinco minutos, se extrajo el sobrenadante y se transfirió a tubos de RMN de 5 mm de diámetro. Se empleó un espectrómetro Bruker Avance III HD 700 MHz para 1H (campo magnético de 16.44 T, equipado con una sonda criogénica CPTCI (criosonda) de tres canales para 1H/13C/15N con bobina de gradientes en el eje z.

Microscopía electrónica de barrido y espectrometría por dispersión de energía de Rayos X

Las micrografías y mapeos químicos elementales fueron obtenidos con un microscopio electrónico de barrido marca Carl Zeiss modelo EVO MA25 LSM 800 equipado con una microsonda QUANTAX EDS X-Flash 30 mm² en modo de presión variable con electrones retrodispersados.

Las muestras fueron incluidas en sección transversal en resina metacrílica p(dimetacrilato de tetrametileno-co-metacrilato de metilo) Struers ClaroCit Liquid y posteriormente pulidas con lijas de carburo de silicio. Las muestras en sección transversal se montaron con cinta de carbón sobre el porta muestras para promover su conductividad, además, se indujo un flujo de nitrógeno para evitar la carga electromagnética sobre la superficie.

Microscopía infrarroja por transformada de Fourier

Los análisis micro-ATR-FTIR se realizaron en secciones transversales con un microscopio Agilent Cary 620 FTIR (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.) con un detector focal de matriz plana (FPA) de 64 x 64 píxeles acoplado a un espectrómetro Agilent Cary 660 FTIR. Los datos se recopilaron con una resolución de 1,1 μm por píxel mediante un germanio y se procesaron mediante el software Agilent Pro Resolutions (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). El campo de visión fue de 70 x 70 μm . Los espectros se adquirieron en el rango espectral entre 4000 y 900 cm^{-1} , realizando 128 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} .

Resultados y Discusión

La figura 2 muestra la micrografía por electrones retrodispersados (BSE) de la sección transversal de *Paisaje Abstracto*, en la que predominan regiones esféricas de bajo contraste con un tamaño entre 20 y 150 μm , las cuales se encuentran incrustadas en una matriz heterogénea. Dichas esferas constituyen la matriz o el aglutinante, que está compuesta por un material orgánico debido a su alta presencia de C y O. Se observó la presencia de componentes inorgánicos con diferentes geometrías. Se identificó la presencia de amarillo de cadmio debido a la presencia de Cd y S en los mapeos elementales. Los contenidos de Al y Si sugieren la presencia de cargas de aluminosilicatos. La presencia de Ti se vincula al pigmento blanco titanio, que es el óxido simple TiO_2 . En la región inferior se identificó Cl y S los cuales no son atribuidos a alguna carga o pigmento inorgánico lo cual sugiere la presencia de un pigmento orgánico clorado.

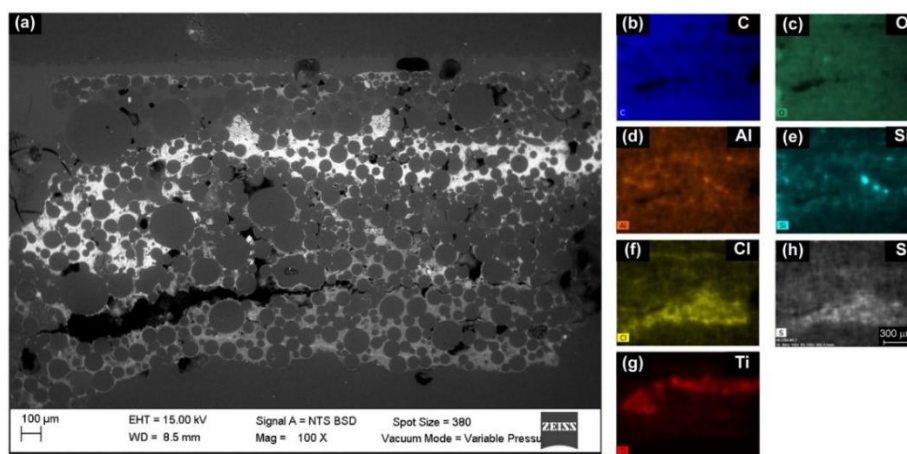


Figura 2. Micrografía SEM (BSE, 15,0 kV, 100x, área estudiada aproximadamente 3000 x 1800 μm). Mapeos elementales (EDS, 15.0 kV, 100x) de elementos predominantes: b) C, c) O, d) Al, e) Si, f) Ti, g) Cl y h) S.

La estructura de los principales compuestos orgánicos presentes en la muestra de Paisaje Abstracto fue elucidada mediante espectros monodimensionales (^1H y ^{13}C) y bidimensionales (COSY, ed-HSQC y HMBC) de RMN. Los espectros COSY permitieron

identificar correlaciones homonucleares entre hidrógenos vecinales separados por dos o tres enlaces. El HSQC se utilizó para determinar las correlaciones entre el hidrógeno unido directamente a los átomos de carbono. Además, fue posible diferenciar entre los grupos CH/CH₃ y CH₂ gracias a que se adquirieron HSQC editados. El HMBC muestra correlaciones heteronucleares entre átomos de hidrógeno y carbono separados por dos, tres y, a veces en sistemas conjugados, cuatro enlaces de distancia, lo que cual brinda información de la conectividad de la molécula. Con esta combinación de experimentos fue posible identificar el pigmento orgánico vat red 1, 1-octanol, peróxido de benzoilo y dibutilftalato como aditivos, pMMA como aglutinante así como su respectivo monómero.

En la figura 3 se muestra el espectro ¹H-RMN con los compuestos orgánicos identificados. Resalta la presencia de poli(metacrilato de metilo) (pMMA) ya que en recubrimientos acrílicos de uso artístico no es común su uso como homopolímero, usualmente el monómero de metacrilato de metilo es copolimerizado con monómeros como acrilato de etilo o acrilato de n-butilo para modificar sus propiedades físicas como temperatura de transición vítrea y viscosidad. Se identificó también la presencia del monómero del pMMA y del peróxido de benzoilo el cual es empelado como iniciador en la polimerización radicalaria, lo cual sugiere la polimerización *in situ* de aglutinante en la obra.

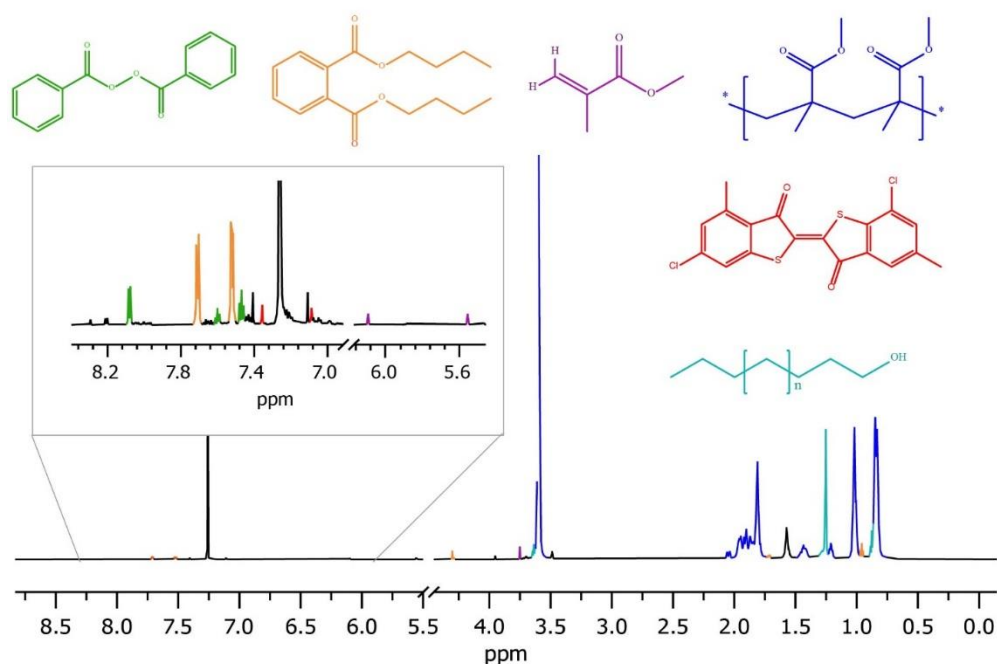


Figura 3. Espectros de ¹H-NMR (700 MHz, CDCl₃) de una micromuestra de *Paisaje Abstracto*. Se indican las estructuras identificadas mediante el siguiente código de color: aglutinante acrílico (azul), monómero MMA (violeta), catalizador (verde), plastificante (naranja), aditivo (cian) y pigmento PR181 (rojo).

Para esclarecer la composición de las regiones circulares como esferas observadas por SEM-EDS, se realizó un mapeo por micro-ATR-FTIR de la sección transversal de la muestra. La figura 4a muestra la imagen del microscopio óptico de la región mapeada y la figura 4b muestra el mapa químico obtenido al integrar las bandas en 2860 a 3040 cm^{-1} . La figura 4c muestra los espectros apilados de: micro-ATR-FTIR de la sección transversal de la muestra (indicados en la figura 4b) y los espectros de ATR-FTIR obtenidos de la superficie de la muestra. El mapa químico de la figura 4b confirma que las esferas están compuestas principalmente por pMMA, tanto en su superficie como en su interior, lo cual sugiere el empleo de pMMA prepolimerizado como parte del aglutinante de la obra.

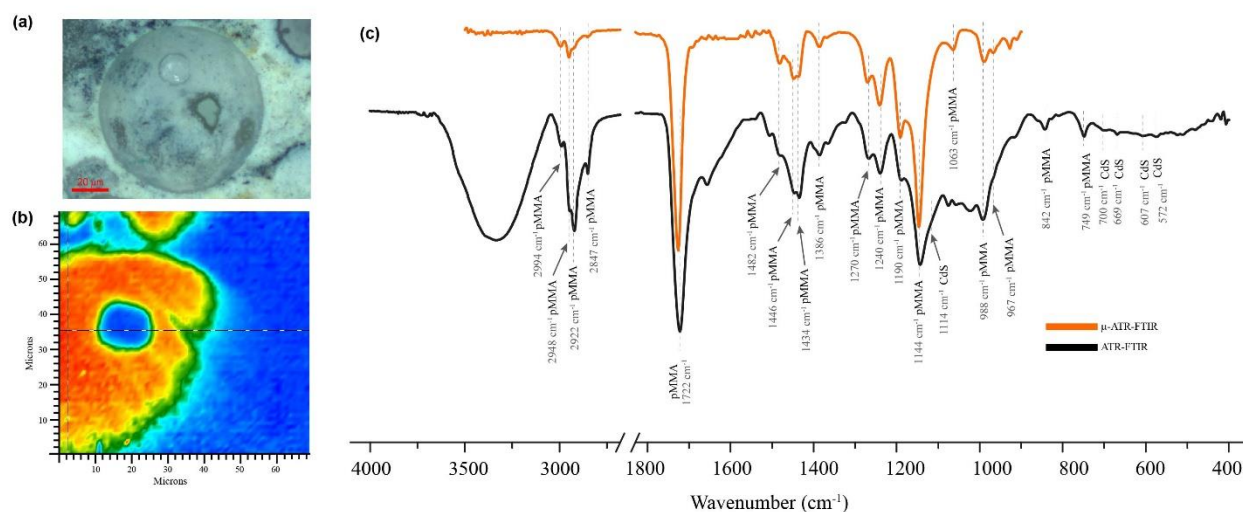


Figura 4. Micrografía transversal de la muestra amarilla de la capa aislada: a) imagen microscópica visible, b) mapa químico que muestra la intensidad de los picos de absorbancia a 2860 a 3040 cm^{-1} , c) comparación entre ATR-FTIR (línea oscura) y Espectros de micro-ATR-FTIR obtenidos de la región resaltada en una imagen en falso color (línea naranja).

La falta de aditivos orgánicos e inorgánicos sugiere que para este mural Rafael Coronel fabricó su propia pintura, al mezclar metacrilato de metilo, poli(metacrilato de metilo) prepolimerizado, peróxido de benzoilo, cargas de aluminosilicato, aditivos y pigmentos orgánicos e inorgánicos. Con base en los compuestos orgánicos identificados por RMN, se propone que Coronel manufacturó *Paisaje Abstracto* con un método similar a la fabricación de prótesis dentales patentado por Kulzer a mediados de la década de 1930. La identificación de 1-octanol apoya esta hipótesis ya que Bayer Ag patentó su uso ortodóntico en la producción de prótesis quirúrgicas o dentales y reparaciones dentales en 1952 [2].

El aumento de la proporción de poli(metacrilato de metilo) prepolimerizado y del monómero de metacrilato de metilo (pMMA/MMA) empleado por Coronel en *Paisaje Abstracto* podría explicar la formación de esferas de pMMA. Al disminuir la miscibilidad

del pMMA en el monómero se podría inhibir la transferencia de cadena del monómero radicalario al pMMA prepolimerizado embebiendo así las partículas de pMMA prepolimerizado. [3,4] La modificación en la proporción de pMMA/MMA podría afectar las propiedades mecánicas de la pintura, especialmente la resistencia a la compresión, el límite elástico y el módulo de compresión [5,6].

Conclusiones

La combinación de técnicas analíticas permitió la identificación de los principales componentes orgánicos e inorgánicos presentes en *Paisaje Abstracto*. El pMMA identificado como aglutinante no es un polímero común empleado en pinturas de uso artístico, en donde comúnmente el MMA se copolimeriza con otros monómeros y se mezcla con aditivos, pigmentos y cargas inorgánicas. Las microestructuras esféricas de pMMA se observan comúnmente en el cemento acrílico de uso dental. Por lo que es, posible plantear una hipótesis de que Rafael Coronel empleó una técnica singular para realizar el mural. La caracterización del polímero sugiere una mayor proporción de pMMA/MMA que también puede haber afectado las propiedades mecánicas y de conservación del mural, lo que provoca una capa de pintura rígida que se fractura con facilidad.

Agradecimientos

PAAR. Agradece al CONAHCYT por su beca de doctorado (1022577). Este estudio hizo uso de los laboratorios de la UNAM: LANCIC en IQ-UNAM y, IIE-UNAM que son fundados por CONAHCYT [LN232619 LN260779, LN271614, LN299076, LN314846 y LN315853], y LURMN fundado por CONACYT [0224747] y UNAM. Este trabajo fue apoyado financieramente por el Proyecto IN402121 DGAPA-PAPIIT-UNAM. Agradecemos a Marisol Reyes Lezama, Everardo Tapia Mendoza, Mayra León Santiago, Beatriz Quiroz García y Martha E. García-Aguilera por la asistencia técnica. Un agradecimiento especial al Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH) que proporcionó las micromuestras y la información sobre el mural para este estudio; a Antonio Saborit, director del MNA, Patronato del Museo Nacional de Antropología, A. C.; Vanessa Fonseca y colaboradores de Proyecto de Digitalización del MNA; a Laura Filloy Nadal y conservadores del Laboratorio de Conservación del MNA; ya Gilda Elena Salgado Manzanares, coordinadora del Proyecto de Conservación de Obra Moderna y Contemporánea- MNA. Adicionalmente, agradecemos a las conservadoras Sandra María Álvarez Jacinto, Levna Alejandra Caballero Acosta, Mitzi Vania García Toribio, Lourdes Ivette Navarrete Rodríguez, Astrid Sánchez Carrasco, estudiantes de la Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía (ENCRyM-INAH), del Seminario Taller de Restauración de Obra Moderna y Contemporánea (STROMC), bajo la coordinación de Ana Lizeth Mata Delgado.

Referencias

- [1] Rita Eder Variations. Painting in Mexico during the Fifties and Sixties. In Defyng Stability, Artistic Processes in Mexico, 1952–1967; Eder, R., Ed.; UNAM: Ciudad de México, México, 2014; pp. 145–163. ISBN 978-84-15832-39-3.
- [2] BAYER AG—FARBENFABRIKEN BAYER. Improvements in or Relating to Material for Surgical or Dental Protheses and for Dental Repairs. GB714652A. 1952. Available online:<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/006121592/publication/GB714652A?q=pn%3DGB714652A> (accessed on 26 October 2022).
- [3] Samad, H.A.; Jaafar, M. Effect of Polymethyl Methacrylate (pMMA) Powder to Liquid Monomer (P/L) Ratio and Powder Molecular Weight on the Properties of pMMA Cement. *Polym. Plast Technol. Eng.* 2009, 48, 554–560.
- [4] Silikas, N.; Al-Kheraif, A.; Watts, D.C. Influence of P/L Ratio and Peroxide/Amine Concentrations on Shrinkage-Strain Kinetics during Setting of pMMA/MMA Biomaterial Formulations. *Biomaterials* 2005, 26, 197–204.
- [5] Jasper, L.E.; Deramond, H.; Mathis, J.M.; Belkoff, S.M. The Effect of Monomer-to-Powder Ratio on the Material Properties of Cranioplastic. *Bone* 1999, 25, 27S–29S.
- [6] Belkoff, S.M.; Sanders, J.C.; Jasper, L.E. The Effect of the Monomer-to-Powder Ratio on the Material Properties of Acrylic Bone Cement. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 63, 396–399.

CUANTIFICACIÓN DE BISFENOL A MEDIANTE UN ELECTRODO MODIFICADO DE CARBÓN VÍTREO CON ÓXIDO DE GRAFENO, ÓXIDOS METÁLICOS Y β -CICLODEXTRINA ELECTROPOLIMERIZADA

Begoña Aguilar Pérez^a, Carlos Andrés Galán Vidal^{a*}, Giaan Arturo Álvarez Romero^a,
María Elena Páez Hernández^a

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2202, *e-mail: galanv@uaeh.edu.mx

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud, un disruptor endocrino es una sustancia o mezcla exógena que altera las funciones del sistema endocrino y, en consecuencia, causa efectos adversos para la salud en un organismo, su descendencia o población [1]. El bisfenol A (BPA, por sus siglas en inglés) es uno de los disruptores endocrinos más utilizados, ya que a partir de él se elaboran productos de policarbonato como envases de alimentos, biberones y botellas de agua, entre otros. Ya que existen diversos productos de uso diario que se fabrican a partir del bisfenol A, el ser humano se encuentra altamente expuesto a este compuesto, ya que posee la capacidad de lixiviarse y filtrarse de los recipientes hacia los alimentos que contienen y, por consecuencia, ser ingerido [2].

El bisfenol A interactúa con receptores hormonales como el receptor de estrógenos, de andrógenos y de la hormona tiroidea; estos efectos disruptores se traducen en peligros para la salud humana, ya que afectan al sistema reproductivo, al sistema nervioso, la función metabólica, la función inmunológica, así como al crecimiento y desarrollo de la descendencia de los individuos [3]. Así, diversos países y organizaciones han implementado medidas regulatorias para limitar su uso, como es el caso de la FDA (Food and Drug Administration of the United States) y la EFSA (European Food Safety Authority) que, en 2011, establecieron la dosis diaria de ingesta tolerable en 50 μg de BPA por kg de peso corporal al día, así como el límite de migración específica en 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para materiales plásticos y recubrimientos que estén en contacto con comida [4].

Debido a la necesidad de mantener controlada la exposición al bisfenol A, el desarrollo de nuevos métodos para su detección en concentraciones traza se ha convertido en una materia importante de estudio. Las técnicas cromatográficas son métodos exactos, precisos y robustos, además de que facilitan la detección de BPA en diferentes matrices; no obstante, a menudo necesitan instrumentos costosos y pretratamientos de muestra complicados [6]. Alternativamente, se han desarrollado técnicas de detección electroquímica, las cuales poseen rapidez de análisis, bajo costo, alta sensibilidad, operación simple, buena selectividad y detección en tiempo real con posibilidad de realizar análisis in situ; por todo esto, recientemente las técnicas electroquímicas se han convertido en métodos muy atractivos para la determinación de BPA. Sin embargo, se ha observado que existe una polimerización del BPA sobre los electrodos, lo que conlleva a un decremento en la intensidad de los picos de las señales y a la pasivación del sensor utilizado [7].

Para evitar el problema expuesto surge la necesidad de modificar los electrodos con materiales que puedan mejorar sus características y, por tanto, su eficacia en los procesos de cuantificación del BPA. Uno de estos materiales es el óxido de grafeno, ya que posee amplia área específica, alta conductividad térmica y eléctrica, gran resistencia mecánica además de relativo bajo costo de producción [9]. De igual forma, las partículas de óxidos metálicos pueden depositarse fácilmente de forma electroquímica, esto, aunado a sus propiedades eléctricas y catalíticas, permite obtener un sensor electroquímico con mejor sensibilidad debido al aumento de sitios electroactivos [10]. Por otra parte, la modificación de electrodos con polímeros de β -ciclodextrina presenta características atractivas como buena conductividad, un gran número de unidades de β -ciclodextrina para formar interacciones anfitrión-huésped, así como una mejora en la selectividad, debido a que el polímero del oligosacárido formado sobre la superficie del electrodo evita la adsorción de interferentes [11].

En vista de lo anterior, en el presente trabajo se plantea la obtención de un sensor electroquímico que combine de forma sinérgica las propiedades del óxido de grafeno, la β -ciclodextrina y partículas de CuO y ZnO, que permita la determinación de bisfenol A en muestras acuosas mediante la modificación de un electrodo de carbón vítreo.

Parte Experimental

Los reactivos utilizados fueron de grado analítico y las soluciones se prepararon con agua desionizada con resistividad $\geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ (Milipore). Los estudios electroquímicos se realizaron utilizando un potencióstato-galvanostato Autolab PGSTAT 302N (Metrohm) conectado a un ordenador y controlado mediante el software Nova 2.0. La celda electroquímica se integró por tres electrodos, el de trabajo (carbón vítreo solo o modificado), un contraelectrodo (platino) y un electrodo de referencia (Ag/AgCl).

En primer lugar, se caracterizó el comportamiento electroquímico del bisfenol A (BPA) mediante voltamperometría cíclica con una solución $100 \mu\text{M}$ de BPA en buffer de fosfatos pH 7.0 (0.05 M) con KCl (0.05M). Se realizaron 30 ciclos consecutivos en sentido anódico con velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} en la ventana de potencial de -0.0 a 1.0 V.

Para llevar a cabo la modificación con los materiales propuestos el electrodo se pulió con una suspensión de alúmina al 1% con tamaño de partícula de $3 \mu\text{m}$ hasta obtener una superficie de terminado de espejo y, posteriormente, se sometió a baño ultrasónico durante 5 minutos. Se preparó una suspensión de 1 mg mL^{-1} en agua desionizada de óxido de grafeno (Sigma Aldrich con 15-20 hojas de espesor con un porcentaje de oxidación del 4-10% en los bordes) de la cual se depositó una gota de $4 \mu\text{L}$ sobre el electrodo limpio y se dejó secar durante media hora a $45 \text{ }^\circ\text{C}$. A continuación, se procedió a electrodepositar partículas de CuO y ZnO en condiciones cronoamperométricas aplicando un potencial de -1.4 V durante 60 s en una solución de CuSO_4 y ZnSO_4 (1 mM) en H_2SO_4 (0.1 M). Posteriormente, se electropolimerizó la β -ciclodextrina a partir de una solución de β -ciclodextrina (6 mM) en buffer de fosfatos de pH 5 (0.05 M) mediante voltamperometría cíclica en la ventana de potencial de -2.0 a 2.2 V realizando 5 ciclos.

Se prepararon un total de 5 modificaciones utilizando los materiales modificantes por separado, así como combinaciones de estos, como se muestra en la Tabla 1.

Una vez modificados los electrodos, se caracterizó el comportamiento del BPA sobre cada uno de ellos en una solución 100 μM de BPA en buffer fosfatos de pH 7 (0.05 M) con KCl (0.05 M) mediante voltamperometría cíclica en la ventana de potencial de 0.0 a 1.0 V.

Se realizó un diseño de experimentos de Taguchi con la finalidad de identificar las condiciones bajo las cuales se obtuviera el sensor con mayor sensibilidad. Bajo las condiciones óptimas se llevó a cabo, mediante voltamperometría cíclica, el estudio de los picos de oxidación del BPA a partir de soluciones de diferente concentración. Así mismo, se evaluó la reproducibilidad del sensor obtenido preparando de forma independiente 3 sensores bajo las mismas condiciones y evaluando la desviación estándar relativa.

Por último, se analizaron muestras reales, para lo cual se utilizó un garrafón de agua adquirido en un supermercado local. Con ayuda de unas tijeras, se tomó una muestra de 1 g y se lavó con agua, posteriormente, se depositó en un recipiente con una solución de etanol en agua desionizada al 20% v/v y se mantuvo a 60°C durante 10 días. Pasado este tiempo, se procedió a realizar la determinación del bisfenol A lixiviado de la muestra con el método desarrollado.

Resultados y Discusión

Al analizar el comportamiento del BPA sobre el electrodo modificado se obtuvo el voltamperograma mostrado en la Figura 1, en el cual se aprecia el proceso de oxidación no reversible del bisfenol A, atribuible al pico anódico en 0.56 V. De igual forma, se observa que al aumentar los ciclos el potencial de oxidación se recorrió a potenciales más positivos y el valor de corriente máximo disminuyó hasta desaparecer completamente, confirmando la pasivación del electrodo.

En la Figura 2 se puede observar la señal de oxidación del BPA obtenida sobre el electrodo de carbón vítreo sin modificar y el electrodo modificado con óxido de grafeno, β -ciclodextrina electropolimerizada, CuO y ZnO. Así mismo, en la Tabla 1 se presentan, a modo de comparación, las corrientes máximas y potenciales de oxidación del bisfenol A sobre el electrodo sin modificar, y los diferentes electrodos modificados.

Se puede observar que los electrodos modificados con óxido de grafeno y β -ciclodextrina (electrodos 2-4) presentaron una corriente de oxidación mayor en comparación con el electrodo de carbón vítreo sin modificar, lo cual se atribuye a las propiedades catalíticas y la alta conductividad eléctrica del óxido de grafeno, así como a los complejos de inclusión formados entre la β -ciclodextrina y las moléculas de BPA que favorecen el contacto del analito con el área electroactiva del electrodo, facilitando la transferencia de electrones. Por otra parte, la corriente obtenida con el electrodo con partículas de óxidos de Cu y Zn (electrodo 5) fue similar al resultado del electrodo sin modificar, debido a que, en ausencia de un material estabilizador con mayor área superficial, son difícilmente depositadas sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo. Por otra parte, al soportar

los óxidos metálicos sobre el óxido de grafeno y electropolimerizando la β -ciclodextrina sobre estos materiales (electrodo 6) se registró una corriente 25 veces mayor que el electrodo sin modificar, lo cual sugiere una alta conductividad eléctrica de las partículas de óxidos de Cu y Zn, así como al efecto sinérgico de los tres materiales

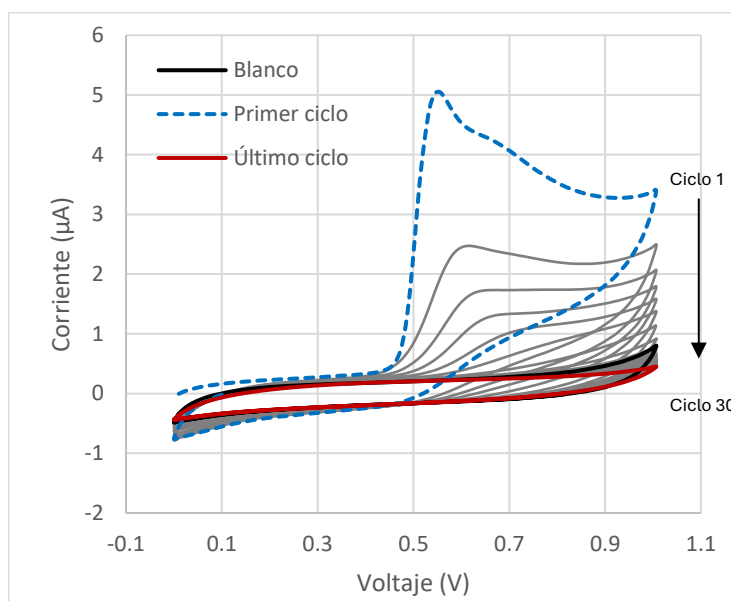


Figura 1. Voltamperometrías cíclicas sobre un electrodo de carbón vítreo de una solución de BPA (100 μM) en una solución tampón de fosfatos de pH 7.0 (0.05M) con KCl (0.05 M) 30 ciclos consecutivos en la ventana de 0.0 a 1.0 V.

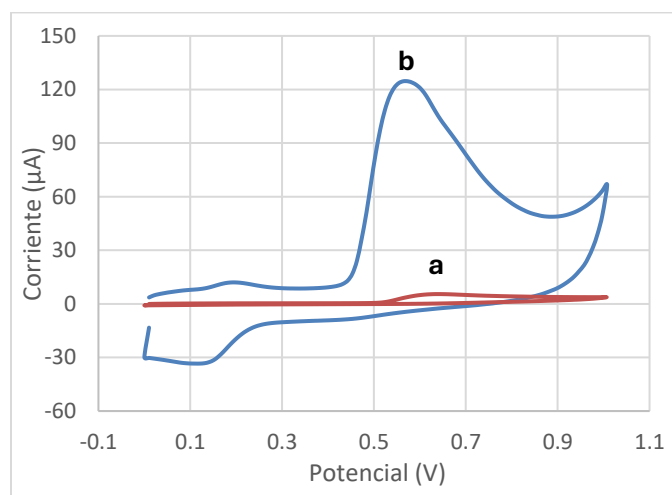


Figura 2. Voltamperometrías cíclicas de una solución de BPA (100 μM) en una solución tampón de fosfatos de pH 7.0 (0.05M) con KCl (0.05 M) en la ventana de 0.0 a 1.0 V utilizando el electrodo de carbón vítreo sin modificar (a) y modificado con óxido de grafeno, β -ciclodextrina, CuO y ZnO (b).

Tabla 1. Corrientes máximas y potenciales de oxidación del bisfenol A sobre el electrodo sin modificar y los diferentes electrodos modificados utilizando una solución de BPA (100 μM) mediante voltamperometría cíclica.

Electrodo	Materiales modificantes	Corriente de oxidación (μA)	Potencial de oxidación (V)
1	Sin modificación	4.1	0.63
2	Óxido de grafeno	28.3	0.54
3	β -ciclodextrina	22.8	0.52
4	Óxido de grafeno y β -ciclodextrina	57.02	0.55
5	CuO y ZnO	2.2	0.64
6	Óxido de grafeno, β -ciclodextrina, CuO y ZnO.	103.1	0.58

Se aplicó un diseño de Taguchi L4 tomando como factores las proporciones de los materiales modificantes utilizados para la preparación del sensor. Los resultados del diseño se muestran a continuación (Tabla 2). Al realizarse el análisis del diseño experimental se determinó que las condiciones bajo las cuales es posible obtener el sensor con la mayor sensibilidad son las correspondientes al experimento 1.

Tabla 2. Diseño experimental de Taguchi para la fabricación del sensor.

Experimento	Factores			Respuesta
	Gotas de óxido de grafeno depositadas	Concentración de CuSO_4 y ZnSO_4	Ciclos de electro-polimerización de β -ciclodextrina	Sensibilidad ($\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$)
1	1	1 mM	5	2.55
2	2	1 mM	10	0.47
3	1	2 mM	10	0.69
4	2	2 mM	5	1.33

Utilizando el electrodo obtenido bajo las condiciones óptimas se realizaron mediciones consecutivas por medio de voltamperometría cíclica utilizando soluciones de diferentes concentraciones de BPA, como se muestra en la Figura 3, tras lo cual se identificaron dos intervalos lineales: de 0.15-0.34 μM y de 0.9-6.9 μM .

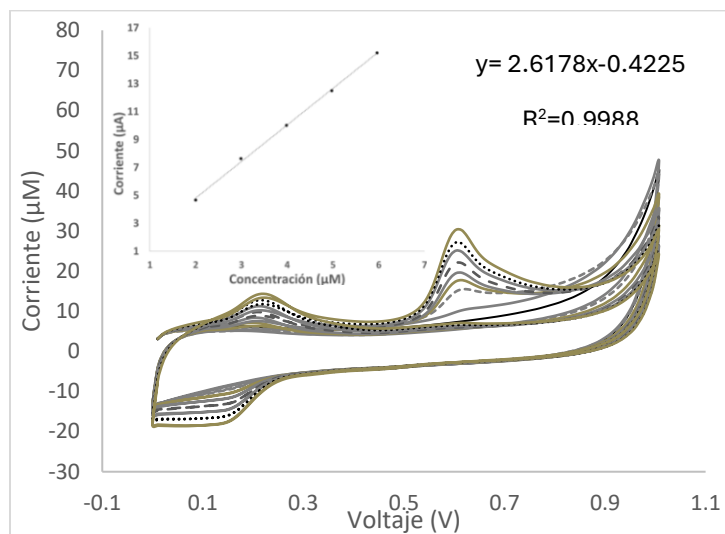


Figura 3. Voltamperometrías cíclicas de soluciones de BPA de concentraciones de 0.9 - 6.9 μM en una solución tampón de fosfatos de pH 7.0 (0.05M) con KCl (0.05 M) en la ventana de 0.0 a 1.0 V utilizando el electrodo de carbón vítreo modificado con óxido de grafeno, β -ciclodextrina, CuO y ZnO.

Al preparar tres electrodos de forma independiente se obtuvo una desviación estándar relativa (RSD) de 5.21%, lo que indica una buena reproducibilidad en el proceso de fabricación del sensor. Al utilizar el sensor en el análisis de la muestra lixiviada de BPA del envase de plástico, se detectó la presencia de BPA en una concentración de 0.25 μM ; equivalente a cubrir la dosis diaria de ingesta tolerable para una persona de 70 kg con tan solo 61 mL.

Conclusiones

El sensor electroquímico desarrollado presentó una señal de oxidación 25 veces mayor que el electrodo sin modificar.

Se obtuvieron dos rangos lineales de 0.15-0.34 μM y de 0.9-6.9 μM lo que permite la cuantificación de BPA en concentraciones suficientemente bajas para aplicar la normatividad europea. Así mismo, el sensor se utilizó de manera exitosa en la determinación de BPA en muestras reales.

Agradecimientos

BAP agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo (número: 826675) brindado para la realización del presente proyecto. CAGV, GAAR y MEPH agradecen al SNI-CONAHCyT por la distinción otorgada.

Referencias

- [1] J. J. Heindel, S. Jobling, K. A. Kidd, y R. T. Zoeller, *Endocrine Disrupting Chemicals*, p. 260, World Health Organization, Geneva, (2012)
- [2] F. Tamayo, J. Agaméz, D. Aparicio, J. Márquez, Bisfenol A y efectos de disrupción endocrina en humanos y animales: Revisión sistemática. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 175–200, (2022).
- [3] Y. Ma, H. Liu, J. Wu, L. Yuan, Y. Wang, X. Du, R. Wang, P. W. Marwa, P. Petlulu, X. Chen, y H. Zhang, The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms, *Environ. Res.*, 176, (2019).
- [4] C. Stärker y F. Welle, Migration of bisphenol a from can coatings into beverages at the end of shelf life compared to regulated test conditions, *Beverages*, 5(1), (2019).
- [5] P. Deng, Z. Xu, y. Kuang, Electrochemical determination of bisphenol A in plastic bottled drinking water and canned beverages using a molecularly imprinted chitosan-graphene composite film modified electrode, *Food Chem.*, 157, 490–497, (2014).
- [6] A. Eftekhari, M. Dalili, Z. Karimi, S. Rouhani, A. Hasanzadeh, S. Rostamnia, S. Khaksar, A. O. Idris, H. Karimi-Maleh, M. L. Yola, y T. A. M. Msagati, Sensitive and selective electrochemical detection of bisphenol A based on SBA-15 like Cu-PMO modified glassy carbon electrode, *Food Chem.*, 358, (2021).
- [7] L. Zhou, J. Wang, D. Li, Y. Li, An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples, *Food Chem.*, 162, 34–40, (2014).
- [8] S. U. Karabiberoglu, Sensitive determination of bisphenol A based on a glassy carbon electrode modified with copper oxide-zinc oxide decorated on graphene oxide, *Electroanalysis*, 30, 1-13, (2018).
- [9] X. Li, J. Li, Y. Liu, X. Zhang, J. Chen, A sensitive electrochemical immunosensor for prion detection based on poly-B-cyclodextrin/gold nanoparticles/glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 250, 1–7, (2017).

FORMACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE MICROGOTAS EN DISPOSITIVOS DE MICROFLUÍDICA PARA LA GENERACIÓN DE BIORREACTORES

Kenia Chávez-Ramos^a, Frida Trejo^a, Caheri Salas-Navarrete^a, Eva Ramón-Gallegos^b, José Esteban Muñoz-Medina^c, Luis Álvarez-Icaza^{a*}, Oscar Pilloni^{a*}, Laura Oropeza-Ramos^{d*}, Luis F. Olguín^{e*}

^a Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), C.P. 04510 CDMX, México. Tel: +52 (55) 5623 3600 ext. 8841 y 8859, e-mail: keniacr@ciencias.unam.mx, fridatc@gmail.com, csalas.navarrete@gmail.com, alvarezicaza@unam.mx, OPilloniC@iingen.unam.mx

^b Laboratorio de Citopatología Ambiental, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional (IPN), Campus Zacatenco, C.P. 07738, CDMX, México. Tel: +52 (55) 5729 6300 ext. 57880 e-mail: eramong@ipn.mx

^c Coordinación de Control Técnico de Insumos y Laboratorios Especializados, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), C.P. 07760 CDMX, México. Tel. +52 (55) 1386 9007, e-mail: eban10@hotmail.com

^d Laboratorio de Microsistemas BioMEMS y Lab on a Chip, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, C.P. 04510 CDMX, México. Tel. +52 (55) 5556223120, e-mail: oropeza.laura@gmail.com

^e Laboratorio de Biofísicoquímica y Microfluídica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), C.P. 04510 CDMX, México. Tel. +52 (55) 5622 3899 ext. 44434, e-mail: olguin.lf@gmail.com

Introducción

La microfluídica basada en gotas emerge como una fascinante disciplina que ha capturado la atención de diversos campos científicos y tecnológicos en los últimos años. Esta rama de la microfluídica permite resolución de problemas complejos en disciplinas como la química, bioquímica, biología, ciencia de materiales e ingeniería, habilitando la realización de procesos con cantidades ínfimas de reactivos. Con su capacidad para manipular fluidos en escalas micro y nanométricas, la microfluídica abre una ventana hacia un mundo de posibilidades que van más allá de lo que las técnicas convencionales permiten. La aplicación de la microfluídica en gotas es particularmente significativa en la bioquímica, donde el control preciso de reacciones a nivel microscópico permite tener un impacto dramático en la forma en que abordamos los procesos bioquímicos.

En el corazón de esta innovación se encuentra la capacidad de las microgotas para actuar como biorreactores miniaturizados. Entre algunos ejemplos de su aplicación, se tienen avances en el entendimiento de la cinética enzimática [1], la cristalización de proteínas [2], la fabricación de sistemas microfluídicos en 3D [3] y el procesamiento de muestras proteómicas [4]. La capacidad de manipular volúmenes de fluido extremadamente pequeños y realizar experimentos complejos en plataformas microfluídicas ha abierto nuevas posibilidades en la investigación y la aplicación práctica en la bioquímica.

En el presente trabajo se describe el estudio de la formación y estabilización de microgotas en la microfluídica. Utilizando microdispositivos de polidimetilsiloxano, se generaron microgotas a través del método de enfoque de flujo, encapsulando una fase acuosa en gotas monodispersas estabilizadas por una fase oleosa. La investigación reveló que la formación y estabilización exitosas dependen de la adición de un tensoactivo fluorado a la fase oleosa, y que la relación entre los caudales de entrada de las fases oleosa y acuosa influye en el tamaño y volumen de las microgotas. Además, se estudió la estabilización de las microgotas y su aplicación, como prueba de concepto, en la

realización de amplificación genética isotérmica. Derivado de esta aplicación, se denotó la importancia de la selección del marcador genético fluorescente en la estabilidad y visualización de los procesos dentro de los biorreactores.

Parte Experimental

Diseño y microfabricación de dispositivos

Se diseñaron y microfabricaron dos dispositivos diferentes. Uno de ellos consistió en un diseño de enfoque de flujo para la generación de microgotas, mientras que el segundo se trató del microdispositivo de observación para la adquisición y análisis de imágenes. Los diseños de microcanales se realizaron en el software Autodesk Fusion 360 para construir los moldes mediante un proceso de fotolitografía. Las réplicas del microdispositivo se realizaron mediante litografía suave, con una mezcla de 10:1 m/m de polidimetilsiloxano (PDMS): agente de curante. Para completar el proceso de microfabricación, los microcanales se sellaron en un portaobjetos con tratamiento de descargas de plasma una vez que fueron despegados y perforadas las entradas y salida. Montaje experimental para la formación de microgotas

En la Figura 1 se observa una representación general del montaje experimental. Se utilizaron bombas de jeringa conectadas con tubería a las entradas del microdispositivo de generación de gotas, la entrada (1) corresponde a la fase oleosa (aceite HFE7500 sin y con cierto porcentaje de tensoactivo), mientras que la entrada (2) es para la fase acuosa. Las bombas de jeringa se programaron para inyectar ambas fases en caudales en el orden de $\mu\text{L}/\text{min}$. Se empleó una cámara de alta velocidad (*Phantom MIRO M110*) para monitorear en tiempo real la formación de las microgotas, las cuales fueron recolectadas conectando la salida del microdispositivo a un microtubo.

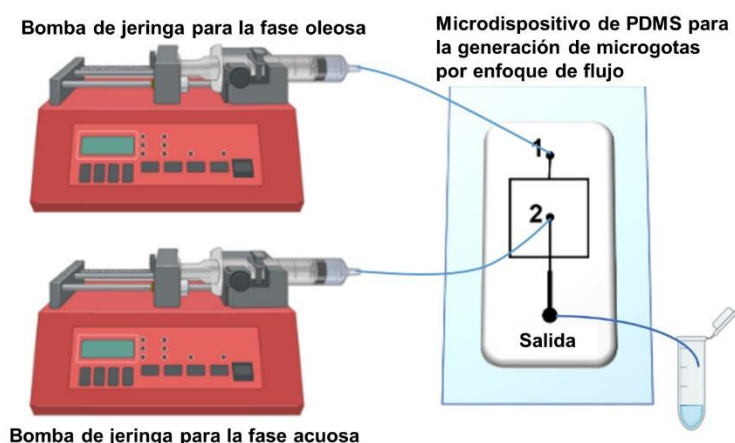


Figura 1. Montaje experimental para la formación de microgotas en un microdispositivo de PDMS por el método de enfoque de flujo empleando bombas de jeringa.

Adquisición de imágenes y análisis

Un volumen de 6 μL de microgotas fue introducido al microdispositivo de observación para la toma de fotografía en un microscopio invertido equipado con una lámpara fluorescente y un filtro. Se tomaron aproximadamente 10 fotografías de diferentes zonas del microdispositivo con un objetivo 20X, las cuales contienen aproximadamente entre 250 y 300 gotas cada una. El análisis de imágenes se realizó a través de MATLAB para obtener el diámetro de cada microgota.

Formación de microgotas al modificar la cantidad de tensoactivo

Se realizaron microgotas adicionando 0 % y 2 % de tensoactivo fluorado al aceite HFE7500, manteniendo un caudal de la fase oleosa de 5.3 $\mu\text{L}/\text{min}$ y de la fase acuosa de 2.7 $\mu\text{L}/\text{min}$. La formación de las microgotas se monitoreo a través de la cámara de alta velocidad para detectar cualquier variación en el proceso.

Influencia de los caudales de entrada en el tamaño de las microgotas

Se llevó a cabo un diseño de experimentos (DDE) factorial completo 2^3 con 1 punto central para conocer cómo el caudal de entrada afectada al diámetro de las microgotas generadas. Se seleccionaron los factores con alta posibilidad de afectar la respuesta medida asignándoles un valor alto y bajo, estos factores fueron el caudal total y la relación de caudales de entrada para la fase acuosa y oleosa, tal como se muestra en la Tabla 1. Se realizaron un total de nueve experimentos tomando fotografías de las microgotas generadas en cada uno para realizar un análisis de imágenes y obtener el diámetro promedio de las microgotas. Con el programa STATGRAPHICS se realizó un análisis estadístico para encontrar aquellos factores que influyeran de manera significativa sobre el diámetro de las microgotas.

Tabla 1. Factores estudiados y respuesta analizada para el DDE factorial completo 2^3 con 1 punto central.

Factores	Bajo	Alto	Unidades
Caudal total	6	8	$\mu\text{L}/\text{min}$
Relación de entrada fase oleosa	1	2	
Relación de entrada fase acuosa	1	2	
Respuesta	Unidad		
Diámetro	μm		

Cálculo de la frecuencia de las microgotas generadas

Se realizó un estudio detallado de la cantidad de gotas con son generadas por segundo cuando se mantiene un caudal total de formación de microgotas de 8 $\mu\text{L}/\text{min}$ (caudal fase oleosa: HFE 7500 al 2 % de 5.3 $\mu\text{L}/\text{min}$ y fase acuosa: agua destilada de 2.7 $\mu\text{L}/\text{min}$) por duplicado durante tres días diferentes. Para el conteo de generación de microgotas se posicionó el microdispositivo en un microscopio invertido equipado con una cámara de alta velocidad; se grabaron videos de 3 s de duración a 6200 cuadros por segundo (cps)

que posteriormente se analizaron para determinar el número de cps necesarios para la formación de 5 gotas ($n=10$) y así poder calcular el promedio de generación por segundo.

Encapsulación y amplificación genética dentro de las microgotas

Se preparó una mezcla maestra para llevar a cabo una reacción de amplificación genética isotérmica conocida como LAMP (Loop-Mediated Isothermal amplification). Para la detección fluorescente de la reacción en punto final se agregaron a la reacción dos tipos de marcadores fluorescentes (1) LAMP Fluorescent Dye (New England BioLabs Inc.) y (2) GelGreen® (GoBio). Se realizó la generación de microgotas para la encapsulación del material genético de interés y se recolectó por 5 min. El microtubo se incubó a 65 °C por 30 min y las microgotas resultantes se introdujeron al microdispositivo de observación para la adquisición y análisis de imágenes fluorescentes de imágenes.

Resultados y Discusión

Diseño y microfabricación de dispositivos

El diseño del microdispositivo de generación de gotas se basa en el método *flow-focusing* (enfoque de flujo, en donde la fase oleosa intercepta por los canales laterales a la fase acuosa que viaja en el canal central (Figura 2a). Las réplicas de PDMS tuvieron las siguientes medidas: altura $31.4 \pm 1.2 \mu\text{m}$; ancho del microcanal fase oleosa y fase acuosa $171.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$; ancho de la intersección $34.0 \pm 0.7 \mu\text{m}$ y ancho del microcanal de salida $497.7 \pm 2.8 \mu\text{m}$; en la Figura 2b se muestra una fotografía de la sección transversal del microdispositivo. El microdispositivo de observación se muestra en la Figura 2c. El diseño consistió en una zona cuadrada de $1 \times 1 \text{ cm}$ con una profundidad de $53.1 \pm 5.6 \mu\text{m}$ que contiene pilares circulares que previenen el colapso de microdispositivo; las microgotas introducidas en el ocupan los espacios entre los pilares.

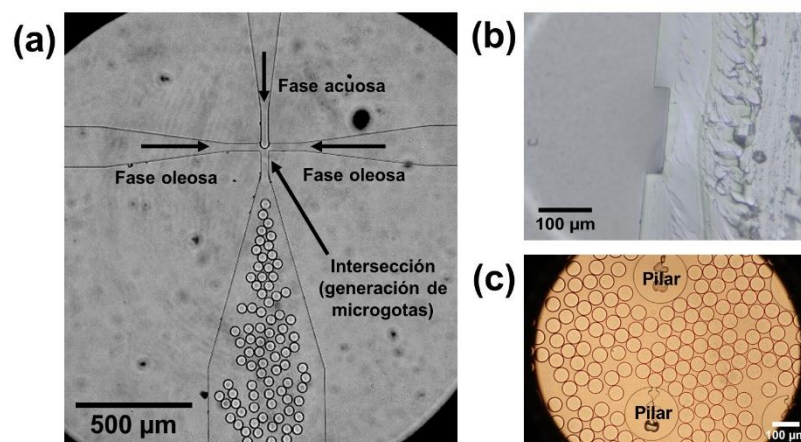


Figura 2. Microdispositivo de generación de microgotas y de observación. (a) Diseño de generación por el método de “enfoque de flujo”. (b) Imagen de la sección transversal del microcanal del microdispositivo de generación de microgotas. (c) Microgotas contenidas dentro del microdispositivo de observación.

Formación de microgotas al modificar la cantidad de tensoactivo

En la Figura 3 se observa una serie de secuencia de tres fotografías de la generación de microgotas cuando se agrega 0 % de tensoactivo al aceite HFE7500. Como se aprecia, la falta de tensoactivo provoca la coalescencia de las microgotas formadas al avanzar en el microcanal debido a su falta de estabilidad en la interfaz agua/aceite, mientras que, al agregar 2 % de tensoactivo las gotas son estables y avanzan hacia la salida del microdispositivo sin sufrir coalescencia (Figura 2a). De tal manera que se decidió trabajar con un porcentaje de tensoactivo del 2 % para realizar futuros experimentos.

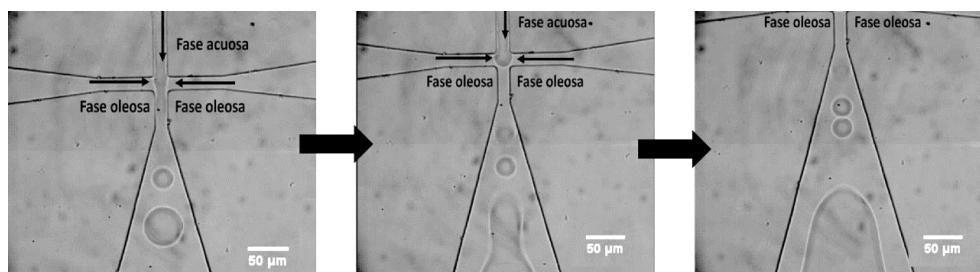


Figura 3. Secuencia de fotografías de la formación y coalescencia de las microgotas al agregar 0 % m/m de tensoactivo al aceite fluorado.

Influencia de los caudales de entrada en el tamaño de las microgotas

El tratamiento de resultados en el programa STATGRAPHICS dieron como resultado el diagrama de Pareto estandarizado para un valor de $\alpha=0.05$ (Figura 4), el cual muestra que todos los factores estudiados son estadísticamente significativos, de tal manera que, se obtendrán diámetro de gotas más pequeños al aumentar el caudal total, así como la relación de entrada de la fase oleosa, mientras que si se aumenta la relación de entrada de la fase acuosa el diámetro de la gota aumentará. Como la finalidad del trabajo es generar microgotas pequeñas que permitan una mayor rapidez al momento de realizar alguna reacción química, se seleccionaron como condiciones de trabajo un caudal de 8 $\mu\text{L}/\text{min}$, y una relación de caudales de entrada de fase oleosa:fase acuosa de 2:1, con las que se obtiene un promedio de diámetro de microgotas de 36.6 μm .

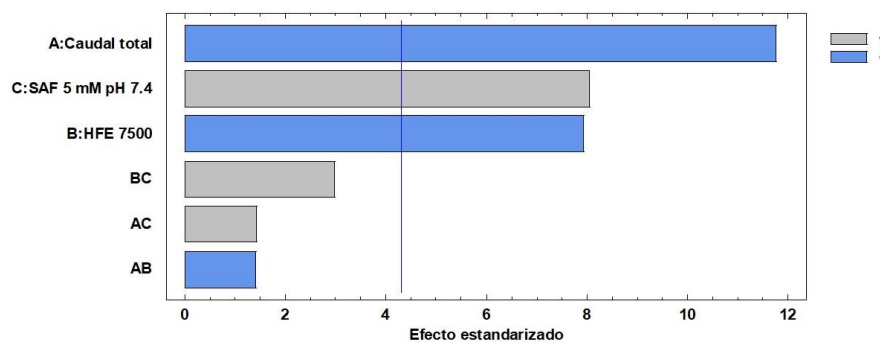


Figura 4. Diagrama de Pareto estandarizado para la formación de microgotas; la línea vertical marca el límite de decisión de un factor estadísticamente significativo con un 95 % de confianza.

Cálculo de la frecuencia de las microgotas generadas

En la Tabla 2 se presentan los resultados del promedio de la frecuencia de generación de microgotas por segundo (f) calculados dentro de un mismo día (inter-días = ID) y en diferentes días (entre-días = ED). Como se aprecia, las frecuencias se expresan en unidades de Hertz (Hz) y abarcan valores desde alrededor de 400 Hz hasta 700 Hz. A pesar de tener coeficientes de variación relativamente altos (alrededor del 20 %), se observó que el tamaño de las microgotas no se ve modificado significativamente, manteniéndose alrededor de 40 μm .

Tabla 2. Resultados de la medición de la frecuencia de generación de microgotas/segundo.

Día	f_1 (Hz)	f_2 (Hz)	f_{ID} (Hz)	Sf_{ID}	$\%CV_{ID}$
1	429	397	413	22	5
2	550	513	531	26	5
3	442	416	429	19	4
4	472	635	554	115	21
5	611	707	659	67	10
6	433	553	493	85	17
		f_{ED} (Hz)	513		
		Sf_{ED}	90		
		$\%CV_{ED}$	18		

Encapsulación y amplificación genética dentro de las microgotas

Los experimentos de amplificación genética utilizando LAMP fluorescent dye como marcador fluorescente no mostraron una correcta visualización del ADN amplificado, ya que se observó que el marcador es difundido desde la fase acuosa hacia la oleosa dificultando la visualización de los procesos ocurridos dentro de las microgotas (Figura 5a). Por su parte, al agregar GelGreen®, el marcador fluorescente se mantiene dentro de las microgotas, logrando así un buen análisis de imágenes (Figura 5b). La presencia de microgotas más fluorescentes es indicativa de una amplificación positiva del material genético de interés.

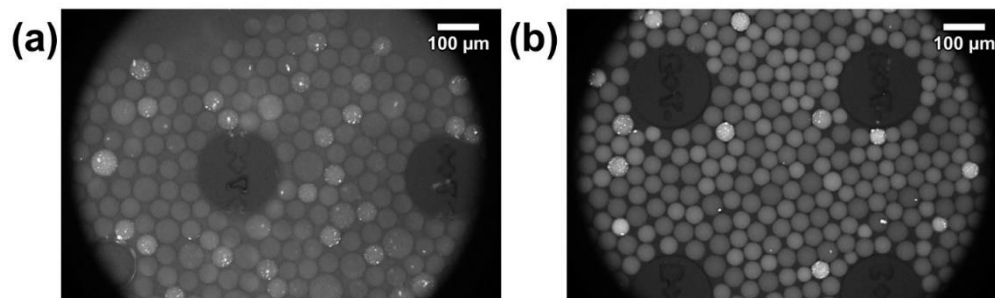


Figura 5. Fotografía de las microgotas con material genético encapsulado y amplificado por medio de una reacción LAMP. (a) empleando LAMP fluorescent dye y (b) GelGreen® como marcador fluorescente.

Conclusiones

Se diseñaron y microfabricaron microdispositivos de PDMS para la generación y análisis de microgotas, demostrando el uso de la tecnología de microgotas de microfluídica para la formación de biorreactores ultra miniaturizados. Las microgotas generadas fueron monodispersas, estables y se generaron a una alta frecuencia. Además, se demostró su aplicación como biorreactores al llevar a cabo una reacción de amplificación genética isotérmica con detección fluorescente en punto final. Por lo que, esta tecnología tiene un amplio potencial para la detección de diferentes patógenos o biomarcadores de interés médico.

Agradecimientos

Al CONAHCYT por la beca posdoctoral otorgada con No. de CVU 662463. A la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) por el proyecto SECTEI/248/2021.

Referencias

- [1] H. Song and R. Ismagilov, "Millisecond kinetics on a microfluidic chip using nanoliters of reagents," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, no. 47, pp. 14613-14619, Nov. 2003. Available: <https://dx.doi.org/10.1021/JA0354566>.
- [2] L. Li, D. Mustafi, Q. Fu, V. Tereshko, D. L. Chen, J. Tice, and R. Ismagilov, "Nanoliter microfluidic hybrid method for simultaneous screening and optimization validated with crystallization of membrane proteins," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, no. 51, pp. 19243-19248, Dec. 2006. Available: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.0607502103>.
- [3] K. C. Bhargava, B. Thompson, and N. Malmstadt, "Discrete elements for 3D microfluidics," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 111, no. 42, pp. 15013-15018, Oct. 2014. Available: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1414764111>.
- [4] V. N. Luk and A. Wheeler, "A digital microfluidic approach to proteomic sample processing," *Analytical Chemistry*, vol. 81, no. 9, pp. 3523-3528, May 2009. Available: <https://dx.doi.org/10.1021/ac900522a>.

RETO DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE MICROMUESTRAS DE PINTURA MURAL DE DAVID ALFARO SIQUEIROS

Raúl Adrián Mejía González^a, Yareli Jáidar Benavides^b, Sandra Zetina Ocaña^b, Pablo Arturo Aguilar Rodríguez^a, José Luis Ruvalcaba-Sil^c, Nuria Esturau Escofet^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, Cd. Mx. México, C.P. 04510. Tel: (+52)56224770 ext 45648-49, e-mail: amejiag@iquimica.unam.mx, pablo.aguilar@iquimica.unam.mx, nesturau@iquimica.unam.mx

^b Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Estéticas, Laboratorio de Diagnóstico de Obras de Arte, Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, Cd. Mx. México, C.P. 04510. Tel: +52 (55) 56227546-47 ext. 220 y 292, e-mail: yjaidar@gmail.com, sandra.zetina@gmail.com

^c Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Física, Av. Universidad 3000, C.U., Coyoacán, Cd. Mx. México, C.P. 04510. Tel: (55) 56225000 ext 2701 al 2706, e-mail: sil@fisica.unam.mx

Introducción

En las últimas décadas, el creciente desarrollo de la instrumentación científica ha contribuido al conocimiento del patrimonio cultural, como es la caracterización de la composición y la degradación de sus materiales constitutivos, con el fin de diseñar protocolos de restauración y conservación más adecuados. En México, una línea de investigación del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC), es el estudio de las pinturas modernas, ampliamente utilizadas en el patrimonio artístico nacional desde la década de 1930.

David Alfaro Siqueiros, uno de los artistas más importantes del periodo, promovió el uso de pinturas sintéticas, al interesarse por producir murales al aire libre, utilizó diferentes materiales industriales como pinturas acrílicas en base solvente, piroxilinas y posteriormente pinturas alquidáticas, así como acrílicas y vinílicas en base acuosa [1]. Las formulaciones de este tipo de pinturas suelen ser mezclas complejas de aglutinantes, pigmentos y aditivos. Estos componentes pueden tener interacciones entre sí y ser afectados por diferentes factores externos como la radiación solar, la humedad, los cambios de temperatura, la contaminación ambiental y la presencia de microorganismos [2].

El presente trabajo forma parte de un estudio más amplio de la caracterización de los componentes en muestras de tres murales pintados por Siqueiros en el exterior de La Tallera, la casa y taller del artista, ubicada en Cuernavaca, Morelos, México (Figura 1).

Las muestras del mural *Trazos de Composición Piramidal*, el cual, al igual que el mural *Trazos de Composición Espacial*, se restauró y reubicó junto a la entrada principal de La Tallera, tras la renovación del lugar entre 2010 y 2012. En 2017, se notaron cambios y degradación considerable, incluso los materiales utilizados para la conservación, por lo que el mural se restauró una vez más y antes de los tratamientos de conservación, especialistas del Centro Nacional de Conservación y Registro de Patrimonio Artístico Mueble (CENCROPAM) tomaron muestras para caracterizar los materiales. Debido a las condiciones climáticas de Cuernavaca y al tiempo transcurrido, la conservación del mural se ha visto comprometida, manifestándose en varios procesos de degradación.

Por otro lado, en 2011, el mural “Sin título” (mural 3) se desmanteló y se encuentra bajo resguardo del Instituto Nacional de Bellas Artes y Literatura (INBAL).



Figura 1. Museo y centro cultural “La Tallera” ubicado en la ciudad de Cuernavaca en Morelos, México. Murales que ornamentan el acceso principal del museo: *Trazos de composición piramidal* (izquierda) y *Trazos de composición espacial* (derecha) (1965-1967).

En el arte moderno, y en particular de la pintura del siglo XX, los estudios de Thomas Learner han sido referentes en las investigaciones de pinturas y aglutinantes compuestos por resinas sintéticas. En cuanto al estudio de la composición material de la obra de Siqueiros, hay trabajos de caracterización con métodos espectroscópicos donde se han identificado medios oleosos y pinturas a base de nitrocelulosa en obras creadas entre 1931 y 1949 [3]. En nuestro grupo de trabajo se ha realizado la caracterización química y los estudios de envejecimiento acelerado de las pinturas comerciales acrílicas que está registrado que Siqueiros usó entre 1950 y 1970 [4,5].

En este estudio, los materiales constituyentes de las muestras del mural *Trazos de Composición Piramidal* se identificaron a través de microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de barrido acopladas a espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (MEB-EDS), espectroscopía por reflectancia en fibra óptica (FORS), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier en modo reflectancia total atenuada (FTIR-ATR), la pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de Masas (Pi-GC/MS) y la resonancia magnética nuclear (RMN) de alta resolución, una técnica excepcional poco utilizada en este campo, para la elucidación molecular de aglutinantes, aditivos y pigmentos [6,7]. El uso combinado de estas técnicas demostró ser efectivo para un estudio en profundidad de mezclas complejas como muestras de patrimonio cultural.

Parte Experimental

Conservadores del CENCROPAM proporcionaron diversas micromuestras para el análisis.

La observación de las superficies se realizó a 20x, 50x y 100x, con un microscopio estereoscópico de alta resolución Keyence VHX-2000 (Keyence Corp., Japón).

El estudio estratigráfico se realizó en un microscopio de investigación AXIO imager Z2 (Zeiss, Alemania), con la fuente de iluminación HAL100 y con la cámara digital Axiocam 506 color. Se usó la luz en modo de reflexión con campo oscuro y polarización como técnica de contraste.

La morfología de la superficie y los mapeos elementales fueron determinados con un microscopio electrónico de barrido EVO MA25 marca ZEISS equipado con sistema de microanálisis EDS de la marca Bruker de 30mm.

Los análisis por FORS se realizaron en un espectrorradiómetro FieldSpect 4 Hi-Res (ASD Inc., EUA.) con una sonda de fibra óptica que captura la región espectral entre 350 y 2500 nm. Los espectros se adquirieron directamente sin ninguna preparación de la muestra, utilizando 64 scans y una resolución de 4 cm^{-1} .

Los espectros FTIR-ATR se adquirieron con el espectrofotómetro Cary 600 (Agilent Technologies, EUA) en modo de reflectancia con un cristal de diamante. El rango utilizado de los espectros IR fue de 4000 a 400 cm^{-1} con 4 cm^{-1} de resolución. Se adquirieron espectros de ambos lados de las escamas.

Para el análisis por RMN se utilizó aproximadamente 1 mg de cada muestra, se adicionó 0.6 mL de disolvente deuterado: cloroformo (CDCl_3) o dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$). Los experimentos se adquirieron en un equipo Bruker Avance III HD 700 MHz para ^1H (campo magnético de 16.4 T), equipado con una sonda criogénica CPTCI de tres canales para $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$. Los espectros se adquirieron a 298.0 K con las secuencias de pulsos estándar de la librería de Bruker.

Los experimentos de Pi-CG/EM se realizaron con una sonda de pirólisis CDS5250 (CDS Analytical, EUA) acoplada a un cromatógrafo de gases Agilent 7890B con columna capilar HP-5 ms, y un espectrómetro de masas Agilent 5977A (Agilent Technologies, EUA). Los fragmentos se identificaron con la biblioteca NIST v. 14.

Resultados y Discusión

En la Figura 2, se presentan las micrografías ópticas de la muestra de la capa pictórica roja junto con el análisis por MEB-EDS. En la Figura 2a se presenta la superficie pictórica roja con desprendimiento de los materiales, mientras que en la Figura 2b se observa que el reverso de la muestra tiene diversas cargas y pigmentación púrpura. En la Figura 2c se observa que la muestra está compuesta por un sistema complejo multicapa. Con los análisis a través de SEM-EDS (Figura 2d) se detectó: e) Si, f) Ti, g) Mg, h) Ca, i) Al, j) Fe, k) Cl y l) Pb, los cuales se relacionaron a las posibles cargas: CaCO_3 , MgCO_3 , silicatos y talco, y pigmentos: blanco de titanio y rojo de hierro.

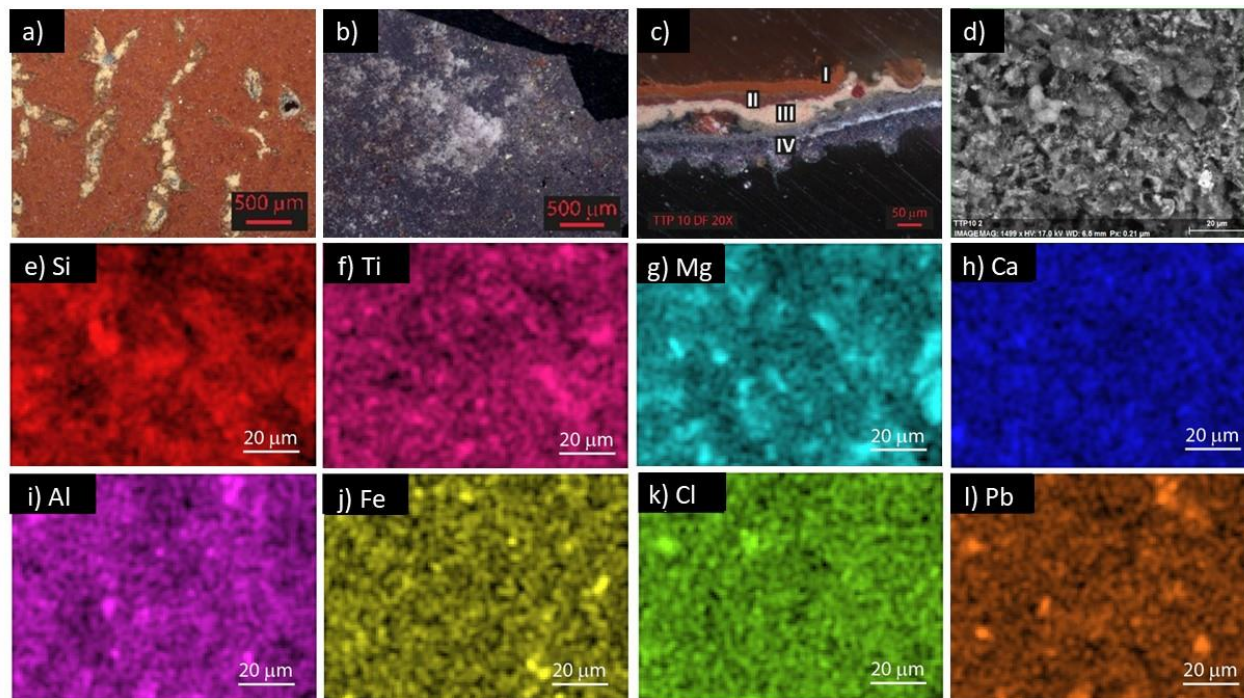


Figura 2. Micrografías de la muestra roja. Micrografía óptica de: a) capa frontal roja, b) capa reversa púrpura y c) estratigrafía de la muestra. d) Micrografía electrónica (BSE, 17.0 kV, 1500x). Mapeos (EDS, 17.0 kV, 1500x) de los elementos predominantes: e) Si, f) Ti, g) Mg, h) Ca, i) Al, j) Fe, k) Cl y l) Pb.

La espectroscopía FTIR-ATR y FORS se implementaron para identificar la composición global de los aglutinantes, cargas y pigmentos. En la Figura 3, se presentan los espectros FTIR-ATR de la capa frontal negra y la capa intermedia amarilla. Se relacionaron los elementos identificados por MEB-EDS con las bandas de los espectros FTIR para identificar la composición de las capas pictóricas. En el espectro de la capa frontal negra (Figura 3a) se presentan las bandas identificadas que se relacionaron a la nitrocelulosa y a la resina alquidámica con ftalatos, como aglutinantes; CaCO_3 , MgCO_3 y silicatos, como cargas y rojo de hierro como pigmento de la capa subyacente. A diferencia, en el espectro de la capa intermedia amarilla (Figura 3b) se identificaron señales que se relacionaron a la resina acrílica como aglutinante, además de observar las bandas relacionadas a las mismas cargas, se identificaron las que podrían corresponder al talco. El análisis de las otras muestras indicó que las capas superficiales contienen nitrocelulosa, mientras que las capas intermedias reversas contienen resinas acrílicas.

Por medio de RMN se analizaron capas aisladas de las muestras. En la Figura 4 se muestran los experimentos 2D-RMN con las estructuras elucidadas de los dos aglutinantes principales identificados. EN la Figura 4a se presentan los espectros solapados ed-HSQC (espectroscopía de correlación heteronuclear con cuanto sencillo editado, HSQC por sus siglas en inglés) y HMBC (espectroscopía de correlación

heteronuclear de enlaces múltiples, HMBC por sus siglas en inglés) de la fracción extraída en CDCl_3 de la capa aislada roja opaca, donde se elucidó el co-polímero acrílico compuesto por acrilato de etilo, metacrilato de metilo y metacrilato de n-butilo (EA/MMA/n-BMA). En la Figura 4b es mostrado el espectro ed-HSQC de la fracción extraída en DMSO-d_6 de la capa aislada beige, en el cual se identificaron las señales relacionadas al dímero de nitrocelulosa: 2,3,6-trinitrocelulosa (TNC) y 2,6-dinitrocelulosa (2,6-DNC). Otros compuestos identificados son: el plastificante ftalato de bis(2-etilhexilo) (DEHP, por sus siglas en inglés) y un polímero aromático considerado como una resina alquidámica, que son componentes de uso común en las formulaciones a base de nitrocelulosa, mientras que en capas aisladas intermedias se elucidó al co-polímero MMA/n-BMA.

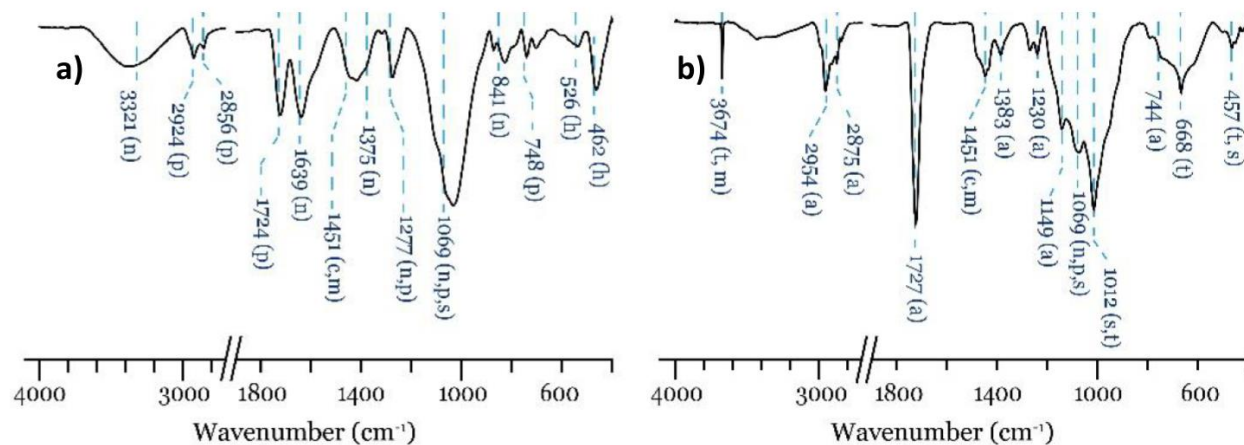


Figura 3. Espectros FTIR-ATR de a) capa frontal negra y b) capa intermedia amarilla. Se indican las señales de nitrocelulosa (n), resinas alquídicas y ftalatos (p), acrílico (a), CaCO_3 (c), MgCO_3 (m), óxidos de silicio (s), hematita (h) y talco (t).

El análisis a través de Pi-CG/EM de capas pictóricas aisladas permitió confirmar la composición monomérica de las formulaciones a través de los tiempos de retención (t_R) y los espectros de masas. En la Figura 5, se presenta el pirograma de la capa acrílica intermedia anaranjada. Se observan los t_R de los monómeros acrílicos EA, MMA, EMA y n-BMA, y el fragmento o-cloro anilina del posible pigmento orgánico. Debido a que la capa aislada pudo contener parte de la capa superficial, se identificaron los t_R del anhídrido ftálico y los plastificantes: DBP, BBP y DEHP, de la nitrocelulosa.

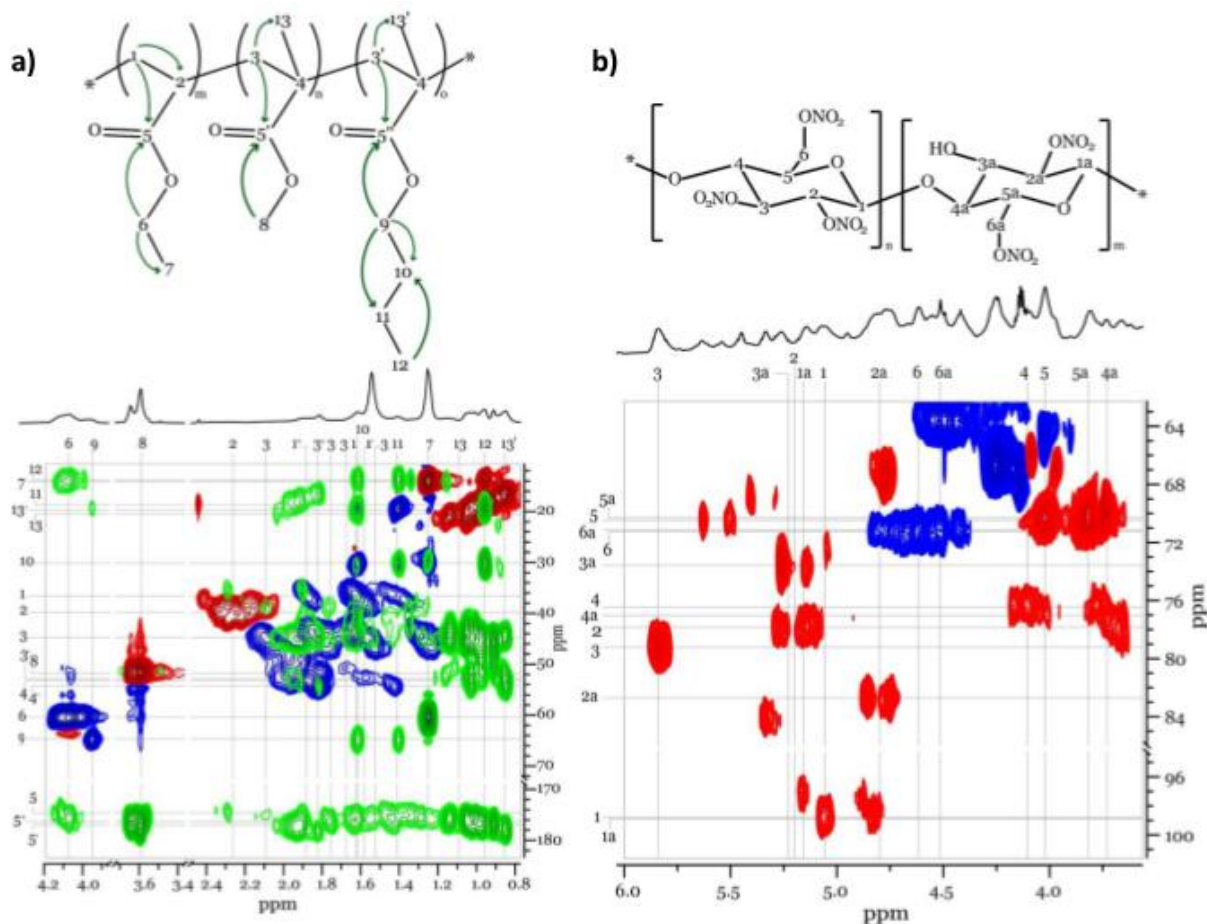


Figura 4. a) Espectros 2D-RMN (700 MHz, CDCl_3): ed-HSQC (rojo-azul) y HMBC (verde) de capa aislada roja opaca y b) espectro ed-HSQC (700 MHz, DMSO-d_6) de la capa aislada beige. Se presentan las estructuras y la asignación de las señales. a) co-polímero EA/MMA/n-BMA, nitrocelulosa TNC y 2,6-DNC.

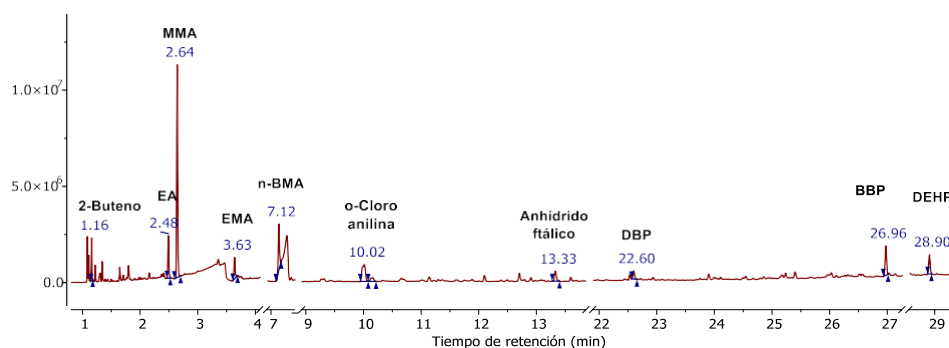


Figura 5. Pirograma de la capa intermedia anaranjada. Se indican los componentes correspondientes a lapintura acrílica: EA, MMA, EMA, nBMA, 2-buteno y el fragmento de pigmento o-cloro anilina. De la pinturade nitrocelulosa: el anhidrido ftálico y los plastificantes: DBP, BBP y DEHP.

Conclusiones

Los resultados presentados confirman que el estudio integral por medio de las técnicas analíticas y microscópicas permitió identificar los componentes mayoritarios de las capas pictóricas que forman parte de las muestras del mural *Trazos de Composición Piramidal* creado por David Alfaro Siqueiros. En concreto, se identificó que las capas superficiales están compuestas por una formulación a base de nitrocelulosa, mientras que las capas intermedias de una muestra y las inferiores están compuestas por resinas acrílicas. Además, se identificaron diversas cargas inorgánicas y plastificantes orgánicos. Estos resultados pueden aportar información muy relevante para la generación de protocolos de restauración y conservación.

Agradecimientos

A.M.-G. agradece al CONACYT por la beca de doctorado (846597). P.A.R. agradece a CONACYT por la beca de doctorado (1022577). Este estudio hizo uso de los laboratorios de la UNAM: LANCIC en IQ-UNAM, IIE-UNAM e IF-UNAM que es financiado por CONACYT [LN232619, LN260779, LN271614, LN299076, LN314846 y LN315853], y LURMN que es financiado por CONACYT [0224747] y UNAM. Todos los autores agradecen al INBAL, CENCROPAM, Sala de Arte Público Siqueiros (SAPS) y La Tallera por todas las facilidades brindadas. Agradecemos a Marisol Reyes Lezama, Mayra León Santiago, Everardo Tapia Mendoza por el apoyo en el LANCIC-IQ.

Referencias

- [1] S. Zetina, J. L. Ruvalcaba-Sil, R. Barquera, N. Ocampo-Ávila, A. Mitrani, M. Maynez, E. Hernández, E. Casanova, A. Mejía-González, N. Esturau-Escofet. "Painting with Acrylics: José Gutiérrez, Gunther Gerzso and the material innovation in Mexican contemporary painting" en *Science and Art: The Contemporary Painted Surface*. Inglaterra. (2020).
- [2] T. Learner. *Analysis of Modern Paints*. J. Paul Getty Trust. USA. 2004.
- [3] E. Arroyo, A. Aviram, M. A. Fernández Delgado, R. González Mello, A. Juárez, C. McGlinchey, S. Zetina. *Baja viscosidad: El nacimiento del fascismo y otras soluciones*. Instituto de Investigaciones Estéticas, UNAM. México. (2013).
- [4] A. Mejía-González, S. Zetina, M. E. Espinosa-Pesqueira, N. Esturau-Escofet. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. **22**, 473-482(2017).
- [5] P. Aguilar-Rodríguez, A. Mejía-González, S. Zetina, A. Colin-Molina, B. Rodríguez-Molina, N. Esturau-Escofet. *Microchemical Journal*. **160**, 105743 (2021).
- [6] A. Mejía-González, Y. Jáidar, S. Zetina, P. Aguilar-Rodríguez, J.L. Ruvalcaba-Sil, N. Esturau-Escofet. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **274**, 121073, (2022).
- [7] P. Aguilar-Rodríguez, S. Zetina, A. Mejía-González, N. Esturau-Escofet. *Molecules*. **28**, 564, (2023).

03

Educación



SIMULADOR DE FLUORESCENCIA RECURSO DE APOYO PARA EL APRENDIZAJE

Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional C.P 22390, Tijuana B.C. México. Tel. (664) 9797500 ext. 54351. E-mail: gaby@uabc.edu.mx

Introducción

Utilizar los simuladores educativos en los procesos de enseñanza-aprendizaje, los convierte en aliados para promover y crear entornos de aprendizaje para la transferencia de conocimientos y resolución de problemas, permite a los estudiantes recrear situaciones reales, pero de una manera controlada y segura. En la educación presencial, algunas prácticas de laboratorio son canceladas o prohibidas por el alto costo que significan y en la educación a distancia existen pocos materiales virtuales que las sustituyan. Sin embargo, el impacto de las tecnologías de la información y comunicación (TIC) y sus repercusiones en el ámbito educativo, traen consigo nuevas soluciones [1]. Acorde con Cabero y Costas 2016 la simulación como herramienta de apoyo al estudio presenta numerosas ventajas: favorece el aprendizaje por descubrimiento, obliga a demostrar lo aprendido, ejercitación del alumno de forma independiente, reproducir la experiencia un elevado número de veces con el mismo control de variables, permite al alumno reaccionar tal como lo haría en el mundo profesional, fomentar la creatividad, ahorra tiempo y dinero, propicia la enseñanza individualizada, y facilita la autoevaluación [2]. En general, a medida que mejore la tecnología, las herramientas de simulación seguirán ofreciendo escenarios de formación realistas y envolventes, lo que las convierte en una herramienta educativa indispensable y barata. Las curvas de abatimiento sirven para realizar cuantificaciones por ejemplo de complejos metálicos, de acuerdo con Lakowicz 1983 el fenómeno de quenching de fluorescencia se refiere a procesos que provocan una disminución de la intensidad de fluorescencia de una sustancia dada. El quenching puede ser resultado de varios mecanismos. Estos mecanismos incluyen reacciones de los estados excitados, transferencia de energía, formación de complejos y quenching por colisiones [3]. El objetivo de este trabajo es utilizar el simulador de fluorescencia para obtener espectros de excitación y emisión de sustancias fluorescentes, así como sus respectivas curvas de calibración debido a falta de equipo instrumental y a la necesidad de mejorar el proceso de aprendizaje de estudiantes universitarios en el ámbito de la química.

Parte Experimental

Equipo: Equipo de cómputo, paquetería office, plataforma blackboard UABC, simulador: <https://github.com/stephenbigger/FluSpec/releases> [4] Metodología: Instalar el programa para Windows (FluSpec.Windows.zip) o Mac (FluSpec.MacOSX.zip), seleccione FluSpec.exe.

En la figura 1 se muestran los pasos a seguir para comenzar a utilizar el simulador de fluorescencia, en el cual se podrán seleccionar las longitudes de onda de excitación y emisión para rodamina B y bisulfato de quinina.

Primero: Ir a la pestaña **Flu Spec**

Segundo: Seleccionar la tecla **Scan Guide** para verificar las longitudes máximas de excitación y emisión para bisulfato de quinina y rodamina B; y el rango de escaneo sugerido.

Sample	Spectrum	λ_{max}/nm	Scanning Range	
			$\lambda(start)/nm$	$\lambda(stop)/nm$
Quinine Bisulfate	ex	348	250	430
	em	452	370	660
Rhodamine B	ex	540	440	590
	em	625	560	750

OK

Figura 1. Selección de longitudes de onda de excitación y emisión

En la figura 2 se muestran los pasos para determinar los espectros para la muestra de rodamina B.

Tercero: Seleccione la muestra de Rodamina B y cambie la concentración desde 0.20×10^{-7} realizará un barrido de excitación de 440 a 590 nm fijando la longitud de emisión 625 nm.

Sample: Rhodamine B
RhB Conc: [RhB]/M = 0.20×10^{-7}

Monochromators

scan	$\lambda(start)/nm$	$\lambda(stop)/nm$
Excitation	440	590
Emission	625	750

Cuarto: Use la tecla **Scan** para realizar el barrido, observe como los monocromadores realizan el barrido.

Figura 2. Barrido de excitación para rodamina B (440 a 590 nm) con longitud de emisión a 625 nm

Continuando con el proceso ahora en la figura 3 se muestra los pasos para obtener los espectros de excitación y emisión de la rodamina B a diferentes concentraciones.

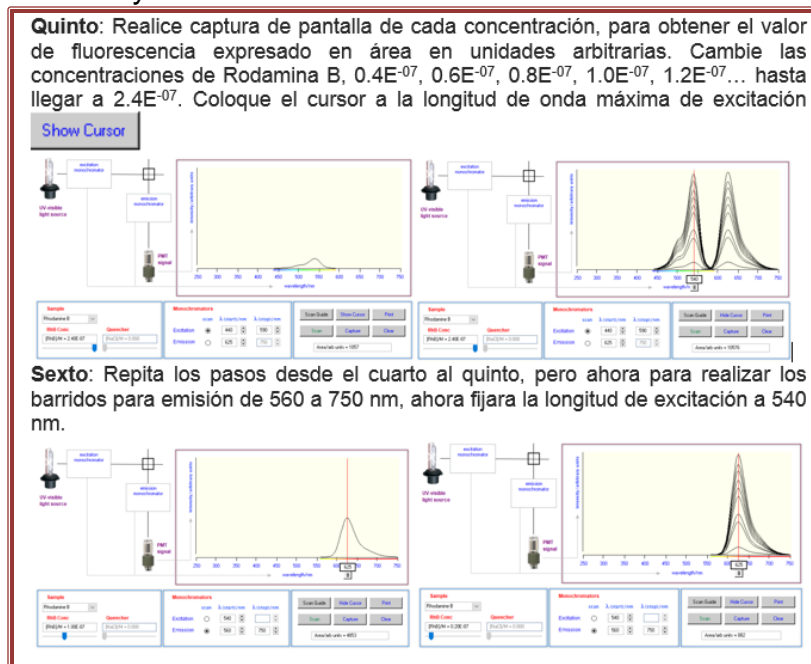


Figura 3. Espectros de excitación y emisión de rodamina B a diferentes concentraciones.

De la misma forma se realizarán los cambios para determinar los espectros de excitación y emisión para bisulfato de quinina, ver figura 4.

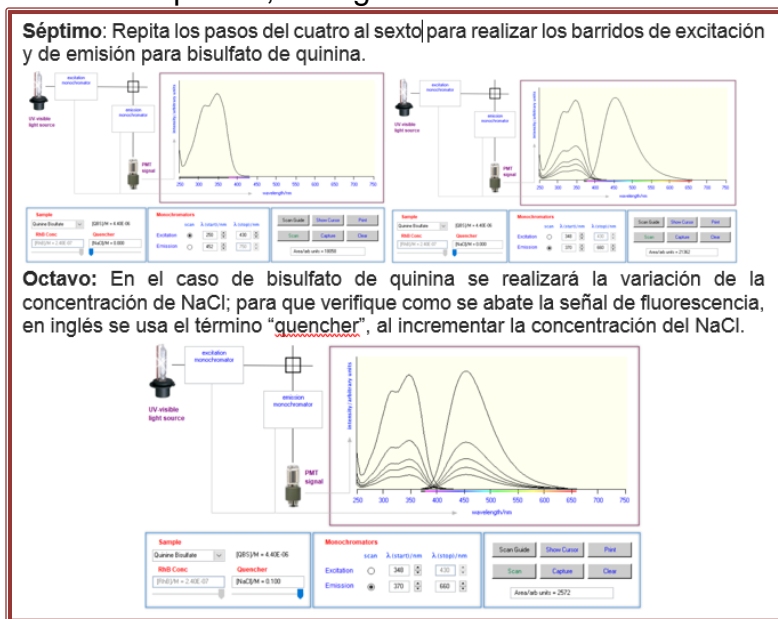


Figura 4. Espectros de excitación y emisión para bisulfato de quinina.

Resultados y Discusión

Utilizando el Simulador de Espectros de Fluorescencia de Bisulfato de Quinina y Rodamina B, realice las curvas de calibración, utilizando los valores de áreas en unidades arbitrarias de cada espectro de emisión a diferentes concentraciones. En la tabla 1 se muestran los valores obtenidos para rodamina B:

Tabla 1. Área para cada concentración de rodamina B

Disolución	Molaridad	Área
1	2.00E-08	882
2	8.00E-08	3931
3	1.00E-07	4853
4	1.40E-07	6999
5	1.60E-07	7995
6	1.80E-07	8945
7	2.00E-07	10072
8	2.20E-07	10840
9	2.40E-07	12026

En la figura 5 se muestra la curva de calibración para el caso de la rodamina B, con su respectiva ecuación de regresión lineal, así como sus coeficientes de regresión y correlación lineal. Las ventajas de construir curvas de calibración es que se puede calcular concentraciones de muestras desconocidas, conociendo únicamente la señal analítica de intensidad de fluorescencia.

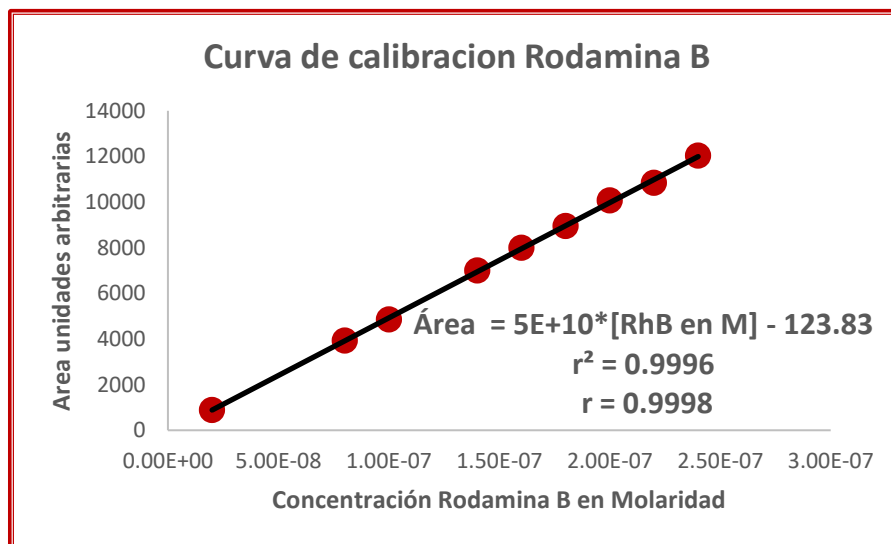


Figura 5. Curva de calibración para rodamina B

Para el caso de bisulfato de quinina, realice la curva de abatimiento de la señal de fluorescencia (ver figura 6), observe que para este caso es una ecuación polinomial de cuarto orden. Existen una gran variedad de sustancias pueden actuar como quenchers de fluorescencia por ejemplo aminas alifáticas y aromáticas, peróxido de hidrógeno, acrilamida, bromato, yoduro, cloruro, entre otros. Con las curvas de abatimiento se pueden cuantificar concentraciones de metales al formar complejos; debido a que se produce un quenching estático, generalmente, como consecuencia de la formación de un complejo no fluorescente entre la molécula emisora y la molécula quencher.

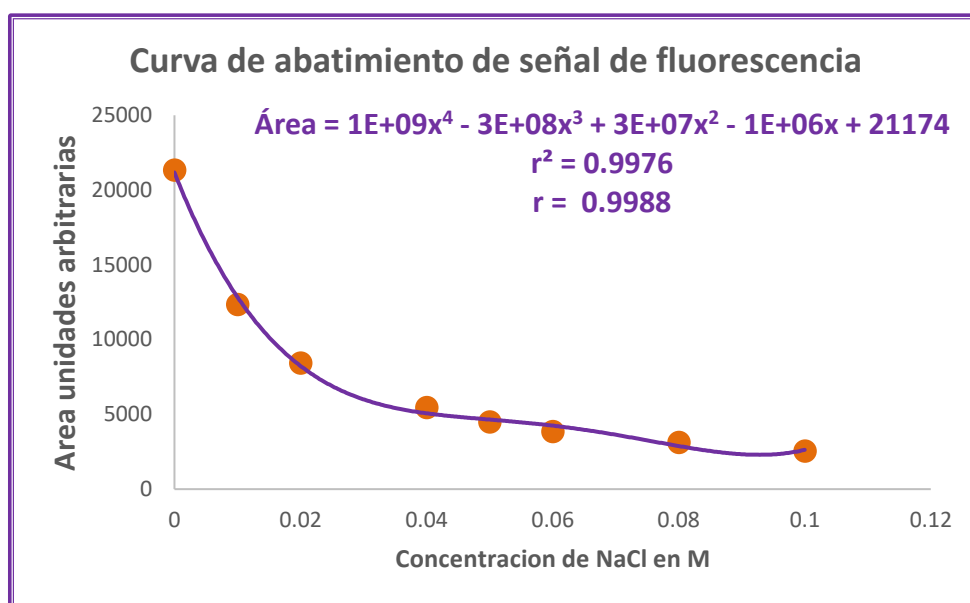


Figura 6. Curva de abatimiento de señal de fluorescencia para bisulfato de quinina.

Conclusiones

El simulador FluSpec en su primera página explica la teoría de fluorescencia en la cual el estudiante puede revisar en todo momento. Otra de las ventajas de utilizar simuladores es su fácil integración en cursos semipresenciales o a distancia, a su vez facilita el desarrollo de habilidades interdisciplinarias, capacidad de trabajo en equipo y procesos de aprendizaje mejorados.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Baja California (<https://ror.org/05xwcq167>).

Referencias

- [1] Ignite. Simuladores virtuales: recursos de apoyo en el proceso de aprendizaje (2020). Recuperado de: <https://www.facebook.com/IgniteOnlineLatam/posts/2658372541052860/>
- [2] J. Cabero-Almenara, J. Costas. La utilización de simuladores para la formación de los alumnos. Prisma Social **17**, 343-372 (2016) Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=353749552015>
- [3] Lakowicz, J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Plenum Press, New York and London (1983)
- [4] S.W. Bigger, A.S Bigger, K.P Ghiggino. FluSpec A Simulated Experiment in Fluorescence Spectroscopy. Victoria University Melbourne Australia (2014). Recuperado de: <https://github.com/stephenbigger/FluSpec/releases/tag/1.0>

RETOS ACTUALES Y PERSPECTIVAS EN LA ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA ANALÍTICA

Ulrich Briones Guerash Silva^a, Margarita Reyes Salas^b, Octavio Reyes Salas^{a*}

^a Facultad de Química UNAM, Ciudad Universitaria C.P. 04510 Ciudad de México, CDMX

Tel: +52 55 12 23 44 58, e-mail: oresal@quimica.unam.mx.

^b Instituto de Geología UNAM. Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Ciudad de México

Introducción

La Química Analítica moderna tiene su origen en el trabajo de Gastón Charlot [1] desarrollado entre 1940 y 1975, aproximadamente y en el de sus discípulos directos, en particular el de Bernard Trémillon [2,3]. Los aspectos innovadores de esta visión de la Química Analítica se centran en el afán por encontrar una sistematización, es decir, una comprensión de los fenómenos químicos que rigen el equilibrio químico. En efecto, durante el siglo XIX y la primera parte del siglo XX hubo una gran cantidad de descubrimientos químicos; la Analítica se veía solamente como el conjunto de instrucciones para identificar (iones, principalmente) y cuantificar sustancias, es decir, más como un conjunto de instrucciones de operación en el laboratorio.

El afán de poder hacer una marcha de cationes sin el empleo de la detestada sulfhidración en las prácticas de laboratorios universitarios fue el inicio de un trabajo muy fructífero que elevó a la Química Analítica a la categoría de ciencia, puesto que la comprensión de las leyes fundamentales del equilibrio químico llevó a una sistematización que hace posible la predicción de las reacciones; de un trabajo de costumbre y rutinario se llegó a una actividad basada en el pensar, en el conocimiento que siempre tiene el atractivo de algo vivo, en evolución.

“La enseñanza de la Química Analítica se basa en desarrollar un tratamiento analítico de las reacciones en que se apoya una predicción metódica y cuantitativa de las condiciones que permiten alcanzar los objetivos prácticos de las operaciones químicas o electroquímicas en solución: transformaciones químicas efectuadas de una manera selectiva y separaciones de constituyentes en las mezclas” afirma B: Trémillon (1993). Toda esta nueva visión de la Química Analítica tiene como meta última las aplicaciones para resolver problemas industriales, problemas sociales.

En este desarrollo para constituir una Química Analítica puede verse el principio de evolución, que es fundamental en el siglo XXI para poder continuar con el desarrollo del pensamiento científico.

Parte Práctica

I.- Los primeros fundamentos de la Química Analítica general se encuentran en las leyes fundamentales del equilibrio químico:

- 1.- Ley de la conservación de la masa (Lavoisier, 1785)
- 2.- Ley de proporciones constantes (Proust 1799)
- 3.- Ley de proporciones múltiples (Dalton, 1803)

- 4.- Ley de acción de masas ([Cato Maximilian Guldberg](#) y [Peter Waage](#), 1864)
5.- Principio de Le Chatelier ([Henri-Louis Le Châtelier](#), 1884)

Primer obstáculo

Estas leyes permiten considerar la importancia de la estequiometría y del concepto de mol para todos los cálculos químicos fundamentales. Sin embargo, uno de los principales problemas en la enseñanza de la Química se encuentra en la deformación conceptual que menosprecia el hecho de que la ley de acción de masas debe respetarse y que por ello la constante del equilibrio tendrá unidades diferentes según las proporciones de las especies químicas participantes del equilibrio.

Segundo obstáculo

También relacionado con la constante de equilibrio, el segundo obstáculo consiste en el desprecio o ignorancia de que al observar en el equilibrio químico la presencia de un sólido se busquen explicaciones simples e injustificadas de por qué no se escribe la actividad de los sólidos (“su actividad es 1”, “es un convenio”, por ejemplo). El hecho se comprende sin problemas al considerar:

- Todas las especies que participan en el equilibrio deben intervenir en la constante de equilibrio de la reacción
- La presencia de un sólido implica que la solución se encuentra saturada en ese compuesto y que por lo tanto su actividad es constante
- Las constantes experimentales consideran las condiciones reales de trabajo experimental, es decir, una disolución saturada en presencia del sólido
- El producto o el cociente de dos o más valores constantes resulta en una nueva constante. Los valores constantes de las actividades de los sólidos en equilibrio (solubilidades intrínsecas) quedan entonces incluidos en el valor de la nueva constante

Con los puntos anteriores se alcanza una percepción de congruencia en las leyes del equilibrio químico.

Tercer obstáculo

Cada vez con mayor frecuencia los maestros se olvidan de compartir con los alumnos que las matemáticas son el lenguaje de la ciencia, el lenguaje de la Química, pero no son la Química; es decir, se emplean las matemáticas para expresar fenómenos químicos, pero la Química tiene aspectos que rebasan el álgebra; por ejemplo, en el cálculo de pH se emplean ecuaciones matemáticas, pero con frecuencia se olvida considerar los límites de aplicación de esas expresiones.

II.- La esencia de la Química Analítica General se encuentra tanto en mostrar las similitudes con las que pueden tratar las diversas reacciones químicas, como al

diferenciar con precisión las diferencias y la necesidad de estudiarlas por esas cualidades químicas propias.

Similitudes

En efecto, todo equilibrio químico se plantea como: un intercambio de partícula que se representa matemáticamente con ecuaciones similares para los diferentes casos con un tratamiento sistemático similar al tratar los problemas teóricos:

- a) Identificación del tipo de reacción (redox, ácido-base, complejos),
- b) elaboración de una escala que facilite la comprensión cualitativa predicción de reacciones que conlleva un planteamiento con economía de fuerzas,
- c) elaboración de una tabla de evolución de las especies en el curso de la reacción química
- d) elaboración de una gráfica o curva de valoración que permita también el seguimiento del proceso
- e) Las curvas obtenidas son logarítmicas (en los tres casos)

Diferencias esenciales

- a) La mayor diferencia, desapercibida por muchos, consiste en que la partícula intercambiada en ácidos-bases y en complejos son especies químicas mientras que en el caso de redox se trata de una partícula subatómica.
- b) Las tres reacciones se realizan por contacto directo entre aceptores y donadores; sin embargo, en el caso de las reacciones redox se puede realizar el intercambio a través de un tercer componente, lo que da origen a la electroquímica.
- c) Las escalas son: abiertas en ambos sentidos en el caso de redox, cerrada en ambos sentidos en el caso de ácidos-bases y la situación intermedia en el caso de los complejos: cerrada en un sentido y abierta en el otro.
- d) El punto de equivalencia se puede determinar gráficamente, pero no siempre se encuentra a la mitad del salto o cambio brusco de valores: en ácidos-bases casi siempre se encuentra a la mitad pues las reacciones son generalmente 1:1; en el caso de redox y de complejos, dependerá de la relación estequiométrica.
- e) El punto anterior trae como consecuencia que solo en el caso de reacciones ácido-base (es decir, estequiometrías 1:1) puede aplicarse la primera y la segunda derivadas para determinar más claramente el punto de equivalencia.

III.- Redox

El equilibrio químico con más particularidades y dificultades es, sin lugar a dudas, el de óxido reducción. Lo que se encuentra en los libros de manera muy generalizada es la "definición" de oxidación y de reducción, pero no el por qué es así; tampoco se habla de lo que representa o, mejor dicho, de lo que es el potencial electroquímico del par. Prácticamente no se habla de la relación del potencial electroquímico con la energía libre

de Gibbs. A continuación, se mencionan algunos “decretos” o “pseudodogmas” en este tema:

- a) Se dice que no se puede conocer el potencial electroquímico de un oxidante solo, ni de un reductor solo, pero no se dice porqué
- b) Se dan valores de Potenciales normales “de reducción” sin reflexionar en que esos valores son del par redox
- c) Para la predicción de reacciones posibles se habla de “reglas” de la “N” o de la “Z” o de la “N invertida” para hacer que los estudiantes recurran a reglas mnemotécnicas en lugar de fomentar el concepto más acorde con la realidad de “fuerza” de oxidantes y de reductores
- d) Se describe que mientras las reacciones ácido-base son rápidas, las reacciones redox se encuentran muy afectadas por la cinética, pero no se dice por qué es así

IV.- Condicionalidad

A partir del conocimiento de los equilibrios de intercambio de una sola partícula, es posible comprender, con base en las mismas leyes fundamentales (ponderales, ley de acción de masas y principio de Le Chatelier), la presentación de un equilibrio químico principal con las afectaciones o cambios producidos por todos los equilibrios colaterales, es decir, se puede estudiar la condicionalidad. El concepto de la condicionalidad en química y el ejercicio para comprender su importancia en el trabajo químico cotidiano es el fundamento del trabajo de aplicación de la Química para la resolución de los diferentes problemas, tanto en laboratorio como en la industria.

Este trabajo con la multifactorialidad en Química lleva a una mayor reflexión, a un asombro de cómo aspectos menores pueden afectar los resultados finales y también al reconocimiento de que la especificidad química y los rendimientos de reacción pueden comprenderse y predecirse y no solamente aceptarse como producto del azar.

Resultados y Discusión

Las reflexiones y propuestas en este trabajo buscan rescatar la esencia de la Química Analítica General como un camino certero con el cual se prevenga la ultra especialización técnica que olvida el equilibrio químico.

En muchas escuelas de Química se olvida la esencia de la Química Analítica para ceder a la supuesta necesidad de conocer y enseñar técnicas instrumentales, principalmente cromatográficas y espectroscópicas. Sin embargo, el futuro de la Química solo puede desarrollarse a partir de la comprensión del equilibrio químico, que permite el desarrollo de nueva metodología, de estrategias de trabajo y finalmente del empleo de instrumentos.

Conclusiones

Este trabajo comparte la preocupación por retomar la esencia de la Química Analítica General, a partir de la cual es posible el desarrollo de cualquier metodología de trabajo.

Se comparte también la experiencia de que los prejuicios de algunos profesores impiden a los jóvenes estudiantes adentrarse al corazón de la Química y los induce a considerar la Química Analítica tan solo como un requisito en los estudios; la recuperación de la esencia de la Química Analítica General asegura una apertura en la forma de pensar de los futuros químicos.

Agradecimientos

A todos los alumnos que hemos tenido, pues sus preguntas nos han hecho reflexionar sobre la esencia de nuestra ciencia y la importancia de desarrollar un sano sentido común.

Referencias

- [1] G. Charlot. Curso de Química Analítica General . Tomo I. Toray- Masson. Barcelona. (1969).
- [2] B. Trémillon. Electrochimie Analytique et réactions en solution. Tomes 1 et 2. Masson. Paris 1993)
- [3] B. Trémillon.(1998) Homenaje a Gaston Charlot. Educación química 9 [2] 67-72
Fundamentos y Aplicaciones de la Química Analítica 2002. 1, 36-41 (2002).

ESTRATEGIA DE MEJORA DE LA INFRAESTRUCTURA EN UN COLEGIO DE BACHILLERATO TECNOLÓGICO PARA LA ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA ANALÍTICA A NIVEL MEDIO SUPERIOR

José de Jesús Olmos Espejel^a, Nohemí Sánchez Barrera^{b*}, Castillo Rodríguez Miriam Aide^{a*}, Lázaro Cruz Vargas^b

^a Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México; Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Tel: 55 24964890, e-mail: miriam.castillo@cuautitlan.unam.mx

^b CBT Dr. Carlos Graef Fernández, Jaltenco, Estado de México. Tel: 55 3707 2898, e-mail: nohemisaba@gmail.com

Introducción

El desarrollo de la ciencia en latinoamerica presenta muchas dificultades ya que no es considerada como un motor de la economía. Uno de los principales problemas es la falta de apoyo económico para la adquisición y/o renovación de la infraestructura debido a que varios de los aparatos e insumos son importados. [1]

La enseñanza de la Química Analítica en Colegios de Bachillerato Tecnológico (CBT) es en extremo difícil, debido a que no cuentan con materiales y equipos básicos para lograr que los estudiantes adquieran habilidades y destrezas en el trabajo experimental. [2]

El acercar estos conocimientos al estudiantado del nivel medio superior mejorará la comprensión de lo que acontece a su alrededor y posiblemente, sembrar el amor por la química analítica que despierte su deseo por seguir estudiando una licenciatura o ingeniería en las ciencias. Por lo cual, actividades de iniciación temprana en la ciencia son indispensables en nuestro país.

Las instituciones de educación superior públicas se caracterizan por tener un alto compromiso social y mediante diferentes actividades intentan solventar los problemas que aquejan a la población. En el caso particular de la FES Cuautitlán (FESC), se cuenta con un convenio en el cual los estudiantes del Colegio de Bachillerato Tecnológico (CBT) Dr. Carlos Graef Fernández, Jaltenco, Estado de México, pueden acudir a las instalaciones a realizar actividades como servicio social y prácticas profesionales. [3] De esta forma, debido al contacto cercano entre autoridades y docentes de ambas instituciones, se conocen las necesidades de mejorar la infraestructura de los laboratorios de nivel medio superior para que los estudiantes de carreras como la de técnico laboratorista químico impartida en el CBT Jaltenco, puedan estar mejor preparados para enfrentar los retos actuales en su desempeño profesional.

El objetivo del presente trabajo es mostrar como la planeación y realización de cursos teórico-prácticos de espectrofotometría permitió a los estudiantes del CBT Dr. Carlos Graef Fernández, Jaltenco, desarrollar habilidades y destrezas en el manejo de instrumentos básicos y material de laboratorio para reforzar su perfil de egreso. Así mismo, mediante la cooperación de estudiantes, docentes y autoridades escolares de ambas instituciones, se logró la adquisición de materiales e instrumentos que permitirán comenzar a solventar algunas de las deficiencias que ese plantel tiene en la actualidad en beneficio de las futuras generaciones.

Parte Experimental

Planeación del curso teórico-práctico de espectrofotometría.

Como primer paso, se presentó una propuesta del curso a las autoridades del CBT Jaltenco expresando claramente los objetivos y alcances del curso, para así establecer las actividades correspondientes a cada una de las instituciones.

Mediante una serie de reuniones posteriores entre docentes y autoridades de ambas instituciones, se evaluó la mejor forma de impartir el curso considerando las opciones de Presencial o Híbrido.

En la figura 1 se muestran los participantes de ambas instituciones al finalizar una de las reuniones de planeación en el CBT Jaltenco.

Los docentes y autoridades del CBT Jaltenco realizaron labores de difusión y programación del curso, así como la recaudación de una cuota de inscripción simbólica para los estudiantes para adquirir los materiales y equipos prioritarios que dicha institución requiere para una mejor impartición de sus planes de estudio en las asignaturas experimentales. También, generaron una lista de insumos e indicaron el presupuesto disponible con las inscripciones al personal de la FESC.

En la FESC, el personal docente definió las prácticas a desarrollar y la jefatura de la sección de Química Analítica se encargó de verificar la disponibilidad de equipo, materiales y reactivos. Además, se capacitó a un grupo de seis estudiantes prestadores de servicio social para que participarán como apoyo en el desarrollo del curso. Finalmente, el personal de la FESC se encargó de cotizar los materiales y equipos enlistados por el CBT Jaltenco para indicar cuáles eran las mejores opciones de compra que permitieran la adquisición de un mayor número de insumos con los recursos generados por las inscripciones de sus estudiantes.

Ejecución del curso.

Las actividades teóricas del curso se llevaron a cabo de manera virtual vía Zoom en tres sesiones con duración de 1:30 h cada una. El contenido de las clases teóricas se dividió en fundamentos de la técnica, instrumentación básica y aplicaciones.

Se llevaron a cabo dos sesiones de prácticas experimentales en modo presencial, las cuáles se impartieron en las instalaciones del CBT Jaltenco. Cada sesión tuvo una duración de 2:30 h, en las cuáles se mostró el uso de la técnica de espectrofotometría llevando a cabo dos protocolos experimentales. El primero consistió en el análisis de azul de metileno por curva de calibración directa en muestras de desinfectantes para acuario. El segundo consistió en el análisis de triclosán en muestras de jabón antibacterial mediante una curva de calibración indirecta. [4, 5]

En cada sesión experimental se realizó la explicación previa y supervisión de la práctica correspondiente por parte de un profesor de la FESC, atendiendo en cada sesión a un grupo de 30 estudiantes divididos en equipos de 5 integrantes. La sección de Química Analítica facilitó el préstamo de 6 espectrofotómetros para la realización de las prácticas

y a cada equipo de estudiantes le fue asignado un prestador de servicio social de la FESC para apoyar el desarrollo de la práctica.

Adquisición de la infraestructura destinada al CBT Jaltenco.

El CBT Jaltenco se encargó de realizar la compra de los materiales y equipos recomendados por la Sección de Química Analítica de la FESC de acuerdo a sus necesidades. Las compras se realizaron mediante proveedores y distribuidores nacionales, así como a través de plataformas en línea en donde se logró adquirir material y equipo básico.

Evaluación del curso e informe de resultados finales.

Se aplicó una encuesta en línea a los estudiantes del CBT Jaltenco mediante un formulario de Google. La participación fue de manera anónima y las preguntas se enfocaron a la perspectiva de los estudiantes respecto a los conocimientos y habilidades adquiridos.

Al finalizar el curso, el CBT Jaltenco organizó una ceremonia de clausura en donde se invitó a los padres de familia para que se les mostraran los materiales y equipos adquiridos con el apoyo económico recibido mediante el pago de la inscripción al curso. La sección de Química Analítica se encargó de tramitar una constancia del curso expedida por la FESC para aumentar el valor curricular de los estudiantes del CBT Jaltenco.

Resultados y Discusión

Planeación del curso teórico-práctico de espectrofotometría.

Mediante el trabajo coordinado de ambas instituciones, se logró la inscripción de 120 estudiantes de la carrera de técnico laboratorista del CBT Jaltenco. Para cumplir el reto de atender a ese gran número de estudiantes, se determinó impartir las clases teóricas en modo a distancia y las prácticas de forma presencial atendiendo a 60 estudiantes por día divididos en grupos de 30.

Gracias a la disponibilidad mostrada por ambas instituciones se logró que cada equipo formado por 5 estudiantes, contaran con un espectrofotómetro para la experimentación y pudieran estar en contacto directo con el mismo.

Se programó la impartición del curso dividido en tres semanas diferentes. En la primera se llevó a cabo el curso teórico a distancia en tres días consecutivos. En la segunda se llevó a cabo la práctica de Análisis de azul de metileno en desinfectantes para acuario en dos días diferentes, atendiendo en cada uno de ellos a dos grupos de estudiantes. Finalmente, en la tercer semana se llevó a cabo la práctica de Análisis de triclosán en jabones antibacteriales.

Ejecución del curso.

Las clases teóricas se llevaron a cabo mediante la plataforma Zoom y el personal docente del CBT se encargó de supervisar la asistencia de sus estudiantes.

En las sesiones experimentales se logró cumplir con los objetivos de la práctica en el tiempo destinado. Para esto, los estudiantes prestadores de servicio social de la FESC se encargaron de preparar previamente las disoluciones de reactivos y estándares que fueron usados para que los estudiantes del CBT Jaltenco prepararan las curvas de calibración y practicaran el manejo de material volumétrico. Además, resultaron de gran ayuda para agilizar el trabajo de los estudiantes de bachillerato resolviendo las dudas puntuales en la ejecución de las instrucciones de los protocolos y en el manejo de los materiales e instrumentos.



Figura 1. Personal docente y autoridades del CBT Jaltenco y FESC en las reuniones de planeación.



Figura 2. Personal docente y prestadores de servicio de la FESC en el desarrollo de las sesiones experimentales presenciales en el CBT Jaltenco



Figura 3. Estudiantes del CBT Jaltenco siendo supervisados en el manejo del material volumétrico.

Es importante remarcar que durante el curso los estudiantes se mostraron motivados, curiosos y dispuestos a aprender sobre determinaciones de analitos en diversas muestras.

Adquisición de la infraestructura destinada al CBT Jaltenco.

El CBT Jaltenco se encargó de realizar la compra de los materiales y equipos recomendados por la Sección de Química Analítica de la FESC de acuerdo a sus necesidades utilizando los recursos generados con el pago de una cuota de inscripción simbólica. En la figura 4 se enlistan los materiales y equipo que ahora forman parte de la infraestructura del CBT Jaltenco y serán utilizados por las generaciones siguientes.

Número	Descripción
1	Potenciómetro con electrodo combinado de vidrio portátil
2	Disoluciones de calibrado para electrodo combinado
3	Paquete de pipetas de transferencia de plástico
4	Soportes universales con pinzas para bureta
5	Parrillas con agitación magnética y calentamiento
6	Auxiliares para pipeteo
7	Espectrofotómetro de haz simple visible con celdas de vidrio
8	Agitadores vórtex
9	Buretas de 10 mL
10	Pipetas volumétricas
11	Vasos de precipitado de 100 mL
12	Gradillas de plástico para tubos de diferente medida
13	Centrifuga clínica para tubos de 2 a 15 mL
14	Balanza digital semi-analítica

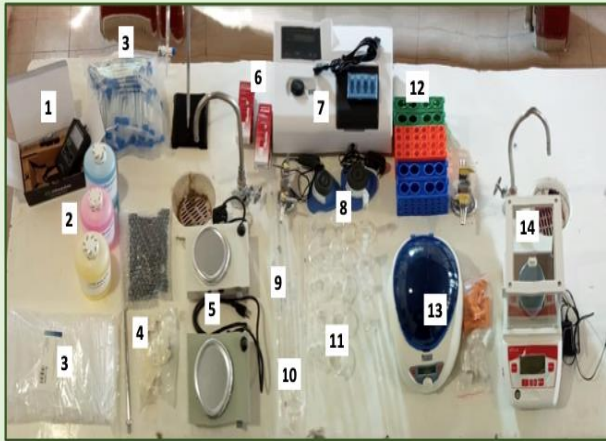
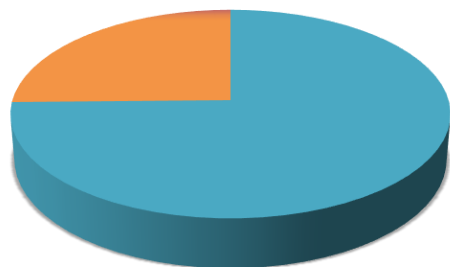


Figura 4. Materiales y equipo adquirido por el CBT Jaltenco con los recursos generados por el curso.

Evaluación del curso e informe de reultados finales.

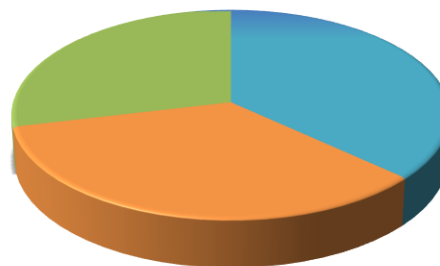
Para conocer la opinión de los estudiantes se compartió un formulario de Google Forms para conocer su percepción respecto al curso, al ponente y a los conocimientos adquiridos. En la figura 5 se muestra que la mayoría del alumnado estuvo de acuerdo en que por medio de este curso pudieron adquirir conocimientos y habilidades nuevas. En el mismo gráfico se muestran las respuestas que los alumnos compartieron manifestando estar interesados en recibir capacitación en primer lugar en manejo de material, potenciometría y titulaciones. Lo anterior deja abierta la posibilidad de continuar con la impartición de cursos extracurriculares en el CBT Jaltenco como fuente de ingresos extraordinarios que permitan continuar con la adquisición de nueva infraestructura.

El curso me generó conocimientos nuevos.



■ Totalmente de acuerdo 74.7 %
 ■ Parcialmente de acuerdo 25.3 %
 ■ En desacuerdo

Me gustaría que se impartieran más cursos



■ Manejo de material 36.8 % ■ Potenciometría 34.5 %
 ■ Titulaciones 28.7 %

Figura 5. Persepectiva del alumnado del CBT Jaltenco sobre el curso teórico-práctico impartido.

De esta forma, a través del apoyo de las autoridades del CBT Jaltenco, se realizó una ceremonia de clausura del curso en donde se entregan las constancias de participación a los estudiantes y se mostraron los materiales y equipos adquiridos a los padres de familia asistentes cuya aportación económica sirvió para la renovación y mejora de una parte de la infraestructura destinada a la institución que forma a sus hijos.



Figura 6. Ceremonia de clausura y entrega de constancias de participación.

Conclusiones

Mediante la cooperación de docentes y autoridades del CBT Jaltenco y la FESC se logró la impartición de un curso teórico-prácticos de espectrofotometría que permitió al alumnado del nivel medio superior desarrollar habilidades y destrezas que serán de utilidad en su desempeño profesional.

La impartición de este tipo de cursos resulta una buena estrategia para la generación de ingresos extraordinarios que permite renovar una parte de la infraestructura en los laboratorios del nivel medio superior cuando se conjunta el trabajo de estudiantes, docentes y autoridades.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los proyectos CONACYT 321878, PAPIME PE2028921 y PIAPIME ID 1.12.18.21.

Referencias

- [1] Ciocca, D., Delgado, G., Cell Stress Chaperones. **22**, 6, 847–852 (2017).
- [2] O. M. Carvalho Pereira. El rol de las clases prácticas en la enseñanza de la química en bachillerato. Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales, Uruguay, (2018).
- [3] Elizondo, M., Prensa FESC, 2022, disponible en: <http://gacetacomunidad.cuautitlan.unam.mx/2022/06/firma-nuevos-convenios-fes-cuautitlan/>
- [4] Wyllie, G., J. Chem. Educ. **92**, 1, 153–156 (2015).
- [5] Fernández-Pérez, A., Marbán, G., ACS Omega, **5**, 46, 29801–29815 (2020).

TUTORÍA DE RECUPERACIÓN (REMEDIAL) PARA ALUMNOS DE MÉTODOS CUANTITATIVOS APLICADOS EN LA UPIBI-IPN

Teresa Jaens Contreras^{a*}, Juan Ramírez Balderas^a, Sandra Vázquez Romero^a

^a Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI) del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Ciencias Básicas. Av. Acueducto s/n, La Laguna Ticomán, C.P. 07340, Gustavo A. Madero, Ciudad de México. México. Tel. 557296000 ext. 56444. E-mail: tjaens@ipn.mx

Introducción

La tutoría es una actividad de carácter académico y acompañamiento que el docente realiza con los alumnos en la educación media superior y superior, tiene como objetivo potencializar la formación integral del alumno. Mediante la tutoría se brinda apoyo al estudiante en cuanto a asesorías, trayectorias sugeridas para cubrir el programa académico, rescatarlo de situaciones de riesgo escolar y establecer acciones para evitar la reprobación ó deserción, canalización a las entidades correspondientes y diseñar acciones que le pueden beneficiar para mejorar su promedio, En el instituto Politécnico Nacional existen 5 modalidades de acción tutorial, también llamadas figuras tutoriales las cuales son: a) Tutoría individual, b) Tutoría grupal, c) Tutoría de recuperación académica, d) Tutoría de regularización y e) Tutoría entre pares.

La tutoría individual permite acompañar al alumno durante todo el trayecto por el programa académico (carrera) que este ha elegido, orienta sobre los programas y servicios de apoyo que ofrece el IPN, previene la ocurrencia de incidencias que alteren la trayectoria escolar y realizar alguna canalización del alumno en caso de que sea necesario. La tutoría grupal además de incluir los diversos aspectos de la individual permite que el docente conozca al grupo y fortalecer el sentido de pertenencia institucional, así como trabajar con él de manera conjunta. La tutoría de regularización es la modalidad que permite aclarar dudas, reforzar conocimientos o explicar temas específicos de Unidades de Aprendizaje (UA ó asignaturas) con alto índice de reprobación. La tutoría de recuperación académica (anteriormente conocida como remedial) va dirigida a grupos de alumnos con dictamen o a alumnos con riesgo académico que requieren de apoyo para acreditar una UA, esta modalidad permite regularizar la trayectoria escolar [1]. En cuanto al dictamen, este es el proceso que se sigue cuando el alumno queda fuera de reglamento, por tener más de 2 UA reprobadas o desfasadas. Finalmente, la tutoría entre pares es la modalidad donde algún alumno con buen dominio de alguna o algunas UA comparte sus conocimientos con sus compañeros para ayudarles a mejorar su desempeño académico, estos alumnos cuentan con un profesor tutor de la UA.

El presente trabajo se llevó a cabo con un grupo de acción de recuperación en la UA Métodos Cuantitativos Aplicados (MCA) de la carrera de Ingeniería Ambiental, esta Unidad de Aprendizaje consta de 5 unidades temáticas que son: I. Antecedentes, II. Métodos Clásicos de Análisis, III. Métodos Electroquímicos, IV. Métodos Separativos y V. Métodos espectrofotométricos y otros métodos [2].

Esta UA consta con un alto índice de reprobación, varios grupos de jóvenes han cursado y recurrido sin lograr aprobarla, quedándoles como único recurso presentar el Examen a Título de Suficiencia (ETS), pero solo entre el 5-10 % logra acreditarlo. Es decir, se presenta un gran número de reprobados, las UA se les desfasan y por lo tanto ya no se pueden inscribir al siguiente semestre hasta que las aprueban.

La UA de Métodos Cuantitativos Aplicados (MCA) de la carrera Ingeniería Ambiental la cursan los alumnos en el segundo semestre y tiene como UA antecedente Química General Aplicada (QGA), al mismo tiempo los alumnos cursan Química Orgánica Aplicada (QOA). Es importante conocer la UA antecedente para verificar los efectos sobre MCA. La acción tutorial de recuperación fue abierta a 30 estudiantes en dictamen en el último semestre 2023-II se logró obtener un 78.00 % de aprobación en la parte de teoría, pese a que el curso de recuperación se llevó a cabo en línea. Las clases fueron en esta modalidad debido a la carencia de aulas físicas. Se tuvo que contar con material didáctico como diapositivas, videos socializados por Classroom, así como clases por Zoom.

El objetivo del presente trabajo es conocer las causas principales de reprobación de los alumnos que tomaron la acción de recuperación, indagar acerca de las situaciones y condiciones que los llevaron a estar en dictamen y también a que la academia de Métodos Analíticos pueda hacer lo pertinente para apoyar a los alumnos en el logro de mejores resultados en su trayectoria escolar.

Parte Experimental

Se trabajó con una encuesta realizada a los alumnos en la acción tutorial misma que fue socializada por Classroom. La encuesta fue contestada por el 100% de alumnos.

También se llevó a cabo entrevistas a algunos alumnos en cuanto a las situaciones vividas al cursar Métodos Cuantitativos Aplicados.

Resultados y Discusión

Como primera pregunta tenían que responder si los conocimientos adquiridos en QGA fueron los necesarios para hacer frente a MCA, los resultados se observan en la figura 1.



Figura 1. Nivel formativo previo como posible causa de recuperación.

El 64.00 % de los alumnos consideran que los conocimientos y destrezas adquiridas en la UA de QGA cursada en el primer semestre del programa elegido no les permitieron hacer frente a MCA. Los alumnos consideran que tuvieron una escasa formación en preparación de disoluciones, estequiometría y equilibrio químico. Para el 36.00 % de los alumnos la principal causa de reprobación constante en dicha UA responde a otras causas que a continuación se esquematizan en la Figura 2.

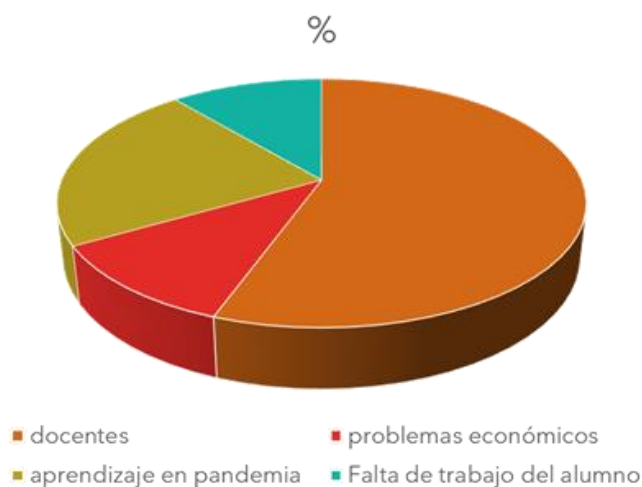


Figura 2. Otras causas posibles de los altos niveles de reprobación en MCA.

De este 36.00 %, más de la mitad de los alumnos, es decir el 56.00 %, creen que se debe al mal desempeño docente, 22.00 % lo atribuye a que la UA la cursaron en la pandemia, 11.00 % a problemas económicos derivados de la pandemia y 11.00 % a falta de trabajo académico del alumno. El mal desempeño docente es muy variado e incluye desde falta de preparación del docente en la UA, falta de didáctica, el querer avanzar en un programa sin importar si el alumno logra comprender los temas, pero sobre todo falta de empatía hacia los alumnos, así como el cumplimiento a rajatabla de acuerdos de academia para respetar el programa de la UA. El acuerdo referido es: que tanto teoría como laboratorio debían ser aprobatorios para acreditar la UA. Esto porque si acreditaban teoría y el laboratorio no, los alumnos reprobaban la UA completa y tenían que volver a cursar ambos.

Por último y aunado a la deficiente formación en QGA como UA antecedente a MCA, los alumnos relatan que existen otros aspectos a considerar que no les ayudaron a lograr la acreditación, aspectos de carácter individual. Estos otros aspectos se pueden analizar en la figura 3.

ASPECTOS QUE GENERAN REZAGO

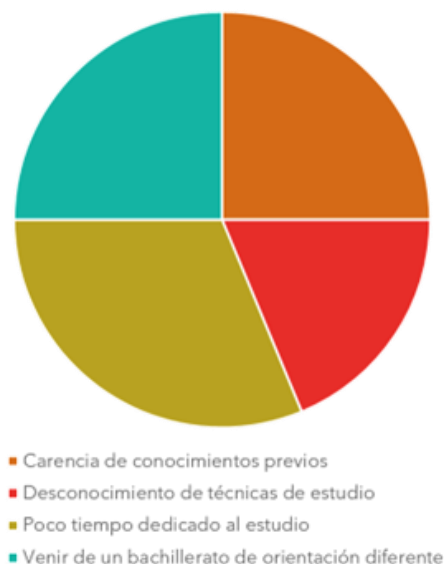


Figura 3. Aspectos adicionales que generan rezago

Dentro de los otros aspectos que generan rezago está como principal causal el poco tiempo dedicado al estudio, algunos señalaron el desconocimiento de técnicas de estudio y un número menor el venir de un bachillerato de orientación diferente. La falta de conocimientos previos en otras áreas básicas como matemáticas también les afectan. MCA es una asignatura que requiere del conocimiento de manejo de logaritmos, solución de sistemas de ecuaciones, estadística básica, por lo que la carencia de los conocimientos en esta área afecta al alumnado.

Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que un aspecto muy importante para la no acreditación de la UA de MCA es la poca formación previa obtenida a partir de QGA, debido a una pobre diversificación de ejercicios y al escaso tiempo dedicado a cada tema a fin de cumplir el programa. Destacan también la falta de destrezas y conocimientos en los temas de Estequiometría, Disoluciones y Equilibrio Químico.

En cuanto a los docentes, la mayoría de los alumnos mencionan que cada semestre debe de haber diversificación de docentes que impartan la asignatura, así como también se debe procurar que los docentes no busquen cumplir a rajatabla con el programa con acuerdos que los perjudican, además de fortalecer la formación de los docentes en didáctica, pedagogía, etc., ya que la mayoría carece de estas habilidades.

Los alumnos sugieren también la apertura de grupos de estudio a la par que se lleva la UA. La falta de conocimiento sobre técnicas de estudio y el poco tiempo dedicado a este

son otros aspectos que el alumno debe fortalecer. En cuanto a las técnicas de estudio, el tutor debe dar a conocer algunas a los alumnos para que ellos las pongan en práctica.

Es importante conocer la opinión y el sentir de los alumnos, así como la forma en como ellos han vivido y enfrentado el rezago académico en las asignaturas de química analítica, para así hacerle frente a esta problemática y analizar como docentes los aspectos que son áreas de oportunidad para mejorar y tomar decisiones que no entorpezcan la trayectoria escolar del alumno.

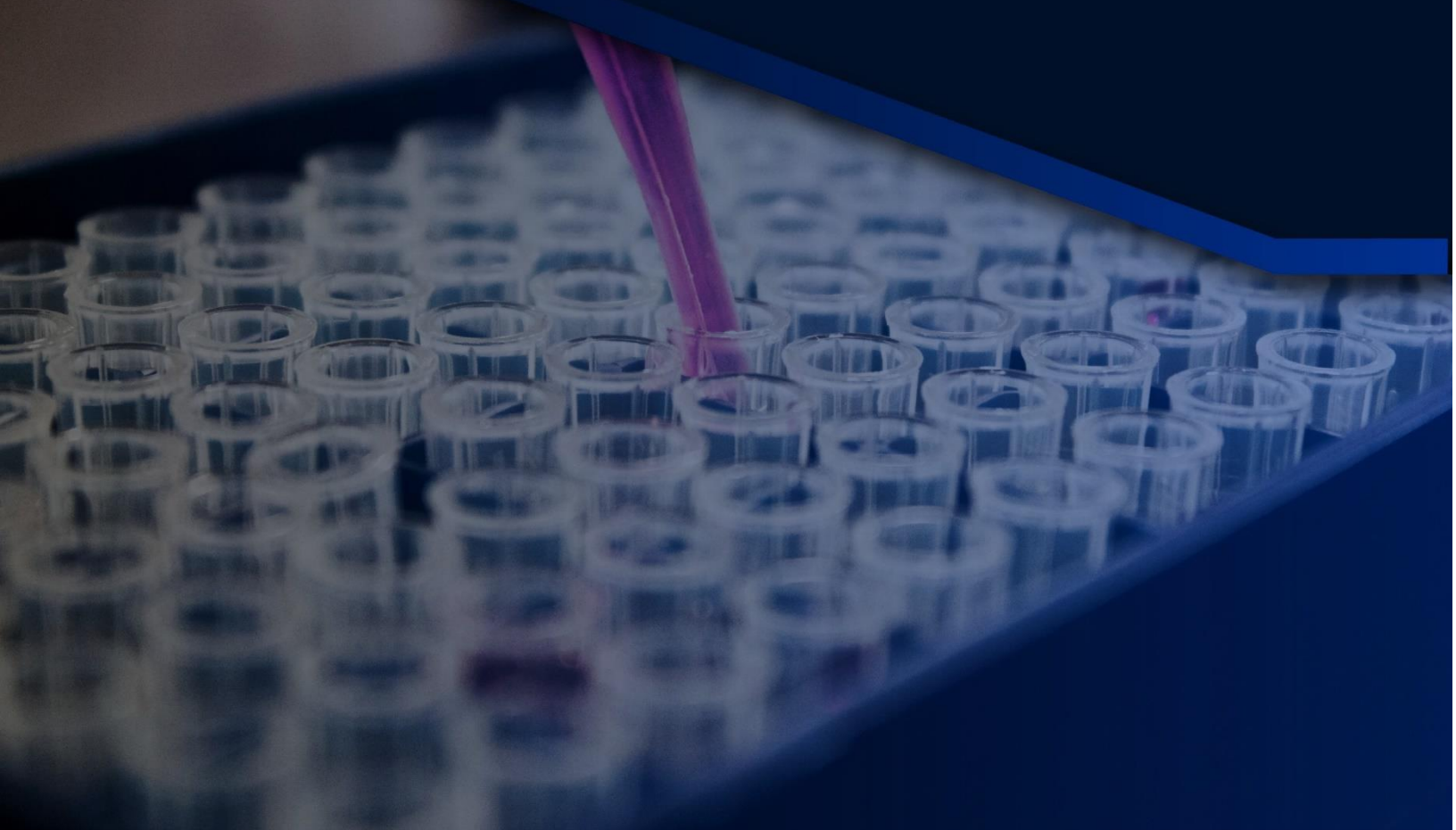
En la acción tutorial de recuperación de MCA se logró un buen porcentaje de acreditación, en parte porque se diversificó el material didáctico y se dio tiempo a la resolución de ejercicios y comprensión de los temas.

Referencias

- [1] PIT, 2023. Programa Institucional de tutorías. IPN. México.
- [2] Programa de Métodos Cuantitativos Aplicados, 2006. Programa de estudio de la UA de Métodos Cuantitativos Aplicados en la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología e Ingeniería- IPN. México
- [5] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez, I. González. Química Analítica. **15**, [Suppl.1] S4-S8 (1996).
- [6] M.E. Páez-Hernández, M.T. Ramírez, A. Rojas-Hernández. Talanta. **51**, 107-121 (2000).
- [7] G. Trejo Córdova, M.T. Ramírez, A. Rojas-Hernández. Los Diagramas de Zonas de Predominio Aplicados al Análisis Químico. UAM-Iztapalapa. México. (1983).

04

Estudios fundamentales



ESTUDIO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE UV DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE GUANINA CON β -CICLODEXTRINA EN MEDIO ACUOSO.

Jorge Martínez Guerra, Alberto Rojas-Hernández, María Teresa Ramírez-Silva*

Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1A Secc, Iztapalapa, C.P. 09310 Ciudad de México, CDMX
Tel: +52 (55) 58 04 46 70, *e-mail: jmguerra318@xanum.uam.mx, mtrs218@xanum.uam.mx

Introducción

Las ciclodextrinas (CDs) son oligómeros cíclicos de α -D-glucosa las cuales han sido ampliamente usadas por su habilidad para formar complejos de inclusión con una gran variedad de moléculas a través del modelo huésped-anfitrión, con fines de aumentar la solubilidad de dichas moléculas, incrementar su estabilidad química y biodisponibilidad o incluso garantizar su protección contra eventos que puedan ocasionar su oxidación [1]. En particular, está reportado el uso de la β -ciclodextrina, β CD, (Figura 1a) para mejorar los parámetros de métodos de análisis químico (límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad por mencionar algunos) de moléculas con interés biológico como la guanina, HG, (Figura 1b) a través de la formación de complejos de inclusión [2,3]. La importancia de tener métodos de cuantificación cada vez más sensibles para la HG radica en el hecho que cualquier concentración anormal o cambio estructural de esta base púrica (componente básico del ADN) en el organismo puede desencadenar alteraciones en el sistema inmunológico y cáncer [4].

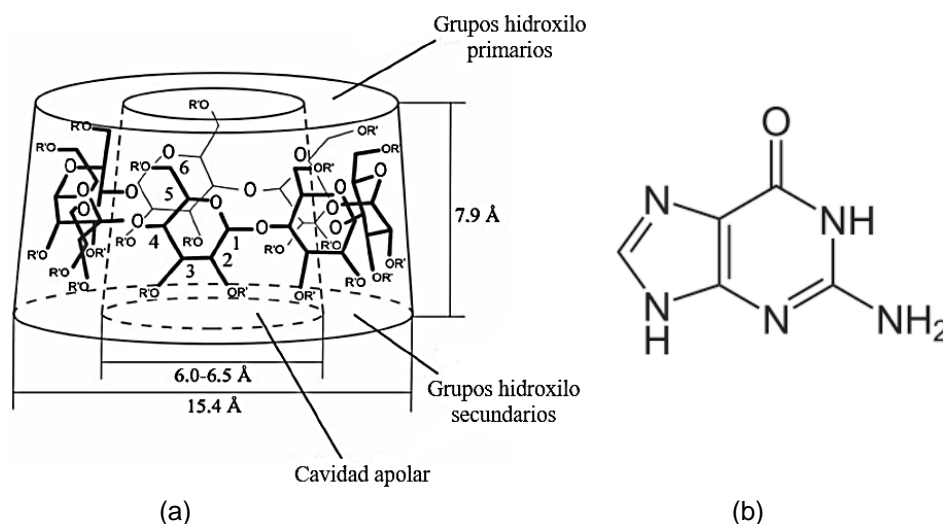


Figura 1. (a) Estructura química de la β -CD según de Miranda y *colab.* y su representación esquemática en forma cónica donde $R' = H$ [3]; (b) Estructura química de la guanina, HG.

Sin embargo, no están documentadas las constantes de formación de la β CD con las diferentes especies de la guanina, así como las condiciones experimentales que respalden la formación del complejo (o complejos) de inclusión en medio acuoso. Por lo tanto, en este trabajo se pretende aportar información relevante acerca de la interacción fisicoquímica entre la β CD y las especies de guanina, que permita el diseño de métodos de cuantificación más controlados.

Parte Experimental

Dado que están reportado dos valores de pK_a (y, por lo tanto, tres diferentes especies) para la guanina; a saber, H_2G^+ , HG y G^- : $pK_{a1} = 3.25$ y $pK_{a2} = 9.69$ [5], la valoración espectrofotométrica de guanina con β CD fue llevada a cabo a tres valores de pH: 1.22 (medio perclórico), 6.55 (buffer de fosfatos) y 13.38 (impuesto con NaOH) para favorecer el predominio de cada una de las especies de guanina. La lectura de pH se realizó con un potenciómetro marca sensION equipado con un electrodo de vidrio de $Ag^o|AgCl$ [KCl, 3 M] marca Hach 50 14 T.

Para efectuar las valoraciones espectrofotométricas, se preparó una solución acuosa de HG (PPur $\geq 98\%$) de concentración $992.12\ \mu M$ en NaOH [0.1 M]. A partir de ésta se preparó la disolución de trabajo a $70.44\ \mu M$, la cual se colocó en una celda termostataada mantenida a $(25.0 \pm 0.1)^\circ C$. La solución de trabajo fue valorada con una solución acuosa de β CD [0.025 M] la cual se ajustó al mismo pH de la solución a ser valorada. Las adiciones fueron efectuadas cubriendo el intervalo de 1.90 a 5.00 de $p\beta CD_{total}$. Entre cada adición de valorante se registró el espectro de absorción como una función de la longitud de onda con un espectrofotómetro Lambda 20 equipado con una celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico. El intervalo de trabajo de longitud de onda fue de 200 a 400 nm. Cada espectro se registró a una velocidad de $1960\ nm \cdot min^{-1}$. Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada ($18.2\ M\Omega \cdot cm$) libre de materia orgánica y fueron burbujeadas con nitrógeno, $N_{2(g)}$, comprimido PRAXAIR (PPur $\geq 99.99\%$).

Resultados y Discusión

En la Figura 2a se muestra un diagrama de distribución con las tres diferentes especies de la guanina como una función del pH, construido según la metodología de Rojas-Hernández *et al.* [6]. En las Figuras 2b, 2c y 2d se muestran los espectros de absorción de la guanina $70.44\ \mu M$ a tres diferentes valores de pH a diferentes adiciones de β CD. Los valores máximos de absorbancia para cada valor de pH: 248 nm y 272 nm para pH = 1.22 ± 0.01 , 245 nm y 274 nm en el caso de pH = 6.55 ± 0.01 y; 274 nm a pH = 13.38 ± 0.01 ; presentan un incremento en valor de absorbancia, conforme se incrementa la concentración de β CD en la solución. Si se grafican los máximos de absorbancia a una cierta longitud de onda impuesta como una función del valor de $p\beta CD$, para cada valor de pH, se obtienen unas curvas de tipo sigmoide, ver Figura 3. En la Figura 3 se muestran las curvas de tipo sigmoide para cada para cada valor de pH. Comparando estas curvas con las típicas curvas de valoración pH-métricas es posible observar que los saltos en

valor de absorbancia no son tan drásticos, lo cual hace pensar que las constantes de equilibrio para este tipo de sistemas de complejos de inclusión no son muy grandes lo cual es de esperar debido a que las fuerzas que intervienen en este tipo de enlace son de tipo puente de hidrógeno y/o de Van der Waals [7]. Esto hace necesario recurrir a un análisis de datos robusto para lo cual se aprovecha el método de regresión no lineal del programa SQUAD toda vez que está reportado el uso de SQUAD para el refinamiento de constantes de equilibrio a partir de datos de absorbancia [8,9].

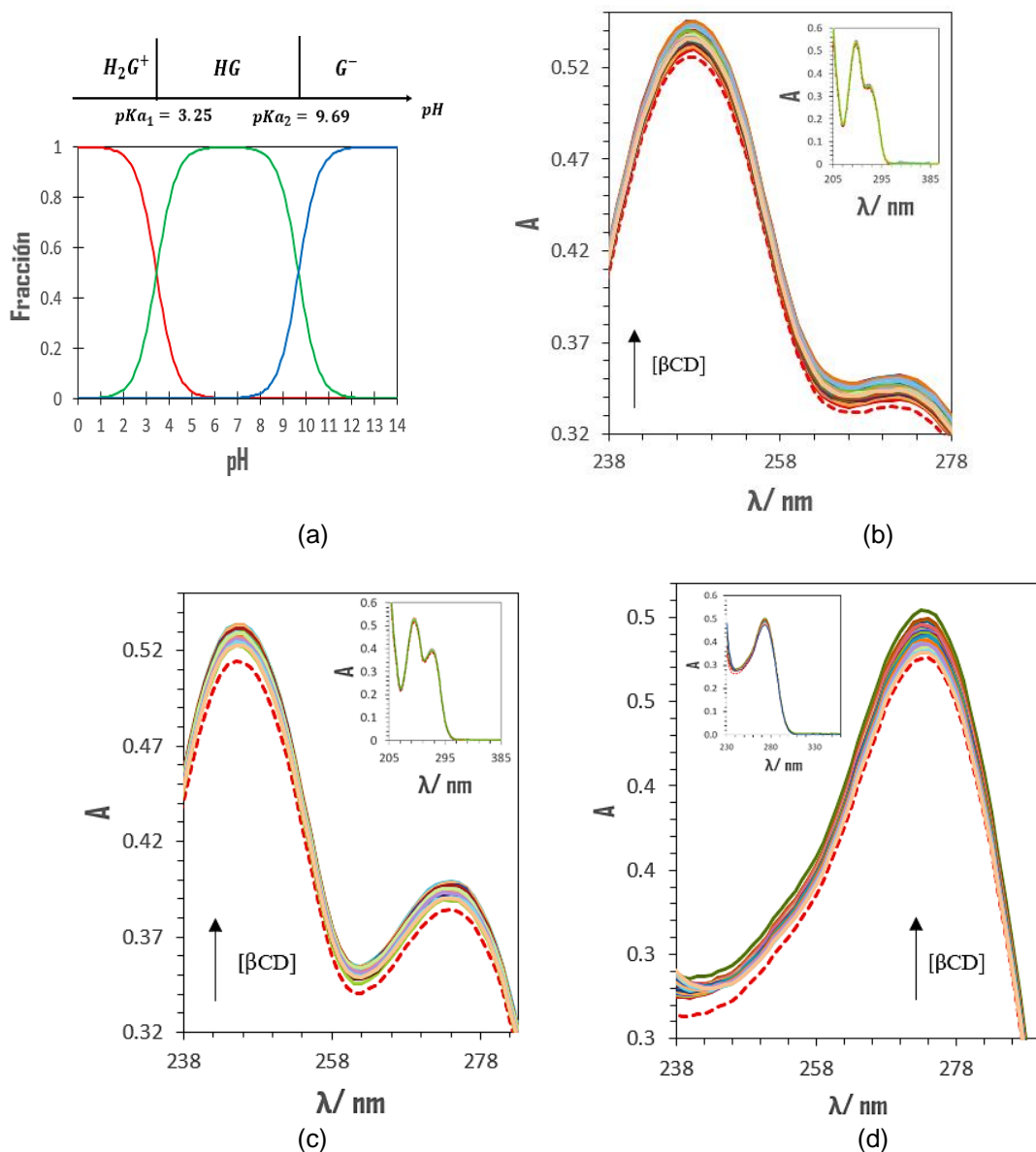


Figura 2. a) Diagrama de distribución de la guanina en medio acuoso. b) Espectros de UV de la guanina 70.44 μM a pH = (1.22 \pm 0.01) para diferentes concentraciones de βCD . c) Espectros de UV de la guanina

70.44 μM a $\text{pH} = (6.55 \pm 0.01)$ para diferentes concentraciones de βCD . d) Espectros de UV de la guanina 70.44 μM a $\text{pH} = (13.38 \pm 0.01)$ para diferentes concentraciones de βCD . La línea punteada roja en los incisos b, c y d son los espectros de la guanina en ausencia de βCD .

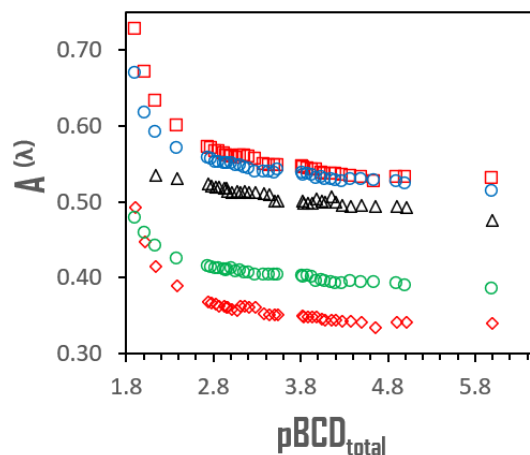


Figura 3. Valores de absorbancia, A , como una función del $p\beta\text{CD}_{\text{total}}$ a diferentes longitudes de onda para cada valor de pH . $\text{pH} = (1.22 \pm 0.01)$: $\square A^{(272)}$, $\diamond A^{(248)}$; $\text{pH} = (6.55 \pm 0.01)$: $\circ A^{(245)}$, $\triangle A^{(274)}$; $\text{pH} = (13.38 \pm 0.01)$: $\triangle A^{(274)}$.

En la Tabla 1 se resume la información que se introdujo al programa computacional SQUAD, así como el mejor modelo que el programa optimizó con sus respectivas constantes de formación, $\log K_f$, de los complejos de inclusión entre βCD y guanina para cada valor de pH .

Tabla 1. Valores de constantes de inclusión para el sistema $\beta\text{-CD}$ /Guanina en medio acuoso.

$\text{pH} \pm 0.01$	Número de datos de A ingresados	Intervalo de longitud de onda / nm	Modelo refinado por SQUAD	$\log K_f$	Desviación estándar de los datos de Absorbancia
1.22	6142	205 - 370	$2\beta\text{CD} + \text{H}_2\text{G}^+ = \text{H}_2\text{G}(\beta\text{CD})_2^+$	4.814 ± 0.011	(5.73×10^{-3})
6.55	5644	205 - 370	$\beta\text{CD} + \text{HG} = \text{HG}(\beta\text{CD})$	1.708 ± 0.025	(6.45×10^{-3})
			$2\beta\text{CD} + \text{HG} = \text{HG}(\beta\text{CD})_2$	4.190 ± 0.017	
13.38	4828	229 - 370	$\beta\text{CD} + \text{G}^- = \text{G}(\beta\text{CD})^-$	2.3801 ± 0.0063	(2.99×10^{-3})

Una de las ventajas del algoritmo estadístico de SQUAD, además del manejo de un gran volumen de datos y el refinamiento de constantes de equilibrio, es que determina los coeficientes de absorptividad molar, ϵ , para cada especie que absorbe luz en el sistema. Como ejemplo, para el valor de $\text{pH} = 6.55 \pm 0.01$, en la Figura 4a se grafican los valores de ϵ en función de la longitud de onda. Con éstos y considerando el valor de concentración es posible reconstruir un modelo que represente los datos experimentales correspondientes a $\text{pH} = 6.55 \pm 0.01$ de la Figura 3, ver Figura 4b. Como puede apreciarse

el modelo ajusta bastante bien con los datos experimentales lo cual da confiabilidad a los valores de $\log K_f$.

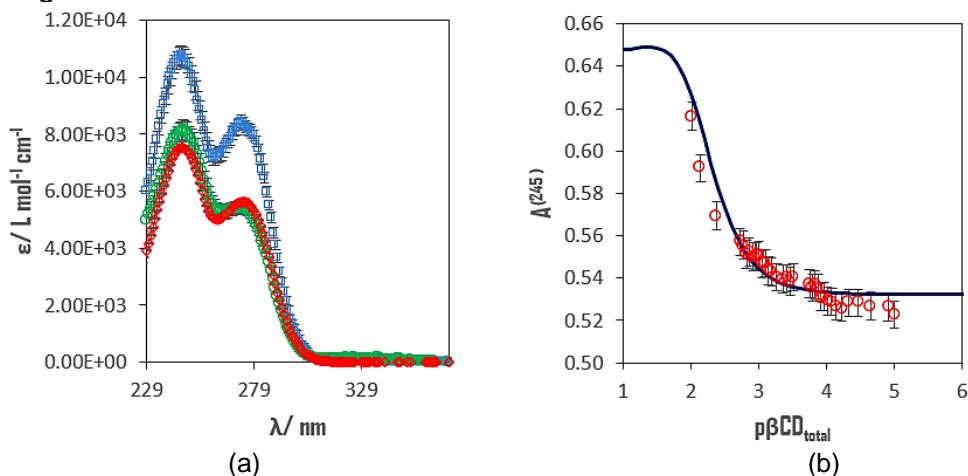


Figura 4. a) Valores de ϵ para cada especie que absorbe en el sistema: (marcadores rojos) HG, (marcadores verdes) HG(β CD)₂, (marcadores azules) HG(β CD); como una función de la longitud de onda a $\text{pH} = 6.55 \pm 0.01$. b) Modelo de dos equilibrios construido a partir de los coeficientes de absorptividad molar (línea continua) que representa a los datos experimentales generados a $\text{pH} = (6.55 \pm 0.01)$ (marcadores).

Con los valores de $\log K_f$ ya calculados, y usando la herramienta computacional MEDUSA es posible generar un diagrama bidimensional en el espacio $p\beta\text{CD}_{\text{total}}/\text{pH}$ para todas las especies de guanina, ver Figura 5. Esta herramienta es de vital importancia para tener conocimiento de las diferentes formas químicas predominantes de la guanina según las condiciones de amortiguamiento en pH y $p\beta\text{CD}$.

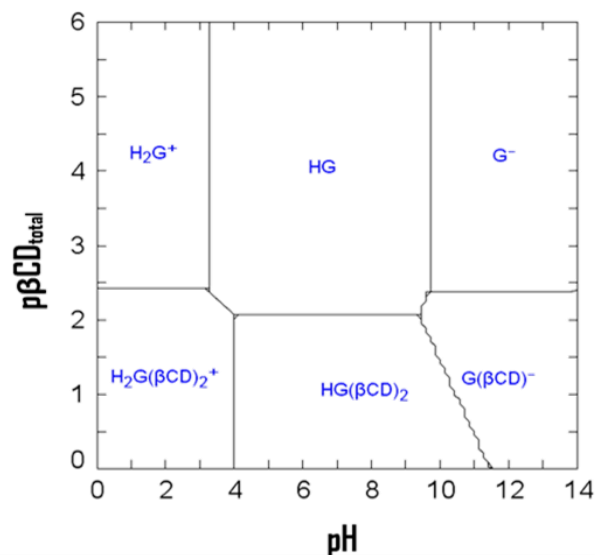


Figura 5. Diagrama de zonas de predominio construido con las constantes de formación calculadas en este trabajo para el sistema β -ciclodextrina/guanina a través de la herramienta computacional MEDUSA.

Conclusiones

Se logra obtener de manera exitosa evidencia experimental de las constantes de formación de los complejos de inclusión entre β -ciclodextrina y guanina en medio acuoso así como de sus coeficientes de absorptividad molar por espectroscopía de UV-Vis lo que permitirá tener un mejor control de las condiciones experimentales para el diseño de métodos de cuantificación o caracterización de la guanina en presencia de β CD.

Agradecimientos

Jorge Martínez Guerra agradece al CONAHCYT por la beca posdoctoral y por la distinción como integrante del SNI. Alberto Rojas-Hernández y María Teresa Ramírez-Silva agradecen al CONAHCYT por la distinción como integrantes del SNI. Se agradece a la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa por el espacio y recursos asignados para realizar este trabajo. Se agradece a la Asociación Mexicana de Química Analítica y a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para llevar a cabo la comunicación idónea de este trabajo.

Referencias

- [1] G. Roa-Morales, L. Galicia, M.T. Ramírez-Silva. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*; **46**, 139-, (2003).
- [2] A. Zafra-Roldán, S. Corona-Avendaño, R. Montes-Sánchez, M. Palomar-Pardavé, M. Romero-Romo, M.T. Ramírez-Silva. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*; **190**, 442-449 (2018).
- [3] J. Crestani de Miranda, T. Martins, F. Veiga, H. Gómez-Ferraz. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*; **47**, 665-681, (2011).
- [4] E. Balanikas, A. Banyasz, T. Douki, G. Baldacchino, D. Markovitsi. *Accounts of Chemical Research*; **53**, 1511-, (2020).
- [5] Y.H. Jang, W.A. Goddard III, K.T. Noyes, L.C. Sowers, S. Hwang, D.S. Chung. *Journal of Physical Chemistry B*; **107**, 344-357 (2003).
- [6] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez-Silva, I. González, J.G. Ibáñez. *Journal of Chemical Education*; **72**, 1099-1105 (1995).
- [7] L. Liu, X.Q. Guo. *Journal of Inclusion Phenomena Macro*; **42**, 1-14 (2002).
- [8] J. Martínez-Guerra, M. Palomar-Pardavé, M. Romero-Romo, S. Corona-Avendaño, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva. *International Journal of Electrochemical Science*; **14**, 5373-5385 (2019).
- [9] D.J. Leggett, W.A.E. McBryde. *Analytical Chemistry*, **47**, 1065-1070 (1975).

INTERACCIÓN ENTRE EL ION VANADILO (VO^{2+}) Y H_2PO_4^-

Jeovani González Barbosa^a, Adrián Ricardo Hipólito Nájera^a, Rodolfo Gómez Balderas^a, Norma Rodríguez Laguna^a, Rosario Moya Hernández^a

^aLaboratorio de Físicoquímica Analítica, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli, 54714, Estado de México, México.

Introducción

El vanadio fue descubierto en 1813 por el mineralogista Del Río quien le dio el nombre de pancromo debido a que cambia de color en función de su estado de oxidación. Este elemento de transición fue redescubierto en 1831 por el químico sueco Nils Gabriel Sefstom, quien nombró al compuesto vanadio en honor a la diosa germánica de la belleza vanadis. Al igual que la mayoría de los metales de transición, el vanadio presenta varios estados de valencia (-3 , -1 , 0 , $+1$ a $+5$) y la expresión de un estado de oxidación depende en gran medida del pH [1].

Se estima que en cuerpo humano el vanadio existe en menos de 1 mg y se acumula principalmente en los tejidos de los órganos, las concentraciones más altas se observan en los huesos (principal almacenamiento), hígado y riñones [2]. Aproximadamente el 95% del vanadio transportado en la sangre se une a la transferrina como ion vanadilo (IV) (VO^{2+}). La mayor parte del vanadio suministrado por fuentes nutricionales se secreta con las heces en forma de hidróxido de vanadilo poco soluble [3].

Algunos efectos farmacológicos que tiene el vanadio son: efectos inotrópicos sobre el tejido miocárdico (cambio en la fuerza de las contracciones del corazón), la estimulación de la división celular y las propiedades anticancerígenas. La aplicación más relevante involucra las propiedades insulino-miméticas del vanadio y su posible uso en el alivio de los síntomas de la diabetes reduciendo los niveles de glucosa en sangre, además que un estado normoglucémico inducido por vanadilo puede persistir durante al menos 3 meses después de haber retirado el tratamiento [2], El primer compuesto de vanadio antidiabético fue un complejo de maltolato de composición $\text{VO}(\text{maltolato})_2$ (óxido-bis(etilmaltolato)vanadio(IV)) [3], también se ha usado el sulfato de vanadilo, metavanadato de sodio y ortovanadato de sodio en estudios con humanos encontrando que estos compuestos aumentaron la respuesta de la insulina en pacientes con diabetes tipo II, existe evidencia de que pueden beneficiar a los pacientes con diabetes tipo I [4].

Sin embargo, hay reportes que los iones vanadato (VO_4^{3-}) y vanadilo (VO^{2+}) (menos tóxico), pueden causar una serie de efectos adversos en los mamíferos, algunos de estos efectos pueden ser: pérdida de peso corporal, diarrea, toxicidad reproductiva y del desarrollo ya que puede ser transferido durante la lactancia [5]. Para evitar los efectos tóxicos del vanadio se han sintetizado complejos de coordinación con diferentes compuestos orgánicos.

Al momento de realizar estudios con este metal se presentan algunas dificultades como: la fácil oxidación del vanadilo a vanadato, el uso de buffers inorgánicos ya que por ser un metal de transición puede llegar a formar complejos con los componentes del buffer ocasionando que se presenten interferencias al momento de realizar los análisis.

El objetivo de este trabajo es evidenciar la interacción entre el ion VO^{+2} y las especies de PO_4^{3-} en disolución y obtener los valores de $\text{Log}\beta$ para los complejos que puedan llegar a formarse, ya que el buffer de fosfatos ($\text{pH}= 7$) es uno de los más usados al momento de realizar estudios analíticos. Dieter Rehder reporta complejos formados entre vanadilo con fosfatos en sistemas fisiológicos los cuales se han estudiado mediante resonancia paramagnética de electrones (EPR) siendo el compuesto $\text{VO}(\text{HPO}_4)$ el más abundante [6].

Parte Experimental

Para determinar si existe una interacción entre el vanadilo y fosfatos se realizó una valoración de una mezcla de estequiometría 1:1 de VO^{+2} y H_2PO_4^- (0.01 M) en agua, manteniendo la temperatura constante en $25\text{ }^\circ\text{C}$ y con una atmósfera de N_2 , a la cual se le agregaron cantidades crecientes de OH^- (5×10^{-2} M), en cada adición se tomó un espectro de absorción de 900 a 400 nm y se monitoreó el pH.

Resultados y Discusión

Para determinar el número de especies absorbentes presentes en el sistema de estudio, se utilizó el programa computacional TRIANG, el programa fue alimentado con 24 espectros de absorción con 48 datos de absorbancia cada uno y variando el error de transmitancia (ΔT) de 0.003 a 0.009 (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados obtenidos por TRIANG.

ΔT	No. de especies
0.003	3
0.004	3
0.005	3
0.006	3
0.007	3
0.008	3
0.009	3

Se encontró 3 especies absorbentes, siendo una de estas especies el ion VO^{2+} , por lo que las otras 2 especies corresponderán a los complejos que se forman con las especies de fosfato.

En la Figura 1 se presenta la valoración con OH^- , en la que se muestra que conforme el pH aumenta se tiene un desplazamiento hipocrómico y batocrómico en la absorbancia máxima la cual inicialmente se encuentra en 782nm, de igual forma se presenta una

nueva banda de absorción en 590 nm. En 610 y 824 aproximadamente se presentan dos puntos isobécticos lo que indica la presencia de al menos un equilibrio químico en el sistema relacionado con la partícula que se está intercambiando.

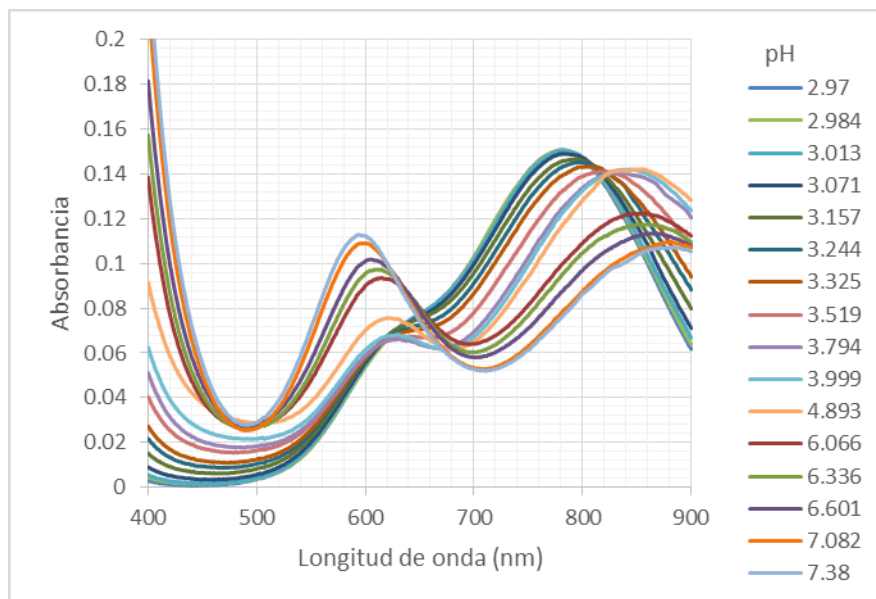


Figura 1. Espectros de absorción de la valoración de $\text{VO}^{2+}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ con OH^- .

Los datos de absorbancia de la valoración fueron analizados con el programa computacional SQUAD, el cual se alimentó con 25 espectros, en un intervalo de 500 a 892 nm tomando valores de absorbancia cada 8 longitudes de onda, dando como resultado los valores de la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados obtenidos mediante el programa SQUAD.

	$\text{Log}\beta \pm \sigma$	U	σ Datos de absorbancia
VOPO_4^-	17.20 ± 0.186	4.13×10^{-3}	1.94×10^{-3}
VOHPO_4	23.17 ± 0.188		
$\text{VOH}_2\text{PO}_4^+$	26.10 ± 0.193		

Mediante SQUAD se encontraron tres valores de $\text{Log}\beta$ para los complejos formados entre VO y PO_4^{3-} con sus respectivos valores de desviación estándar. El programa también proporciona el valor de U (suma de cuadrados) este valor indica la diferencia que existe entre los datos experimentales con respecto al modelo propuesto, por lo que se busca que el valor sea lo menor posible.

Se calcularon los coeficientes de absorptividad molar de cada especie absorbente presente en el sistema. Los gráficos de los coeficientes de absorptividad molar en función de la longitud de onda muestran tres curvas que corresponden a los complejos formados entre VO^{2+} y PO_4^{3-} protonados y desprotonados (Figura 2).

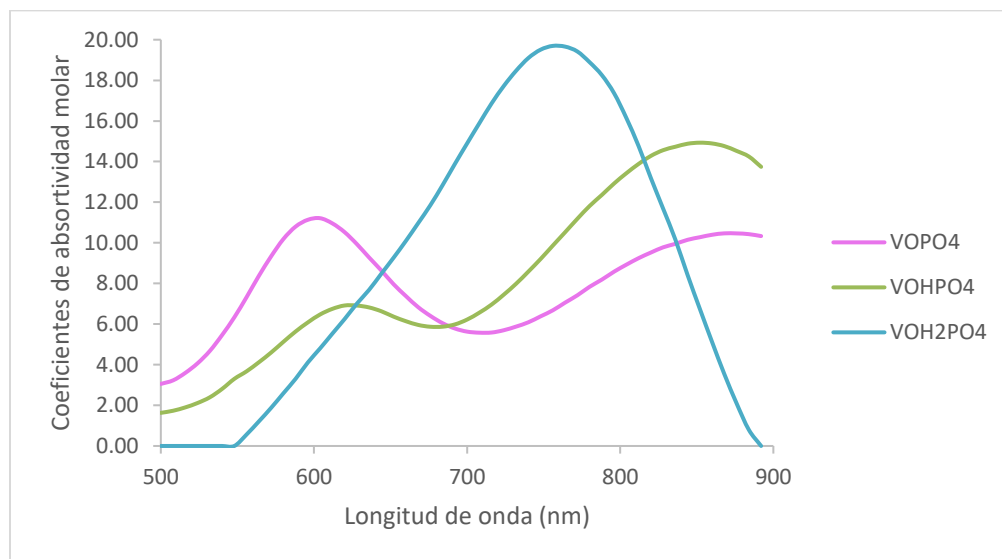


Figura 2. Coeficientes de absorptividad molar en función de la longitud de onda.

Conclusiones

Se estudió la interacción entre el vanadilo y fosfato por medio de espectrofotometría UV-Vis, encontrando que las especies que se forman son muy estables debido a los valores elevados de $\text{Log}\beta$. Con estos resultados se tiene evidencia de que el buffer de fosfatos no es indicado cuando se trabaja con vanadilo (VO^{2+}), ya que al momento de que estos iones se complejen pueden causar interferencias durante la experimentación, por lo que es necesario buscar otras opciones cuando se requiere mantener el pH constante. A pesar de que TRIANG indica 3 especies absorbentes mediante SQUAD se encontraron 4 especies (vanadilo y 3 especies con diferentes especies de fosfato), esta diferencia se debe a que, si los coeficientes de absorptividad molar de dos especies son similares por lo que TRIANG no puede diferenciar entre ambas, por lo que las cuenta como una sola especie absorbente.

Agradecimientos

J. González-Barbosa agradece a CONACYT por su beca de doctorado. R. Gómez-Balderas agradece al programa UNAM-PAPIIT IN221621 y N. Rodríguez-Laguna agradece a los programas UNAM-PAPIIT IA208221 y IA209123 por el apoyo a esta investigación. R. Moya-Hernández agradece al proyecto PIAPI2035 y al Programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FESC-UNAM.

Referencias.

- [1] Poucheret, P., Verma, S., Grynepas, M. D., & McNeill, J. H. (1998). Vanadium and diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 73-80.
- [2] French, R. J., & Jones, P. J. (1992). Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. *Life Sciences*, 339-346.
- [3] Rehder, D. (2020). The potentiality of vanadium in medicinal applications. *Inorganica chemica acta*, 1-5.
- [4] Yanarday, R., Bolkent, S., Karabulut Bulan, Ö., & Tunali, S. (2003). Effects of vanadyl sulfate on kidney in experimental diabetes. *Biological trace element research*, 73-84.
- [5] Domingo, J. L. (1996). Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reproductive Toxicology*, 175-182.
- [6] Rehder, D. (2008). Inorganic and coordination compounds of vanadium. *Bioinorganic vanadium chemistry*, 13-30. doi:10.1002/9780470994429

EFFECTO DE LA OXIDACIÓN DE P-AMINOFENOL SOBRE ADENINA, VIA ELECTROQUÍMICA

Georgina Alarcón Angeles^{a*}, María Guadalupe Valencia Valencia^a, Martín Gómez Hernández^a, Marcela Hurtado y de la Peña ^a

^aFarmacocinética y Farmacodinamia Departamento de Sistemas Biológicos Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, 04960 Ciudad de México, CDMX. Email: galarcon@correo.xoc.uam.mx

Introducción

Este trabajo presenta un estudio sobre la interacción del p-aminofeno (PAP) con adenina (ADE), dos compuestos orgánicos de importancia biológica. Las implicaciones de esta interacción pueden ser relevantes en diversos procesos bioquímicos en los que participan tanto el p-aminofenol como la adenina. Por ejemplo, la adenina es un componente fundamental del ADN y ARN, que juega un papel crucial en la transmisión de información genética y en la síntesis de proteínas. Sin embargo, la adenina está sujeta a procesos de oxidación que pueden afectar su estructura y función. La oxidación de la adenina puede ocurrir como resultado de la exposición a especies reactivas de oxígeno, productos químicos tóxicos o estrés celular (1,2). Durante este proceso, los átomos de hidrógeno en la adenina pueden ser sustituidos por átomos de oxígeno, lo que conduce a la formación de productos oxidados. Uno de los productos de oxidación más comunes de la adenina es la 8-hidroxí-adenina (8-OH-adenina). La presencia de 8-OH-adenina puede causar una serie de efectos adversos en la función del ADN y el ARN (3). Por ejemplo, en situaciones de estrés oxidativo o cuando los sistemas de reparación del ADN están comprometidos, la acumulación de 8-OH-adenina y otros productos oxidados puede aumentar, lo que puede tener consecuencias negativas para la integridad genética y la función celular.

Mientras que, el PAP es un compuesto orgánico ampliamente utilizado en la síntesis de fármacos (como paracetamol) y colorantes (tintes para cabello y textiles), su estabilidad puede verse afectada por factores ambientales y procesos de oxidación, por lo que, su uso puede tener implicaciones significativas para la salud (4). Se ha reportado que la oxidación puede ocurrir mediante la exposición al oxígeno atmosférico o a agentes oxidantes químicos y dar lugar a la formación de compuestos quinónicos. Los procesos de oxidación del PAP, Figura 1, están asociados a los grupos amino e hidroxilo (NH₂ and OH), dando lugar a p-quinonimina y [1,4] benzoquinona (4).

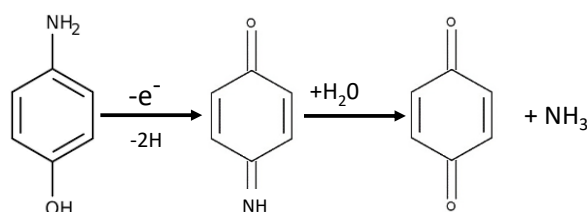


Figura 1. Procesos de oxidación de PAP

Comprender cómo estos compuestos interactúan puede proporcionar información valiosa para el diseño de nuevos medicamentos y/o productos farmacéuticos. En este trabajo se presenta por primera vez el estudio de la interacción de APA-ADE basado en técnicas electroquímicas. La interacción entre el PAP y la ADE se estudió utilizando técnicas como la voltamperometría cíclica (VC) y diferencial de pulso (VDP). Estas técnicas permitieron observar cambios en los voltamperogramas de ambos compuestos cuando se encontraban en presencia uno del otro. Los resultados indicaron que el p-aminofenol y la adenina forman un complejo estable, evidenciado por desplazamientos de los picos característicos en los voltamperogramas de adenina, además de la formación de una nueva señal electroquímica.

Parte Experimental

Reactivos.

Los siguientes reactivos y materiales fueron utilizados: acetato de sodio, cloruro de sodio, ácido acético, adenina ($\geq 99\%$) y PAP grado analítico de la marca Sigma Aldrich. Se preparó una solución amortiguadora de acetatos (SAA) a una concentración de 0.1 M y pH 4.5. La SAA se obtuvo mezclando CH_3COOH y $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, y el pH se ajustó utilizando NaOH (1.0 M). Todas las soluciones fueron preparadas utilizando agua desionizada (MiliQ 18M Ω).

Mediciones electroquímicas.

Para el estudio electroquímico se usó un potenciostato galvanostato Autolab. Se empleó una celda de tres electrodos compuesta por un electrodo de referencia (Ag/AgCl), un electrodo auxiliar (platino) y un electrodo de trabajo (pasta de carbono). La caracterización de adenina y PAP así como el estudio de su interacción, se llevó a cabo mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP) en un rango de potencial de 0 a 1.3 V. Se utilizó un potencial de pulso de 0.06 V a velocidad de barrido de 30 mV/s. Antes de cada medición, se verificó que la superficie del electrodo estuviera libre de contaminantes mediante el uso de un sistema blanco.

El análisis cuantitativo de cada analito se realizó mediante la construcción de curvas de calibración utilizando estándares conocidos. Los productos de oxidación del PAP se obtuvieron electroquímicamente aplicando un voltaje de 0.3 V durante un tiempo predeterminado.

Interacción p-aminofenol-adenina

Se prepararon sistemas mezclando p-aminofenol-Adenina (PAP-ADE), variando el tiempo de interacción, para cada experimento se realizó un sistema control, evaluando a los mismos tiempos las soluciones de PAP y ADE de forma individual.

Condiciones oxidantes. Se aplicó un potencial de oxidación de 0.3 V durante 0 a 5 min. el mismo tratamiento se aplicó a las disoluciones de cada uno de los analitos (acetaminofén, y adenina). Se caracterizó la interacción entre el PAP-ADE, a través de los desplazamientos de potencial y/o cambios en la señal analítica (corriente). Se considerará una posible interacción entre las especies cuando se tiene un cambio en la concentración mayor o igual 10% o cuando el potencial de las señales de oxidación se desplaza más de 60 mV.

Resultados y Discusión

Caracterización electroquímica

La técnica electroquímica de VC fue empleada para la caracterización de los procesos redox de PAP, el voltamperograma se inició a potencial de corriente nula y se incrementó hacia valores más positivos. Durante el primer ciclo, se observó un pico alrededor de 0.3 V, con su correspondiente pico de reducción en 0.24 V (Figura 2A).

Los procesos de oxidación del PAP, están asociados a los grupos amino e hidroxilo (NH₂ y OH). Los resultados obtenidos a partir del estudio de velocidad sugieren que la reacción electroquímica es reversible ya que la relación entre la altura de pico anódico y catódico es aproximada a 1, mientras que la diferencia en el potencial no es superior a 60mV. El análisis de: corriente (i) vs raíz cuadrada de la velocidad (v^{1/2}) mostró un comportamiento lineal, el cual se representa con la ecuación (1 y 2):

$$i_a(\mu A) = 6.5548v^{1/2} + 0.1012 \text{ con } R^2 = 0.9906 \quad (1)$$

$$i_c(\mu A) = 6.6049 v^{1/2} + 0.3871 \text{ con } R^2 = 0.9963 \quad (2)$$

Por lo que se asume que los procesos están controlados por difusión.

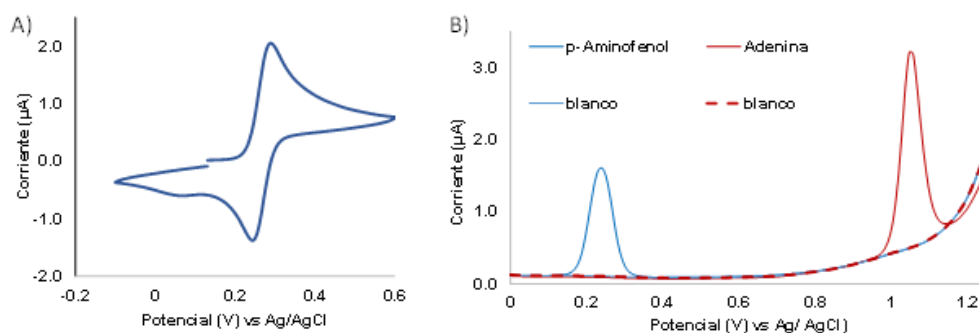


Figura 2. A) VC de PAP [2.5 µg/mL] a 100mV/s, en SAA,0.1 M, pH 4.5, electrodo pasta de carbón. B). VDP's de p-aminofenol y adenina a una concentración 2.5 g/mL, en SAA pH 4.5. Electrodo pasta de carbono.

El análisis de la interacción entre el fármaco y las bases púricas se realizó por voltamperometría diferencial de pulso (VDP). En la Figura 2B se muestra la señal electroquímica característica del proceso de oxidación del PAP y adenina, a 0.24 V, 0.8 V y 1.0 V, respectivamente. Se observa que, la separación entre los picos de oxidación entre PAP y las bases púricas es superior a 500 mV, lo que indica que no hay interferencia entre las señales de los analitos y que es posible realizar la determinación individual en una mezcla.

Análisis cuantitativo

Se llevó a cabo la determinación cuantitativa del PAP y la base púrica evaluando la relación lineal entre la corriente de oxidación máxima y la concentración, en el intervalo de 1-3 $\mu\text{g/mL}$. Los voltamperogramas y las curvas de calibración se presentan en la Figura 3a-d. Todas las mediciones se corrigieron con el blanco y se hicieron por triplicado, la desviación estándar relativa (%DER) sobre la respuesta analítica no excede el 3%. Se encontró que la sensibilidad del método es de 0.78 $\mu\text{A}/(\mu\text{g/mL})$ y 1.49 $\mu\text{A}/(\mu\text{g/mL})$, para PAP y ADE respectivamente.

Estrés oxidativo

La evaluación de la oxidación del PAP (Figura 4 A), se realizó a través de la aplicación del potencial de oxidación de 0.3 V durante diferentes períodos de tiempo, en donde se encontró que, al oxidar durante 30 s la concentración inicial de APA decae en un 20%, mientras que, a los 10min se ha oxidado el 40%. Al mismo tiempo, se pudo observar la presencia de la especie oxidada [1,4] benzoquinona, en 0.42 V, la formación de esta especie se aprecia desde los primeros 30s de aplicación del potencial y a partir de los 8 min permanece sin cambios (Figura 4b y c), el análisis de los datos muestra un comportamiento similar al de una cinética de reacción de orden 1.

Dado los diversos usos del PAP en la industria farmacéutica, resulta interesante conocer que la exposición a esta condición de estrés oxidativo del PAP, afecta a más del 10% en su concentración inicial en menos de 1min.

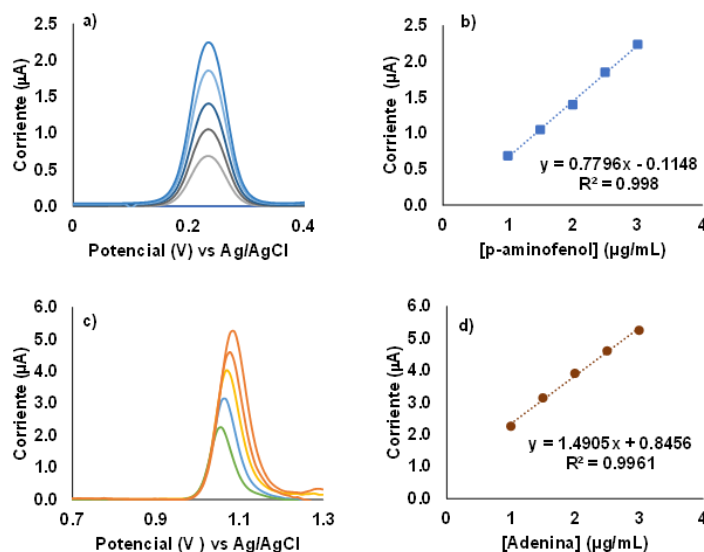


Figura 3. DPV's y curva de calibración de a) y b) p-aminofenol, c) y d) adenina en SAA pH 4.5. Electrodo pasta de carbono.

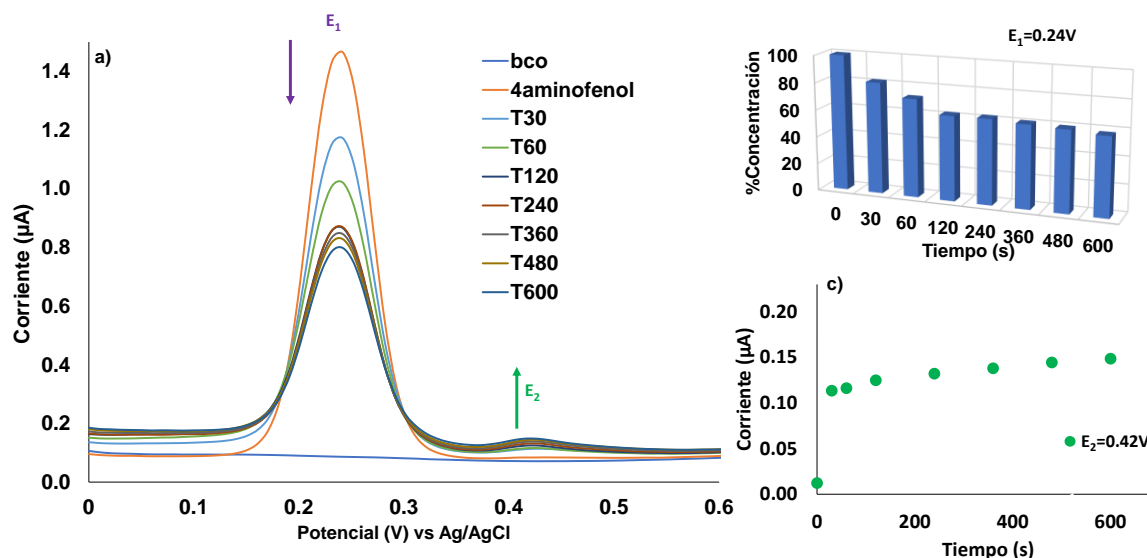


Figura 4. a) DPV's oxidación de PAP $E_a = 0.3$ durante 30, 60, 120, 360, 240, 480, 600 y 700 s, en SAA pH 4.5. Electrodo pasta de carbono. b) gráfico de % de concentración remanente de PAP después del estrés oxidativo. c) Gráfico del incremento de la corriente correspondiente a la especie oxidada del PAP vs tiempo.

Interacción p-aminofenol-adenina

Para evaluar el efecto de PAP sobre la adenina, fue necesario conocer el impacto del potencial aplicado sobre PAP. La Figura 5, muestra la evaluación de la adenina con la aplicación del potencial de 0.3 V en función del tiempo, se evaluó hasta 600 s, se encontró

que no presentó ninguna alteración por lo que se concluye que la adenina permanece estable, bajo las condiciones de estrés oxidativo del PAP.

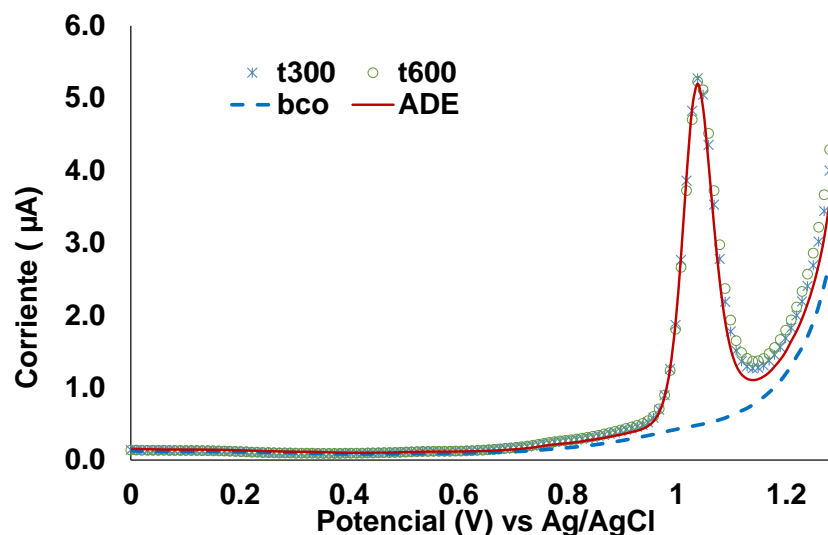


Figura 5. Efecto del potencial (0.3V) aplicado sobre adenina en presencia de PAP (1.5 mM) durante 0, 300 y 600 s.

Considerando que la ADE es estable bajo estrés oxidativo, se estudió de la interacción de ADE-PAP ($[ADE/PAP]= 1:1$) en condiciones de estrés oxidativo, ver Figura 6, se encontró que al aplicar el potencial durante 10 min (600 s), tanto la señal del PAP como de la ADE disminuyen de forma significativa, la aparición de una señal nueva en la ventana de potencial de 0.4 a 0.6 V sugiere la formación de una nueva especie. Considerando que la nueva señal aumenta con tiempo de exposición de la ADE con el producto de oxidación del PAP, alrededor de $E_a=0.4$ V, se propone que el producto generado a partir de la interacción ADE-PAP está asociado con la señal en $E_a=0.55$ V, Figura 6b, en particular se ha reportado que la adenina puede formar puentes de hidrogeno entre los grupos amino de la base y grupos funcionales como $C=O$ de otras especies (p-quinonimina y [1,4] benzoquinona), por lo que no se descarta que exista este tipo de interacción entre el producto de oxidación del PAP y la adenina. El desplazamiento del potencial de la señal de la adenina es otro indicativo de esta posible interacción, Figura 6c. En la literatura se reporta que la señal de 8-OH-adenina se tiene en potenciales cercanos a 0.6 V a pH 4.5 (3,5), por lo que no se descarta que la especie producida está asociada con este biomarcador.

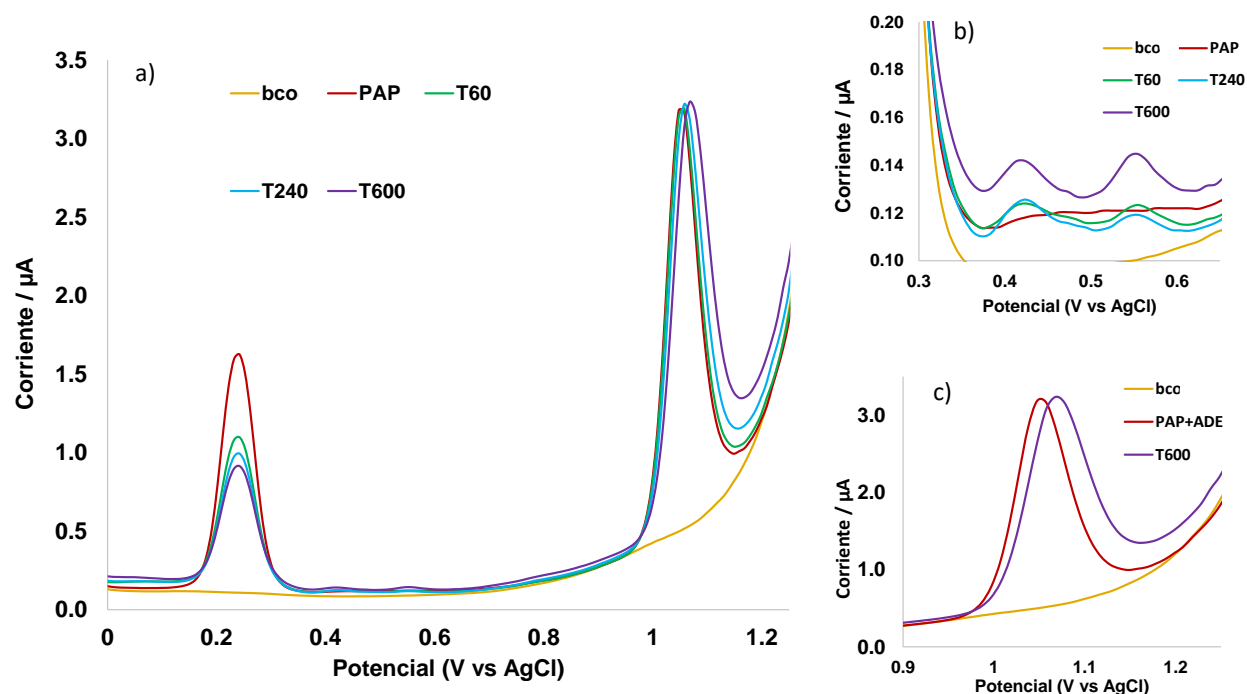


Figura 6. Análisis del comportamiento de adenina a partir del potencial aplicado sobre PAP. b) Formación de productos de oxidación de PAP, c) Desplazamiento de pico de oxidación de ADE Relación molar 1:1 (PAP:ADE). Electrodo grafito. SA acetatos pH 4.5

Conclusiones

El estudio muestra evidencia experimental de la interacción del PAP con ADE, la formación de la especie en 0.55 V y los desplazamientos de potencial de ADE así como los cambios en la concentración de PAP, dan cuenta de ello, por lo que podría ser la base para comprender el mecanismo de acción de diversas sustancias sobre las bases púricas. La detección electroquímica fue posible con el uso de un electrodo de pasta de carbono, por lo que se refiere como un método simple y de bajo costo.

Agradecimientos

GAA desea expresar su agradecimiento al SNI por el reconocimiento y estímulo otorgado.

Referencias

- [1] H. Jaeschke, M. R. McGill, A. Ramachandran, *Drug metabolism reviews*, **44**, 88–106 (2012).
- [2] O. Pänke, A. Kirbs, F. Lisdat, *Biosens. Bioelectron.* **22**, 2656–2662 (2007).

- [3] K. De la Cruz Morales, G. Alarcón-Angeles, A. Merkoçi, A., *Electroanalysis*. **31**, 1845-1867 (2019).
- [4] H.J. Salavagione, J. Arias, P. Garcés, E. Morallón, C. Barbero, J.L. Vázquez J. *Electroanal. Chem.*, 565 pp. 375-383 (2004),
- [5] A.M, Oliveira-Brett, V. Diculescu, J.A.P., Piedade, *Bioelectrochem* 55, 61-62, (2002)

METFORMINA: DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE pK_a POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV

Sergio Raúl Guerrero Zavaleta, Rosario Moya Hernández, Ricardo Hipólito Nájera, Rodolfo Gómez Balderas, Arturo de Jesús García Mendoza, Norma Rodríguez Laguna*

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio de Físicoquímica Analítica, Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5, San Sebastian Xhala, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, México. C.P. 54714. Tel: 556231999, ext. 39420, e-mail: 316174990@cuautitlan.unam.mx, normarola@cuautitlan.unam.mx

Introducción

La metformina (Met), también llamada 1,1-dimetil biguanida; N,N-dimetil biguanida o 3-(diaminometilideno)-1,1-dimetil guanidina, es un medicamento hipoglucemiante que pertenece a la clase de medicamentos llamados biguanidas. Se utiliza principalmente para el tratamiento de la diabetes tipo 2, actuando de diversas maneras para ayudar a controlar los niveles de azúcar en la sangre reduciendo la producción de glucosa por parte del hígado y mejorando la sensibilidad a la insulina [1]. Este fármaco viene como Clorhidrato de Metformina (Met-HCl) en su fórmula comercial (Figura 1); además de hipoglucemiante, también se usa para la pérdida de peso, y como tratamiento anticancerígeno [2] [3].

En este trabajo se determinan los valores de los logaritmos negativos de las constantes de disociación ácida (pK_a) del sistema de Metformina por espectrofotometría UV-Vis en medio acuoso a 25 °C, con la finalidad de comparar estos resultados con la variabilidad de valores de pK_a reportados en la literatura científica. Tener conocimiento de su valor de pK_a permitirá tener una mayor comprensión de su especiación química con más precisión, al variar el pH.

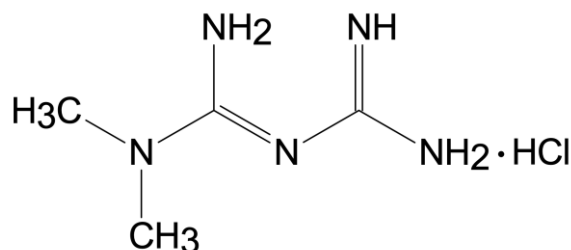


Figura 1. Estructura química del Clorhidrato de Metformina (Met-HCl).

Parte Experimental

Se prepararon disoluciones de Met-HCl 1×10^{-4} M en medio ácido y básico, utilizando disoluciones de HCl y NaOH 0.1 M en cada caso, las cuales presentaron valores de pH de 1.422 y 12.877, respectivamente. Se realizó una valoración ácido-base tomando una alícuota de 25 mL de Met-HCl en medio ácido y se hicieron adiciones de Met-HCl en medio básico, de tal manera que el pH variara 0.2 unidades aproximadamente; a cada

uno de estos valores se le tomó su espectro de absorción. De forma similar, también se realizó la valoración desde medio básico a ácido desde un valor de pH inicial igual a 12.917 hasta 1.109. Los espectros de absorción fueron tomados en la región ultravioleta en el intervalo de 200 a 400 nm.

Los reactivos y equipos empleados en la experimentación fueron: Met·HCl marca Sigma Aldrich (97 %, PM=165.62 g/mol); NaOH marca Baker (98.6 %, PM=40.00 g/mol); HCl marca Baker (40 %, PM=36.45 g/mol). Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada (18.2 MΩ·cm) obtenida de un Desionizador ELGA Purelab Classic. Un potenciómetro pH/conductividad SevenMulti S47, Mettler Toledo (± 0.001 unidades de pH); un electrodo combinado de vidrio de $\text{Ag}^+|\text{AgCl}|\text{KCl}$, 3 M] marca Hach con rango de medición de 0-14 (± 0.002 unidades de pH); un espectrofotómetro Perkin Elmer, Lambda 35; y celdas de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico.

Resultados y Discusión

La familia de espectros de absorción para la valoración desde medio ácido a medio básico se muestra en la Figura 2a, mientras que la familia de espectros obtenida para la valoración de medio básico a medio ácido está mostrada en la Figura 2b. La región que se utilizó en el tratamiento de resultados para la obtención de los valores de pK_a , fue de 221-280 nm. En ambas Figuras se observan un máximo de absorbancia (A) a una longitud de onda (λ) de 232 nm aproximadamente. También se observa un punto isobéptico a una $\lambda \approx 222$ nm indicando la existencia de al menos un equilibrio químico ácido-base, asociado a una constante de acidez. La flecha indica el sentido de la variación de pH desde el pH inicial en cada caso.

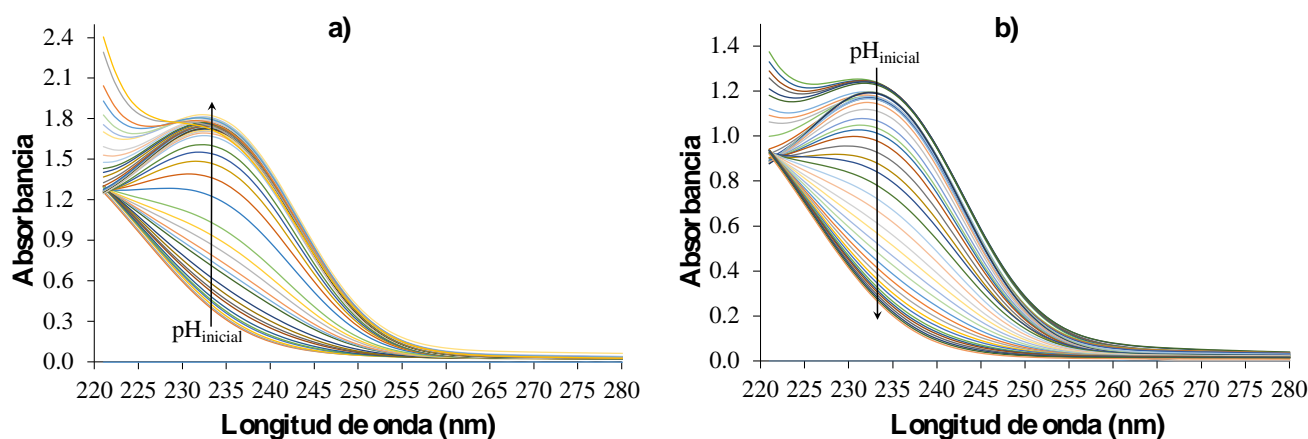


Figura 2. a) Espectros de absorción obtenidos en la valoración de Met·HCl 1×10^{-4} M en medio ácido, valorada con Met·HCl 1×10^{-4} M en medio básico. b) Espectros de absorción obtenidos en la valoración de Met de medio ácido a medio básico a la misma concentración.

A partir de las Figuras 2a y 2b fue posible construir curvas de absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda. Estas curvas se muestran en las Figuras 3a y 3b, construidas para cada una de las valoraciones llevadas a cabo: de medio ácido a básico, y de básico a ácido. En ambos gráficos es posible apreciar que en cada curva se forman dos curvas sigmoides en las que los cambios drásticos en la absorbancia se dan en los intervalos de pH de 2.6 a 4.3 y de 11.4 a 12.4. Las dos curvas sigmoides indican la existencia de 2 valores de pK_a , evidenciando la existencia de dos equilibrios químicos ácido-base del sistema de metformina.

Para confirmar lo anterior, se se hace uso del programa computacional SQUAD [4] [5] para refinar las constantes de formación global a partir de los resultados espectrofotométricos. Con estas constantes es posible obtener los valores de pK_a haciendo uso de la Ley de Hess.

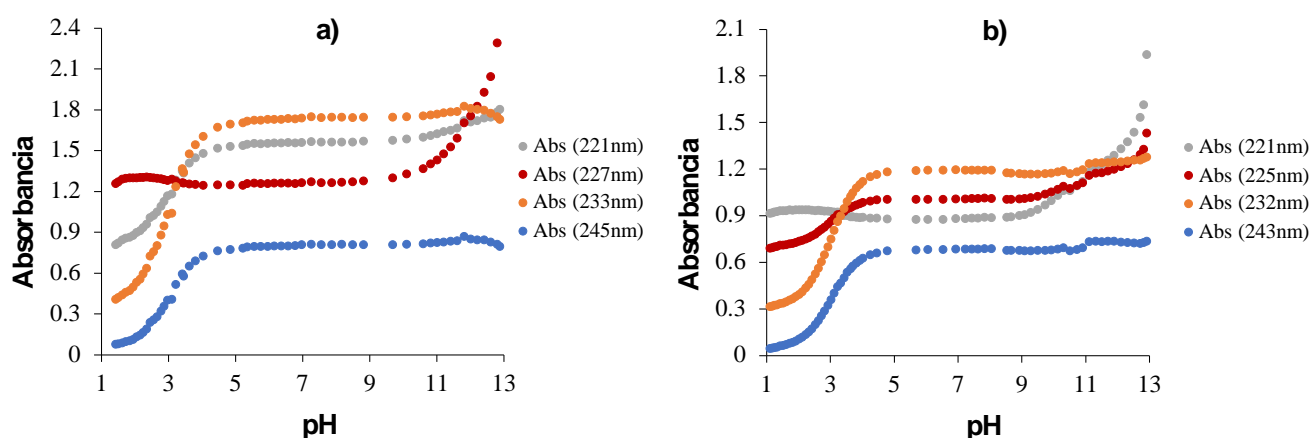
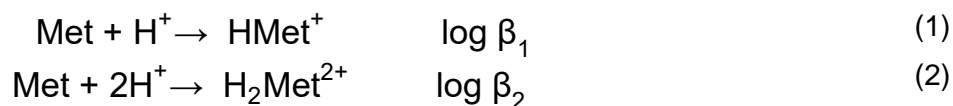


Figura 3. Variación de la absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda. Valoración de Met·HCl 1×10^{-4} M a) de medio ácido a básico y b) de medio básico a ácido.

El programa SQUAD se alimentó con un modelo de dos equilibrios de formación global, como se muestran en las ecuaciones 1 y 2.



Los resultados obtenidos de las constantes de formación global ($\log \beta$) de estas especies refinadas con SQUAD, se muestran en la Tabla 1, también se muestran los parámetros estadísticos que proporciona el programa.

Tabla 1. Logaritmos de las constantes de formación global ($\log \beta_j$) de las especies de metformina, desviación estándar de las constantes (σ_{const}), desviación estándar de los datos de absorbancia (σ_{datos}) y la suma de los residuales al cuadrado (U); j es el número de H^+ .

Valor de j	Especie formada	$\log \beta_i$	σ_{cte}	σ_{datos}	U
1	HMet ⁺	11.8364	0.0133	1.7497×10 ⁻²	8.7708×10 ⁻¹
2	H ₂ Mef ²⁺	14.8867	0.0137		

A partir de los equilibrios de formación global fue posible obtener los valores de pK_a para los equilibrios de disociación ácida que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de pK_{ai} refinados por SQUAD para el sistema de Metformina en disolución acuosa a 25 °C. También se muestran valores de pK_a reportados en la literatura.

Valor de i	Equilibrio	pK_{ai}
1	Met ²⁺ → HMet ⁺ + H ⁺	3.05
2	HMet ⁺ → Met + H ⁺	11.84

La Tabla 3 contiene valores de pK_a del sistema de metformina reportados en la literatura científica.

Tabla 3. Valores de pK_a del sistema de metformina reportados en la literatura científica.

pK_{a1}	pK_{a2}	Referencia	
2.8	11.5	[6]	
2.8	11.6	[7]	
2.8	11.51	[8] [9]	
3.14	13.85	[10]	
2.8	11.51	[11]	
2.79	11.02	[12]	
2.93	11.51	[13]	
pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	Referencia
2.67	8.00	10.57	[14]

Al comparar los valores de pK_a obtenidos en este trabajo con los datos reportados en la literatura, se observa que los valores de pK_{a1} y pK_{a2} refinados por SQUAD son aproximadamente 0.2 unidades por arriba de los reportados. Con esta información es posible saber qué especies de metformina son las que predominan a ciertos valores de pH como se muestra en la Figura 4.

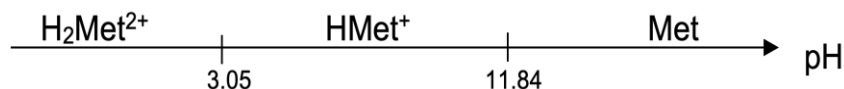


Figura 4. Escala de zonas de predominio lineal de especies del sistema de metformina, en solución a 25 °C, por espectrofotometría UV-Vis.

Conclusiones

Se logró determinar los valores de pK_{a1} y pK_{a2} del sistema de metformina en disolución a 25 °C por espectrofotometría UV-Vis. Estos resultados permitirán tener un mejor control de las condiciones experimentales para el diseño de métodos de cuantificación o caracterización de la metformina en presencia de algún agente acarreador o de algún ion metálico.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa UNAM PAPIIT por el apoyo para realizar esta investigación a través de los proyectos IA202122 y IA209123. Se agradece al programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FES-Cuautitlán UNAM, por el apoyo a este trabajo. También RGB y NRL agradecen al SNI por la distinción otorgada.

Referencias

- [1] González-Barbosa, J., Hipólito-Nájera, A. R., Gómez-Balderas, R., Rodríguez-Laguna, N., & Moya-Hernández, R. (2023). Metformin, Chlorpropamide, and Glibenclamide: Interactions with Metal Ions and Cyclodextrins. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 20. <https://doi.org/10.2174/1570193x20666230117105443>
- [2] Rodríguez-Rivera, N., Cuautle-Rodríguez, P., & Molina-Guarneros, J. (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México. *Rev Hosp Jua Mex*, 84(4), 203–211.
- [3] Rojas, L. B. A., & Gomes, M. B. (2013). Metformin: An old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-6>
- [4] Leggett, D. J. and McBryde W. A. E. (n.d.). General computer program for the computation of stability constants from absorbance data. *Analytical Chemistry*, 47(7)(1975), 1065–1070.
- [5] Leggett, D. J. (1985). SQUAD. *Computational Methods for the Determination of Formation Constants* (pp. 159–220).

- [6] Bretnall, A. E., & Clarke, G. S. (1998). Metformin Hydrochloride. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients, 25(C), 243–293. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60757-1](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60757-1)
- [7] Hernández, B., Pflüger, F., Kruglik, S. G., Cohen, R., & Ghomi, M. (2015). Protonation–deprotonation and structural dynamics of antidiabetic drug metformin. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 114, 42–48. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2015.04.041>
- [8] Saxena, P., Raghuwanshi, A. S., Jain, U. K., Patel, A., & Gupta, N. (2010). UV spectrophotometric method for the quantitation of metformin hydrochloride in pharmaceutical dosage form. Oriental Journal of Chemistry, 26(4), 1553–1556.
- [9] Koteswara Rao, N., & Annapurna, M. M. (2007). Copper and Nickel complexes of Metformin: Synthesis, Characterization and Pharmacodynamic Evaluation. January, 42–46. <https://doi.org/10.4324/9780203391150>
- [10] Gábor Orgován, Béla Noszál. (2011). Electrodeless, accurate pH determination in highly basic media using a new set of 1H NMR pH indicators. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 54 (2011) 958–964.
- [11] Ashour, S., & Kabbani, R. (2003). Direct spectrophotometric determination of metformin hydrochloride in pure form and in drug formulations. Analytical Letters, 36(2), 361–370. <https://doi.org/10.1081/AL-120017696>
- [12] Karaderi, S., Mazi, C., & Yilmazbilek, S. (2020). Determination of the Stability Constants Complexes of Metformin Hydrochloride With Cu(II), Cd(II) and Zn(II). Available Online www.ijpras.com International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences, 2020(1), 121–129. www.ijpras.com
- [13] Mohammad Bagher Gholivand 1, Leila Mohammadi-Behzad. (2013). Differential pulse voltammetric determination of metformin using copper-loaded activated charcoal modified electrode.
- [14] Abdelrahman, S., Alghrably, M., Campagna, M., Hauser, C. A. E., Jaremko, M., & Lachowicz, J. I. (2021). Metal complex formation and anticancer activity of cu(I) and cu(II) complexes with metformin. Molecules, 26(16), 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules26164730>

DETECCIÓN DE GLUTATIÓN BASADA EN UN SENSOR ELECTROQUÍMICO

Georgina Alarcón Angeles^{a*}, Martín Gómez Hernández^a, Marcela Hurtado y de la Peña^a

^aLaboratorio de Farmacocinética y Farmacodinamia, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, 04960 Ciudad de México, CDMX. Email: galarcon@correo.xoc.uam.mx

Introducción.

Así como los dispositivos portátiles actuales para la detección de glucosa en sangre, con el uso de tiras reactivas selectivas a glucosa, es deseable contar con dispositivos que permitan el diagnóstico de diversas enfermedades, en este sentido la evolución de los sensores y biosensores permite la detección de diversos analitos en matrices complejas como fluidos biológicos. En particular se ha reportado que los cambios en las concentraciones fisiológicas de glutatión (GSH) correlacionan con pacientes que padecen enfermedad de Alzheimer, Parkinson, diabetes mellitus, aterosclerosis, artritis, epilepsia, envejecimiento, así como diversos tipos de cáncer (1,2). Como resultado de la correlación entre la concentración de glutatión y las enfermedades y condiciones médicas diversos métodos analíticos se han desarrollado para monitorear los niveles de glutatión en los sistemas fisiológicos (3). Por lo que los métodos buscan detectar concentraciones fisiológicas de fluidos de GSH que en organismos vivos oscilan entre 2 y 12 μM y las concentraciones celulares entre 0.5 y 10 mM para personas sanas (4). Así que, es clara la necesidad de ensayos simples, rápidos y económicos para ayudar al diagnóstico clínico y tratamiento. Estos requisitos son, al menos en principio, ideales para la detección con sensores electroquímicos, donde los más populares se basan en el uso de enzimas para mejorar la selectividad a GSH y recientemente en la inclusión de nanomateriales para mejorar la sensibilidad (4,5), donde dos moléculas glutatión (GSH) se adsorben en la superficie del electrodo nanoestructurado y, debido al voltaje aplicado (V), el GSH se oxida para generar GSSH (5). En este trabajo se presenta la detección de glutatión (GSH) con un sensor electroquímico no enzimático, basado en nanoestructuras de selenio.

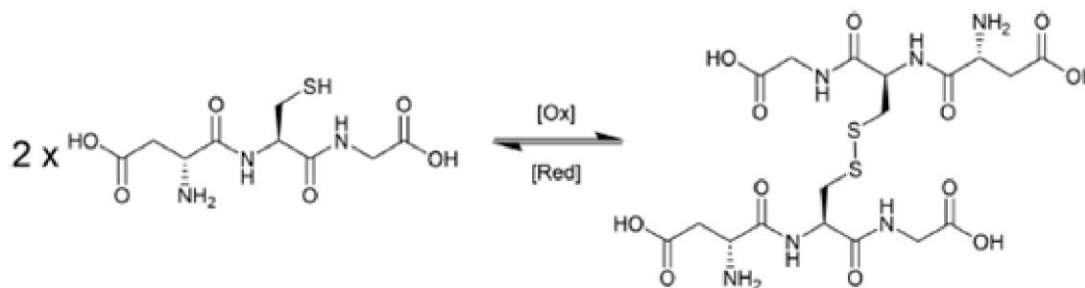


Figura 1. Oxidación de glutatión

Material y métodos.

Oxido de selenio, L-glutatión, sales de fosfato, dopamina, cisteína, ácido ascórbico, y ácido úrico grado reactivo de la marca sigma. Electrodo serigrafiados de carbono.

Sensor de glutatión: Se electro-deposito capas de selenio sobre la superficie del electrodo de carbono (d.i. 3mm) Figura 2, la concentración de selenio (Se), el potencial y el tiempo de deposición fueron optimizados y seleccionados en función de la respuesta a glutatión. Todas las mediciones se realizaron en PBS pH 7.0 por cronoamperometría, a un potencial aplicado de 0.4V, las mediciones se realizaron con un potenciostato de la marca Autolab.

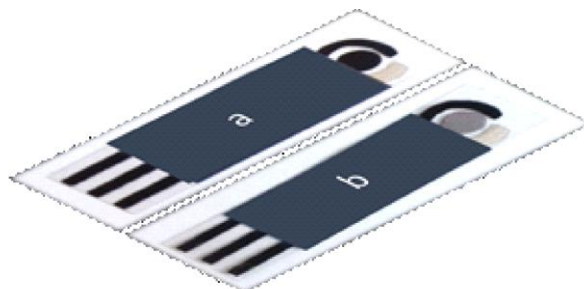


Figura 2. Muestra la superficie real de electrodo de carbono a) sin modificar, b) modificado con Se.

Resultados y discusión.

El potencial aplicado para las detecciones se evaluó y se encontró incremento en la corriente en función del potencial aplicado, en comparación con un electrodo carbono sin modificar es evidente el aumento en la corriente del GSH, cuando se evalúa sobre el electrodo de carbono modificado. El potencial seleccionado y empleado en los siguientes resultados fue de 0.4V, debido que se conoce que el incremento en el potencial de aplicación puede favorecer la oxidación de una gran cantidad de compuestos orgánicos generando posibles interferencias.

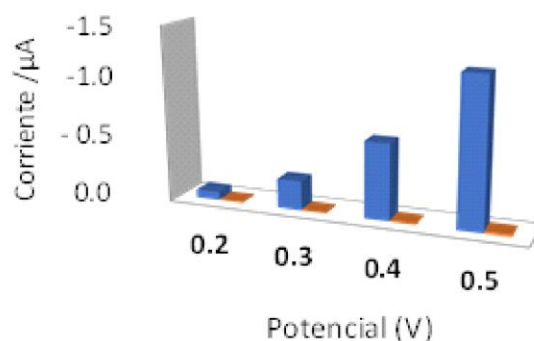


Figura 3. Efecto del potencial aplicado sobre la respuesta electroquímica de GSH

El sensor electroquímico desarrollado está basado en la incorporación de nanoestructuras de selenio, el electrodo modificado de carbono con selenio permite la detección de glutatión debido a la formación del complejo de Se (II) con el grupo tiol de

GSH. La Figura 4, muestra los cronoamperogramas de GSH con incrementos de concentración en el intervalo de concentración de: a) 2 a 5 μ M, b) 10 a 50 μ M. Las curvas de calibración de GSH se construyeron a partir de la diferencia de corriente vs logaritmo natural de la concentración ($\ln[\text{GSH}]$). La regresión lineal mostro un valor de $r^2 > 0.99$, para ambos intervalos de concentración, mientras que el límite de detección es de 1.12 μ M (para 3 σ , n=3). Si bien se han reportado límites de detección inferiores a 1 μ M, se debe considerar que el diseño de los sensores comprende más de un componente lo que implica mayor complejidad en la construcción y por tanto un costo elevado.

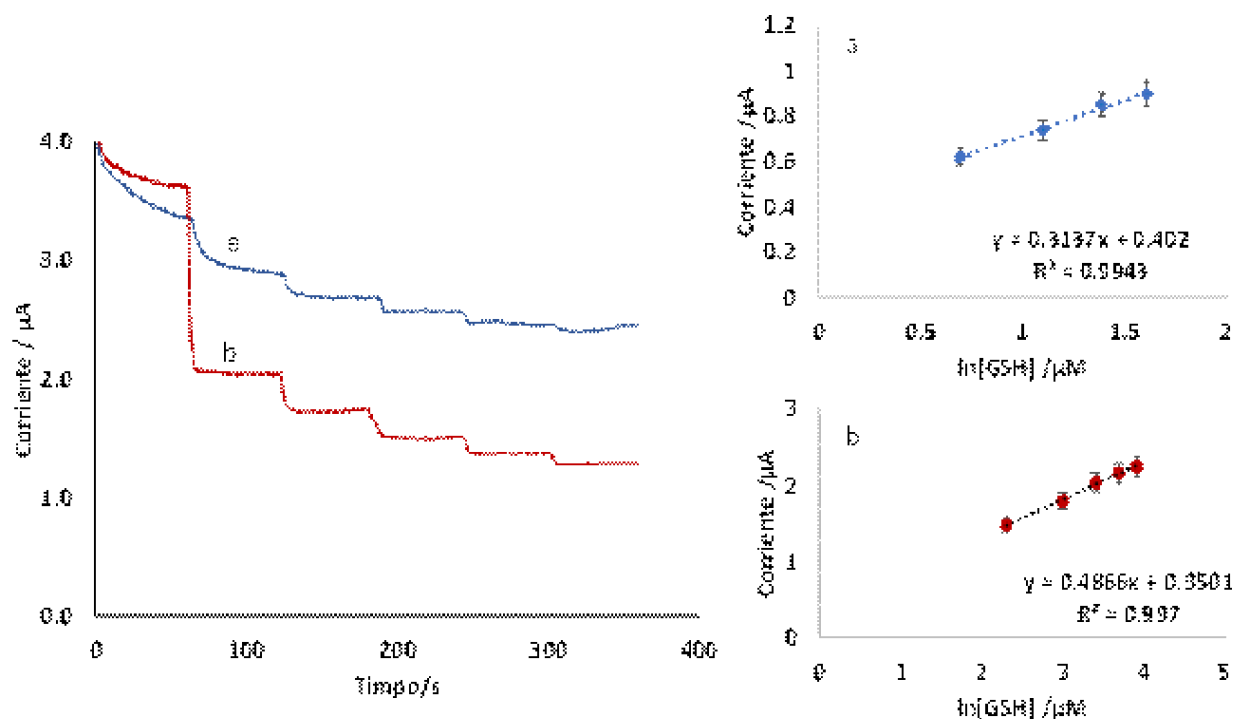


Figura 4. Cronoamperograma de GSH con incrementos de concentración en el tiempo intervalo de concentración de: a) 1 a 5 μ M, b) 10 a 50 μ M. Curva de calibración de GSH para el intervalo de concentración de: a) 1 a 5 μ M, b) 10 a 50 μ M

El sensor a GSH es reproducible debido a la técnica electrodeposición empleada para su construcción. El desarrollo del método analítico permitió la detección de GSH en muestras sintéticas y en fluidos biológicos. La precisión del método no excede el 15% para n=6.

El método propuesto se evaluó para detectar la posible interferencia con otras sustancias, presentes en fluidos biológicos como cisteína, dopamina (DA), ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (AU), todas ellas en concentración de 100 μ M Figura 5. Los resultados muestran que la respuesta del sensor presenta una fluctuación del 3% cuando se adiciona DA, mientras que para las otras a las sustancias mencionadas no responde,

manteniendo sin cambios en el valor de la corriente, esto representa una ventaja frente a otros sensores a glutatión. Una gran limitación para la aplicabilidad comercial de la técnica con fluidos fisiológicos es la gama de tioles y disulfuros, ya que es probable que la señal detectada en el potencial GSH/GSSG sea un conglomerado de señales de tiol/disulfuro, cayendo en potenciales similares, lo que afecta la detección, como ocurre cuando se tiene un simple electrodo de carbono Figura 5B.

La evaluación del sensor con un aminoácido como cisteína, cuya estructura química tiene un grupo funcional tiol, dejó en evidencia que el sensor no tiene limitaciones para ser aplicado en fluidos biológicos, ya que compuestos con estructuras similares no responden. Cabe señalar que el sensor responde a GSH, después de evaluar las sustancias interferentes.

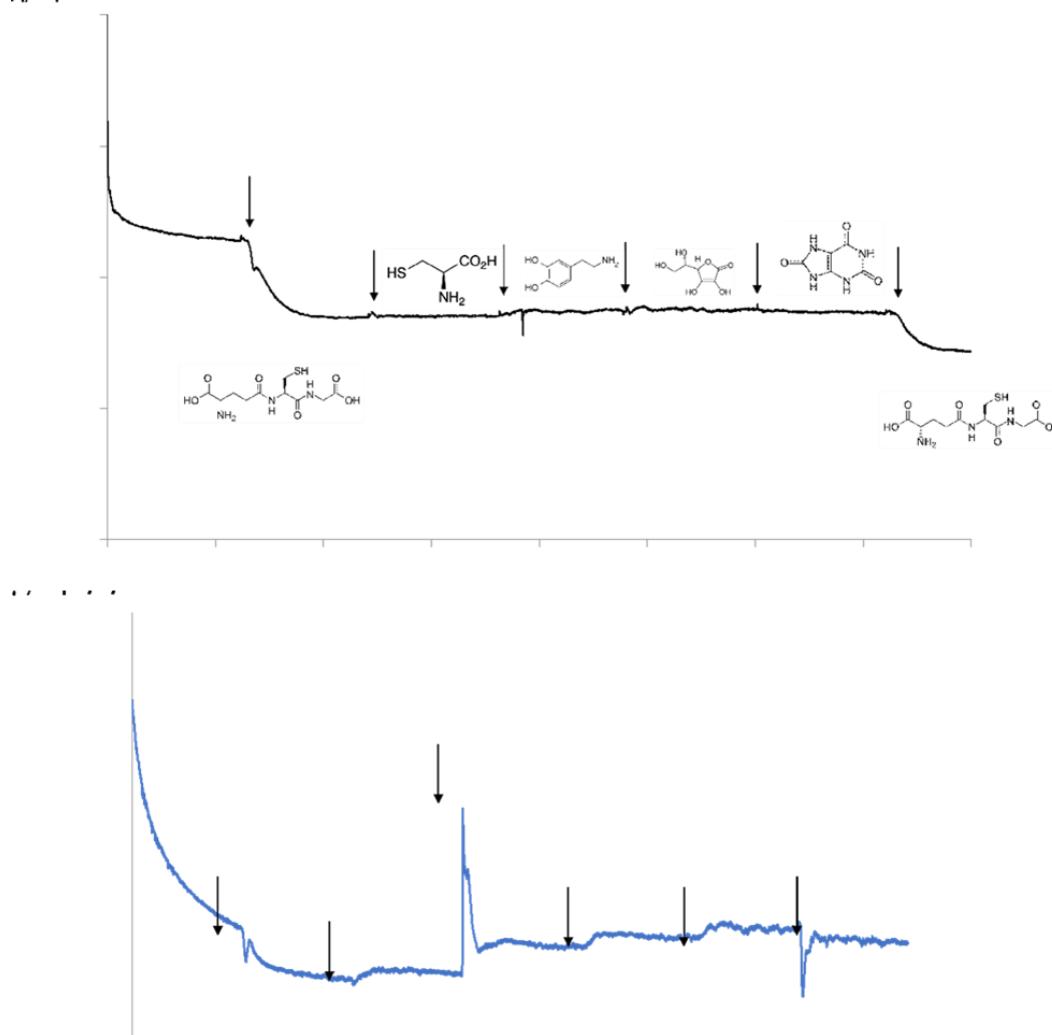


Figura 5. Análisis de interferencia de cisteína, dopamina (DA), ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (AU) en presencia de [GSH] 3 μ M A) sensor de glutatión B) Electrodo de carbono

La estabilidad, la alta especificidad y el bajo límite de detección hicieron que el electrodo propuesto fuera aplicable para el análisis de GSH en fluidos biológicos. Considerando que los niveles de GSH en sangre de humano se encuentran en el intervalo de 1 a 6 μM [5] se evalúa una concentración intermedia de GSH (3 μM) se obtuvo un recobro de 105% y DSR de 6.4% en una matriz de suero sanguíneo de humano.

Conclusión.

La determinación cuantitativa de GSH de manera selectiva y sensible es crucial para desarrollar estrategias de diagnóstico médico viables para hacer predicciones tempranas, Los resultados obtenidos muestran la viabilidad del uso del sensor electroquímico para análisis de GSH, en fluidos biológicos donde el límite de detección es incluso menor a los niveles típicos de GSH en sangre. Cabe resaltar que se trata de un sensor no enzimático y que por ser de carbono lo hace económico.

Referencias

- [1] P. Muthirulan, R. Colloids Surf. B Biointerfaces, 83, 347-354, (2011)
- [2] A.L. Ortega, S. Mena, J.M. Estrela. Glutathione in Cancer Cell Death Cancers. 3, 1285-1310. (2011)
- [3] A. Hamad, M. Elshahawy, A. Negm, F. Mansour, Reviews in Analytical Chemistry, **38**, 20190019 (2019)
- [4] M. Hanko, L. Švorc, A. Planková, P. Mikuš. Analytica Chimica Acta **1062**, 1-27 (2019)
- [5] U. Neeta, J. Shweta, R. Sunit, Hybrid. Advances **3**, 100042 (2023)

CARACTERIZACIÓN DEL NUEVO MONÓMERO 2-(2-(((4-HIDROXIFENIL)CARBAMOIL)OXI)ETOXI)ETILO

María Isabel Martínez de la Luz ^{a*}, Delia López Velázquez ^b

^{a*}Posgrado en Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Boulevard de la 14 Sur y Avenida San Claudio, Cd. Universitaria (Antiguo edificio de la Facultad de Ciencias Químicas) Col San Manuel. Puebla, Pue., C.P.72500. Tel: +52 (222) 229 55 00 ext.7530, e-mail: isa7luz@gmail.com.

^bFacultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Boulevard de la 14 Sur y Avenida San Claudio, Cd. Universitaria (Antiguo edificio de la Facultad de Ciencias Químicas) Col San Manuel. Puebla, Pue., C.P.72500. Tel: +52 (222) 229 55 00 ext.7530, e-mail: delia.lopez@correo.buap.mx

Introducción

Los materiales basados en polímeros se han multiplicado continuamente desde 1930 debido a la amplia diversidad de aplicaciones que tiene en diferentes industrias como la industria de los alimentos, textil, en la industria eléctrica, en el sector farmacéutico y médica. Hoy en día el uso de polímeros no sólo requiere propiedades específicas como las mecánicas o las térmicas, también se requiere que presenten propiedades funcionales, como redes de polímeros inteligentes ^[1-6], etc. En la investigación de polímeros con propiedades específicas, se deben diseñar y sintetizar nuevos monómeros con grupos funcionales sobresalientes como lo son: carbonatos, uretanos, éteres, hidroxilo, entre otros, que permitirán obtener compuestos de bajo peso molecular y macromoléculas. En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de un nuevo monómero (4-((aliloxi)carbonil)oxi)fenil)carbamato de 2-(2-(((4-hidroxifenil)carbamoil)oxi)etoxi)etilo que denominamos **ml-1** (Figura 1).

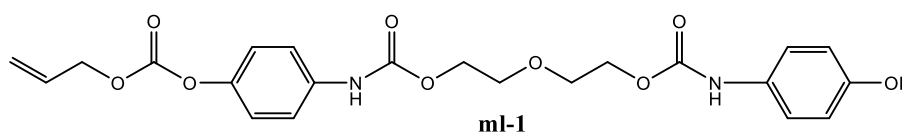


Figura 3. Monómero (4-((aliloxi)carbonil)oxi)fenil)carbamato de 2-(2-(((4-hidroxifenil)carbamoil)oxi)etoxi)etilo) (ml-1).

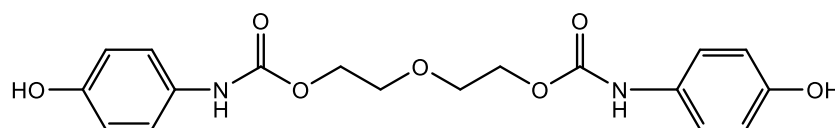


Figura 4. Monómero de tipo hidroxí-uretano: oxibis(etano-2,1-diil)bis((hidroxifenil)carbamato).

Parte experimental

El monómero ml-1 se obtiene haciendo reaccionar el diol-uretano, oxibis(etano-2,1-diil) bis((hidroxifenil)carbamato) (Figura 2) con cloroformiato de alilo en presencia de una base, en un disolvente anhidro, siguiendo el procedimiento indicado en la literatura. El ml-1 es un compuesto sólido, de color blanco. Soluble en dimetil sulfóxido, tetrahidrofurano, acetona, diclorometano, acetato de etilo. Cabe señalar, que el diol-uretano no es un producto comercial, este es un compuesto funcionalizado del que pueden derivarse compuestos de bajo peso molecular y macromoléculas, fue preparado en nuestro laboratorio. En este trabajo el diol-carbamato se utiliza para obtener ml-1.

Resultados y discusión

La estructura química del monómero mt, se confirmó mediante los análisis de FTIR y RMN. También se realizó un análisis de UV-vis debido a los grupos cromóforos presentes en la estructura.

Monómero ml-1. Figura 3. FTIR (ATR, μm^{-1}). 3325 (N-H grupo uretano), 3300 (O-H estiramiento), 2951 (aromático =C-H), 2889 (C-H sp^3), 1938 (C-H sobretonos), 1759 (grupo carbonato C=O estiramiento), 1697 (grupo uretano C=O estiramiento), 1678 (C=C), 1602 (C=C, aromático), 1519 (-O-C-O-), 1300-1050 (O-C=O estiramiento simétrico y asimétrico), 1245 (-C-O-C-), 1061 (=CH₂), 1007 (=CH₂), 761 (anillo aromático en posición para, sustituido). Las absorciones de OH y NH se traslapan, por lo que se observa solo una señal ancha.

Monómero ml-1. Figura 4. RMN ¹H (500 MHz, DMSO_{d6}, δ (ppm)). 3.74 (s, 4H, CH_{2a}-O-), 4.25 (dt, J=21.5, 4.5 Hz, 4H, CH_{2b}-O-), 4.76 (d, J=5.0 Hz, 2H, COO-CH_{2c}), 5.36 (d, J=10.0 Hz, 1H, =CH₂), 5.45 (d, J=17.5 Hz, 1H, =CH₂), 6.05 (m, 1H, CH=CH), 6.72 (d, J=12.5 Hz, 2H, H_h), 7.21 (d, J=9.0 Hz, 2H, H_i), 7.28 (d, J=8.5 HZ, 2H, H_j), 7.55 (d, J=8.5 HZ, 2H, H_k), 9.16 (s, 1H, -OH), 9.44 (s, 1H, -NH), 9.90(s, 1H, -NH).

Monómero ml-1. Figura 5. RMN ¹³C (125 MHz, DMSO_{d6}, δ (ppm)): 63.70 (O-C_aH₂), 64.05 (COO-C_bH₂), 69.13 (C_iH₂), 115.60 (C_h aromático), 119.33 (-C_n=C), 119.48 (C_i aromático), 120.57 (C_f aromático), 122.01 (C_g aromático), 131.04 (=C-O), 132.27 (=CH), 137.55 (C_e-NH), 146.09 (C_k-OCO-), 153.50 (-COO-NH), 153.98 (-COOO), 154.11 (C-OH).

En el espectro HSQC (espectro 2D), se pueden observar los acoplamiento de las señales de protón con las de carbono, como se indican en la figura 6 para el monómero ml-1, en donde se observa la correspondencia del acoplamiento de cada señal de carbono con sus respectivos protones de acuerdo con los RMN de ¹H y ¹³C (espectros 1D).

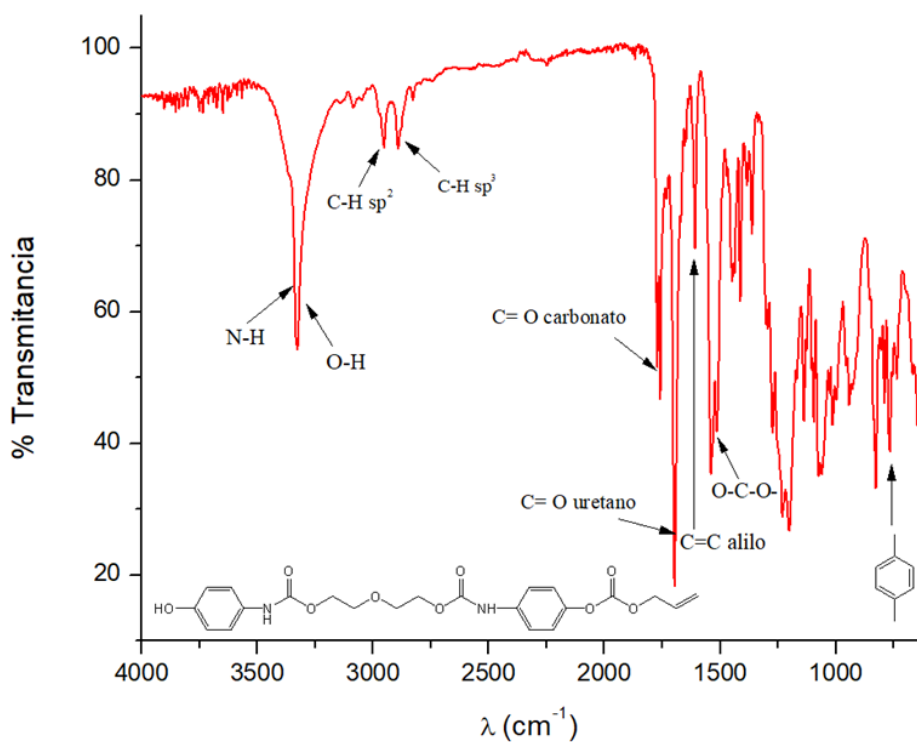


Figura 5. Espectro FTIR de IR del monómero ml-1.

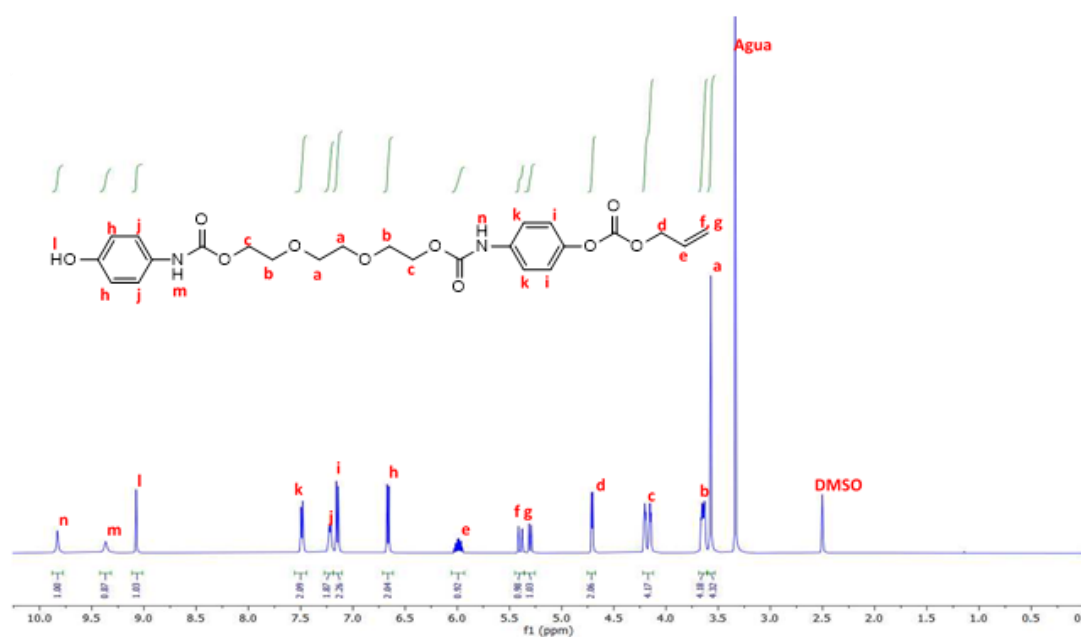


Figura 6. Espectro de RMN- ^1H del monómero ml-1 en Dimetil sulfóxido- d_6

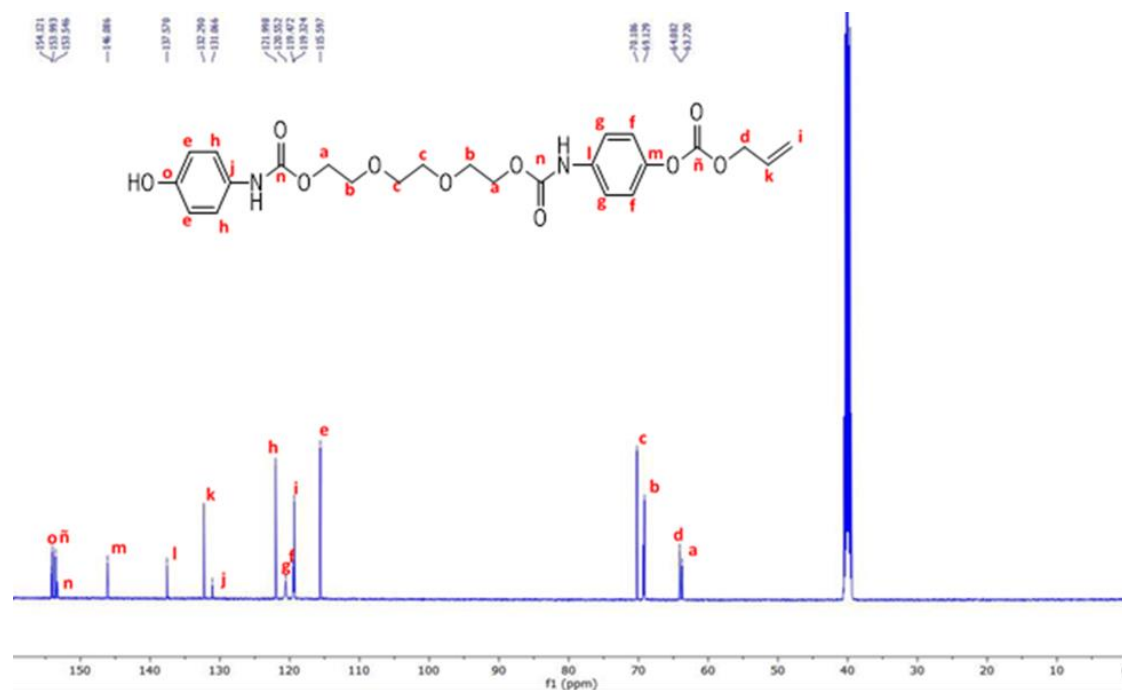


Figura 7. Espectro de RMN-13C del monómero ml-1 en Dimetil sulfóxido-d6.

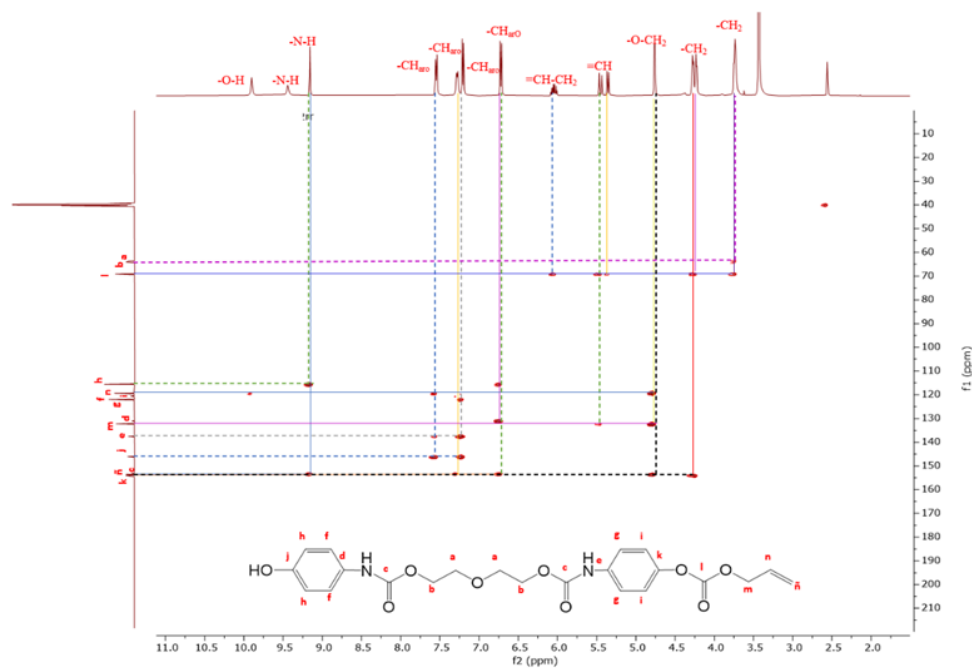


Figura 8. Espectro de RMN de 2D HSQC del monómero ml-1 en Dimetil sulfóxido-d6

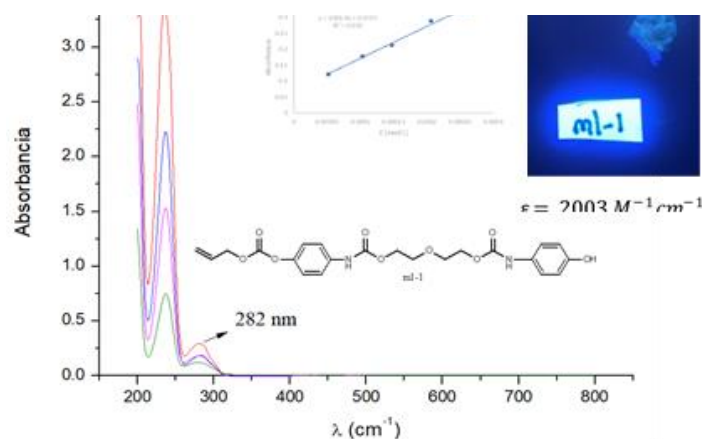


Figura 9. Espectro de absorción de UV- vis del monómero ml-1 en ACN.

Conclusión

En este trabajo se muestra que a partir del diol preparado en el laboratorio, se pueden derivar otras nuevas moléculas, un ejemplo de estas es la preparación de ml-1 que se caracteriza por ser un grupo polifuncional ya que tiene los siguientes grupos funcionales: OH y CH₂=CH-CH₂, el cual se obtiene a partir de una reacción de acilación. La estructura química de ml-1 se confirmó por espectroscopia de FTIR, donde se observaron los grupos funcionales presentes en el monómero (OH, NH, C=O del grupo uretano y C=O del grupo carbonato) y de igual manera el análisis de RMN de ¹H, ¹³C y HSQC (2D) se verificó la estructura química de ml-1. Además, se determinó su coeficiente de extensión molar, obteniendo un valor de 2003 M⁻¹ cm⁻¹, esto debido a que la estructura del monómero tiene grupos cromóforos. El monómero ml-1 podrá formar polímeros lineales con grupos laterales funcionalizados, estudio en curso.

Referencias

- [1] Chow, W. S., & Mohd Ishak, Z. A. **2020**. *Express Polymer Letters*, 14(5), 416–435.
- [2] María Rosa Aguilar, Julio San Román. 2019. *Smart Polymers and Their Applications*. Elsevier Science., pág.650
- [3] T. Gurunathan, J.S. Chung. **2017**. A: Physicochemical and Engineering Aspects 522 124–132.
- [4] D.K. Chattopadhyay, K.V.S.N. Raju. **2007**, Prog. Polym. Sci. 32 (3) 352–418.
- [5] S. Schmidt, F.J. Gatti, M. Luitz, B.S. Ritter, B. Bruchmann, R. Mu"lhaupt, **2017**, Macromolecules 50 (6) 2296–2303.
- [6] S.A. Madbouly, Y. Xia, M.R. Kessler. **2013**, Macromolecules 46 (11) 4606–4616.
- [7] IUPAC, Pure. *Appl. Chem.*, **1996**. 68, 2287.
- [8] Odian, G. *Principles of Polymerization*. **2004**. 4ta Edición. USA: Wiley-Interscience A John Wiley & Sons.

OBTENCIÓN EXPERIMENTAL DE LA ENTALPÍA ESTÁNDAR DE FORMACIÓN DEL ÁCIDO TRIMELÍTICO Y SU PREDICCIÓN MEDIANTE REGRESIÓN CON SOPORTE VECTORIAL

María Fernanda Saviñon Flores^{a*}, Fausto Díaz Sánchez^a, Miguel A. García Castro^a, Patricia Amador^b, Jesús Andrés Arzola Flores^a, Esmeralda Vidal Robles^a

^a Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 18 Sur y Av. San Claudio, C.P. 72570, Puebla, Pue, México

^b Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, C.P. 72570, Puebla, Pue, México, e-mail: maria.savinson@alumno.buap.mx

Introducción

El ácido trimelítico (TMAc) es un compuesto utilizado como ligando en la construcción de polímeros de coordinación se utiliza ampliamente en la industria de polímeros [1], como precursores de resinas de poliéster [2] y poliamida-imidas [3-5], como agentes reticulantes para la producción de pinturas, tintes, adhesivos, y en la producción en cadena de otras sustancias químicas importantes [6,7]. Además, la estructura química del ácido trimelítico hace que estos compuestos tengan aplicaciones potenciales en química organometálica e inorgánica [8], en la química de productos naturales semisintéticos [9], y en la investigación de materiales [10].

Uno de los principales objetivos de la termoquímica es obtener las entalpías molares estándar de formación y relacionarlas con la estructura química, esto debido a que las entalpías de formación son esenciales para la determinación de las energías de reacción y para el cálculo de constantes de equilibrio químico.

Las propiedades termoquímicas de los compuestos orgánicos suelen determinarse en primera instancia experimentalmente mediante técnicas térmicas y calorimétricas como la calorimetría diferencial de barrido, la termogravimetría y la calorimetría de combustión, en segunda instancia es necesario reportar un resultado teórico utilizando métodos computacionales y de estimación de la contribución de los grupos funcionales para la comparación entre un valor experimental y teórico. En el presente trabajo, se muestra una nueva forma de realizar predicciones de entalpía de formación utilizando Machine Learning (ML) basado en el método de contribución de Benson, se añadieron nuevos parámetros de corrección y una actualización de los grupos funcionales que serán útiles para la estimación de las propiedades termoquímicas del ácido 1,2,4-bencenotricarboxílico, conocido como ácido trimelítico.

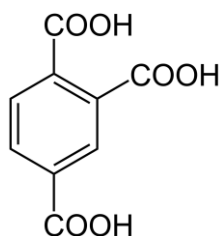


Figura 1. Ácido trimelítico (TMAc)

Parte Experimental

Control de pureza

El producto fue adquirido de Aldrich [CAS 528-44-9] el cual fue recristalizado tres veces utilizando agua, posteriormente se secó a alto vacío durante dos horas antes de ser analizado. Mediante el procedimiento previamente descrito se consiguió un valor alto de pureza superando el 0.99. Antes de realizar los experimentos se confirmó la ausencia de humedad, para ello se analizó el compuesto mediante Termogravimetría de Análisis (TGA, por sus siglas en inglés), con el cual no se detectó pérdida de masa el rededor de 373K.

Calorimetría de combustión

Las energías de combustión se obtuvieron utilizando un calorímetro de bomba estático isoperibólico. El aparato y el procedimiento utilizados fueron los descritos en un trabajo anterior [11]. El equivalente calorimétrico se determinó por la combustión de ácido benzoico 39j suministrado y certificado por NIST (National Institute of Standards and Technology). Dicho ácido se utilizó como un estándar primario durante la calibración del equipo, bajo sus condiciones certificadas tiene una energía de combustión de $\Delta_c U = -(26434) \text{ kJ g}^{-1}$, a partir de una serie de siete experimentos de calibración se obtuvo el equivalente calorimétrico con un valor de $(10135.1 \pm 2.5) \text{ J K}^{-1}$, donde la incertidumbre es la desviación estándar de la media. Para los experimentos de calibración se utilizó oxígeno de alta pureza (Air Liquide Corp., fracción másica de 0.99999) junto con 1.00 cm^3 de agua añadida a la bomba, la presurización para la calibración se dio a 3.04 MPa. Bajo las mismas condiciones se realizó la oxidación del compuesto TMAc junto con aceite de parafina para garantizar una oxidación completa.

Análisis Termogravimétrico (TGA)

Con el equipo de TGA a partir del método de Langmuir es posible obtener la presión de vapor realizando un termograma que mida la pérdida de masa con respecto al tiempo y a la temperatura, de esta forma si se combina la ecuación de Langmuir con la ecuación de Clausius-Clapeyron se obtendrá una nueva expresión con la cual fue posible determinar la entalpía de vaporización.

$$\ln \left[\left(\frac{dm}{dt} \frac{1}{A} \right) \left(\frac{T}{M} \right)^{\frac{1}{2}} \right] = B - \frac{\Delta_l^g H_m}{R} \frac{1}{T} \quad (1)$$

Donde dm/dt es la tasa de pérdida de masa para una muestra a la temperatura T ; A es el área expuesta de vaporización, que aquí se consideró equivalente a la sección

transversal del vaso cilíndrico de alúmina calculada a partir de su diámetro interno (5.25 mm); M es la masa molar y R es la constante de los gases ideales.

Regresión con Soporte Vectorial (SVR)

Una regresión es una generalización de un problema de clasificación, es decir, un problema de clasificación devuelve un valor continuo mientras que uno de regresión devuelve un valor finito de una función multivariable. El problema de optimización consiste en encontrar el margen máximo que separa el hiperplano clasificando correctamente tantos puntos de entrenamiento sea posible, la forma de separar estos hiperplanos se realiza mediante vectores de soporte y es posible crear tantos vectores como sean necesarios en un problema multivariable. Para este trabajo SVR (por sus siglas en inglés) se desarrolló utilizando el lenguaje de programación de Python, para ello se utilizó la plataforma Google Colab para escribir y ejecutar el código.

Resultados y Discusión

Mediante el proceso de purificación y la determinación experimental realizada con los equipos previamente mencionados se obtuvieron los siguientes resultados para el compuesto TMAc mostrados en la Tabla 1, en primera instancia para la comparación del resultado experimental obtenido se utilizaron los métodos de estimación por contribución de grupos funcionales propuestos por Benson y Gani [12,13]. Posteriormente se utilizó el modelo SVR utilizando ML, en la Tabla 2 se muestran tanto el valor experimental como el predicho para TMAc, durante la aplicación de SVR es necesario considerar distintas métricas de evaluación con el fin de conocer el rendimiento del modelo empleado, para ello se consideraron las métricas coeficiente de determinación (R^2), Error Absoluto Medio (MAE, por sus siglas en inglés) y la Raíz del Cuadrado del Error Medio (RMSE, por sus siglas en inglés), la Tabla 3 muestra las métricas obtenidas tanto para el conjunto de entrenamiento como para el de prueba.

Tabla 1. Resultados experimentales de TMAc

Propiedad	Valor en kJ mol^{-1}	Propiedad	Valor en kJ mol^{-1}
Pureza	0.9938 ± 0.0016	$\Delta_{\text{fus}}H(298.15 \text{ K})$	45.4 ± 1.8
$\Delta_{\text{vap}}H(298.15 \text{ K})$	95.9 ± 1.4	$\Delta_{\text{sub}}H(298.15 \text{ K})$	140.3 ± 2.3
$\Delta_f H_m^{\circ}(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$	-1177.4 ± 2.9	$\Delta_f H_m^{\circ}(\text{g}, 298.15 \text{ K})$	-1037.1 ± 3.7

Tabla 2. Comparación entre el resultado experimental y estimado de $-\Delta_f H_m^{\circ}(\text{g}, 298.15 \text{ K})$ en kJ mol^{-1}

	Experimental	Benson	diferencia	Gani	Diferencia	SVR	diferencia
TMAc	1037.1	1018.2	-18.9	1038.5	1.4	1036.6	-0.5

Tabla 3. Métricas de evaluación para el algoritmo SVR

	Entrenamiento	Prueba		Entrenamiento	Prueba	Entrenamiento	Prueba
R^2	0.9992	0.9989	MAE	2.6862	5.9323	RMSE	5.2844
							7.1695

Si bien los métodos de estimación proporcionan un primer resultado no llega a ser tan confiable debido a la falta de actualización en los valores de sus grupos funcionales, falta de los mismos grupos durante la estimación y la interpretación que se dé para cada compuesto (en el caso del método de Gani), SVR elimina estos inconvenientes y proporciona un resultado fiable en base a las métricas de evaluación obtenidas para el modelo. Finalmente, en la Figura 2 se muestra la gráfica comparativa obtenida tanto para el conjunto de prueba como para el de entrenamiento para la predicción de esta propiedad, se utilizaron en total 55 valores experimentales para la construcción de este modelo, adicionalmente se presenta un nuevo coeficiente (r^2) el cual relaciona la correlación entre los valores predichos por cada modelo y su ajuste con el modelo.

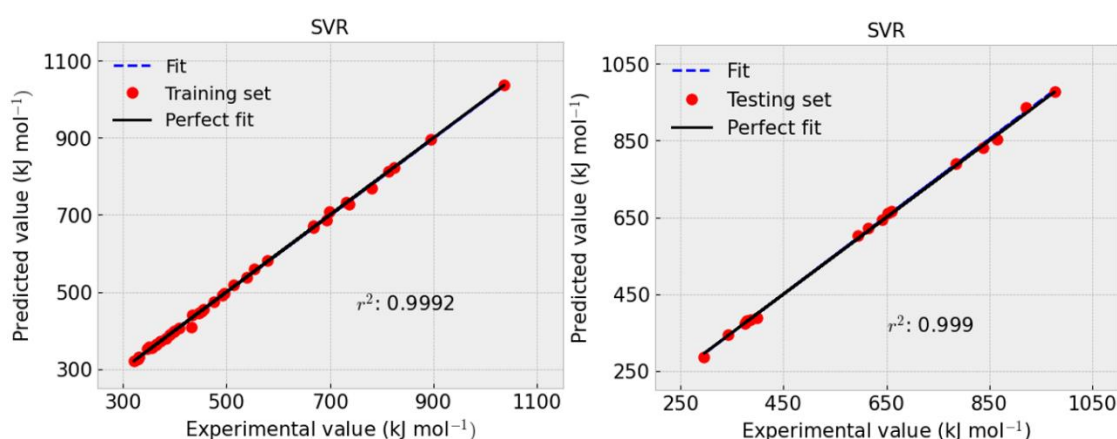


Figura 2. Comparación entre el conjunto de entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H_m^p(g)$ utilizando SVR.

Conclusiones

Las entalpías de fusión y vaporización se determinaron mediante calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico, respectivamente. La entalpía molar estándar experimental de formación en fase gaseosa del TMAc mostró un excelente ajuste con respecto al valor predicho a partir del algoritmo de SVR, obteniéndose una diferencia de 0.5 kJ mol^{-1} .

Agradecimientos

M.A.G.C. agradece al Conacyt (México) por su beca (número de registro 200481) y a VIEP-BUAP por el apoyo financiero a través del proyecto número 100420555-VIEP2021 "Mecanosíntesis y estudio termoquímico de la o-diimida diácida derivada del anhídrido ftálico." Los autores agradecen la experiencia técnica y el apoyo proporcionado por el Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

Referencias

- [1] López-Ortega, M.; García-Castro, M. A.; Galicia-Aguilar, J. A.; Aranda-García, R. J.; Ramos Hernández, H. S.; Díaz-Sánchez, F. Standard enthalpies of formation of 3-hydroxyphthalic anhydride. *Rev. Mex. Fis.* 2022, 6, 061701.
- [2] López-Badillo, M.; García-Castro, M. A.; Galicia-Aguilar, J. A.; Aranda-García, R. J.; Galicia Hernández, E.; Velasco-Hernández, M. A. Experimental Standard Enthalpies of Formation of 4, 4'-Methylenedi (phenylene isocyanate) and Polyamide-imides. *Rus. J. Phys. Chem. B.* 2021, 15, S201-S208.
- [3] Salas-López, K.; García-Castro, M. A.; Amador, P.; Herrera-González, A. M.; Galicia-Aguilar, A.; Amador, F. A.; Hernández-Pascasio, E.; Flores, H. Standard enthalpies of formation of N, N (1, 3-phenylene) bis (phthalimide) and N, N-(1, 3-phenylene) bis (phthalimide-5-carboxylic acid). *Thermchim. Act.* 2021, 697, 178861.
- [4] García-Castro, M.A.; Amador, P.; Herrera-González, A. M.; Galicia-Aguilar, A.; Amador, F. A.; Hernández-Pascasio, F.; Flores, H. Experimental and computational thermochemistry of 3 and 4-nitrophthalic acids. *J. Chem. Thermodyn.* 2018, 127, 117-125.
- [5] García-Castro, M. A.; Amador, P.; Hernandez-Perez, J. M.; Medina-Favela, A. E.; Flores, H. Experimental and computational thermochemistry of 3-and 4-nitrophthalic anhydride. *The J. Phys. Chem. A.* 2014, 118, 3820-3826.
- [6] Kurata, S.; Umemoto, K. Synthesis of new silanecoupling agents with a trimelliticanhydride group and application as primers for ceramics and alloys. *Dent. Mater. J.* 2007, 26, 800-804.
- [7] Li, S. F.; Huang, W. D.; Liu, X. L.; Yu, X. New epoxy-imide resins cured with N-(3 hydroxyphenyl)trimellitimide: synthesis, thermal and adhesive properties. *Plast. Rubber. Compos.* 2009, 38, 206-210.
- [8] Peng, Y.; Chien, P.; Chung, H.; Pan, P.; Liu, Y.; Yang, E. Studies of the structural and magnetic properties of an unsymmetrical ligand 1,2,4-benzenetricarboxylic acid based chiral 3-D trinickel coordination polymer as an alkali base-influenced hydrothermal reaction product. *J. Solid State Chem.* 2014, 212, 159-164.
- [9] Uhrich, K. E.; Gupta, A.; Thomas, T. T.; Laurencin, C. T.; Langer, R. Synthesis and characterization of degradable poly(anhydride-co-imides). *Macromolecules* 1995, 28, 2184-2193.
- [10] Jiang, T.; Kuila, T.; Kim N. H.; Lee, J. H. Effects of surface-modified silica nanoparticles attached graphene oxide using isocyanate- terminated flexible polymer chains on the mechanical properties of epoxy composites. *J. Mater. Chem. A.* 2014, 2, 10557-10567.
- [11] Flores, H.; Amador, P. Standard molar enthalpies of formation of crystalline stereoisomers of aldono-1,4-lactones. *J. Chem. Thermodyn.* 2004, 36, 1019-1024.
- [12] Domalski, E. S.; Hearing, E. D. Estimation of the Thermodynamic Properties of C-HN-O-S-Halogen Compounds at 298.15 K. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1993, 22, 805.
- [13] Marrero, J.; Gani, R. Group-contribution based estimation of pure component properties. *Fluid Phase Equilib.* 2001, 183, 183.

EVIDENCIA EXPERIMENTAL DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DE LA NEOCUPROÍNA EN MEDIO ACUOSO Y SU REFINAMIENTO MEDIANTE EL PROGRAMA COMPUTACIONAL SQUAD

Jorge Martínez Guerra*, Alberto Rojas Hernández

Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1A Secc, Iztapalapa, C.P. 09310 Ciudad de México, CDMX Tel: +52 (55) 58 04 46 70, *e-mail: jmguerra318@xanum.uam.mx

Introducción

La neocuproína (Nc) es un compuesto químico heterocíclico derivado de la 1,10-fenantrolina donde las posiciones 2 y 9 son ocupadas por grupos metilo, ver Figura 1. Está ampliamente reportado el uso de la Nc en la formación de compuestos coordinados con el Fe(II) y el Cu(II) para la determinación cuantitativa de agentes reductores [1,2]. Sin embargo, el modelo de compuesto de coordinación antes descrito no considera la especiación química de la Nc por efecto del pH; esto, a consecuencia de que no se cuenta con información experimental de su constante de acidez (pK_a) debido a su escasa solubilidad en agua.

Por tanto, en este trabajo se propone una metodología por espectroscopía de UV-Vis para la determinación experimental del pK_a de la neocuproína en medio acuoso. Tener conocimiento de su valor de pK_a permitirá tener una mayor comprensión tanto de su especiación química como de su interacción con metales de transición.

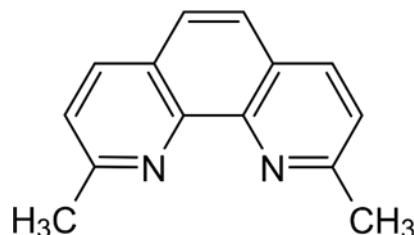


Figura 1. Estructura química de la neocuproína (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina).

Parte Experimental

Se preparó una solución madre de neocuproína (PPur \geq 98 %) en acetonitrilo de concentración 3.07 mM, y por dilución; se preparó la solución de trabajo a una concentración de 36.41 μ M la cual se mantuvo en una celda termostataada a $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ siendo el diluyente una solución acuosa de ácido perclórico 1 M con el fin de empezar la operación titulométrica desde valores de pH muy ácidos. La solución de trabajo fue burbujeada con nitrógeno, $\text{N}_2(\text{g})$, comprimido PRAXAIR (PPur \geq 99.99 %). Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) libre de materia orgánica.

La solución de trabajo fue valorada con NaOH 2.5 M abarcando el intervalo de pH de (0.46 ± 0.01) a (12.38 ± 0.01) . La lectura de pH se realizó con un potenciómetro marca sensION equipado con un electrodo de vidrio de $\text{Ag}^\circ|\text{AgCl}[\text{KCl}, 3 \text{ M}]$ marca Hach 5014T.

Estudio espectrofotométrico

En un intervalo de pH de (0.46 ± 0.01) a (12.38 ± 0.01) se registró el espectro de absorbancia como una función de la longitud de onda con un espectrofotómetro Lambda 20 equipado usando una celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico. El intervalo de trabajo de longitud de onda fue 200 a 400 nm. Cada espectro se registró a una velocidad de 1960 nm min^{-1} .

Resultados y Discusión

En la Figura 2 se muestra la familia de espectros de absorción de la Nc a $36.41 \mu\text{M}$. Se registran cinco máximos de absorbancia: (I) 208, (II) 222, (III) 281, (IV) 306 y (V) 319 nm en medio ácido. Cuando el pH se vuelve más básico, estos máximos de absorción disminuyen en valor de absorbancia, mostrando además un ligero corrimiento hacia longitudes de onda mayores (efecto batocrómico). Cuando el $\text{pH} > 6$ aproximadamente, los espectros cambian de forma mostrando dos nuevos máximos localizados a (I') 230 nm y (II') 271 nm que al ir incrementando en valor de pH, estos aumentan en valor de absorbancia sin mostrar desplazamientos en la longitud de onda. Así mismo, es posible destacar tres puntos isobécticos localizados en $\lambda = 225 \text{ nm}$, $\lambda = 291 \text{ nm}$ y $\lambda = 296 \text{ nm}$. Esto es indicio de que al menos existe un equilibrio químico de carácter ácido-base de Brønsted–Lowry; el cual a su vez pudiera asociarse a una constante de acidez.

Considerando la información de la Figura 2 se hace un gráfico de A como una función del pH a diferentes longitudes de onda, ver Figura 3. Se puede apreciar para cada una de ellas existe una curva de tipo sigmoide en la que el cambio drástico en el valor de A se da en el intervalo de 4 a 6 en valor de pH, esto da un indicio de que el pK_a de la neocuproína en medio acuoso se encuentra en dicho intervalo. Para confirmarlo, se mete la información generada en la Figura 2 al programa computacional SQUAD toda vez que está reportado el uso de SQUAD para el refinamiento de valores de constantes de equilibrio a partir de datos espectrofotométricos [3, 4].

Así, se alimenta SQUAD con 7802 datos de absorbancia agrupados como 47 espectros de absorción en un intervalo de longitud de onda de 205 a 370 nm de 1 en 1 nm. La minimización de la suma de cuadrados de los datos experimentales y el valor de pK_a refinado por SQUAD concluyen que el mejor modelo de equilibrio químico de acidez para la neocuproína es considerándola como un sistema monoprótico (Tabla 1). Así, el $\text{pK}_{a1} = (5.8296 \pm 0.0026)$.

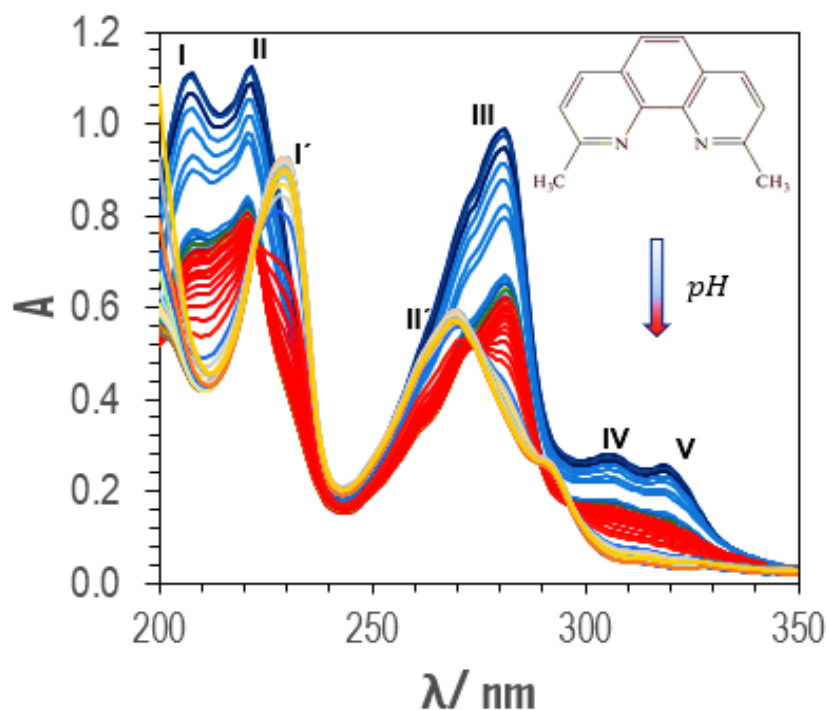


Figura 2. Familia de espectros de UV Vis de la Nc a 36.41 μM en medio acuoso a fuerza iónica 3M.

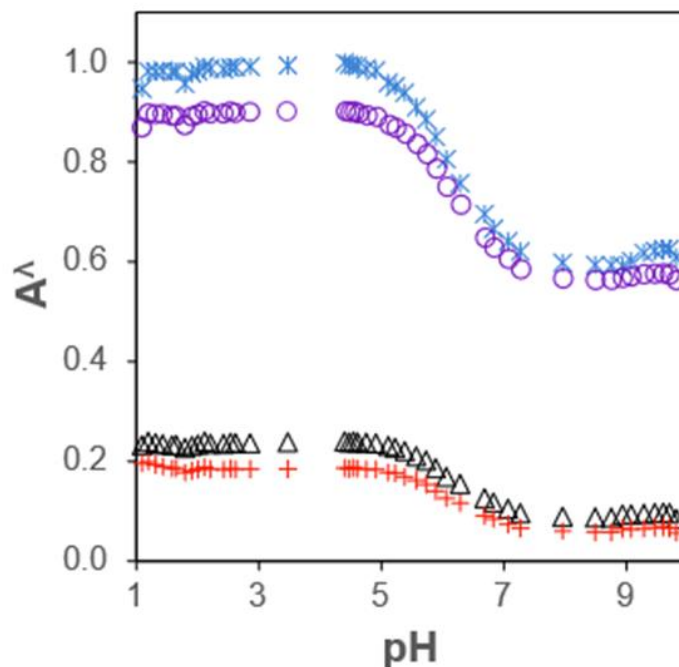


Figura 3. Valores de absorbancia, A_λ , como una función del pH a diferentes longitudes de onda. (\times) $\lambda = 208$ nm, (\circ) $\lambda = 281$ nm, (Δ) $\lambda = 306$ nm y ($+$) $\lambda = 319$ nm.

Tabla 1. Valor de pK_a refinado por SQUAD en medio acuoso a fuerza iónica 3 M con una desviación estándar de los espectros de absorción de 5.9984×10^{-3} .

Modelo	$pK_a \pm \sigma$
$\text{HNc}^+ = \text{H}^+ + \text{Nc}$	5.8296 ± 0.0026

Una de las ventajas del algoritmo estadístico de SQUAD además del manejo de un gran volumen de datos y el refinamiento de constantes de acidez, es que calcula los coeficientes de absorptividad molar, ϵ , para cada especie que esté absorbiendo en el sistema, ver Figura 4a. Con los coeficientes de absorptividad molar ya calculados, la concentración total de Nc en solución y las fracciones de la especie de Nc protonada y no protonada en solución, es posible conocer a través de la Ley de Beer y la ley de aditividad, la absorbancia total dada por la suma de las absorbancias de las diferentes especies de Nc que están absorbiendo en el sistema y ver que tanto se ajusta con los datos experimentales considerando un modelo de un equilibrio de tipo ácido-base, ver Figura 4b. Como puede apreciarse el modelo (línea continua) ajusta bastante bien con los datos experimentales a varias longitudes de onda lo cual da confiabilidad al valor de pK_a calculado para la Nc en este trabajo.

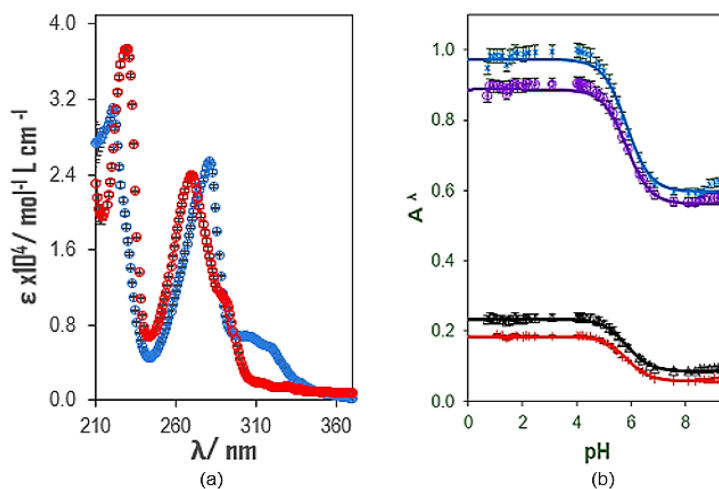


Figura 4. a) Valores de ϵ , como una función de la longitud de onda. b) Modelo de un equilibrio construido a partir de los coeficientes de absorptividad molar (líneas continuas) que representa a los datos experimentales generados: (X) $\lambda = 208$ nm, (o) $\lambda = 281$ nm, (Δ) $\lambda = 306$ nm y (+) $\lambda = 319$ nm.

Con el valor de pK_a ya refinado es posible construir el diagrama de distribución de las especies de neocuproína en todo el intervalo de pH, ver Figura 5. Para ello, se utiliza el modelo propuesto por Rojas-Hernández [5]. Esta herramienta es de vital importancia para tener conocimiento de las diferentes formas químicas predominantes de la Nc según las condiciones de pH de trabajo. Manejar esta información permitirá establecer modelos que permitan comprender mejor la reactividad química de la formación de compuestos coordinados con neocuproína.

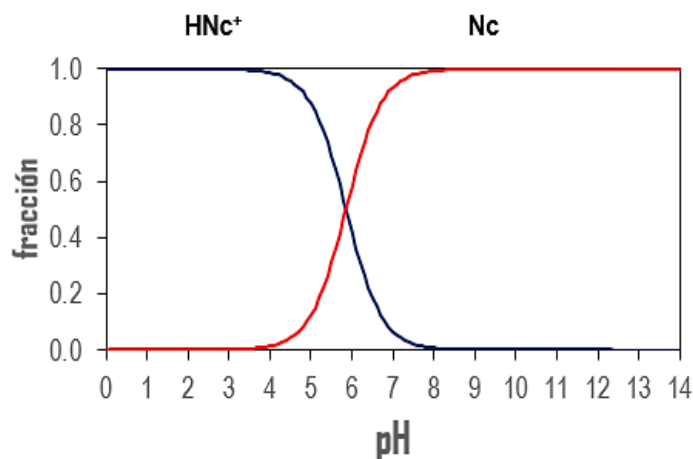


Figura 5. Diagrama de distribución de las especies de neocuproína como una función del pH.

Conclusiones

Se logra obtener de manera exitosa evidencia experimental del valor del pK_a de la neocuproína así como de sus coeficientes de absorptividad molar en medio acuoso por espectroscopía de UV-Vis.

El algoritmo de regresión no lineal de SQUAD permite respaldar estadísticamente el modelo de un equilibrio químico de tipo ácido-base para la Nc.

Agradecimientos

Jorge Martínez Guerra agradece al CONAHCYT por la beca posdoctoral y por la distinción como miembro del SNI. Alberto Rojas Hernández agradece al CONAHCYT por la distinción como miembro del SNI. Se agradece a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa por el espacio y recursos asignados para realizar este trabajo. Se agradece a la Asociación Mexicana de Química Analítica y a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para llevar a cabo la comunicación idónea de este trabajo.

Referencias

- [1] K.A. Jesse, A.S. Filatov, J. Xie, J.S. Anderson. *Inorganic Chemistry*, **58**, 9057-9066 (2019).
- [2] A. Cardenas, M. Gómez y C. Frontana. *Procedia Chemistry*, **12**, 62-65 (2014).
- [3] J. Martínez-Guerra, M. Palomar-Pardavé, M. Romero-Romo, S. Corona-Avenidaño,
- [4] A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva. *International Journal of Electrochemical Science*, **14**, 5373-5385 (2019).
- [5] D.J. Leggett, W.A.E. McBryde. *Analytical Chemistry*, **47**, 1065-1070 (1975).
- [6] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez-Silva, I. González, J.G. Ibáñez. *Journal of Chemical Education*, **72**, 1099-1105 (1995).

05

Medio ambiente



APLICACIÓN DE POLIESTIRENO RECICLADO EN DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN PUNTA DE PIPETA SEGUIDO DE HPLC-FLD

Jorge López Téllez^a, José A. Rodríguez^a, José M. Miranda^b, Alicia C. Mondragón^b, Israel S. Ibarra^{a*}

^a Área Académica de Química, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México;

^b Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo España * israel_ibarra@uaeh.edu.mx

Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son un grupo de compuestos orgánicos que contienen dos o más anillos aromáticos fusionados, son resultado de procesos industriales, combustión de productos derivados de petróleo, incineración de desechos, y de forma natural mediante incendios forestales. Los HAPs pueden estar presentes en el ambiente, agua y muestras de alimentos [1]. La Comisión europea y la agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos los han catalogado como agentes contaminantes de interés prioritario, debido a su capacidad mutagénica, genotóxica, carcinogénica, y tóxica para el ambiente [2]. Diferentes métodos analíticos han sido utilizados para la determinación y cuantificación como: espectroscópicos, electroquímicos y cromatográficos (líquidos y gases), siendo los métodos cromatográficos los más empleados debido a versatilidad, análisis multianalito, sensibilidad analítica multianalito y límites de detección alcanzados acordes a lo permitido por diferentes entidades reguladoras [1]. Los HAPs se encuentran en baja concentración en matrices complejas por lo tanto es necesario la aplicación de protocolos de preparación de muestra antes de su análisis, diversos tratamientos de extracción en fase líquida y sólida se han empleado, pero las extracciones basadas en fase sólida son las técnicas que han sido frecuentemente aplicadas [3].

Se han propuesto diversas metodologías miniaturizadas a partir de extracción en fase sólida convencional. Destacando la extracción en fase sólida con punta de pipeta (PT-SPE), la cual es una versión miniaturizada de la extracción en fase sólida. El adsorbente se coloca dentro de la punta de pipeta, realizando el proceso de extracción empleando ciclos donde se aspira-dispensa la muestra. Los analitos son adsorbidos y posteriormente eluidos empleando un solvente adecuado. Diferentes materiales para la extracción en fase sólida han sido utilizados, tales como: compuestos a base de carbono, polímeros molecularmente impresos, polímeros conductores, estructuras metal-orgánicas, líquidos iónicos y estructuras zeolíticas [4]. Los materiales poliméricos han demostrado ser adsorbentes, además recientemente novedosos adsorbentes a base de materiales poliméricos reciclados han sido descritos. El poliestireno es un polímero de los más producidos y utilizados que puede utilizarse como fase de extracción, ya que presenta estabilidad en medios acuosos, facilita la extracción de analitos que contienen anillos

aromáticos debido a interacciones π - π y puede ser modificado para mejorar su efectividad [5].

El presente trabajo propone la determinación de 12 HAPs en muestras de agua potable mediante PT-SPE utilizando películas de PS reciclado seguida de cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia (HPLC-FLD).

Parte Experimental

Reactivos y equipo

Las soluciones fueron preparadas en agua desionizada (18.0 M Ω cm), purificada por un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Las soluciones estándar se prepararon empleando el material de referencia EPA 525 PAH Mix B (Sigma-Aldrich Cat. 48249; St. Louis, MO, EUA) que contiene antraceno (Ant), benzo(a)antraceno (BaA), benzo(a)pireno (BaP), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(g,h,i)perileno (BghiP), benzo(k)fluoranteno (BkF), criseno (Cri), dibenzo(a,h)antraceno (DahA), fluoreno (Flu), fenantreno (Fen), indeno(1,2,3-cd)pireno (IcdP) y pireno (Pir), en concentración de 500.0 mg L⁻¹. El análisis se realizó en un equipo HPLC 1260 Infinity (Agilent, DE, Alemania). La separación se realizó con una columna Supelcosil LC-PAH (150x4.6 mm y 5 μ m). La fase móvil se filtró empleando una membrana de 0.45 μ m, la solución A fue ácido acético (J.T. Baker; Phillipsburg, NJ, EUA) acuoso al 1.0% v/v, mientras que la solución B acetonitrilo (J.T. Baker). La separación se realiza empleando el siguiente gradiente de elución: 0-4 min A:B=30:70; 4-11 min A:B de 30:70 a 0:100; 11-17 min A:B=0:100, 17-20 min A:B de 0:100 a 30:70 y 20-22 min A:B=30:70 a un flujo de 1.8 mL min⁻¹, el volumen de inyección utilizado fue de 20.0 μ L. El detector de fluorescencia se programó a las longitudes de onda de excitación y emisión de cada analito: Flu (250nm/320nm), Fen (250nm/370nm), Ant 250nm/400nm, Pir, BaA, Cri (270nm/390nm), BbF, BkF, BaP (250nm/420nm), DahA, BghiP (290nm/410nm) y IcdP (300nm/500nm).

Preparación y caracterización de las películas de PS

El PS se obtuvo de envases comerciales, inicialmente se cortó en cubos de 1.0 cm², se lavaron con agua y metanol y posteriormente se prepararon disolviendo 0.45 g en 3.0 mL de tetrahidrofurano (J.T. Baker). La solución se razó a un espesor de 10.0 milipulgadas, evaporando el solvente a temperatura ambiente. Las películas se caracterizaron mediante espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR) y microscopía electrónica de barrido. La determinación de afinidad entre la película y HAPs se estimó mediante análisis Scatchard.

Optimización del proceso de extracción y análisis de muestras

Se realizó un diseño de experimentos factorial fraccionado 2⁷⁻⁴ para seleccionar las variables críticas y discriminar las variables que no influyen de manera significativa en el proceso de extracción en fase sólida en punta de pipeta. Las variables evaluadas (niveles) en el proceso fueron: área del adsorbente (3.0-9.0 cm²), volumen de la muestra

(5.0-20.0 mL) pH de la muestra (2.0-6.0), %NaCl (0-15.0%), solvente eluyente (Hexano-Acetonitrilo), volumen de elución (200-1000 μL) y los ciclos de aspiración/dispensación (2-10). Posteriormente se optimizaron las variables críticas.

Las muestras de agua potable fueron analizadas empleando la siguiente metodología optimizada: se coloca 1.0 cm^2 de la película de PS en una punta de pipeta de 200.0 μL , que se activó con 100.0 μL de metanol seguido de 100.0 μL de agua desionizada (este paso se repite tres veces). Posteriormente, se aspiraron/dispensaron 8.0 mL de la muestra durante 10 ciclos. Se retiró la punta y se colocó en una micropipeta donde se lavó la película con agua desionizada (100.0 μL). Los analitos adsorbidos se eluyeron mediante 10 ciclos de aspiración/dispensación con 300.0 μL de ACN. La fase líquida se aforó a 1.0 mL con ACN y se analizó mediante HPLC-FLD.

Resultados y Discusión

La afinidad de la película hacia los HAPs se determinó mediante isothermas de adsorción y el análisis Scatchard de las isothermas. Los valores de K_d obtenidos para los HAPs se muestran en la Tabla 1, la afinidad entre las películas de PS y los analitos presentó una tendencia debido a que aumenta su valor de reparto (Log P). Los valores obtenidos de K_d corresponden a un grado de interacción moderado, adecuado para procesos de retención-elución [6]. El espectro IR de las películas se muestra en la Figura 1A. Las bandas observadas en 3100-3000 cm^{-1} están asociadas a la vibración de estiramiento aromático C-H, en 3000-2850 cm^{-1} para vibraciones de estiramiento asimétricas y simétricas del grupo metileno, en 1500-1400 cm^{-1} para vibración de estiramiento del enlace C-C en el anillo aromático, y en 800-700 cm^{-1} las bandas de flexión fuera del plano para el enlace C-H [7]. La Figura 1B muestra la micrografía de la superficie de la película, se observa una superficie homogénea, que es consistente con la presencia de sitios homogéneos determinados mediante el análisis Scatchard ($r^2 > 0.93$) [6].

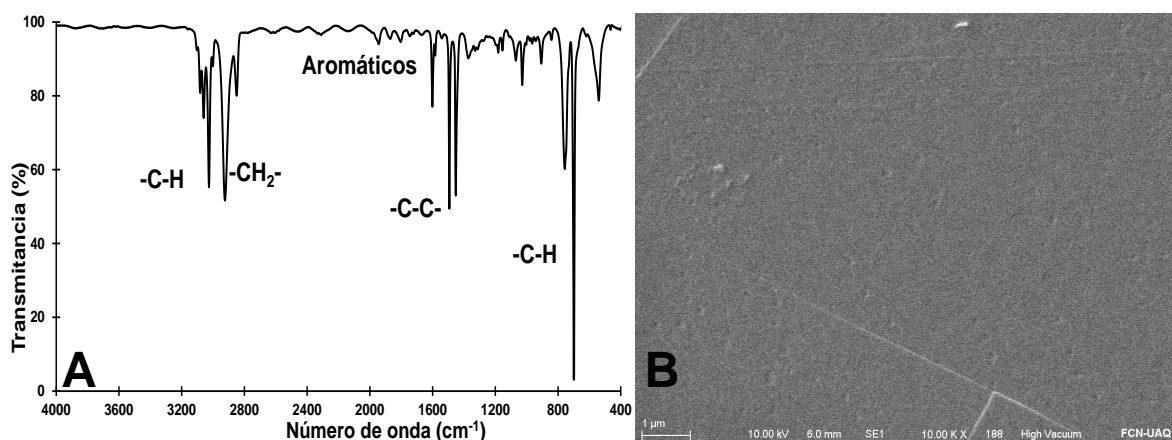


Figura 1. A) Espectro IR y B) Microscopía electrónica de barrido de la película de PS.

Optimización del proceso PT-SPE

Los experimentos se realizaron con muestras de agua potable dopada con 50.0 ng mL^{-1} de cada HAP, la muestra eluida fue aforada a 1.0 mL con ACN. El análisis de la sumatoria de áreas se realizó empleando el programa estadístico Minitab 17. El diseño factorial fraccionado 2^{7-4} para la selección de variables muestra que las variables críticas para la extracción son el área de la película, volumen de la muestra y volumen de eluyente con valores de $p < 0.05$, mientras que el pH y %NaCl no tienen influencia significativa sobre la extracción debido a la naturaleza de los analitos. La influencia del eluyente concuerda con los valores obtenidos de las constantes de afinidad, ya que al no tener una afinidad elevada permite la elución acetonitrilo o hexano.

Las variables significativas fueron optimizadas mediante un diseño Box Behnken, evaluando: área de la película ($1.0\text{-}5.0 \text{ cm}^2$), volumen de muestra ($2.0\text{-}8.0 \text{ mL}$) y volumen de elución ($50.0\text{-}350.0 \text{ }\mu\text{L}$). El sistema presenta un coeficiente de determinación (r^2) de 0.96 , bajo estas condiciones el modelo predice una respuesta de 323.71 como valor óptimo, mismo que fue confirmado con el valor experimental 346.71 ($n=3$, %RSD = 3.98). Los niveles óptimos de las variables fueron: 1.0 cm^2 área de la película, 8.0 mL volumen de muestra y $300.0 \text{ }\mu\text{L}$ de volumen de elución (Figura 2).

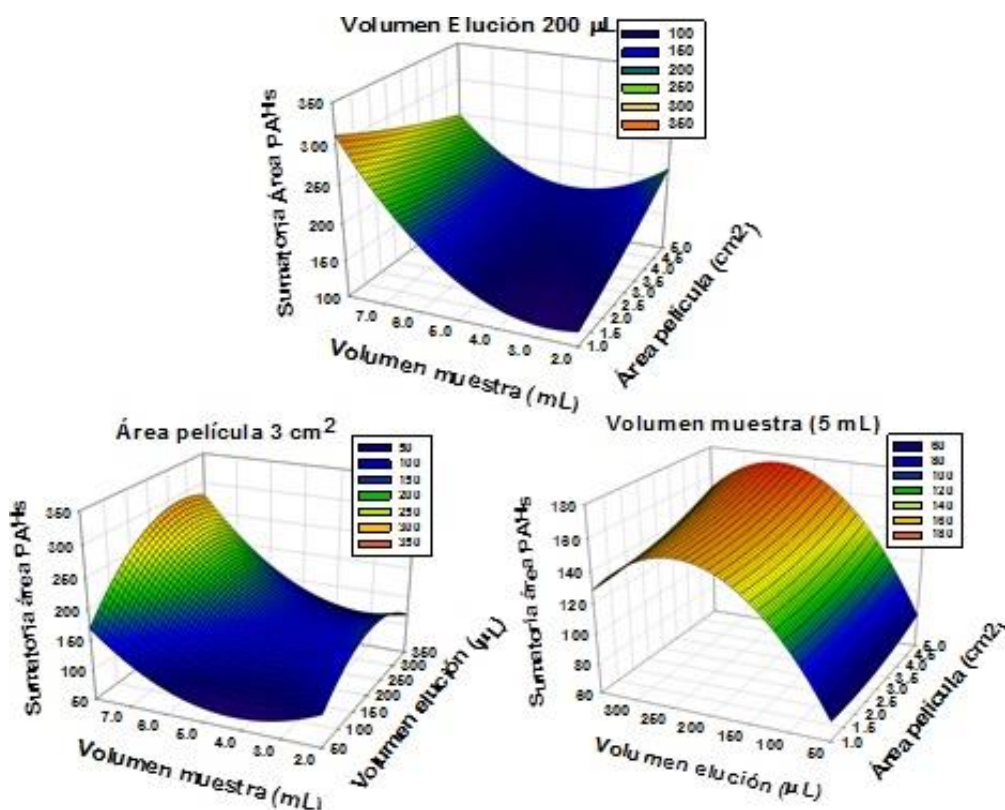


Figura 2. Gráfico de superficies obtenidos a partir del diseño Box Behnken de las variables significativas en el sistema de extracción en fase sólida en punta de pipeta para HAPs.

Validación del método.

Los parámetros analíticos (Tabla 1) fueron obtenidos usando curvas de calibrado con muestras de agua potable dopadas en concentraciones de 0.5-16.0 ng mL⁻¹. El área del pico de los analitos fue medida por triplicado. Se obtuvieron sensibilidades analíticas de 0.085±0.003 a 1.263±0.003 LU·s·mL ng⁻¹. Los valores del intervalo de intersección incluyen cero en todos los casos, lo que indica una metodología selectiva. Los valores de los LODs obtenidos para los 12 HAPs están en el intervalo de 0.05-0.14 ng mL⁻¹ siendo los analitos con mayor afinidad a la película los que presentaron mejores LODs, además, los LODs obtenidos son útiles para evaluar HAPs en los límites máximos permisibles, la regulación mexicana requiere el análisis de BaP (0.7 ng mL⁻¹) mientras que la EPA establece concentraciones de 0.1-0.4 ng mL⁻¹ [8]. La precisión de la metodología fue estimada como repetitividad y reproducibilidad en términos de desviación estándar relativa en tres niveles de concentración (3.0, 5.0, y 7.0 ng mL⁻¹). Los resultados en todos lo caso fueron menores al 10.0% RSD, indicando una adecuada precisión de los resultados.

Tabla 1. Constantes de disociación (K_d) obtenidos mediante análisis Scatchard.y parámetros de regresión de las curvas de calibrado de los 12 PAHs.

PAH	$K_d \times 10^{-6}$ (mol L ⁻¹)	$b_1 \pm \delta b_1$	$b_0 \pm \delta b_0$	LOD	LOQ	Repetitividad	Reproducibilidad
				(ng mL ⁻¹)		%RSD, n=3	
Flu	175.7±9.6	0.647±0.007	-0.023±0.048	0.13	0.40	6.14-9.03	6.42-9.55
Fen	44.6±1.7	0.340±0.006	-0.009±0.038	0.10	0.31	5.89-8.38	5.96-8.92
Ant	56.4±2.0	1.156±0.008	-0.027±0.051	0.14	0.42	5.43-7.46	6.29-8.22
Pir	33.5±2.1	0.615±0.005	0.032±0.033	0.09	0.27	4.73-7.72	5.99-7.98
BaA	28.6±1.0	0.455±0.007	0.052±0.070	0.13	0.41	5.14-8.37	5.93-8.57
Cri	23.9±1.2	0.697±0.004	0.014±0.025	0.06	0.21	6.27-9.15	6.57-9.94
BbF	93.2±2.1	0.155±0.006	0.030±0.040	0.10	0.33	4.96-6.89	5.95-7.75
BkF	36.7±2.1	1.263±0.003	0.015±0.019	0.05	0.15	5.36-7.08	6.67-8.83
BaP	172.3±4.6	0.515±0.005	0.032±0.035	0.09	0.29	4.17-7.32	5.25-7.94
DahA	45.8±1.1	0.636±0.004	0.026±0.027	0.07	0.22	5.66-6.59	6.01-8.90
BghiP	50.7±3.8	0.357±0.007	0.059±0.060	0.13	0.42	5.54-8.06	5.88-9.47
IcdP	34.3±2.2	0.085±0.003	0.015±0.023	0.07	0.24	6.06-7.76	6.45-8.79

La Figura 3 muestra los cromatogramas obtenidos bajo las condiciones óptimas, la Figura 3A corresponde a una muestra blanco de agua potable y la Figura 3B una muestra dopada con concentración de 1.0 ng mL⁻¹ de HAPs y la Figura 3C presenta el cromatograma de una muestra de agua potable. El método propuesto fue aplicado en 13 muestras de agua potable, 9 muestras contenían al menos un HAP, 6 muestras contenían fluoreno (0.49-0.89 ng mL⁻¹), 8 fenantreno (0.60-0.94 ng mL⁻¹) y 6 antraceno (0.60-0.87 ng mL⁻¹). Se analizaron las muestras positivas empleando la metodología oficial. Los métodos fueron comparados usando la prueba *t*-Student de pares de valores, encontrándose que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$), por lo que la exactitud del método es adecuada para la determinación de HAPs en muestras de agua potable. Los límites de detección obtenidos fueron competitivos con otras

metodologías basadas en extracción en fase sólida [8]. Adicionalmente, el adsorbente usado presenta ventajas sobre las otras metodologías debido a que no requiere métodos de síntesis complejos.

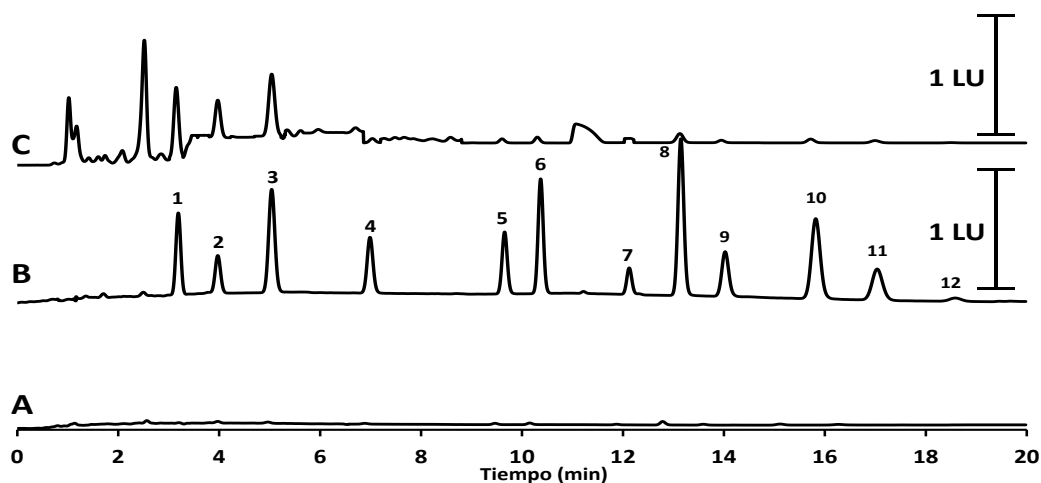


Figura 3. Cromatogramas de 12 HAPs de muestras A) blanco; B) dopada con 1 ng mL^{-1} , C) agua potable. 1-Flu, 2-Fen, 3-Ant, 4-Pir, 5-BaA, 6-Cri, 7-BbF, 8-BkF, 9-BaP, 10-DahA, 11-BghiP, 12-IcdP.

Conclusiones

En este trabajo se diseñó una metodología PT-SPE para la determinación de HAPs utilizando películas de poliestireno reciclado. La preparación de la película se realizó con una estrategia simple y rápida que contribuye al uso/reciclado de material de bajo costo. La película de poliestireno mostró ser un adsorbente eficiente que permitió el proceso de retención-elución de los HAPs. La metodología PT-SPE-HPLC-FLD propuesta permitió el análisis cuantitativo de HAPs con LODs competitivos, una precisión y exactitud adecuadas, en comparación con las descritas en otras metodologías. Los resultados obtenidos del análisis de muestras reales de agua corriente no mostraron diferencias significativas respecto a los obtenidos con la metodología oficial. La metodología propuesta es robusta, eficiente y rápida, con un consumo reducido de solvente y volúmenes de muestra.

Referencias

- [1] J. R. Lucio-Gutiérrez, M. D. L. L. Salazar-Cavazos, N. H. W. De Torres, R. Castro-Ríos. *Analytical Letters*. **41**, 119-136 (2008).
- [2] A. Soceanu, S. Dobrinas, V. Popescu. *Polycyclic Aromatic Compounds*. **36**, 364-375 (2016).
- [3] N. Manousi, G. A. Zachariadis. *Molecules*. **25** 1-29(2020).
- [4] M. Sajid, M. K. Nazal, I. Ihsanullah. *Analytica Chimica Acta*. **1141**, 246-262 (2021).

- [5] K. A. Escamilla-Lara, J. Lopez-Tellez, J. A. Rodriguez. *Chemosphere*, **335**, 139159 (2023).
- [6] I. S. Ibarra, J. A. Rodriguez, J. M. Miranda, M. Vega, E. Barrado. **1218**, 2196-2202 (2011).
- [7] J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas. **133**, 90-95 (2017).
- [8] J. Lopez-Tellez, J. A. Rodriguez, J. M. Miranda, A. C. Mondragon, I. S. Ibarra. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, (En Impresión) (2022). DOI: 10.1080/03067319.2022.2086051

MODIFICACIÓN DEL PERFIL METABÓLICO DE HOJAS DE *Lactuca sativa* L. DEBIDO A LA PRESENCIA DE BISFENOL A EN EL MEDIO HIDROPÓNICO MEDIANTE UAE-GC-MS

Jerónimo Cabrera Peralta, Araceli Peña Alvarez*

Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química, División de Estudios de Posgrado. Ciudad Universitaria, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, CDMX, México.
e-mail de quien presenta el trabajo: jeros_baaa9@hotmail.com
e-mail del responsable del trabajo: arpeal@unam.mx, teléfono: 5556223794

Introducción

Bisfenol A (BPA) es un compuesto orgánico (Figura 1) usado para la fabricación de plásticos de policarbonato y resinas epóxicas [1]. Debido a su alto volumen de producción anual y a su continua transferencia al medio ambiente por el contacto de los productos que lo contienen con aguas superficiales o residuales, BPA se convirtió en un contaminante ubicuo que ha sido determinado en diferentes matrices ambientales y biológicas como agua, suelo, sedimentos, polvo, plantas e incluso tejidos, sangre y leche materna humanas [2]. A pesar de existen reportes en la literatura acerca de la toxicidad de BPA en plantas [3], hay una brecha de conocimiento en el estudio del efecto directo del compuesto en el metabolismo de estos organismos.

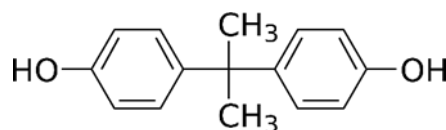


Figura 1. Fórmula desarrollada del bisfenol A.

La metabolómica es la rama de las ciencias ómicas que se enfoca en el análisis de compuestos de bajo peso molecular (<1500 Da) que participan en reacciones bioquímicas requeridas para el funcionamiento general de un organismo [4], lo que la convierte en una herramienta útil para la evaluación de las alteraciones ocasionadas por contaminantes orgánicos a un sistema biológico. La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés) es una de las técnicas instrumentales más utilizadas en metabolómica, ya que se caracteriza por proveer separaciones de alta resolución (útiles en el análisis simultáneo de cientos de metabolitos) y debido a que la electroionización presenta una alta reproducibilidad, permitiendo el uso de bibliotecas de espectros de masa para facilitar la identificación de los metabolitos detectados [5]. A pesar de su dificultad para el análisis de compuestos poco volátiles, GC-MS ha demostrado ser capaz de determinar una porción suficientemente amplia del metaboloma para detectar su modificación debida al sometimiento del organismo a un estrés determinado [6].

El objetivo de este trabajo fue determinar la modificación del perfil metabólico de hojas de *Lactuca Sativa* L. var. *capitata* (lechuga francesa) expuestas a BPA. Para esto, se desarrolló una metodología para el análisis de hojas de lechuga mediante extracción

asistida por ultrasonido (UAE, por sus siglas en inglés) seguida de GC-MS, que se aplicó al análisis de hojas de lechugas control y expuestas a BPA cultivadas en el laboratorio. Posteriormente se realizó la detección, integración y alineación de las señales observadas en los cromatogramas; con lo que se construyeron matrices de datos que contenían el área de los metabolitos para cada muestra analizada. Finalmente, se sometió las matrices obtenidas a análisis multivariados para determinar si existía una modificación en el perfil metabólico de las hojas de lechuga a causa de BPA y a qué metabolitos se debía principalmente dicha diferencia.

Parte Experimental

Para estudiar el perfil metabólico de la lechuga francesa, estas se cultivaron en el laboratorio desde la semilla mediante el método hidropónico de raíz flotante. Se utilizó una lámpara LED para reemplazar la radiación solar y así obtener una mayor reproducibilidad entre cultivos, programando ciclos de 14 horas de luz y 10 de oscuridad. 26 días después de la siembra se eligieron dieciocho lechugas y se dividieron en tres grupos de seis lechugas cada uno. Los grupos formados fueron: lechugas control y fortificadas con BPA a 5 ng/mL y 5 µg/mL. No se observaron diferencias físicas significativas a simple vista entre lechugas pertenecientes a los diferentes grupos durante su crecimiento (en la Figura 2 se muestra una fotografía de las lechugas antes de la cosecha). 54 días después de la siembra se cortaron seis hojas de cada lechuga, sumergieron en nitrógeno líquido para detener el metabolismo, liofilizaron durante 48 horas, homogeneizaron en un mortero de ágata y almacenaron en un desecador hasta su análisis.

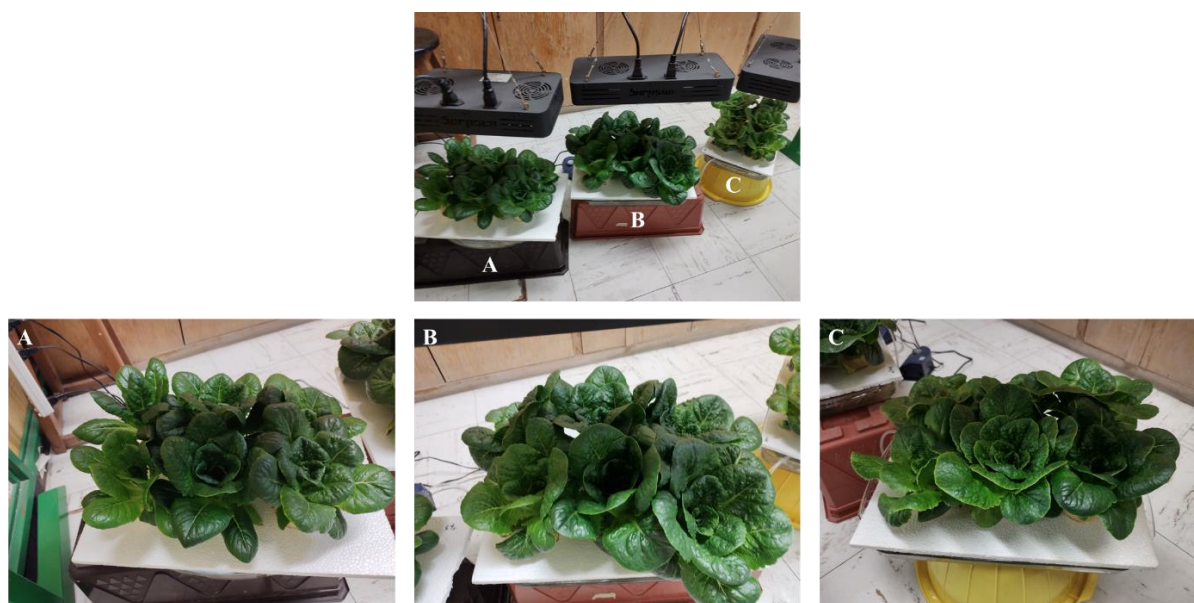


Figura 2. Fotografía de las lechugas francesas hidropónicas cultivadas tomadas antes de la cosecha. Grupo de lechugas: A. control y fortificadas con BPA a: B. 5 ng/mL y C. 5 µg/mL.

Para asegurar la determinación de un amplio perfil metabólico de las hojas de lechuga se desarrollaron cuatro variantes de una metodología analítica mediante extracción asistida por ultrasonido (UAE, por sus siglas en inglés) seguida de GC-MS, siendo la diferencia entre estos métodos el solvente de extracción y condiciones de derivatización utilizados (Figura 3). El desarrollo del método se enfocó en la miniaturización, ya que para el análisis de una muestra solo se necesitan 5 mg de hojas de lechuga liofilizada, 2 mL de metanol o hexano y 150 µL de otros reactivos.

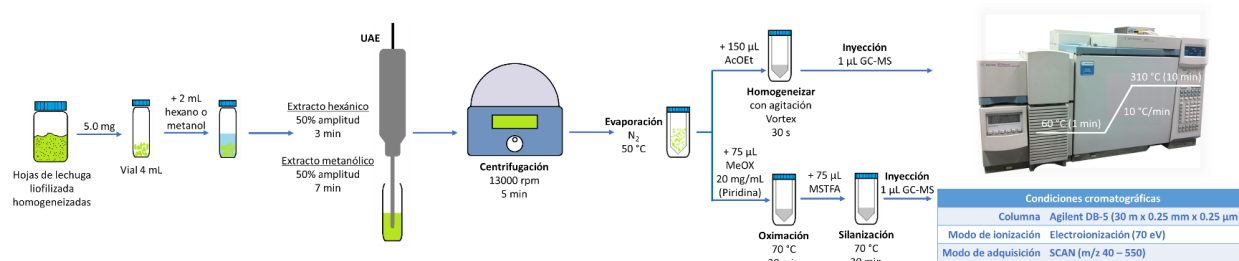


Figura 3. Método para la determinación del perfil metabólico de hojas de lechuga mediante UAE-GC-MS.

Resultados y discusión

Las hojas de lechuga control analizadas mediante las cuatro variantes del método mostrado en la Figura 3 presentaron perfiles cromatográficos diferentes (Figura 4), demostrando que la elección de las condiciones de la metodología aplicada influye significativamente en la variedad de metabolitos extraídos.

Los cromatogramas obtenidos en metabolómica presentan un gran número de señales y es común la coelución parcial o total entre las mismas, por lo que es necesario realizar un procesamiento que permita la detección y deconvolución de las señales para posteriormente integrarlas. El procesamiento de los cromatogramas adquiridos se realizó utilizando el software AMDIS desarrollado por el Instituto Nacional de Estandarización y Tecnología (NIST, por sus siglas en inglés) de Estados Unidos de América; que permitió la creación de una matriz de datos para cada variante del método analítico (extracción con metanol o hexano derivatizado o sin derivatizar) que indicaba el área de las señales (etiquetadas por su índice de retención) en las muestras analizadas (Figura 5).

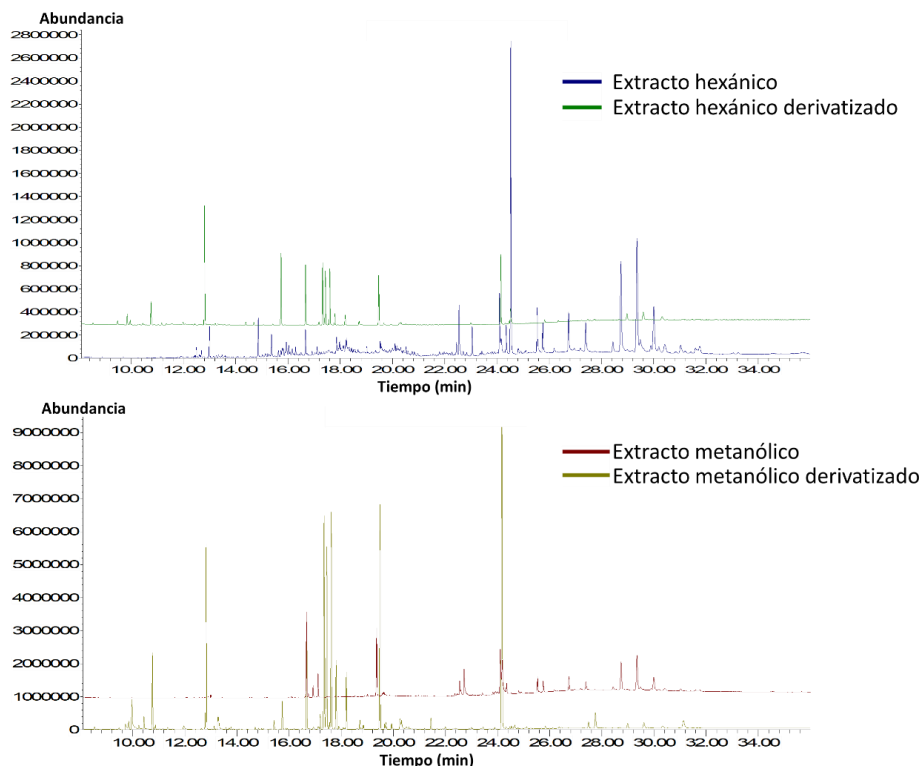


Figura 4. Comparación de los cromatogramas iónicos totales del análisis del perfil metabólico de hojas de lechuga control mediante UAE-GC-MS.

Columnas: Señales cromatográficas etiquetadas por su índice de retención

Muestras	Grupo	IR 1	IR 2	IR 3	...	IR n
Control 1	Control	Área	Área	Área	...	Área
.
.
.
Control 6	Control	Área	Área	Área	...	Área
Baja 1	5 ng/mL	Área	Área	Área	...	Área
.
.
.
Baja 6	5 ng/mL	Área	Área	Área	...	Área
Alta 1	5 µg/mL	Área	Área	Área	...	Área
.
.
.
Alta 6	5 µg/mL	Área	Área	Área	Área	Área

Filas: Muestras de hojas de lechuga analizadas (control y expuestas a BPA a 5 ng/mL y 5 µg/mL)

Figura 5. Ejemplo de matriz de datos generada a partir del procesamiento de los cromatogramas adquiridos. IR: índice de retención.

Las matrices de datos obtenidas fueron normalizadas y posteriormente evaluadas mediante análisis de componentes principales y mínimos cuadrados parciales - análisis discriminante (PCA y PLS-DA, respectivamente, por sus siglas en inglés) utilizando la plataforma en línea MetaboAnalyst 5.0. Los gráficos de *scores*, obtenidos usando cinco componentes para ambos análisis, se muestran en la Figura 6. Se observó una separación de grupos total en el PCA y PLS-DA del perfil metabólico obtenido del extracto hexánico, lo que indica que existe una modificación metabólica significativa de las hojas de lechuga debido a la presencia de BPA en el medio hidropónico. Por otro lado, en el análisis de los otros extractos en ocasiones se observó el traslape de los grupos de lechugas fortificados a diferentes concentraciones del contaminante, indicando una diferenciación metabólica menor; sin embargo, en todos los casos se obtuvo una separación significativa entre el grupo control y los fortificados con BPA. Los valores de importancia en la proyección (VIP, por sus siglas en inglés) obtenidos a partir del PLS-DA indicaron qué señales eran a las que se debía principalmente la separación de grupos y, por tanto, los metabolitos mayormente impactados por la presencia de BPA en el medio hidropónico. La identificación preliminar de los cinco metabolitos con mayor VIP para cada extracto, realizada únicamente mediante la comparación de los espectros de masa con los de la biblioteca NIST02, se muestra en la Tabla 1. De manera general, algunas familias de metabolitos impactadas por la presencia del contaminante fueron ácidos orgánicos, polialcoholes, carbohidratos y esteroides; cuya importancia en el funcionamiento bioquímico de la lechuga será determinada en estudios posteriores.

Tabla 1. Identificación preliminar de los compuestos con mayor VIP para variante del método analítico. Los compuestos que aparecen como “no identificados” presentaron valores de *match* menores a 600 durante comparación de espectros de masas con la biblioteca NIST02.

Extracto hexánico	Extracto metanólico	Extracto hexánico derivatizado	Extracto metanólico derivatizado
Éster metílico del ácido docosanoico	2,4-di-tert-butilfenol	2-TMS ácido (E) 2-butendióico	No identificado
1-tetracosanol	(Z,Z)-, 2,3-dihidroxipropil éster del ácido 9,12-octadecadienoico	No identificado	Éster metílico del ácido 18-propilheneicosanoico
Éster metílico del ácido pentacosanoico	Éster metílico del ácido docosanoico	1,3,5-tri-2-propenil-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-triona	Sacarosa
Éster metílico del ácido octacosanoico	Éster metílico del ácido octacosanoico	Éster metílico del ácido 25-metilheptacosanoico	3-TMS ácido cafeico
Éster metílico del ácido tetracosanoico	Campesterol	4TMS ácido tartárico	No identificado

Extracto hexánico
75 metabolitos detectados

Extracto metanólico
25 metabolitos detectados

Extracto hexánico derivatizado
37 metabolitos detectados

Extracto metanólico derivatizado
136 metabolitos detectados

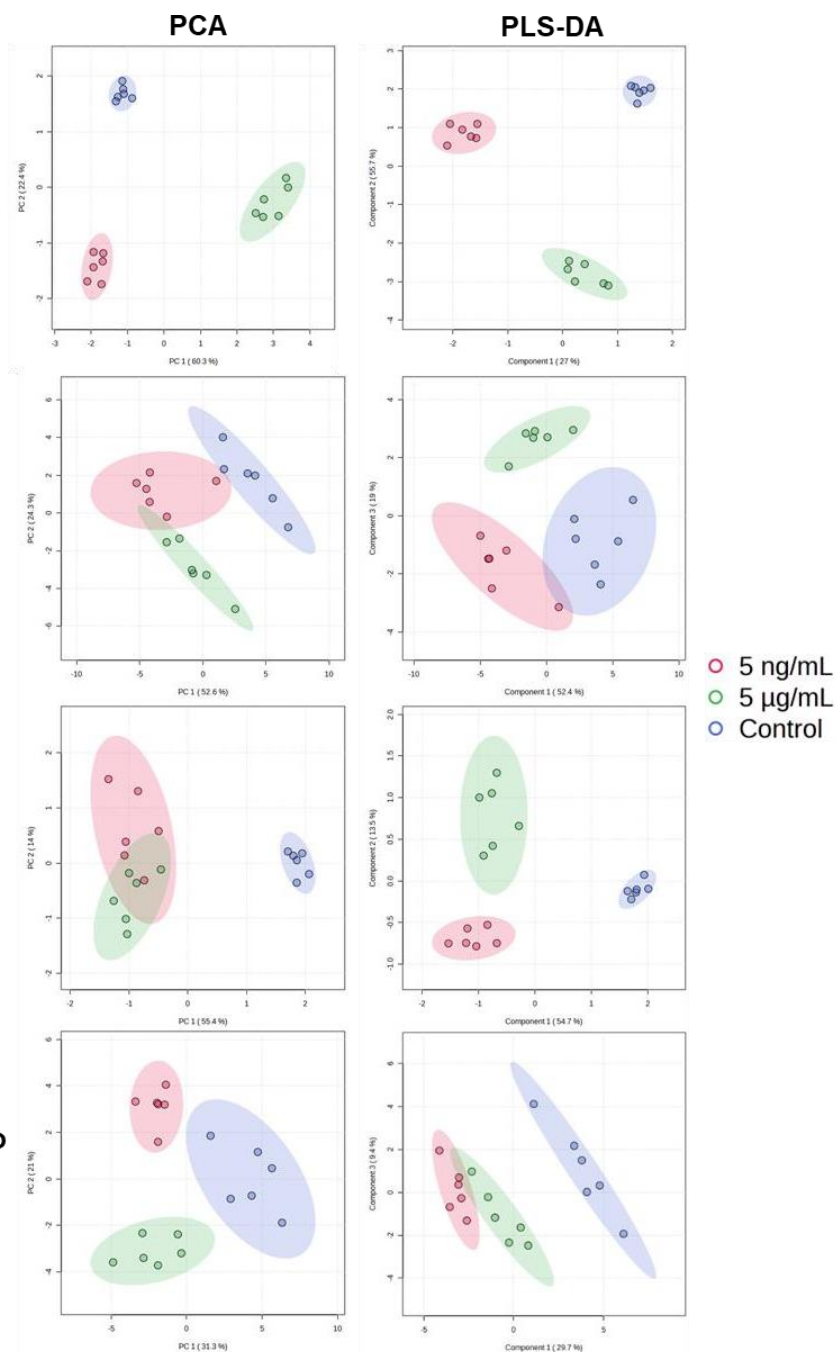


Figura 6. Gráficos de *scores* obtenidos del PCA y PLS-DA de la determinación del perfil metabólico de hojas de lechuga mediante UAE-GC-MS. Todos los análisis se realizaron calculando cinco componentes.

Conclusiones

Ya que el perfil metabólico de la lechuga francesa está conformado por compuestos con diferentes propiedades fisicoquímicas, la aplicación de diferentes condiciones de extracción es necesaria para asegurar la determinación de una mayor variedad de metabolitos. Las lechugas control y fortificadas con BPA cultivadas no mostraron diferencias físicas significativas, sin embargo, el análisis del perfil metabólico de las hojas mediante el método miniaturizado desarrollado demostró que la presencia del contaminante modificó significativamente su metabolismo. Las rutas metabólicas afectadas serán identificadas en estudios posteriores, lo que permitirá determinar el verdadero impacto bioquímico de BPA en la lechuga francesa.

Referencias

- [1] H. Zhang, Y. Zhang, J. Li, M. Yang. Occurrence and exposure assessment of bisphenol analogues in source water and drinking water in China. **655**, 607-613 (2019).
- [2] C.J. Catenza, A. Farooq, N.S. Shubear, K.K. Donkor. A targeted review on fate, occurrence, risk and health implications of bisphenol analogues. **268**, 129273-129288 (2021).
- [3] C. Xiao, L. Wang, Q. Zhou, X. Huang. Hazards of bisphenol A (BPA) exposure: A systematic review of plant toxicology studies. **384**, 121488-121501 (2020).
- [4] W.B. Dunn, D.I. Ellis. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. **24**, 285-294 (2005).
- [5] E.K. Matich, N.G. Chavez Soria, D.S. Aga, G.E. Atilla-Gokcumen. Applications of metabolomics in assessing ecological effects of emerging contaminants and pollutants on plants. **313**, 527-535 (2019).
- [6] F. Rey-Stolle, D. Dudzik, C. Gonzalez-Riano, M. Fernández-García, V. Alonso-Herranz, D. Rojo, C. Barbas, A. García. Low and high resolution gas chromatography-mass spectrometry for untargeted metabolomics: A tutorial. **1210**, 339043-339065 (2022).

RECUPERACIÓN DE NAPROXENO PROVENIENTE DE TABLETAS MEDIANTE SISTEMAS ACUOSOS BIFÁSICOS

Frida Mariana González Rodríguez, Diana Esmeralda Martínez Rodríguez, Mario Ávila Rodríguez*

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N; C.P. 36050; Guanajuato, Gto. Tel. (+52) 473 732 006, e-mail: fm.gonzalez.rodriguez@ugto.mx

^b Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Gto. Tel. (+52) 473 732 7555. Cerro de la Venada, Pueblito de Rocha, 36040, e-mail: avilam@ugto.mx

Introducción

El término de contaminantes emergentes (CE) se utiliza para referirse a compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de distribución y concentración, por lo que pasan inadvertidos; no obstante, hoy en día son ampliamente detectados y tienen el potencial de generar impacto ecológico y efectos adversos a la salud [1]. Diversos estudios han demostrado que los contaminantes emergentes se encuentran en cuerpos de agua; aguas residuales, ríos, arroyos, aguas subterráneas y entornos marinos [2]. El naproxeno (NPX) (ácido acético 2-naftaleno) es un analgésico no esterooidal que, al igual que otros ácidos farmacéuticos, ingresa a las aguas superficiales debido a que sólo es parcialmente eliminado por las plantas de tratamiento de aguas residuales. En cuanto a sus efectos adversos, se ha determinado que actúa como un indicador de toxicidad y que su concentración en agua residual cruda puede representar un riesgo ecológico para organismos acuáticos [3]. Es por ello por lo que ha sido de suma importancia el proponer estudios de remoción o recuperación de éste y otros contaminantes.

Dentro de los últimos años, los sistemas de extracción líquido-líquido, especialmente los sistemas acuosos de dos fases (ATPS, por sus siglas en inglés) han sido el foco de atención por ser respetuosos con el medio ambiente y de bajo costo [4]. Los ATPS consisten en dos soluciones acuosas inmiscibles al contacto. Existen diferentes tipos, los más comunes pueden contener dos polímeros de diferente naturaleza o un polímero y una sal, los cuales se mezclan con agua [5] y, al alcanzar el equilibrio, dan lugar a la formación de dos fases cada una enriquecida de uno de los componentes [4]. La base de la separación en el sistema es la distribución selectiva de sustancias entre las dos fases [4]. Por lo tanto, han sido usados principalmente para la recuperación de biomoléculas, metales y contaminantes [5]. Los ATPS de polímero-sal tienen algunas ventajas, como bajo precio, baja viscosidad y poco tiempo para la separación de fases [6]. En un anterior estudio se reportó que la extracción de NPX mediante ATPS conformados por PEG-1000 g·mol⁻¹/citrate de sodio y PEG-400 g·mol⁻¹/citrate de sodio es conveniente y efectiva en concentraciones de 10 ppm hasta 100 ppm, teniendo porcentajes de extracción > 99 %. En ese mismo trabajo se propuso que el mecanismo de extracción del NPX está mayormente dirigido por la hidrofobicidad de este fármaco y el efecto *salting-out* causado por la alta concentración de sal provoca una mayor transferencia de masa del NPX hacia la fase polímero [7].

En este proyecto se estudiaron nuevos factores que pueden modificar la extracción de NPX en los ATPS anteriormente mencionados. Aunado a esto, también se analizó la aplicación de esos sistemas para la recuperación de NPX proveniente de tabletas. Lo anterior con la finalidad de demostrar que estos ATPS son efectivos para recuperar y cuantificar el fármaco proveniente de muestras reales.

Parte Experimental

Materiales

El naproxeno se adquirió en Sigma Aldrich (grado reactivo). Las tabletas de NPX fueron de 500 mg (Marca: Dolxen). Para los ATPS, se utilizó citrato de sodio (99 % de pureza, Marca: Karal) y polietilenglicol (PEG) de dos pesos moleculares: $400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y $1000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Marcas: Polioles y Karal, respectivamente; grado reactivo). Para las disoluciones se utilizó agua desionizada (Marca: Karal).

Preparación de los ATPS para el preequilibrio de las fases

En la Figura 1, se muestra el proceso para preparar los ATPS y, posteriormente, llevar a cabo la extracción del fármaco. Se llevó a cabo una mezcla ternaria PEG/sal/agua en porcentaje en peso (% p-p⁻¹) de los reactivos: PEG-1000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ /citrato de sodio o PEG-400 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ /citrato de sodio y agua desionizada. La mezcla se sometió a agitación hasta la completa disolución de los reactivos, posteriormente se dejó en reposo durante 24 horas para asegurar el equilibrio completo en la separación de las fases. Posteriormente, se separaron para su previo tratamiento antes de llevar a cabo la extracción del NPX, según el estudio deseado.

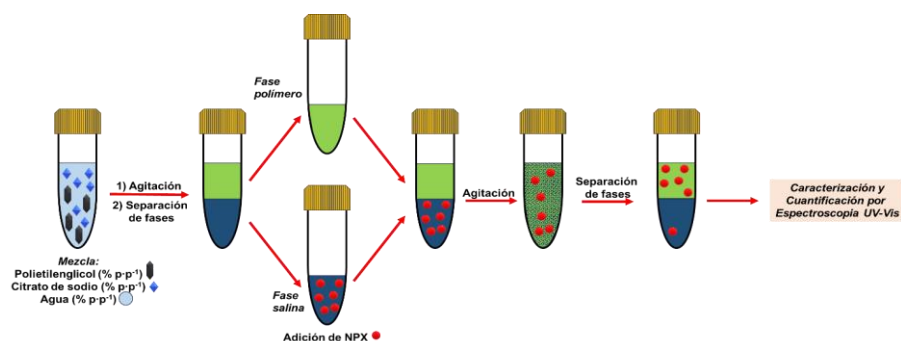


Figura 1. Proceso para preparar los ATPS y, posteriormente, llevar a cabo la extracción del fármaco.

Diferencia entre el equilibrio de fases por centrifugado o reposo de 24 horas.

Adicionado el NPX (10 ppm) en la fase salina, se puso en contacto con la fase polímero, con una relación de fases (R) igual a 1 ($R = (V_{FP}/V_{FS})$). Los ATPS se agitaron a 180 rpm durante 1 hora en una incubadora con agitación orbital a 25 °C (Marca: Prendo; Modelo: INO 650V-7). Posteriormente, uno de los estudios consistió en someter a centrifugación los sistemas durante 30 minutos a 2500 rpm para asegurar el equilibrio de las fases, la

otra parte del estudio implicó dejar los sistemas en reposo durante 24 horas. Al finalizar cada técnica, las fases se separaron y se llevó a cabo la cuantificación del fármaco.

Cinética de extracción de NPX.

La fase salina con NPX se puso en contacto con la fase polímero con una $R = 1$, los experimentos se realizaron por triplicado y consistieron en agitar a distintos tiempos los ATPS desde 120 minutos hasta 0 segundos (este último tiempo es referido a sólo poner en contacto las fases, sin agitar y dejando en reposo 24 h, esto con la finalidad de para observar si hay transferencia de masa sólo por contacto con la interfase), a una velocidad de 180 rpm por 1 hora, posteriormente los sistemas centrifugaron por 30 minutos a 2500 rpm para asegurar el equilibrio de las fases. Por último, se separaron las fases y se llevó a cabo la cuantificación y caracterización mediante espectroscopía UV-Visible.

Proceso de extracción de NPX modificando la relación de fases.

La fase salina con NPX se puso en contacto con la fase polímero modificando la relación de fases (R) de 1:2 y 2:1 para cada sistema. Los ATPS se agitaron por 1 hora a 180 rpm, después se dejaron en reposo por 24 horas. Por último, se separaron las fases y se llevó a cabo la cuantificación y caracterización mediante espectroscopía UV-Visible.

Proceso de extracción de NPX presente en tabletas: A) Filtrando los sólidos insolubles y B) Por decantación utilizando centrifugación.

Se utilizó el ATPS: PEG-1000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ /citrato de sodio. Las fases se preequilibraron, la tableta se trituró hasta obtener un polvo fino y se solubilizó el polvo en la fase salina (estimando 10 ppm, según el contenido de NPX en la tableta), debido a que se observó la presencia de sólidos insolubles, en la Figura 2 se muestran los procesos A) y B) para eliminarlos de la fase salina y a continuación se describen:

A) Se filtraron los sólidos insolubles de la fase salina con un filtro de celulosa. Esta fase filtrada con la presencia de NPX se puso en contacto con la fase polímero con una $R = 1$.
B) La fase salina con los sólidos insolubles se centrifugó a 2500 rpm por 15 minutos. Se separó la fase salina y se puso en contacto con la fase polímero con una $R = 1$.

Para ambos métodos, las fases se agitaron durante 1 hora a 180 rpm, se dejaron en reposo por 24 horas. Por último, se separaron las fases y se analizaron mediante espectroscopía UV-Visible.

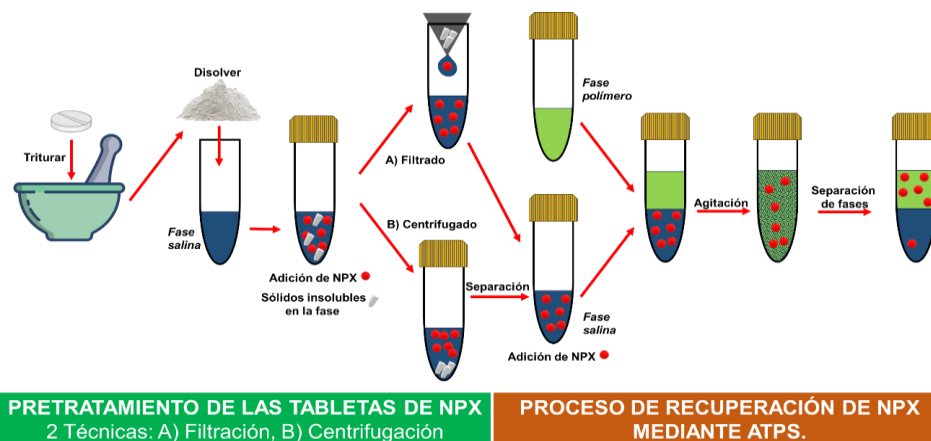


Figura 2. Proceso de extracción de NPX presente en tabletas: A) Filtrando los sólidos insolubles e B) Por decantación utilizando centrifugación.

Determinación cualitativa y cuantitativa de NPX en fase polímero y fase salina de cada ATPS para el proceso de extracción, mediante espectroscopia UV-Visible.

La cuantificación del NPX en ambas fases [7], previa y posterior a la extracción, se llevó a cabo generando una curva de calibración, en donde se disolvió el fármaco en la fase salina y polimérica (según el ATPS) en concentraciones de 0 a 10 ppm, utilizando como blanco a la fase correspondiente. Se obtuvieron los espectros de cada muestra de la curva de calibración y de las muestras problema de la extracción, se identificaron las absorbancias a la longitud de onda máxima seleccionada del NPX (273 nm), utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Marca: Varían; Modelo: Cary 5 probe) empleando una celda de cuarzo de 10 mm (Marca: Perkin-Elmer). El porcentaje de extracción del NPX cuando $R = 1$ se calculó con la Ecuación (1):

$$\% \text{ Extracción} = \frac{[NPX]_{FP}}{[NPX]_{FS \text{ inicial}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde $[NPX]_{FS \text{ inicial}}$ es la concentración inicial de NPX en fase salina, antes de la extracción y $[NPX]_{FP}$ la concentración final del NPX en la fase polímero, después de la extracción. En el caso de la variación de volúmenes de fases se utilizó la Ecuación 2:

$$\% \text{ Extracción} = \left(\frac{K_D \cdot R}{1 + K_D \cdot R} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

Donde K_D se determinó con la Ecuación 3:

$$K_D = \frac{[NPX]_{FP}}{[NPX]_{FS\ inicial}} \quad (3)$$

Resultados y Discusión

Diferencia entre el equilibrio de fases por centrifugado o reposo de 24 horas.

Los resultados de comparar las dos técnicas de espera del equilibrio de las fases, una mediante centrifugación y la otra esperando 24 horas de reposo, mostraron que no hay diferencia significativa en el porcentaje de recuperación de NPX en ambos ATPS. Diferenciar entre ambas técnicas permitió descartar la idea de que existiese transferencia de masa en la interfase cuando se dejaba en reposo los ATPS durante 24 horas.

Cinética de extracción de NPX.

En la Figura 3 se muestra el comportamiento de la cinética de extracción para ambos ATPS. En el porcentaje de extracción a tiempo cero, se observó la misma eficiencia para ambos sistemas (> 99 %). Por lo tanto, con este estudio se demostró que existe transferencia de masa sin necesidad de realizar un proceso de agitación. Esto es un indicio de que, efectivamente, el efecto *salting-out* excluye al fármaco de la fase salina y a la vez, la misma hidrofobicidad del NPX causa que éste se transfiera a la fase más hidrofóbica, la cual es la fase polimérica [7]. Por otro lado, en la cinética de extracción se pudo evidenciar que la transferencia de masa es muy rápida, ya que en los tiempos mencionados en la metodología experimental la recuperación del NPX en la fase polímero es igual en todos los casos y muy eficiente (> 99 %). Por ende, el tiempo de agitación no influye en un mayor o menor porcentaje de extracción del fármaco.

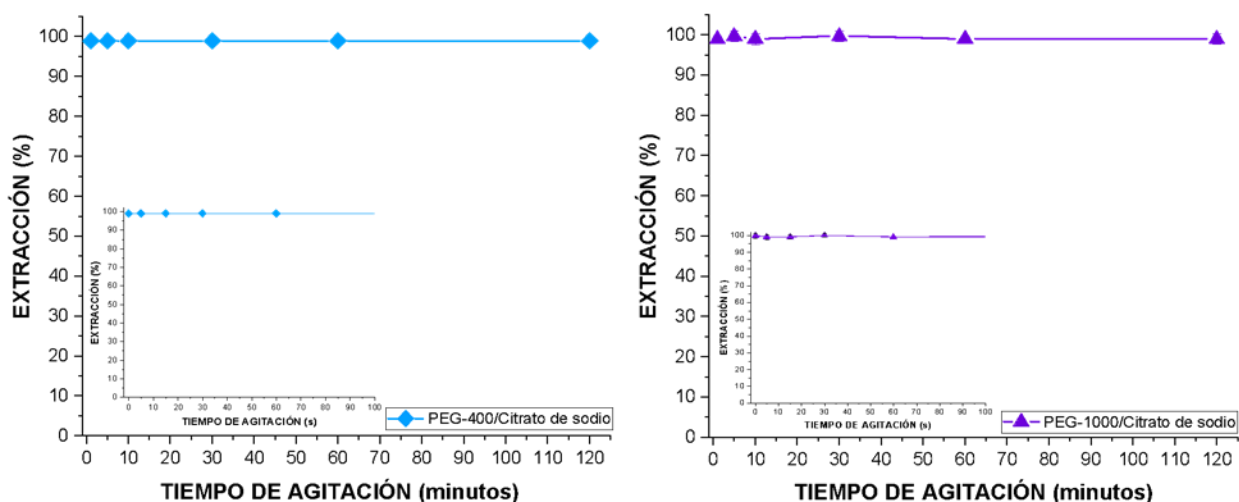


Figura 3. Cinética de extracción de NPX para ambos ATPS.

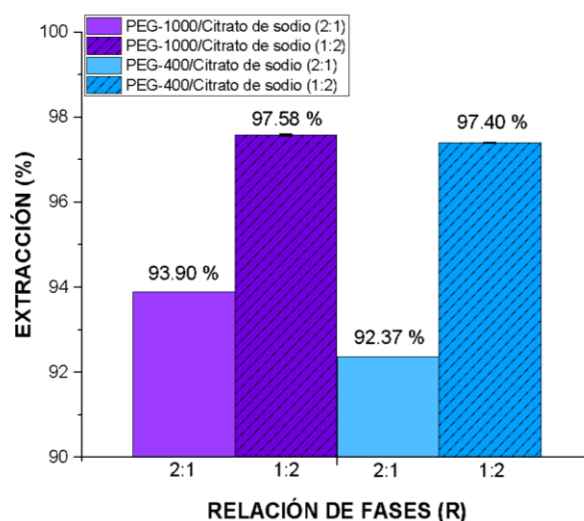


Figura 4. Porcentaje de extracción de NPX modificando la relación de fases.

Proceso de extracción de NPX modificando la relación de fases.

En la Figura 4 se muestra la comparación del porcentaje de extracción de NPX para los ATPS PEG-1000 g·mol⁻¹/citrato de sodio y PEG-400 g·mol⁻¹/citrato de sodio modificando la *R*. El rango de porcentaje de extracción va desde 92.37 % a 97.58 %. Estos valores de extracción son bastante eficientes ya que son cercanos al 100 % de recuperación. En cuanto a la comparativa entre ATPS se observa una mayor efectividad para el sistema PEG-1000 g·mol⁻¹/citrato de sodio, sin embargo, la diferencia de un sistema a otro es muy pequeña. Por otro lado, al modificar la *R* se genera incremento o decremento poco significativo en el porcentaje de extracción. Se logró observar un patrón de comportamiento entre sistemas, ya que cuando *R* es 1:2 para ambos ATPS, se obtiene un mayor porcentaje de extracción, esto es posiblemente causado por el efecto *salting-out* generado al tener una mayor proporción de fase salina [7]. En el caso donde *R* es 2:1, se observa un comportamiento contrario en donde hay menor porcentaje de recuperación ya que hay una menor proporción de fase salina. Por lo tanto, con esta experimentación se puede reafirmar que la presencia de sal en los ATPS (fase salina) provoca una mayor transferencia de masa de NPX hacia la fase polimérica.

Proceso de extracción de NPX presente en tabletas: A) Filtrando los sólidos insolubles e B) Por decantación utilizando centrifugación.

Se decidió utilizar el sistema PEG-1000 g·mol⁻¹/citrato de sodio debido a que, al analizar los resultados y factores que intervienen en la extracción, se llegó a la conclusión de que era el mejor ATPS de los dos estudiados, ya que presenta una eficiencia de extracción alta y se requiere de una menor cantidad de componentes para formar las fases.

Se pudo determinar mediante espectroscopía UV-Vis que, en la fase polimérica, se encuentra presente el fármaco extraído. Sin embargo, existe un efecto de matriz provocado por los excipientes de la tableta que impide cuantificar de manera exacta la cantidad de fármaco presente en la fase polímero. A pesar de ello, en fase salina se pudo observar que no había presencia de picos característicos del NPX, por lo que se pudo proponer que la recuperación del NPX en fase salina es eficiente. Comparando ambas metodologías A) y B) para el tratamiento de la muestra problema (tabletas), se determinó que las dos técnicas se comportan de forma similar ya que se extrae exitosamente el fármaco.

Conclusiones

Los sistemas PEG-1000 g·mol⁻¹/citrato de sodio y PEG-400 g·mol⁻¹/citrato de sodio son muy eficientes para llevar a cabo la recuperación de NPX a concentraciones de 10 ppm. La cinética de extracción demostró que el proceso es muy rápido. El estudio de contacto de fases sin agitar permitió mostrar que la transferencia de masa puede llevarse a cabo por el efecto *salting-out* de la fase salina y por la hidrofobicidad del fármaco que le permite transferirse a la fase más hidrófoba (fase polimérica). Al modificar la relación de fases, en ambos estudios se obtuvieron porcentajes de recuperación muy eficientes, cercanos al 100 %. Con esta modificación se comprobó que la fase salina juega un papel muy importante en la transferencia de masa. Finalmente, se logró extraer el NPX proveniente de tabletas utilizando dos diferentes metodologías para la separación de sólidos insolubles, y utilizando el APTS PEG-1000 g·mol⁻¹/citrato de sodio. Estos resultados permiten especular que este sistema podría ser utilizado adecuadamente para recuperar el fármaco de forma real que provenga de medicamentos caducos o de medios acuosos (estudio previo), con la finalidad de confinarlo y evitar la contaminación ambiental con este contaminante emergente.

Agradecimientos

Se agradece a la UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO y a la División de Ciencias Naturales y Exactas.

Referencias

- [1] Gil, M., Soto, A., Usma, J. I., & Gutiérrez, O. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia*, **7**(2), 52-73. (2012).
- [2] Peña-Alvarez, A., & Castillo-Alanís, A. Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). *TIP*, **18**(1), 29-42. (2015).
- [3] Acosta-Hernández, K. Biodegradación de contaminantes emergentes en columnas empacadas con suelos del Valle de Tula. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/97999> (2010).

- [4] Martínez, M., Barrueto, Y., & Jimenez, Y. P. Liquid-liquid extraction of molybdenum(VI) using aqueous two-phase systems (ATPS) consisting of polyethylene glycol (PEG) and sodium, ammonium and copper(II) salts: Comparison with conventional solvent extraction. *Hydrometallurgy*, **219**, 106077. (2023).
- [5] Jimenez, Y. P., & Galleguillos, H. R. (Liquid+liquid) equilibrium of (NaNO₃+PEG 4000+H₂O) ternary system at different temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **43**(11), 1573-1578. (2010).
- [6] Juang, R., & Mokhtarani, B. The new experimental data and a new thermodynamic model based on group contribution for correlation liquid-liquid equilibria in aqueous two-phase systems of PEG and (K₂HPO₄ or Na₂SO₄). *Fluid Phase Equilibria*, **215**(2), 151-161. (2004).
- [7] González, F., Martínez, D. & Avila, M. Extracción de Naproxeno Mediante Sistemas Bifásicos Acuosa Basados en PEG-400 g·mol⁻¹ /Citrato de sodio y PEG-1000 g·mol⁻¹ /Citrato de sodio. *Jóvenes en la Ciencia*. **16**

REMOCIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA NATURAL UTILIZANDO DOS ADSORBENTES: CÁSCARA DE NUEZ Y FERRITA DE NÍQUEL

Luis Ervey González Rodríguez^b, Sagrario Martínez Montemayor^a, Mara Sarahi Florencio Martínez^b, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{b*}

^a Centro de Investigación en Química Aplicada Blvd. Enrique Reyna Hermosillo #140, Saltillo 25294, Coahuila México
* Tel: 844 438-9830 ext. 1421, e-mail: sagrario.montemayor@ciqa.edu.mx

^b 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, México.
ilianagarza@uadec.edu.mx

Introducción

El agua es un sistema químico que se encuentra en constante movimiento, se compone principalmente de sustancias minerales y orgánicas, así como de materia en suspensión y materia coloidal, esta composición varía de acuerdo con su ubicación geográfica, por ejemplo, las aguas subterráneas que son la principal fuente de agua potable, se compone principalmente de aniones (HCO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , F^- , PO_4^{2-} , etc.) y cationes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} , etc.) la presencia y concentración de estos componentes varían de acuerdo al lugar donde se realice la extracción [1]. En los últimos años se ha tenido un crecimiento económico que va de la mano con el aumento de la población e industrialización, trayendo consecuencias negativas para el agua de consumo humano, ya que su contaminación tiene efectos negativos sobre la salud pública, la principal fuente de contaminación para este tipo de agua son la eliminación no regulada y no autorizada de desechos orgánicos e inorgánicos en aguas superficiales provenientes de desechos industriales, agrícolas, domésticos, fugas de vertederos y escorrentías, adicionando sustancias peligrosas como patógenos y metales pesados, estos últimos existen de forma natural en el agua, pero cuando se presentan en concentraciones elevadas pueden causar efectos nocivos sobre la salud, ya que presentan atributos mutagénicos o cancerígenos [2,3]. Es importante conocer diferentes metodologías que nos permitan remover o disminuir la concentración de metales presentes en muestras de agua, como el proceso de adsorción, el cual favorece la remoción de los metales a pH ácidos, formando complejos o logrando un intercambio iónico [4], sin embargo, este tipo de adsorción se puede ver afectada, por la presencia de otros cationes, sales y materia orgánica ya que pueden competir por la zona de sorción [5]. El proceso de adsorción es una alternativa utilizada para la remoción de contaminantes presentes en medios acuosos, su operación es simple y de bajo costo a diferencia de otras técnicas (coagulación, floculación, filtración por membrana e intercambio iónico, etc.) [6], este proceso involucra dos interacciones; la fisisorción (atracciones por fuerzas de Van der Waals) y la quimisorción (interacciones mediante enlaces químicos), por lo tanto, para llevar a cabo este fenómeno, se pueden utilizar diferentes materiales naturales o sintéticos [7,8], los naturales son materiales de bajo costo como los residuos agrícolas (bagazo de caña de azúcar, cáscara de arroz, cáscara de nuez etc.), los cuales tienen características porosas y se componen principalmente de celulosa, hemicelulosa, pectina

y lignina teniendo una estructura compleja, lo cual evita su fácil degradación y gracias a sus grupos funcionales facilita la adsorción de los contaminantes orgánicos e inorgánicos, por otro lado, se encuentran los sintéticos como las nanopartículas metálicas que tienen tamaños entre 1 y 100 nm, estas han llamado mucha la atención debido a que tienen una gran área superficial, alta estabilidad, se pueden modificar químicamente y tiene una alta flexibilidad de síntesis [9,10]. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de remoción de metales pesados presentes en aguas de pozo fortificada con Cd, Ni y Pb, utilizando la cascara de nuez como adsorbente natural y nanopartículas de ferrita como adsorbente sintético.

Parte Experimental

Muestra de agua natural

Se recolectó agua del pozo de agua de la preparatoria Ateneo Fuente de la Universidad Autónoma de Coahuila y se realizó el análisis fisicoquímico con doce parámetros, después se fortificó la muestra con un multiestándar de 0.5 mg/L de Cd, Ni y Pb. El cual se preparo a partir de un estándar certificado (AccuTrace) de 1000 mg/L para cada uno de los metales.

Pretratamiento de la cáscara de nuez

Las cáscaras de nuez pecanera recolectadas para este trabajo fueron de la variedad Wichita en el municipio de Parras de la Fuente, Coahuila. Con un procesador de alimento, se trituraron las cáscaras y después se molió utilizando un mortero de porcelana, se pesaron 250 g de las partículas molidas en un vaso de precipitados con capacidad de 1 L, se añadieron 800 mL de agua desionizada para realizar lavados hasta eliminar la coloración del sobrenadante (10 lavados), en cada lavado se filtraron mediante un sistema de separación utilizando matraz Kitasato, embudo Büchner, filtro de papel Whatman #41 y bomba de vacío. El material particulado obtenido después de los lavados se llevó a la estufa durante 2 horas a 100°C, para eliminar la humedad, finalmente se utilizó el Ro-tap con tamiz de malla 100 para obtener partículas de 149 µm. Los reactores de teflón de 4 cm de longitud con 1.5 mm de diámetro interno se empacaron con 0.02g de las partículas de cáscara de nuez.

Procedimiento general adsorbente natural

Los reactores empacados se acoplaron a un sistema FIA, el cual consistió en una bomba peristáltica y tubos flexibles de taygon, se utilizaron 8 mL de muestra fortificada a un flujo de 4 mL/min.

Ferritas de níquel

Las ferritas de níquel fueron sintetizadas en el Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA), la síntesis se realizó utilizando arrabio y NiO, con una molienda de 24 horas y con una temperatura de calcinación de 1000°C.

Procedimiento general adsorbente sintético

En un tubo de ensayo de vidrio de 2X14.7 cm se pesaron 0.02 g de ferrita de níquel, se añadieron 8 mL de muestra fortificada y se agitó utilizando un sistema de burbujeo de aire durante 3 minutos y para remover las ferritas se aplicó un campo magnético (iman de neodimio) durante 1 minuto.

Resultados y Discusión

Para determinar los valores de los parámetros fisicoquímicos en la muestra de agua de pozo se utilizaron las metodologías propuestas en las normas oficiales Mexicanas que se presentan en la Tabla 1, esto con el fin de determinar la cantidad de aniones y cationes mayoritarios presentes en la muestra. En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos de cada uno de los parámetros analizados en la muestra del agua de pozo.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos determinados de acuerdo con los métodos establecidos *en las normas Mexicanas*

Parámetros	Norma Mexicana	Parámetros	Norma Mexicana
pH	NMX-AA-008-SCFI-2016.	Dureza Total	NMX-AA-072- SCFI-2001.
Conductividad	NMX-AA-093- SCFI-2000.	Alcalinidad	NMX-AA-036-SCFI-2001.
Sólidos Totales Disueltos (TDS)	NMX-AA-093- SCFI-2000.	Acidez	NMX-AA-036-SCFI-2001.
Sólidos Totales (ST)	NMX-AA-034- SCFI-2015.	Sulfatos	NMX-AA-074-SCFI-2014.
Dureza Temporal	NMX-AA-072- SCFI-2001.	Cloruros	NMX-AA-073-SCFI-2014.
Dureza Permanente	NMX-AA-072- SCFI-2001.	Cd, K, Na, Ni y Pb	NMX-AA-051-SCFI-2001.

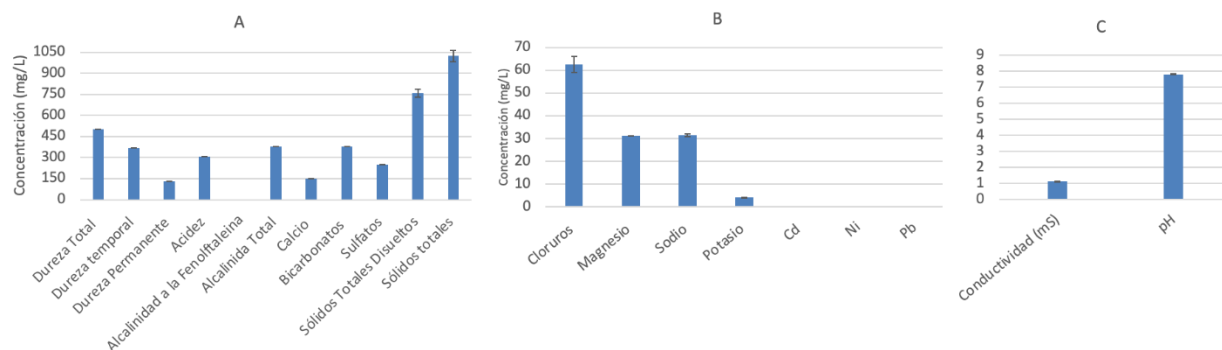


Figura 1. Resultados del análisis fisicoquímico realizado a la muestra de agua del pozo, a) parámetros fisicoquímicos con concentraciones entre 100 y 1030 mg/L, b) parámetros fisicoquímicos con concentraciones entre 0 y 66 mg/L, y c) conductividad y pH.

Con los resultados que se observan en la figura anterior podemos confirmar que el agua del pozo de la preparatoria Ateneo Fuentes, es de buena calidad para uso doméstico, aunque es necesario realizar análisis microbiológico para el consumo humano. Sin embargo, el propósito de este trabajo no fue evaluar la calidad del agua. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de remoción de Cd, Ni y Pb con los adsorbentes: natural (cáscara de nuez) y sintético (ferritas de níquel) en presencia de los iones mayoritarios presentes en el agua natural. Observando que las sales mayoritarias son de calcio, como $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ y CaSO_4 y en menor concentración CaCl_2 , también se tiene la presencia de sales con Mg, Na y K, pero en menor concentración. El pH se podría considerar alcalino (7.8), tanto la conductividad como los sólidos totales (ST) y los sólidos totales disueltos (STD) nos confirman la presencia de estos iones. Pevio a realizar la fortificación se cuantificó la presencia de Cd, Ni y Pb, encontrando que los tres metales se encuentran por debajo del límite de detección (0.0014, 0.0271 y 0.0087 mg/L, respectivamente).

Las condiciones óptimas de remoción tanto con el adsorbente natural como con el sintético se obtuvieron en un trabajo previo del grupo de trabajo, donde se utilizó una muestra de agua desionizada con el multiestándar, alcanzando a remover con el adsorbente natural el 100% de Cd, 74.93% de Ni y 85% de Pb. Y con el adsorbente sintético solo se alcanzó a remover 75% de Cd, 43% de Ni y 75% de Pb. En la Figura 2 se presentan los porcentajes de remoción que se obtuvieron utilizando agua natural fortificada con Cd, Ni y Pb.

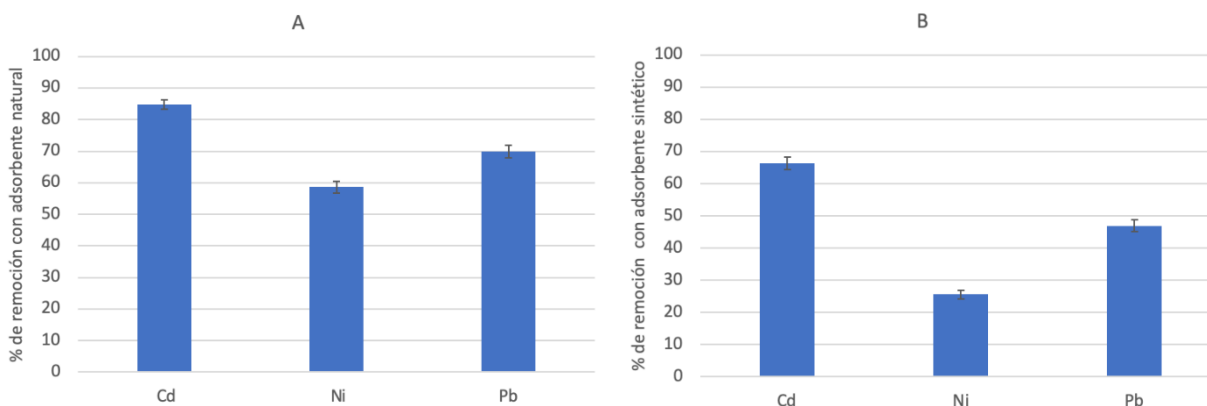


Figura 2. Porcentajes de remoción de Cd, Ni y Pb utilizando a) adsorbente natural (cáscara de nuez), b) adsorbente sintético (ferritas de níquel).

Al comparar los porcentajes de remoción de las dos muestras estudiadas se observa que al utilizar la cascara de nuez en muestras naturales fortificadas se presenta una

disminución del 15% en los tres metales, alcanzando a remover más del 84% de Cd, 59% de Ni y 69% de Pb. Esto lo atribuimos a que la muestra natural tiene una mayor alcalinidad y la presencia de OH⁻ no permite la interacción de los sitios activos con los cationes. Los porcentajes de remoción también disminuyeron al utilizar las ferritas de níquel en la muestra natural fortificada, sin embargo, el porcentaje de remoción de Cd solo disminuyó 8%, removiendo más de 66%, mientras que la remoción de Ni disminuyó 17%, alcanzando a remover el 26% de Ni, para la remoción de Pb el porcentaje de remoción disminuyó 37%, removiendo 47% de Pb. Con estos resultados se observa que los cationes mayoritarios presentes en el agua de pozo pueden estar ocupando los sitios de adsorción y evitando así la remoción de Cd, Ni y Pb.

Conclusiones

Con los resultados obtenidos podemos concluir que el uso de cascara de nuez como adsorbente natural para remover Cd, Ni y Pb fue más eficiente que las ferritas de níquel, ya que se alcanzó a remover hasta el 85% de Cd, 59% de Ni y 69% de Pb, sin embargo, aún se puede continuar estudiando el uso de cáscaras de nuez pecanera de la Variedad Wichita para aumentar los porcentajes de remoción de los metales estudiados al modificar el tratamiento de la cáscara, ya que es un residuo agrícola, el cual puede obtenerse en gran cantidad en el municipio de Parras de la Fuente, está compuesta por lignina, celulosa y hemicelulosa, estos compuestos presentan grupos funcionales que permiten la adhesión de cationes disueltos en agua. En el caso de las ferritas de níquel que se obtienen a partir del arrabio (subproducto que se obtienen de la producción del acero) que se produce en el estado de Coahuila, al modificar la síntesis se pueden mejorar sus propiedades para mejorar la remoción de Cd, Ni y Pb presentes en muestras de agua natural, otra de las ventajas de seguir estudiando este adsorbente sintético es por sus propiedades magnéticas que permiten una rápida remoción del adsorbente.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca No. 12728556. Y a la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesarios para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] J. Speight. *Natural Water Remediation*. **3**, 91–129 (2020).
- [2] P. Kumar, M. Islam, A. Grupa. *Sensors & Actuators: A. Physical*. **347**, 1-20 (2022).
- [3] T. Adane, B. Destaw, H. Dagne, D. Eyachew, J. Azanaw, Z. Andualem, A. Dessi, G. Guyasa, A. Gataneh. A cross-sectional community-based study. **9**, 1-12 (2023).
- [4] Y. Gui, W. Min, X. Min, F. Yue, Y. He. *Environ Earth Sci*. **64**, 329–336 (2011).
- [5] S. Khalajabadi, R. Darío, Z. Hernández. *Cenicafé*. **63**, 79–89 (2012).
- [6] M. Bilal, U. Khan, I. Ihsanullah. *MXenes: Journal of Molecular Liquids*. **385**, 1-19 (2023).

- [7] Z. Zhang , Z. Yang. Chinese Journal of Catalysis, **34**, 1797–1810 (2013).
- [8] O. Akeremale, O. Ore, A. Bayode, H. Badamasi, J. Adedeji, S. Durodola. Results Chem. **5**, 1-10 (2023).
- [9] F. A. Ahmad. Heliyon. **9**, e16449 (2023).
- [10] M. Tesfaye, Y. Gonfa, G. Tadesse, T. Temesgen, S. Periyasamy. Heliyon. **9**, 1-36 (2023).

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE Cr (III) SOBRE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON β -CICLODEXTRINA

Brenda Itzel González Estrada^a, Dafne Sarahia Guzmán Hernández^b,
María Teresa Ramírez Silva^{a*}, Silvia Corona Avendaño^c, Manuel Palomar Pardavé^c

^a Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc, Iztapalapa, Ciudad de México., C.P. 09340

^b CONAHCYT-Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco#186, Col. Vicentina, Ciudad de México., C.P. 09340

^c Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, D.F., C.P. 02200, México

*mtrs218@xanum.uam.mx

Introducción

El cromo es un metal ampliamente utilizado en diversas industrias, puede encontrarse en diferentes formas iónicas, siendo el cromo trivalente (Cr(III)) una de las formas más comunes. Aunque el Cr(III) es considerado menos tóxico que el hexavalente (Cr(VI)), aún representa un riesgo potencial para la calidad del agua y la salud humana [1].

Las ciclodextrinas tienen una característica destacada: su capacidad para formar complejos de inclusión con metales mediante una interacción huésped-anfitrión, debido a su forma de cono truncado, sus interacciones no implican enlaces covalentes. Dada esta propiedad única, se han llevado a cabo modificaciones en electrodos de pasta de carbono mediante electropolimerización de ciclodextrinas en su superficie, lo que permite detectar metales como plomo y mercurio en medio acuoso [2,3]. Siguiendo esta misma línea, se propone desarrollar una metodología de cuantificación para llevar a cabo la determinación y cuantificación de Cr(III) en medios acuosos, por lo que en este trabajo se propone utilizar un electrodo de pasta de carbono (EPC) modificado con β -ciclodextrina (β -CD) aplicando voltamperometría de redisolución anódica para la determinación de Cr(III) mediante voltamperometría cíclica.

Parte Experimental

Todos los reactivos son de grado analítico: β -ciclodextrina (β -CD) (Sigma-Aldrich), HClO_4 (J.T. Baker), ácido acético glacial (Merck), acetato de amonio (J.T. Baker) y cloruro de cromo (III) hexahidratado (J.T. Baker). Todas las disoluciones fueron preparadas con agua desionizada con resistividad (de 18.0-18.2 $\text{M}\Omega\text{cm}$) obtenida de un desionizador MilliQ-Millipore Gradient QGard. Todas las disoluciones se mantuvieron en atmósfera inerte de nitrógeno.

Los estudios electroquímicos se llevaron a cabo utilizando un potenciostato Epsilon-Bassi en una celda electroquímica típica de tres electrodos: electrodo de Ag/AgCl (KCl saturado) como electrodo de referencia, electrodo de pasta de carbono como electrodo de trabajo [4] y electrodo de platino platinado como electrodo auxiliar.

Resultados y Discusión

Se modificó la superficie del EPC llevando a cabo la electropolimerización de la β -CD siguiendo la metodología de Roa y col. utilizando seis ciclos de barrido de potencial [3].

En la figura 1 se observan los voltamperogramas cíclicos sucesivos (VCS) de β -CD obtenidos en una ventana de potencial de -0.8 a 1.5 V a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V/s, con un total de 6 ciclos e iniciando el barrido de potencial en el potencial de corriente nula ($E_{i=0}$) de 0.2 V en sentido anódico.

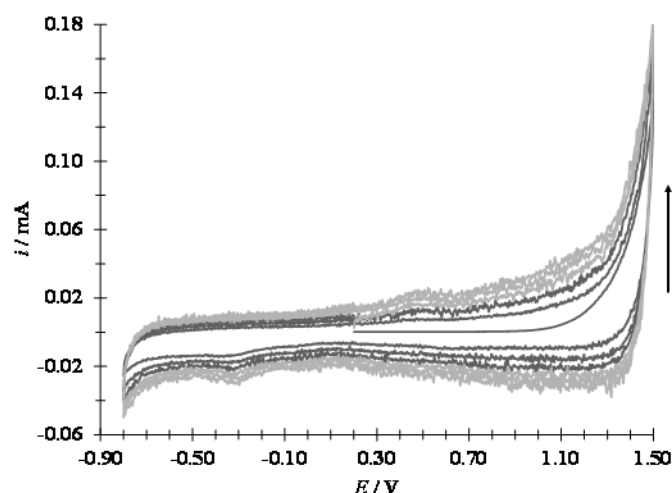


Figura 1. VCS de seis ciclos para el crecimiento de la membrana de β -CD 10^{-2} M en HClO_4 1 M sobre un EPC vs Ag/AgCl, KCl sat a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V/s en sentido anódico. La flecha mostrada en la figura indica el sentido en que incrementa la corriente a medida que aumenta el número de ciclos.

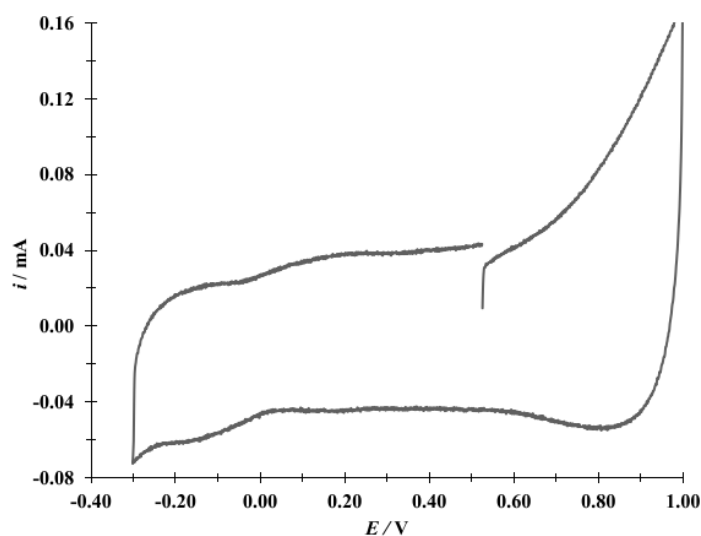


Figura 2. VC del EPC- β -CD vs Ag/AgCl, KCl sat en disolución amortiguadora de acetatos 1 M a pH= 5 para una velocidad de barrido de potencial de 0.05 V/s en sentido anódico.

Después de los VCS la superficie del EPC se modifica obteniendo un electrodo con una superficie de trabajo nueva, EPC- β -CD. Para llevar a cabo la determinación de Cr (III) en medio acuoso es importante imponer un pH=5 con el fin de asegurar el predominio del ión metálico en la disolución [5]. En la figura 2 se muestra el voltamperograma cíclico (VC) del perfil del EPC- β -CD en una disolución amortiguadora de acetatos 1 M a pH=5, en una ventana de potencial de -0.3 a 1.0 V, a una velocidad de barrido de potencial de 0.05 V/s, se inicia el barrido de potencial en potencial de corriente nula $E_{i=0}$ de 0.535 V en sentido anódico y se aprecia que el EPC- β -CD no presenta señales significativas que puedan interferir con alguna señal del Cr(III).

Para la determinación de metales se aplicó la técnica de voltamperometría de redisolución anódica (VRA) [5], para el caso del Cr (III) el electrodepósito se estableció con un potencial de corriente nula de 0.135 V, un pulso de potencial catódico de -1.1 V con una duración de 45 s y un potencial de reposo de 1.0 V con un tiempo de 10 s. Seguidamente, se obtuvo el VC en una ventana de potencial de -0.3 a 1.0 V con una velocidad de barrido de potencial de 0.05 V/s, iniciando en un potencial de corriente nula de 0.525 V en sentido anódico.

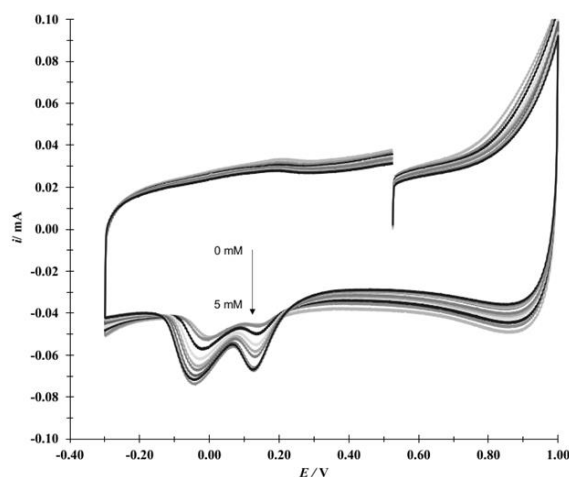
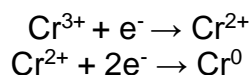


Figura 3. Familia de VC de Cr(III) sobre un EPC- β -CD vs Ag/AgCl, KCl sat a diferentes concentraciones de Cr(III) mostradas en la figura.

En la figura 3 se presenta la familia de VC para una disolución de Cr (III) en el intervalo de concentraciones de 0 a 5 mM, donde se puede apreciar la presencia de dos picos catódicos en 0.128 y -0.042 V. Estas señales se pueden atribuir a la reducción de Cr(III) a Cr(II) y de Cr(II) a Cr(0), respectivamente:



La detección de metales pesados mediante la modificación del EPC con β -CD se da mediante la interacción del ión metálico con la β -CD a través de enlaces de coordinación y fuerzas de Van der Waals, lo que sugiere la interacción entre el Cr (III) y la β -CD [2,3]. En la figura 4 se muestra la gráfica $|i_{pc}| = f([Cr(III)])$ obtenida siguiendo la corriente en el $E_{pc} = 0.128$ V.

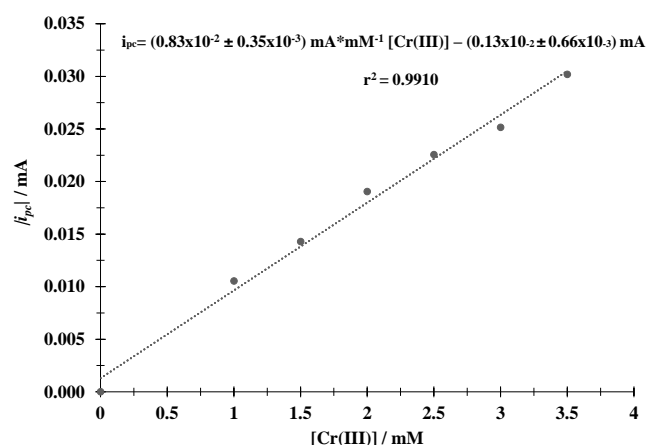


Figura 4. Gráfico $|i_{pc}| = f([Cr(III)])$ siguiendo el $E_{pc} = 0.128$ V en disolución amortiguadora a pH=5.

En la figura 4 se presenta una curva con tendencia lineal la cual presenta la ecuación $i_{pc} = (0.83 \times 10^{-2} \pm 0.35 \times 10^{-3}) \text{ mA} \cdot \text{mM}^{-1} [Cr(III)] - (0.13 \times 10^{-2} \pm 0.66 \times 10^{-3}) \text{ mA}$ y un coeficiente de correlación $r^2 = 0.9910$. Utilizando el método de mínimos cuadrados [6], a partir de la ecuación obtenida a partir de la figura 4, se obtuvieron los parámetros de cuantificación analítica: límite de cuantificación (LC) $(1.25 \pm 0.14) \text{ mM}$, límite de detección (LD) $(0.38 \pm 0.15) \text{ mM}$ y sensibilidad $(0.83 \times 10^{-2} \pm 0.35 \times 10^{-3}) \text{ mA} \cdot \text{mM}^{-1}$.

Conclusiones

Los resultados presentados revelan la capacidad del EPC- β -CD para cuantificar Cr(III) en disolución acuosa, haciendo uso de voltamperometría de redisolución anódica se garantizan resultados consistentes. Además, esta técnica ofrece una serie de ventajas, especialmente en términos de incremento en la sensibilidad de las mediciones. Se plantea la hipótesis donde el Cr(III) podría establecer interacciones con la β -CD, ya sea a través de la formación de complejos de inclusión en su cavidad hidrofóbica o mediante interacciones en sus grupos hidroxilo externos.

Agradecimientos

BIGE agradece el apoyo otorgado por la beca otorgada por CONAHCYT para los estudios de posgrado. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159. También, SCA, MPP, DSGH y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático concedido.

Referencias

- [1] R. Verma, P. Dwivedi. Heavy Metal Water Pollution-A Case Study. **5**, [5], 98-99 (2013).
- [2] G. Roa-Morales, M.T. Ramírez-Silva, R. L. González, L. Galicia, M. Romero-Romo. Electrochemical Characterization and Determination of Mercury Using Carbon Paste Electrodes Modified with Cyclodextrins. **17**, [8], 694-700, (2005).
- [3] G. Roa-Morales, M.T. Ramírez-Silva, L. Galicia. Carbon Paste Electrodes Electrochemically Modified with Cyclodextrins. **7**, 355–360 (2003).
- [4] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández. Carbon Paste Electrodes with Electrolytic Binder: Influence of the Preparation Method. **7**, [2], 184-188 (1995).
- [5] S. Wyantuti, R. A. Hafidza, S. Ishmayana, Y. W. Hartati. Anodic Stripping Voltammetry with Pencil Graphite Electrode for Determination of Chromium (III). **812**, 1 012006 (2017).
- [6] J. N. Miller, J. C. Miller. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Madrid (2002).

FRACCIONES DE LOS HIDROCARBUROS EN DERRAMES AÑEJOS EN SUELOS: CONSIDERACIONES EN LAS LINEAS BASES AMBIENTALES

Leydi L. Vázquez-Vázquez^a, Carlos M. Morales-Bautista^{a,*}, Iliana M. De la Garza-Rodríguez^b, Mónica M. Yzquierdo-Ruiz^a, Sonia A. Torres-Sánchez^c

^aUniversidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez km 0.5, Tabasco, México, C.P. 86690. leydivazquez4@gmail.com, maribelmonica@outlook.com, carlos.morales@ujat.mx*

^bUniversidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza s/n. Col. República Oriente C.P.25280 Saltillo, Coahuila, México. Iligarza4@hotmail.com

^cUniversidad Autónoma de San Luis Potosí. Álvaro Obregón 64, Centro. CP 78000. San Luis Potosí, SLP. sonia.torres@uaslp.mx

Introducción

El sector energético mexicano es uno de los pilares de la economía nacional; no obstante, han causado degradación del medio ambiente. Es por esto que la evaluación de los hidrocarburos es uno de los análisis más frecuentes en el estudio de sitios contaminados. En este tema, la Agencia de Seguridad Energía y Ambiente (ASEA) ha implementado guías para realizar evaluaciones de impacto ambiental, pero la mayoría de los laboratorios y gestores siguen empleando los métodos especificados en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 [1,2].

Por ejemplo, se ha encontrado una relación entre las diversas fracciones de los hidrocarburos y los efectos negativos en las propiedades de los suelos en los que se consideraron las fracciones SARA (Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos) y se encontró que las altas concentración de fracciones polares causan repelencia en el suelo, pero no encontraron toxicidad en los lixiviados [3,4]. En contraste, otros estudios observaron que las fracciones aromáticas permiten alta mojabilidad en el suelo, pero presentaron toxicidad en bacterias [5]. Lo anterior resulta trascendente, ya que actualmente el estado de Tabasco es una de las regiones con mayor potencial de desarrollo agropecuario y energético; pero también es una de las zonas con mayores derrames de hidrocarburos [6,7].

Además, en este estado se desarrollan dos de los proyectos gubernamentales de mayor importancia de la actual administración son la refinería de dos bocas y el programa sembrando vida. Por un lado, la ASEA ha establecido la ejecución de Líneas Bases Ambientales (LBA), pero sigue refiriendo la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 como base de determinación de hidrocarburos y, por otro, para que los programas de reforestación y agropecuarios puedan tener éxito, es necesario evaluar la calidad de los suelos y los factores de riesgos ambientales y de salud pública, especialmente aquellos ubicados en sitios con derrames añejos en que se desconoce la fracción de hidrocarburo presente.

Por estas razones, se planteó que, aunque los suelos estén contaminados con el mismo petróleo crudo y sometidos a las mismas condiciones ambientales, las propiedades físicas y químicas participan en la disposición del contaminante, por lo que la conversión y degradación que tengan, será diferente en cada tipo de suelo. En este sentido, en el presente trabajo se muestra la variabilidad de las fracciones de hidrocarburos simulando

un derrame de petróleo crudo en tres tipos suelos del estado de Tabasco, lo anterior como parte del proyecto integral de evaluaciones de sitios contaminados con hidrocarburos para establecer herramientas que sirvan en la implementación de las LBA o de proyectos destinados al sector primario en la región.

Parte Experimental

Se eligieron tres sitios aledaños a instalaciones petroleras en esta de Tabasco: Huimanguillo (UTM 15Q 434562.14 m E, 1980939.56 m N), Cunduacán (UTM 15Q 492406.30 m E, 1996302.80 m N) y Cárdenas (UTM 15Q 430562.92 m E, 1992190.20 m N). En cada sitio, se tomaron estratos geológicos puntuales desde el primer horizonte hasta el manto freático, se retiraron raíces y rocas, se homogenizaron los horizontes y se construyó una muestra compuesta [6]. En el laboratorio, las muestras fueron secadas a 60°C, posteriormente molidas, tamizadas y analizadas según los métodos de la NOM-021-SEMARNAT-2000, para determinar el tipo de suelo [8].

La muestra de petróleo crudo fue tomada por gravedad en pozos aledaños a la costa de Tabasco (UTM 15Q 476606.53 m E, 2038516.07 m N). En el laboratorio se determinó °API por método indirecto [9] y fracciones SARA con extracción selectiva de mezcla de solventes [3,4]. Luego, se contaminaron 2 kg de cada suelo (40 000 mg de hg/Kg de suelo) y se dispusieron en charolas de aluminio. Estas se sometieron a la intemperie durante 1 año (UTM 15Q 482237.79 m E, 1998550.78 m N) (2016, 2000 mm de lluvia y temperatura de 32 °C, ambas en promedio anual). Pasado este tiempo, se muestreo suelo contaminado y se determinaron hidrocarburos totales del petróleo (HTP) por el método de extracción continua citado en la NOM-138-SEMARNAT-SSA1-2012 pero empleando diclorometano como solvente de extracción (SEMARNAT, 2013), así como fracciones SARA [3,4,9].

Todos los análisis se realizaron por triplicado, los resultados cuantitativos, fueron evaluados mediante un contraste de medias ANOVA-Tukey en programa R- Project con el fin de encontrar las diferencias significativas entre las muestras.

Resultados y Discusión

Al comparar los valores encontrados en las propiedades de los suelos testigos (Tabla 1) con los expresados en la literatura [6], se encontró que el suelo de Cárdenas posee propiedades de un fluvisol (textura limo-arcillo-arenoso, CIC baja y pH ácido), Cunduacán la de un vertisol (color pardo oscuro, más del 50 % de R, pH cercano al neutro, CIC y porosidad alta, ambas propiedades relacionadas con las arcillas expandibles) y el de Huimanguillo a las de un Cambisol (en campo se observó un horizonte amarillo con fragmentos de cuarzo, pH ácido y textura areno-arcillosa, así como CIC baja y porosidad media, otro indicador de este suelo es la DR alta, característicos de los suelos compactados en terrazas.

Es importante mencionar que todos los suelos están libres de salinidad, pero los valores encontrados en el suelo de Cárdenas son altos, lo cual no es común ya que la zona esté

lejos de la costa; no obstante, estos valores pueden estar relacionados con la irrigación de plantíos de caña observados en el sitio [10]. Además, los valores de HTP muestran que los suelos no están contaminados.

Tabla 1. Propiedades de suelos testigos (CE: Conductividad Eléctrica, DA: Densidad Aparente, DR: Densidad Real, %Po: Porosidad, %R: Arcilla, %L: Limo, %A: Arenas, CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico, %CC: Capacidad de Campo).

Suelo	pH	CE (dS/m)	DA (g/cm ³)	DR (g/cm ³)	%Po	Textura			CIC Cmol ⁺ /kg	%CC	HTP mg/kg
						%R	%L	%A			
Cárdenas	5.48 ± 0.16	2.08 ± 0.01	0.98 ± 0.001	2.29 ± 0.12	57	29	48	23	2.5 ± 0.87	46.52 ± 0.47	0
Cunduacán	7.40 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.01 ± 0.002	3 ± 0.11	66	64	21	15	31.25 ± 0.11	17.4 ± 0.11	0
Huimanguillo	5.67 ± 0.01	1.12 ± 0.01	1.09 ± 0.001	2.70 ± 0.14	59	36	4	60	5 ± 0.13	66.03 ± 0.12	0

Por otro lado, los valores encontrados en los resultados de los HTP y fracciones SARA antes y después de contaminar (Tabla 2), muestran que existen diferencias significativas ($p < 0.05$ y $\bar{X}_1 - \bar{X}_2 > HSD$) entre las muestras contaminadas en fresco y las intemperizadas ($p < 0.05$ y $\bar{X}_1 - \bar{X}_2 > HSD$). Lo anterior, demuestra la hipótesis planteado, que estableció que la degradación de los hidrocarburos es diferente en cada tipo de suelo y coinciden con algunos trabajos [11,12] que mencionan las posibles variabilidades asociadas a la disposición del contaminante (relacionado con textura). Además, otros trabajos discuten si el tipo de arcilla podría participar en la disposición del hidrocarburo, lo cual podría evaluarse con una cinética de degradación de cada fracción [13]. Además, se ha reportado que algunas propiedades como la viscosidad, acidez y las fracciones SARA, participa en la fluidez y degradación del petróleo crudos, por lo que es necesario evaluar los impactos según los °API [9].

Tabla 2. Propiedades del petróleo crudo, HTP en suelos y fracciones SARA en suelos antes y después de contaminar.

Muestra	HTP inicial	HTP final	Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfaltenos
	mg/kg		%			
Petróleo Crudo (15 ° API)	N/A		40 ± 0.21	22 ± 0.11	19 ± 0.19	17 ± 0.31
Cárdenas	40 000 ± 10	39 011 ± 13	3 ± 0.01	3 ± 0.01	7 ± 0.02	87 ± 0.01
Cunduacán	40 000 ± 19	39 450 ± 10	25 ± 0.09	17 ± 0.01	2 ± 0.01	56 ± 0.13
Huimanguillo	40 000 ± 13	39 885 ± 11	2 ± 0.02	4 ± 0.01	6 ± 0.02	88 ± 0.01

En este sentido, se ha reportado que a mayor contenido de arcillas expandibles puede participar en la retención de hidrocarburos [14,15], lo cual puede explicar porque el contenido de HTP es mayor en el suelo de Cunduacán (%R = 64) con respecto al de Cárdenas (%R = 29). No obstante, al comparar los valores de HTP entre de los tres suelos, se observó que Huimanguillo (%R = 36) es quien presenta mayores contenidos. Aunque la el contenido de %R de las muestras de Huimanguillo y Cárdenas son similares, las arenas (%A) también podrían participan en los mecanismos ya que el primero contiene más que el segundo lo cual coincide la literatura [16] que reporta que posiblemente propiedades como la acidez y las arcillas de orden 1:1 presente en los suelos de terrazas (Huimanguillo), podrían retener el hidrocarburo por saturación de la fase porosa.

Además, aunque existen pocos estudios que estimen los índices de degradación, según lo observado en las variabilidades de las propiedades de los suelos y los cambios en las fracciones SARA después de intemperizar, se plantea que el suelo que dos de los suelos que retienen los hidrocarburos son los de Huimanguillo y Cunduacán (pero la conversión de estos es diferente) ya que el primero contiene mayor cantidad de asfaltenos (similar al de Cárdenas), en comparación con el segundo, considerada como la fracción residual. Algunos autores [17] estiman que esta fracción puede provenir de la degradación del resto de las fracciones, lo cual coincide con la suma de saturados+aromáticos+resinas en los suelos de Cárdenas como en Huimanguillo que, al comparar con las petróleo crudo, se observa una reducción considerable, en contraste, aunque el suelo de Cunduacán posee aumentos en asfaltenos, las disminuciones de las fracciones Saturados y Aromáticos es baja.

Estos resultados resultan importantes, por un lado, los suelos aluviales representan un alto porcentaje en el estado de Tabasco y, por otro lado, el comportamiento de los vertisoles y gleysoles pueden variar según la época del año, ya que suelen saturarse en temporadas de lluvias (poca o nula aeración) y quebrarse en los meses de estiaje, por lo que las reacciones asociadas a cada fenómeno, son diferentes [3,18]. Además, el alto contenido de fracciones asfálticas conlleva la repelencia al agua aromáticas y sus efectos en la baja producción de hortalizas, pero las fracciones aromáticas. invitan a evaluar los sitios aluviales con suelos arcillosos para estimar el tipo de plantío que ahí se desarrollan, ya que algunos estudios demostraron que algunas variedades de maíz y frijol podrían almacenar estas fracciones [19,20].

Conclusiones

Se demostró que la degradación de los suelos contaminados con petróleo crudo pesado puede variar según el tipo de suelo, por lo que es importante agregar a las evaluaciones de impacto ambiental las propiedades edafológicas. Además, propiedades como la acidez y textura del suelo podrían participar en la degradación de las fracciones de hidrocarburos, en donde los suelos con alto contenido en arcilla retienen los hidrocarburos, pero de ellos, los aluviales tienden a degradarlos más lento, por lo que

existe la necesidad de evaluar la biomagnificación de estas fracciones, especialmente, si estos sitios están destinados a actividades del sector primario.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidad, Ciencia y Tecnologías por la beca de manutención durante los estudios de posgrado.

Referencias

- [1] D.E. Ramos-Muñoz, J.A. Zepeda-Domínguez y A. Espinoza-Tenorio. La reforma Energética Mexicana en el Marco de la Pesca y el Petróleo en el Golfo de México. *Revista Costas*. **2**(1), 67-80 (2020).
- [2] Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación, México, 10 de septiembre (2013).
- [3] D. C. Marín-García, R.H. Adams and, R. Hernández-Barajas. Effect of crude petroleum on water repellency in a clayey alluvial soil. *International journal of environmental science and Technology*. **13**(1), 55-64 (2016).
- [4] I. J. Díaz-Ramírez, E. Escalante-Espinosa, E. Favela-Torres, M. Gutiérrez-Rojas and, H. Ramírez-Saad. Design of bacterial defined mixed cultures for biodegradation of specific crude oil fractions, using population dynamics analysis by DGGE. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **62**(1), 21-30 (2008).
- [5] M.E. Ojeda-Morales y I.E. Juárez-Palacios. Biorremediación mejorada con preoxidación química de suelos arcillosos contaminados con petróleo. *Journal of Basic Sciences*. **5**(15), 82-93 (2019).
- [6] D.J. Palma-López, R. Jiménez-Ramírez, J. Zavala-Cruz, F. Bautista-Zúñiga, F. Gavi-Reyes y D.Y. Palma-Cancino. Actualización de la clasificación de suelos de Tabasco, México. *Agro Productividad*. **10**(12), 29-35 (2017).
- [7] V.I. Domínguez-Rodríguez, R.H. Adams, M. Vargas-Almeida, J. Zavala-Cruz and, E. Romero-Frasca. Fertility deterioration in a remediated petroleum-contaminated soil. *International journal of environmental research and public health*. **17**(2), 382-388 (2020).
- [8] Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación desuelos. Estudios, muestreos y análisis. DF México (2002).
- [9] C.M. Morales-Bautista, R.H. Adams, F.J. Guzmán-Osorio and, D. Marín-García. Dilution-extrapolation hydrometer method for easy determination of API gravity of heavily weathered hydrocarbons in petroleum contaminated soil. *Energy and Environment Research*. **3**(1), 115-120 (2013).
- [9] C.G. Martínez-Chávez, C.M. Morales-Bautista, y M. Alor-Chávez. Extracción de hidrocarburo pesado en suelo arenoso. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. **8**(1), 9-16 (2017).

- [10] L. Hernández-Acosta, F.J. Qué-Ramos, A.B. Piña-Guzmán y J.R. Laines Canepa. Uso de plaguicidas en zonas cañeras del municipio de Cárdenas Tabasco, México: posible impacto ambiental ya la salud. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica.* **6**(2), 1-11 (2013).
- [11] R.G. Luthy, G.R. Aiken, M.L. Brusseau, S.D. Cunningham, P.M. Gschwend, J.J. Pignatello and, J.C. Westall. Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents. *Environmental Science & Technology.* **31**(12), 3341-3347 (1997).
- [12] C.P. Higgins and R.G. Luthy. Sorption of perfluorinated surfactants on sediments. *Environmental science & Technology.* **40**(23), 7251-7256 (2006).
- [13] J. Méndez-Moreno, I.M. Garza-Rodríguez, S.A. Torres-Sánchez, N. Jiménez-Pérez, I. Sánchez-Lombardo, S. López-Martínez and, C.M. Morales-Bautista. Changes in restored soils subject to weathering and their implication in Mexican environmental regulations. *Terra Latinoamericana.* **39**, 1-21 (2021).
- [14] M. Gutiérrez y J. Zavala. Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana.* **20**(2), 101-111 (2002).
- [15] A.T. Narcia, M.C. Rivera-Cruz, L.C. Lagunes-Espinoza, D.J. Palma-López, S. Soto-Sánchez y G. Ramírez-Valverde. Efecto de la restauración de un fluvisol contaminado con petróleo crudo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* **28**(4), 361-374 (2012).
- [16] G. Álvarez-Coronel, V.I. Domínguez-Rodríguez, R.H. Adams, D.J. López and J. Zavala-Cruz. The Role of Soil Clays in Mitigating or Exacerbating Impacts to Fertility in Crude Oil-contaminated Sites. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science.* **43**(2), 32-44 (2020).
- [17] R.H. Adams, F.J. Guzmán-Osorio and 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).
- [18] A.Y. Gómez-Mellado, C.M. Morales-Bautista, I.M. Garza-Rodríguez, S.A. Torres-Sánchez and, I. Sánchez-Lombardo. Evaluation of two remediation techniques applied to a site impacted by petroleum production waters. *Terra Latinoamericana.* **38**(1), 77-89 (2020).
- [19] B. Pérez-Armendáriz, D. Castañeda-Antonio, G. Castellanos, T. Jiménez-Salgado, A. Tapia-Hernández y D. Martínez-Carrera. Efecto del antraceno en la estimulación del crecimiento en maíz y frijol. *Terra Latinoamericana.* **29**(1), 95-102 (2011).
- [20] J. Cavazos-Arroyo, B. Pérez-Armendáriz y A. Mauricio-Gutiérrez. Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo.* **11**(4), 539-550 (2014).

SEPARACIÓN DE FTALATOS Y BISFENOLES POR HPLC PARA SU POSIBLE CUANTIFICACIÓN EN MUESTRAS DE AGUA PURIFICADA

Katya Guerrero-Vazquez^a, Judith Cardoso-Martínez^b, Dafne Guzmán-Hernández^c,
María Teresa Ramírez-Silva^a, Alberto Rojas-Hernández^a, Jorge Juárez-Gómez^{a,*}

^a Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias básicas e ingeniería, Departamento de Química, Área de Química Analítica. e-mail: el_inge85@hotmail.com

^b Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias básicas e ingeniería, Departamento de Física, Laboratorio de calidad del agua.

^c CONACHYT-UAM, Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias básicas e ingeniería, Departamento de Química, Área de Química Analítica

Introducción

En la actualidad, todos los alimentos que consumimos son envasados en recipientes de plástico o metal con recubrimientos plásticos. En el mercado podemos identificar distintos materiales plásticos, por ejemplo: polietileno (PE) y sus variantes (PET, PEAD y PEBD), poliestireno (PS), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), entre muchos otros, aunque los anteriormente nombrados son los más utilizados en la industria alimenticia. Estos polímeros son moléculas lineales con excelentes propiedades mecánicas y gran estabilidad química frente a ácidos, bases o disolventes. Son materiales transparentes y resisten temperaturas entre los -60 y 150 °C. [1,2]

Por lo general los envases de plástico fabricados de estos materiales son más baratos respecto a los manufacturados con otros materiales. Actualmente, los recipientes de plástico han reemplazado a otros materiales permitiendo contar con envases de diferente tamaño y forma que podemos llevar del refrigerador, al horno de microondas y hasta la mesa. Con el deseo de facilitar aún más en envasado y conservación de los alimentos, se han podido desarrollar nuevos materiales complejos que combinan metal, papel y plástico. Por lo tanto, los envases de plástico son materiales que están en contacto directo con los alimentos que todos consumimos. Todo material en contacto con alimentos debería estar fabricado con materiales autorizados para este fin, no ocasionar modificación en la composición o características de los alimentos y no liberar constituyentes que supongan un riesgo a la salud.[1-3]

Se ha reportado que los materiales plásticos presentan permeabilidad al paso de gases y aroma, y la migración de algunos de sus componentes hacia el contenido (restos de monómeros y aditivos). El problema se origina en la interacción envase-alimento. En estos envases, hay una actividad fisicoquímica continua en las interfases del material, tanto con el alimento como con el medio ambiente. En consecuencia el alimento queda expuesto a cambios químicos que pueden modificar sus características o incorporar al mismo tiempo residuos tóxicos. Algunos componentes no volátiles de los alimentos poseen afinidad por los polímeros y son absorbidos, por ejemplo, las grasas y los colorantes.

La migración consiste en la transferencia de masa entre el material del envase, el alimento y el entorno. Aunque los polímeros utilizados en la fabricación de envases

suelen ser muy inertes y difícilmente ocurre su migración hacia el alimento, existen estudios sobre componentes minoritarios de los plásticos que pueden incorporarse fácilmente al producto envasado. Estos componentes minoritarios pueden ser: monómeros residuales no polimerizados o polímeros de bajo peso molecular; aditivos adicionados intencionalmente al polímero para mejorar sus propiedades físicas (plastificantes, estabilizantes, antioxidantes o retardantes); sustancias de bajo peso molecular como adhesivos, barnices y tintas de impresión. [1-3]

El bisfenol A (A) es un aditivo de los envases de plástico fabricados de policarbonato y de las resinas epoxi y se encuentra principalmente como componente de materiales poliméricos resistentes a altas temperaturas. Sus oligómeros más frecuentes son: bisfenol A de glicil éter (BADGE), metacrilato de bisfenol A diglicil éter (Bis-GMA), dimetacrilato de bisfenol A (Bis.DMA), y algunos etoxilatos y propoxilatos de bisfenol A. Se ha demostrado la presencia de A en alimentos, productos manufacturados y productos farmacéuticos. Se han encontrado niveles de A de entre los 29.9 y 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en muestras de alimentos en conserva. También se ha demostrado la presencia de 1 mg/kg de BADGE en muestras de pescado enlatado. La exposición a este compuesto ha sido relacionada con numerosas enfermedades, entre ellas el cáncer, problemas en el embarazo, hidrocefalia, entre otras.[4-6]

Por otro lado, los plastificantes son sustancias que se agregan durante la fabricación de plásticos para brindarles flexibilidad. Alrededor del 93% de los plastificantes utilizados en la industria del plástico son ftalatos. Los principales ftalatos usados como plastificantes son DEHP (dietilhexil ftalato), DINP (di-iso-nonil ftalato), DBP (dibutil ftalato), DIDP (di-iso-decil ftalato), BBP (butilbencil ftalato) y DOP (dioctil ftalato). Se han encontrado plastificantes de este tipo en alimentos hasta en concentraciones de 750 ppb. En estudios recientes, se analizaron botellas plásticas con agua mineral sometiendo a diferentes condiciones de almacenamiento como: diferentes temperaturas, iluminación e intervalos de tiempo. Encontrando DBP en concentraciones de 0.517 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Además se observó que después de cinco meses de almacenamiento esta concentración se incrementó en un 20%, concentración muy por encima del 3% permitido para el contenido de ftalatos en empaques alimenticios.[4-6]

Diversos grupos de investigación acusan que los ftalatos pueden producir efectos adversos sobre la salud humana. Los resultados han demostrado que poseen una alta toxicidad, producen irritabilidad en la piel, presentan efectos sobre el sistema reproductivo y el desarrollo humano y pueden causar cáncer de mama y de próstata.[7]

Hasta ahora, hemos revisado los principales materiales utilizados en la fabricación de envases plásticos y sus aditivos. Además, se ha expuesto evidencia de la migración de estos aditivos hacia los alimentos contenidos en ellos y de su peligro para la salud humana. Por todo esto, en este trabajo de investigación se propone el desarrollo de una nueva metodología para cuantificación de aditivos presentes en agua embotellada de una muestra representativa de las purificadoras que dan servicio en la delegación Iztapalapa

y de las aguas purificadas y minerales de las principales marcas comercializadas en México.

Parte Experimental

Materiales y químicos

Se utilizaron estándares de Bisfenol A (A), Bisfenol E (E), Dietil ftalato (DEP), Bencil butil ftalato (BBP), Dibutil ftalato (DBP), Bis(2-etilhexil)ftalato (BEP) con pureza superior a 99% de Aldrich. Metanol y Acetonitrilo grado HPLC de Aldrich. Se utilizó agua desionizada ultrapura ($18.2 \text{ M}\wedge \text{cm}^{-1}$).

Instrumentación

Se utilizó un equipo de HPLC marca Agilent 1260 Infinity II y un detector de arreglo de diodos con una columna Zorbax Eclipse XDB-C8 con una fase estacionaria tipo C8. La polaridad de la fase estacionaria C8 es intermedia, lo que es adecuada para la separación de los ftalatos que se analizarán en el presente trabajo.

Preparación de muestras

Se prepararon soluciones estándar de A, B, DEP, BBP, DBP, BEP en metanol a una concentración de 50 ppm. También se preparó una muestra "mezcla" con todos los estándares en una concentración de 50 ppm.

Resultados y Discusión

Caracterización de los estándares.

Al equipo de HPLC se inyectó la mezcla de estándares y se usó el gradiente que se describe en la tabla 1. Las fases móviles utilizadas fueron agua (fase A), acetonitrilo (fase B) a un flujo de 1 mL/min, temperatura ambiente, volumen de inyección de 20 μL y se midió la absorbancia a 230 nm. Posteriormente se inyectaron al equipo los estándares por separado para su identificación.

Tabla 1. Gradiente utilizado en el HPLC

Tiempo [min]	Fase A [%]	Fase B [%]
0	90	10
3	50	50
20	0	100
25	0	100

En la figura 1 se muestra el cromatograma a 230 nm para la mezcla: el primer compuesto que eluye de la columna es el bisfenol E a 6.1 minutos, seguido del bisfenol A a los 6.62 minutos, el DEP, BBP, DBP y BEP eluyen a 8.14, 12.89, 13.4 y 21.7 minutos, respectivamente. Se demuestra que los seis estándares se lograron separar con una buena resolución utilizando la fase estacionaria y el gradiente de fases móviles antes

descritas. Se logró la separación a los 25 minutos de la inyección que implica un tiempo razonablemente corto para un análisis de esta naturaleza.

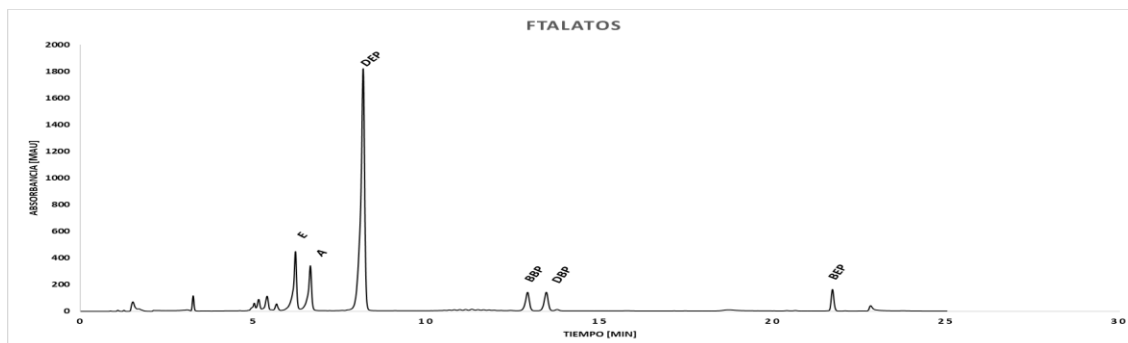


Figura 1. Cromatograma de la mezcla identificando los picos de cada Ftalato o bisfenol.

En la figura 2 se muestran las curvas de calibración de todos los estándares y en la tabla 2 sus parámetros analíticos. Todos los estándares presentan una tendencia lineal bastante aceptable ($R^2 > 0.99$).

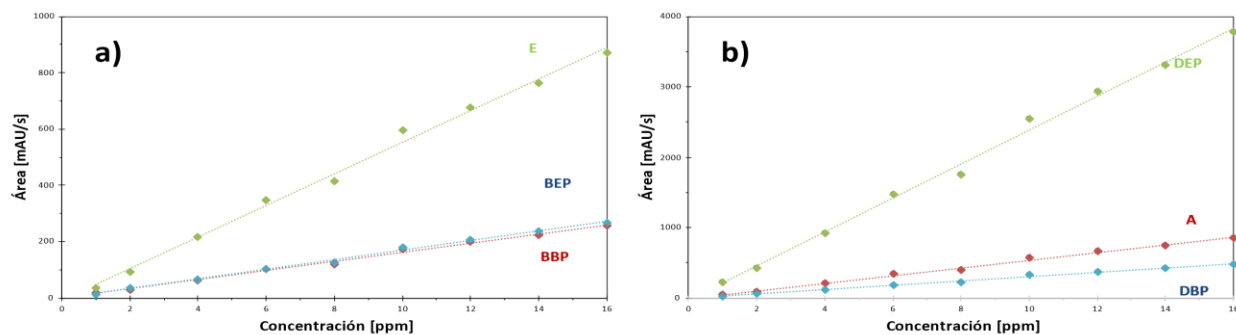


Figura 2. Curva de calibración para DEP, Bisfenol E, DBP, BE.

Tabla 2. Parámetros analíticos de cada curva de calibración.

Analito	LOD / ppm	LOQ / ppm	Sensibilidad/ mAU / ppm	R^2
A	1.24	4.14	56.0 ± 1.5	0.9947
E	1.16	3.87	54.4 ± 1.4	0.9954
DEP	1.16	6.87	240.7 ± 6.2	0.9954
BBP	1.13	3.77	16.24 ± 0.41	0.9956
DBP	1.19	3.96	30.89 ± 0.81	0.9952
BEP	1.13	3.76	17.01 ± 0.42	0.9956

Conclusiones

El estudio en el HPLC fue satisfactorio. Se lograron establecer el gradiente y secuencia óptimos para la identificación de picos de cada ftalato o bisfenol en la mezcla a 50ppm, además de que se realizó con satisfacción la curva de calibración en un intervalo de concentraciones de 1 a 16ppm para cada uno de los ftalatos o bisfenoles que se analizaron.

Con la información anterior se podrán cuantificar los ftalatos o bisfenoles en una muestra de agua purificada previamente tratada y así poder plantear una propuesta de uso óptima para evitar la migración de estos ftalatos o bisfenoles en el agua que consumimos día a día.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la División de CBI de la UAMI por el apoyo económico recibido. KGV agradece al CONACHYT por la beca de maestría. Los autores agradecen al Laboratorio de Calidad del Agua de la UAMI por el apoyo recibido. JYG, DSGH, ARH, MTRS y JCM agradecen al SNI por el estímulo recibido.

Referencias

- [1] Afshari A.; Gunnarsen L.; Clausen P. A.; Hansen V. "Emission of phthalates from PVC and other materials". *Indoor Air*. 14 (2). 120-8. (2004).
- [2] Arenholt-Bindslev D.; Breinholt V.; Preiss A; Schalmal. "Time-related bisphenol A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants". *Clin Oral Investig*. 3(3): 120-5. (1999).
- [3] Ashari A.; Gunnarsen L.; Clausen P. A.; Hansen V. "Emission of phthalates from PVC and other materials". *Indoor Air*. 14 (2). 120-8. 2004.
- [4] Asociación de fabricantes químicos (CMA)-Panel de Esteres de Ftalatos, pags en internet.
- [5] Aurela B.; Kulmala H.; Soderhjelm L."Phthalates in paper board packaging and migration into Tenax and sugar". *Food Addit Contam*. 16(12): 571-7. (1999).
- [6] M.Vazquez, R. Gutiérrez, J.J.Perez. Presencia de ftalatos en agua embotellada comercializada en la ciudad de México y su migración durante el almacenamiento a diferentes temperaturas 2017, 91-103 (2017).
- [7] R. Silva Costa, T.S.Maia Fernandes, E.Sousa Almeida. Potential risk of BPA and phthalates in commercial water bottles: a minireview 2021, 411-435 (2021).
- [8] N.Jalilian, H.Ebrahimzadeh, A.A. Asgharinezhad. Preparation of magnetite/multiwalled carbon nanotubes/metal-organic framework composite for dispersive magnetic micro solid phase extraction of parabens and phthalate esters from water samples and various types of cream for their determination with liquid chromatography 2019, 1-13 (2019).

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DITIOCARBAMATOS (DTC) POR FIA

Humberto Gómez Ruiz, Lucía Hernández Garciadiego*, Emmanuel Sánchez Medina

Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Av. Universidad 3000, alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, CDMX Tel: +52 (55) 56 22 37 86, e-mail: lhdez@unam.mx.

Introducción

Los ditiocarbamatos (DTC) son importantes fungicidas y son uno de los grupos de plaguicidas más ampliamente utilizados en agricultura, debido a su eficiencia en el control de hongos y bacterias patógenas, su bajo costo de producción y su relativamente baja toxicidad aguda en mamíferos. [1-3] Debido a su insolubilidad en disolventes orgánicos, los métodos de extracción multi-residuo utilizados para otros grupos de plaguicidas no son adecuados para el análisis de DTC [4], por lo que los métodos desarrollados para el análisis de residuos de DTC se basan en su hidrólisis ácida en presencia de cloruro de estaño (II) y el subsecuente análisis del CS₂ obtenido. Es por esto que, para establecer los límites máximos de residuos, el codex alimentario establece que los ditiocarbamatos totales se determinan como CS₂ obtenidos durante la digestión ácida y se expresan como mg CS₂/Kg. [5]

En este trabajo se presenta la determinación de DTC, realizando el procedimiento de hidrólisis DTC/extracción de CS₂ fuera de línea para posteriormente determinar este CS₂ por FIA, utilizando la reacción de formación del complejo de cobre.

En las figuras 1 y 2 se muestran como ejemplo las reacciones para la determinación de tiram:

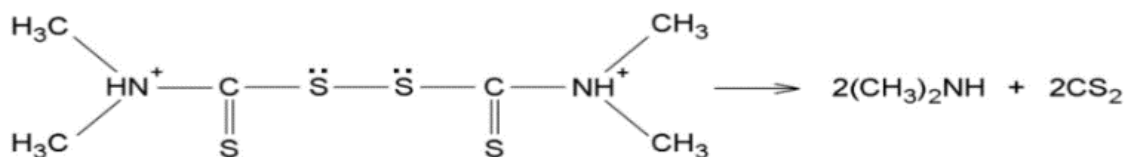


Figura 1. Reacción de hidrólisis del tiram

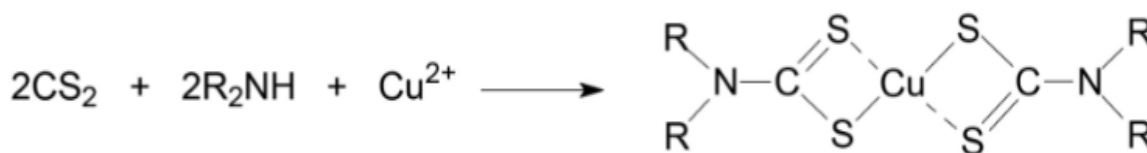


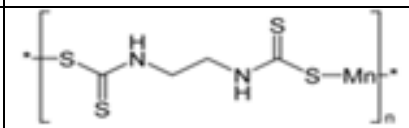
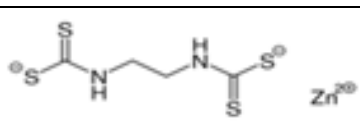
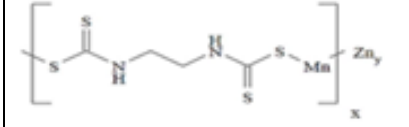
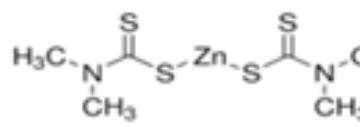
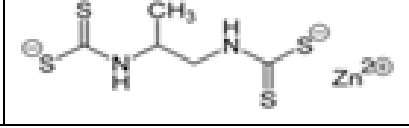
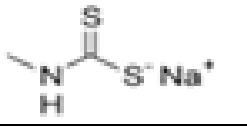
Figura 2. Reacción entre el CS₂ y el reactivo acomplejante (dietanolamina y cobre) R=etanol

Parte Experimental

Reactivos y disolventes

Todos los reactivos utilizados en el método fueron grado reactivo CS₂ (99,9 %, d=1,26 g/mL; Merck), etanol absoluto (J.T.Baker), hexano (95% de n-hexano, J.T.Baker) SnCl₂ (Meyer), HCl conc. (36%, d=1,14 g/mL; J.T.Baker), acetato de cobre (II) monohidratado (Meyer), dietanolamina (DEA) (99.5%, d=1,09g/mL; Reter). Los ditiocarbamatos utilizados en este estudio fueron Zineb (Chem Service), Ziram (95%) (Chem Service), Propineb (Chem Service), Metam sodium hydrate (97.5%) (Chem Service), Maneb (94.5%) (Riedel-de Haën) y Mancozeb (81.92%) (sin marca). En la tabla 1 se muestran las estructuras de estos fungicidas

Tabla 1. Estructuras de los ditiocarbamatos utilizados

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
Maneb		Zineb	
Mancozeb		Ziram	
Propineb		Metam	

Disoluciones

Hidrólisis de DTC. La mezcla HCl/SnCl₂ se preparó disolviendo 2,0 g de SnCl₂ en 5,0 mL de agua y 20 mL de HCl conc.

Reactivo de color. Se disolvieron 12 mg acetato de cobre (II) monohidratado y 12.5 mL de dietanolamina (DEA) en 250.0 mL de etanol absoluto

Disoluciones estándar

Se preparó una disolución madre de CS₂ de una concentración 4.56 g/L. De aquí se tomaron las alícuotas necesarias para preparar 25 mL de las disoluciones estándar, en un intervalo entre 10 y 40 mg/L. Para la optimización de las variables FIA y la concentración de DEA, las disoluciones de CS₂ se prepararon en etanol; una vez optimizado el método, debido a que la extracción del CS₂ resultante de la hidrólisis de DTC se realiza en hexano, los estándares se prepararon en este disolvente.

Instrumentación

Las determinaciones se realizaron en una configuración FIA utilizando una bomba peristáltica Gilson Minipuls 2, una 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.

Para el reactor, confluencias y el resto del sistema de transporte se utilizó tubería de teflón de 0.7 mm de diámetro interno.

Para el control de la temperatura de la hidrólisis de DTC se utilizó un baño termostataado marca Colora.

Configuración

La determinación de CS₂ se realizó en base a las condiciones experimentales descritas por Boher, Cicero do Nascimento y Maciel Gomes [6]. La configuración utilizada por estos autores consiste en un solo canal con el reactivo de color en el cual el CS₂ proveniente de los estándares o muestras, disuelto en hexano, se inyecta directamente. A fin de evitar picos dobleteados, la configuración se modificó como se muestra en la figura 3:

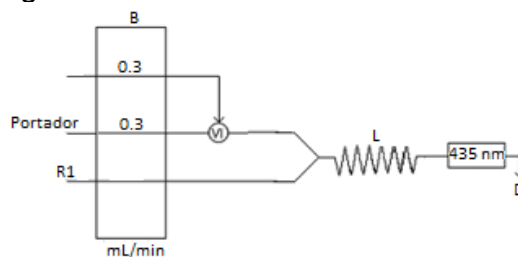


Figura 3. Configuración para la determinación de CS₂: B: bomba peristáltica; VI: válvula de inyección (100 μ L); Portador y R1: reactivo de color; L: 270 cm; D: desecho.

Se inyectaron 100 μ L de disolución de CS₂ proveniente de los estándares o muestras, disuelto en hexano sobre el portador (reactivo de color Cu/DEA). La disolución confluye con otro canal de reactivo de color. El complejo de cobre se forma en el reactor L y es detectado a 435 nm. La altura de la señal obtenida (en unidades de absorbancia) es proporcional a la concentración de CS₂.

Con inyecciones de una disolución de 20 mg/L de CS₂ se optimizaron el flujo de las disoluciones (1.0, 0.5, 0.6 y 0.3 mL/min), la longitud del reactor (120 y 270 cm) y concentración de DEA (10, 5, 1 y 0.1%)

Descomposición de muestras y extracción de CS₂

La descomposición y extracción de los DTC se realizó fuera de línea en viales de 20 mL, en los que se mezclaron aproximadamente 1.0 mg del DTC con 4.5 mL de la disolución ácida de SnCl₂ y 5.0 mL de hexano. Los viales se engargolaron, se colocaron en un baño de agua y se calentaron durante 50 min a 80-85 °C, agitando manualmente cada 10 min. Una vez transcurrido este tiempo, los viales se enfriaron, se abrieron y una alícuota de la disolución en hexano se inyectó en la configuración FIA descrita previamente

Evaluación del efecto matriz

El método propuesto será aplicado a la determinación de DTC en muestras de sedimentos provenientes de la cuenca del río Lacantún, región sur de la Reserva de la Biosfera Montes Azules (RBMA), en el estado de Chiapas. Para simular la matriz de estas muestras de sedimento, se fortificaron 0.1 g de tierra con 1 mg de DTC. La fortificación se realizó también adicionando volúmenes adecuados de suspensión o disolución de DTC.

Resultados y Discusión

Optimización de variables FIA

A fin de encontrar un compromiso entre sensibilidad y frecuencia de inyección, se optimizaron el flujo, longitud de reactor y volumen de inyección. Se obtuvieron buenos resultados con un flujo de 0.3 mL/min, una longitud de reactor de 270 cm y un volumen de inyección de 100 μ L. En las condiciones optimizadas, se realizan 15 inyecciones por hora.

Concentración de dietanolamina

El método original de Thomas E. Cullen y el modificado por George E. Keppel [7, 8] utilizan una concentración de dietanolamina 10% (m/V). Considerando la relación estequiométrica de la reacción esta concentración de DEA representa aproximadamente 1,500 veces, por lo que se prepararon disoluciones del reactivo de color con concentraciones de DEA de 10, 5, 1 y 0.1%. Se observó que la reacción de entre el reactivo de color y el CS₂ es de cinética muy lenta, por lo que a una concentración de DEA de 0.1% el desarrollo de color se lleva a cabo al término de horas, por lo que se eligió la concentración de DEA de 5%

Determinación de CS₂ por FIA

Una vez optimizada la determinación, se inyectaron las disoluciones de CS₂ preparadas en un intervalo de 10 a 40 mg/L en la configuración mostrada en la figura 3, obteniéndose un fiagrama como el que se muestra en la figura 4.

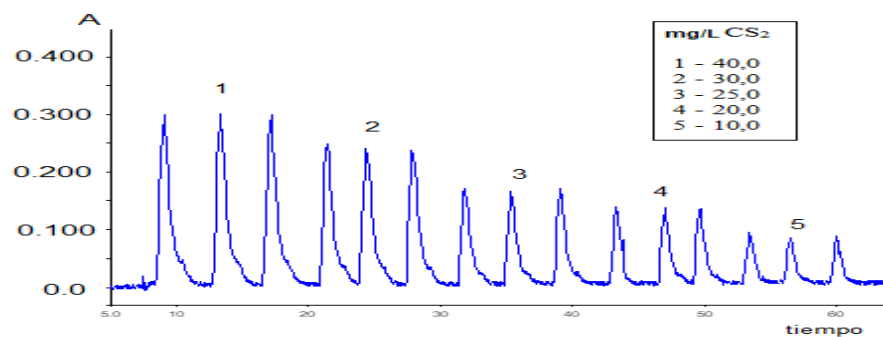


Figura 4. Fiagrama obtenido de las inyecciones por triplicado de CS₂

Determinación de DTC

Se prepararon por triplicado viales con los seis DTC y tierra fortificada, se realizó la hidrólisis, extracción y determinación por FIA como se describió anteriormente. Considerando la cantidad de DTC analizada, la relación estequiométrica DTC:CS₂ y la concentración de CS₂ obtenida, se calculó el % de hidrólisis. En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos.

En los resultados mostrados en la tabla 2 se observa que el % de hidrólisis es muy variable. Determinar el contenido de DTC y expresarlo como mg/L CS₂ conlleva entonces a errores en la toma de decisiones, ya que es práctica común combinar estos pesticidas. En el reglamento de la unión europea [9] al establecer los LMR de DTC incluyen maneb, mancozeb, metiram, propineb, tiram y ziram. Aclaran que “Los LMR expresados como CS₂ pueden proceder de distintos ditiocarbamatos y, por lo tanto, no reflejan unas buenas prácticas agrícolas concretas. En consecuencia, no procede utilizar estos LMR para verificar el cumplimiento de unas buenas prácticas agrícolas determinadas.”

El efecto matriz estudiado con el suelo fortificado muestra los resultados esperados, ya que se ve una disminución en el % de hidrólisis para los distintos DTC.

Tabla 2. Porcentajes de hidrólisis de DTC

DTC	DTC sólo	Tierra fortificada	
		DTC sólido	DTC suspensión o disolución
	%Hidrólisis	%Hidrólisis	%Hidrólisis
Mancozeb	62.8	60.7	44.4
Maneb	87.9	37.4	36.7
Metam	97.0	No se detectó	
Propineb	54.7	36.9	36.0
Zineb	70.2	44.9	57.6
Ziram	100.9	89.5	86.5

Conclusiones

Se optimizó e implementó un método para la determinación espectrofotométrica de fungicidas ditiocarbamatos por FIA. Con el método propuesto se tiene una frecuencia de muestreo de 15 por hora. El porcentaje de hidrólisis obtenido para cada uno de los DTC estudiados es diferente. En las muestras de suelo fortificado se observa una disminución del porcentaje de hidrólisis

El estudio de determinación de DTC aún no ha concluido. Actualmente se está aplicando el método a diversos cultivos.

Referencias

- [1] O. López-Fernández; R. Rial-Otero; C. González-Barreiro; J. Simal-Gándara. *Food Chem.*, **134**, 366-374 (2012)
- [2] G. Crnogorac; W. Schwack; *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **28**, 40-50 2009
- [3] A. Gonzalez; S. Garrigues; S. Armenta; M. Guardia. *Anal. Chim. Acta*, **688**, 191-196 (2011)
- [4] Sumaiyya Mujawar; Sagar C. Utture; Eddie Fonseca; Jessie Matarrita; Kaushik Banerjee. *Food Chemistry* **150** 175-181 (2014)
- [5] Codex Alimentarius. Pesticide Residues in Foods Maximum Residue Limits; Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization
- [6] D. Boher.; Nascimento, P. C.; Gomes, H. M.; *J. Agric. Food Chem.* **47**, 212-2016. (1999)
- [7] T. E. Cullen. *Analytical Chemistry*. **36**, (1) 221-224 (1964)
- [8] G. E. Keppel. *Journal of the AOAC* **54**, (3) 528-532 (1971)
- [9] Reglamento (UE) 2017/171 de la Comisión de 30 de enero 2017. Diario oficial de la Unión Europea

06

Materiales



DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE AS(III) EN AGUA POTABLE MEDIANTE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON POLÍMEROS DE IMPRESIÓN DE IONES A PARTIR DE MAA / 2-MT.

Luz Elena Rebolledo Perales^a, Carlos Andrés Galán Vidal^a, Irma Pérez Silva^a, Daniel Hernández Ramírez^b, Israel Samuel Ibarra Ortega^a, Giaan Arturo Álvarez Romero^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42000. e-mail: giaan@uaeh.edu.mx

^b Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz, Av. Universidad Tecnológica Lote Grande 1, 96360 Nanchital, Ver.

Introducción.

La contaminación por metales pesados en recursos hídricos plantea una de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel global y local, ya que más del 70% de estos recursos presentan algún grado de contaminación debido a las descargas de compañías textiles, alimenticias, mineras, químicas, petroquímicas y de bebidas en todo el país [1]. Dada su toxicidad y abundancia, el arsénico es considerado una de las 10 sustancias más tóxicas de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud. De las dos especies de arsénico más comunes, el As(III) es considerado más tóxico que la especie orgánica representada por el As(V), es por esto que la Agencia de Protección del Medio Ambiente establece una concentración de 0.01 mg/L como el máximo límite permitido de este metal en agua potable [2-4]. En las técnicas electroanalíticas es de vital importancia el electrodo de trabajo, y dado al progresivo desuso del electrodo de gota de mercurio, ha sido fundamental buscar alternativas que sean igual o más efectivas y al mismo tiempo no contaminantes. Por otro lado, los electrodos metálicos o elaborados con elementos carbonáceos no poseen la capacidad para determinar As(III) de forma sensible y selectiva, siendo necesaria su modificación incorporando elementos que mejoren sus características como nanotubos de carbono, grafeno y óxido de grafeno reducido, nanopartículas de metales y materiales de reconocimiento molecular como los polímeros impresos de iones (IIPs). Este último, ha permitido el desarrollo de metodologías electroquímicas sensibles, selectivas, de bajo costo y amigables con el medio ambiente, ya que se basa en la síntesis de polímeros permitiendo la creación de cavidades de reconocimiento selectivo en forma, tamaño e interacciones hacia la molécula plantilla con la que es sintetizado, y al incorporarlos en un electrodo de pasta de carbono se lograría la detección sensible y selectiva de As(III) en una matriz analítica compleja.

En esta investigación, los IIPs fueron incorporados en electrodos de pasta de carbono (EPC) y utilizados para lograr la determinación sensible y selectiva de As (III) en muestras de agua potable.

Parte Experimental

Síntesis de IIP

El proceso de síntesis inició con la prepolimerización utilizando al ion arsenito como molécula plantilla, metanol como disolvente, 2-metiltofeno (2-MT) como monómero funcional y ácido metacrílico (MAA) como ligante. Posteriormente, se agregó el agente entrecruzante EGDMA e iniciador que propicia el inicio de la polimerización durante 16 h en agitación constante en un baño de aceite a 60 °C. Finalmente, se eliminó la plantilla mediante una serie de lavados ácidos y agua desionizada hasta pH neutro.

Elaboración del EPC modificado con IIP

El electrodo modificado fue elaborado con una mezcla de pasta de por IIP, polvo de grafito y aceite de parafina. La pasta resultante fue empacada un tubo de plástico para formar el electrodo, colocando en un extremo un adaptador de cobre, mientras que el otro extremo fue pulido sobre una hoja de papel. El EPC-IIP se enjuagó con agua desionizada y fue pulido antes de cada medición para eliminar los iones As(III) retenidos por el IIP.

Cuantificación electroquímica de As(III)

El sistema electroquímico consiste en una celda con un EPC-IIP, un electrodo de referencia de Ag/AgCl y una barra de grafito como contraelectrodo. El EPC-IIP fue sumergido en 20 mL de buffer de fosfatos 0.1 M con iones As(III) a pH 11 y agitación a 100 rpm durante 15 min. Posteriormente, el electrodo se enjuagó con agua destilada y se colocó en una celda con 10 mL de HCl 3 M. Un prepotencial de -0.4 V fue impuesto durante 60 s y después de 20 s se llevó a cabo la voltamperometría diferencial de pulso con redisolución anódica (DPASV por sus siglas en inglés) mediante un barrido de potencial de -0.6 V a 0.6 V, observando el pico de potencial anódico alrededor de 0 V, correspondiente a la señal del As(0) a As(III).

Resultados y Discusión

Optimización del IIP

Un diseño de experimentos simplex centroide fue utilizado para optimizar la síntesis del IIP, evaluando diferentes niveles de plantilla (de 0.5 a 2.5 mmol), monómeros (1 mmol a 5 mmol de la relación entre 2-metiltofeno y ácido metacrílico) y entrecruzante (de 10 a 50 mmol) de forma que se maximice la capacidad de retención de As(III) en las cavidades del IIP. A través del programa Minitab® 17 Statistical Software, se obtuvo el análisis estadístico de la variable de respuesta, comprobando que el diseño se ajusta a un modelo cuadrático con un coeficiente de correlación de 0.7290. El IIP con mayor capacidad de retención de As(III) será el que proporcioné la mayor intensidad de la señal, por lo tanto, la combinación óptima es: 0.5 mmol de plantilla, 1 mmol de 2-metiltofeno, 5 mmol de ácido metacrílico y 50 mmol de entrecruzante, con una intensidad de corriente anódica teórica de 106.1 μ A. Finalmente, se evaluó la capacidad del IIP para reconocer selectivamente al analito, por lo que se sintetizó el IIP en condiciones óptimas así como un polímero no impreso (NIP, del inglés Non-Imprinted Polymer) en ausencia de la molécula plantilla, y los resultados se muestran en el voltamperograma de la figura 1.

Se observa que la I_{pa} alrededor de 0 V corresponde a la señal de As(III) con una intensidad de 113.5 μA , muy cercana a la predicha por el diseño de experimentos; el IIP óptimo proporcionó una mayor I_{pa} asociada al As(III) en comparación con el EPC y el EPC-NIP, demostrando la capacidad de retención del IIP respecto al NIP debido al complejo monómero-plantilla del IIP formado por enlaces de coordinación que es llevado a una posición fija estable.

Efecto del proceso de la composición de la mezcla composite en la respuesta del EPC-IIP

Para determinar la mezcla que maximice la señal anódica de arsénico en la DPASV, se elaboraron EPC-IIP's con diferentes proporciones de IIP desde 0% hasta 25%. Los resultados obtenidos demostraron una mayor capacidad para retener As(III) conforme se aumentó el porcentaje de IIP en la mezcla composite, reflejándose como un aumento gradual en la I_{pa} . Esto indica que a mayor cantidad de IIP en la superficie del electrodo, se incrementa el número de cavidades capaces de retener As (III) en la etapa de carga. Sin embargo, al alcanzar un porcentaje de IIP en la mezcla del 25% se obtuvo una notable disminución de la corriente.

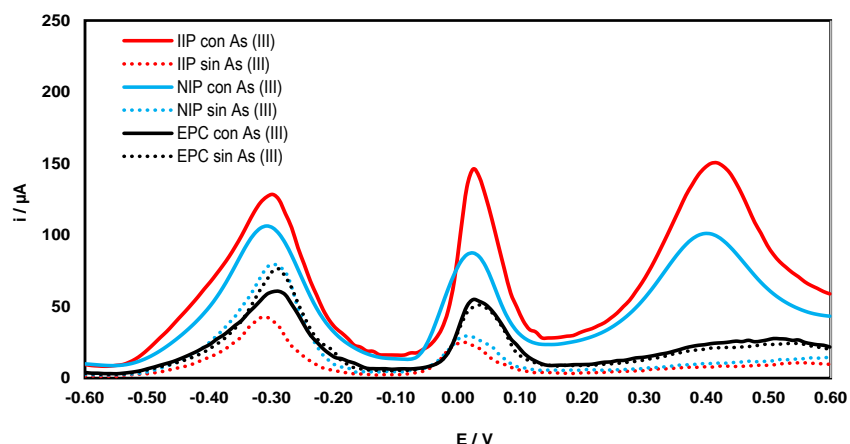


Figura 1. DPASV con 10% de IIP, 5×10^{-8} M de As(III) a pH 11 con 10 min de carga. Potencial de deposición, -0.6 V por 60 s; relajación, 20 s; paso de potencial, 0.01 V; amplitud de pulso, 0.1 V; ancho de pulso, 0.01 s; periodo de pulso, 0.1 s; $n=3$, %RSD<10%.

Efecto del proceso de carga de As (III)

Se optimizó de forma univariable el proceso de carga de los iones As(III) sobre la superficie del electrodo mediante la evaluación de velocidad de agitación, pH del buffer, y tiempo de carga.

Se evaluó el pH utilizando el buffer universal Britton Robinson (BR) a 0.1 M ajustando a diferentes valores de pH con NaOH concentrado. Se realizó la preconcentración de arsénico en la superficie del EPC-IIP durante 10 min a 200 rpm utilizando 20 mL de disoluciones 5×10^{-8} M de As (III) en 0.1 M del buffer BR, ajustando en cada una los siguientes valores de pH: 10, 10.5, 11, 11.5 y 12. Las intensidades de pico anódico

obtenidas muestran una clara diferencia en la I_{pa} a pH 11 ($113 \mu A$) respecto al resto de las disoluciones. Dados estos resultados, se establece el valor de pH 11 como el óptimo para los siguientes experimentos.

Por otro lado, la evaluación de la rapidez con la que llega el analito a la superficie del electrodo para ser retenido se evaluó mediante el efecto de convección provocado por la velocidad de agitación durante el proceso de carga. Se evaluaron velocidades desde 0 hasta 200 rpm. Se realizó el proceso de carga sumergiendo el EPC-IIP en una solución de arsénico $5 \times 10^{-8} M$ en un buffer de fosfatos 0.1 M a pH 11 durante 10 min y seguido de la electrodeposición en la superficie del EPC-IIP se aplicó la técnica DPASV registrando la I_{pa} que se muestra en la figura 2a. En un principio se observa que de 0 hasta 100 rpm la I_{pa} aumenta de forma proporcional a la agitación, sin embargo, velocidades mayores de agitación generan una disminución de la intensidad de corriente, ya que no se permite la adecuada interacción entre el IIP y el arsénico de la solución; por lo tanto, se seleccionó la velocidad de 100 rpm para los siguientes experimentos. Finalmente, se optimizó el tiempo que debe permanecer el EPC-IIP en la disolución para retener la mayor cantidad del metal, al sumergir la superficie del EPC-IIP en un buffer de fosfatos 0.1 M pH 11 con $5 \times 10^{-8} M$ de As(III), evaluando diversos tiempos de carga. En la figura 2b se observa que al incrementar el tiempo de carga hay un aumento gradual de I_{pa} hasta llegar a un máximo de corriente alrededor de $153 \mu A$ con 15 min de carga. Se puede decir que tiempos cortos de carga no permiten una adecuada interacción del IIP con el arsénico, mientras que a tiempos altos de carga, el IIP ya cargado pudiera ser retirado de la superficie del EPC-IIP debido a las fuerzas convectivas; lo anterior se comprueba al obtener como resultado la disminución de I_{pa} . De acuerdo con este análisis, se establecen 15 min como el tiempo de carga óptimo y en lo sucesivo es el que se usará.

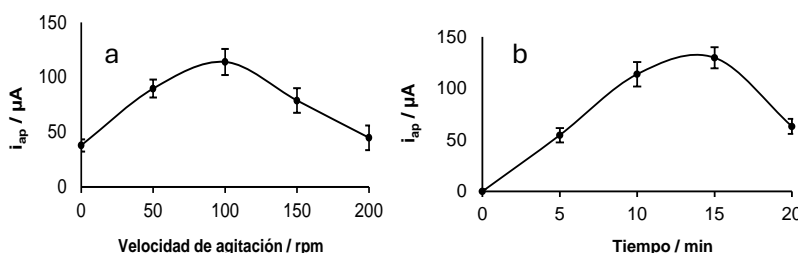


Figura 2. Relación de I_{pa} respecto a: a) velocidad de agitación y b) tiempo de carga; $n=3$, con RSD<10 %.

Optimización de la concentración de electrolito soporte

Se realizó la optimización de la concentración de HCl en el sistema electroquímico evaluando concentraciones desde 1 hasta 6 M. Debido a que la reducción de As(III) es favorecida en medios fuertemente ácidos, la concentración que proporciona la mayor intensidad de corriente anódica asociada al arsénico corresponde a 3 M, por lo que se establece como concentración óptima del electrolito soporte para las siguientes evaluaciones.

Optimización del potencial catódico y tiempo de deposición

Se optimizaron de forma univariable los primeros parámetros de la técnica DPASV correspondientes al potencial y tiempo de reducción del As(III) a As(0) de forma que se logre maximizar la I_{pa} en la consecuente DPV. Posterior al proceso de carga, se realizaron diversas voltamperometrías de redisolución evaluando potenciales de deposición entre -0.40 V y -0.80 V (con intervalos de 0.10 V), además de tiempos de entre 50 y 90 s (con intervalos de 10 s). Se presentó un aumento gradual de la intensidad de corriente al disminuir el potencial de deposición hasta -0.4 V; esto ocurre debido a que la aplicación de un sobrepotencial catódico provoca la rápida reducción de arsénico evidenciando la probable formación de arsina y/o evolución de hidrogeno, observándose la formación de pequeñas burbujas sobre la superficie del electrodo. Estas burbujas podrían disminuir la reproducibilidad y repetibilidad del método de análisis, por lo tanto, se establece -0.4 V con 153 μA de I_{pa} como el potencial de deposición de trabajo para experimentos posteriores. Una vez encontrado el potencial de deposición óptimo, se evaluó el tiempo de deposición bajo las mismas condiciones de carga que en el estudio del potencial. La I_{pa} aumentó con el incremento del tiempo de depósito electroquímico, obteniendo un máximo (153 μA) al mantener durante 60 s el potencial de deposición, y una disminución a valores mayores a este, debido probablemente a problemas con la adhesión de As metálico en la superficie del electrodo provocando que este se desprenda de la superficie del electrodo. Considerando lo anterior, se establece como el tiempo de deposición óptimo 60 s para los experimentos subsecuentes.

Optimización de los parámetros de DPASV

Para maximizar la intensidad de la corriente de pico anódica de As(III) se optimizaron las cuatro variables que definen la técnica DPV mediante el diseño de experimentos de Taguchi, en los siguientes intervalos: paso y amplitud de potencial de 0.0054 V a 0.0150 V, y ancho y periodo del pulso de 0.05 s a 0.15 s, realizando 9 experimentos con diferentes combinaciones de las variables de estudio. La variable de respuesta para analizar el diseño de experimentos fue la I_{pa} de As(III) obtenida mediante DPASV, y su evaluación se realizó con la ayuda del software Minitab® 17 con el que se determinó que la combinación óptima que maximiza la I_{pa} de As (III) corresponde a un paso de potencial de 0.015 V, amplitud de 0.150 V, ancho del pulso de 0.0054 s y una duración de pulso de 0.10 s, con la que se espera una I_{pa} teórica de 195.68 μA . La I_{pa} experimental en las condiciones óptimas fue de 196 μA con un %RSD < 10%, demostrando la gran capacidad de predicción del diseño de experimentos empleado.

Caracterización analítica

La metodología fue caracterizada utilizaron diferentes concentraciones de As(III) para elaborar las curvas de calibración obteniendo dos zonas con tendencia lineal (figura 3a): de 1.40×10^{-5} mg/L (0.18 nM) a 7.50×10^{-5} mg/L (1 nM) con una sensibilidad analítica de 82.0610 $\mu\text{A nM}^{-1}$ y un coeficiente de correlación de 0.99 (figura 3b); y de 0.013 mg/L (184

nM) a 0.05 mg/L (700 nM) con una sensibilidad de $0.3895 \mu\text{A nM}^{-1}$ (figura 3c). Mediante el método recomendado por la IUPAC ($3S_{y/x}/m$ donde $S_{y/x}$ corresponde a la desviación estándar de los residuales de la curva de calibración y m a la pendiente de esta) se obtuvo un límite de detección de 4.26×10^{-6} mg/L (0.05 nM). La precisión fue evaluada con una concentración de As(III) de 5×10^{-8} M obteniendo $\%RSD < 10\%$ en ambos casos.

La selectividad del EPC-IIP respecto a 50 nM de As(III), se evaluó en dos niveles de concentración de interferentes potenciales como Pb(II), Cu(II), Cd(II), Fe(II) y Hg(II), obteniendo porcentajes de recuperación cercanos al 100% con $\%RSD < 10\%$, demostrando que las cavidades de reconocimiento son capaces de retener selectivamente al metal de interés en presencia de diversos interferentes.

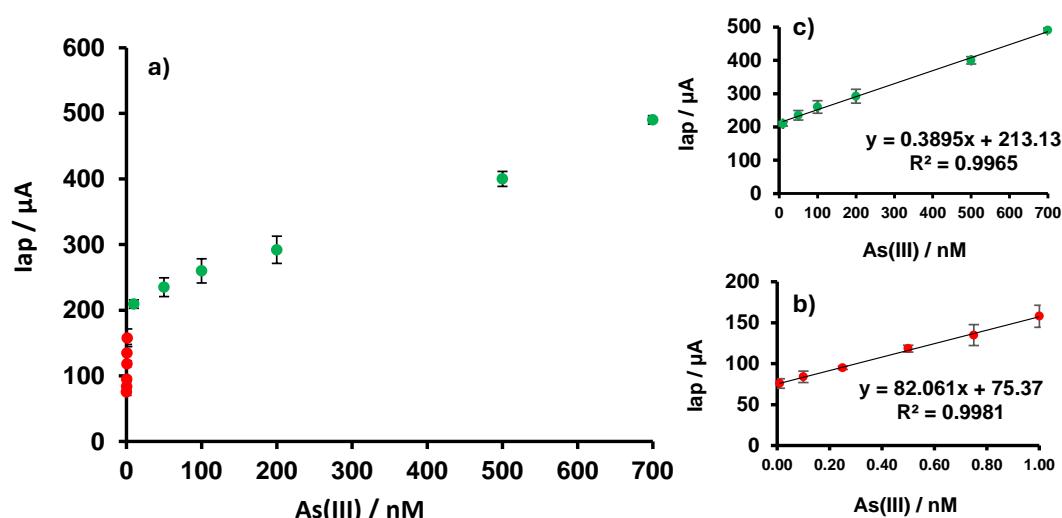


Figura 3. a) Intervalo lineal de la curva de calibración de As(III), b) Linealidad a bajas concentraciones y c) linealidad a altas concentraciones; $n=3$; $RSD < 10\%$.

Determinación de As(III) en muestras de agua mediante DPASV empleando EPC-IIPs.

Se realizó la determinación de As(III), empleando el método desarrollado, en muestras con y sin tratamiento de digestión ácida mediante DPASV. Las muestras sin dopaje no presentaron picos de oxidación asociados a As(III). Por otro lado, la tabla 1 muestra los resultados obtenidos del análisis de As(III) en muestras dopadas con este metal. Los porcentajes de recuperación obtenidos y su correspondiente desviación estándar indican que el EPC-IIP tiene gran capacidad para determinar al ion metálico con exactitud y precisión en muestras reales incluso sin tratamiento de digestión ácida; demostrando que el uso de los IIPs, enriquece la composición de un EPC y potencian su selectividad.

Tabla 1. Determinación de As (III) en muestras reales enriquecidas con 50 nM de As(III), n=3 RSD<10 %.

Metal	Muestra	Conc. añadida	CON DIGESTIÓN ÁCIDA		SIN DIGESTIÓN ÁCIDA	
			Conc. obtenida	% Rec.	Conc. obtenida	% Rec.
As(III)	Agua comercial	0 nM	0 nM	0	0 nM	0
		50 nM	(48.50 ± 1.90) nM	(96.89 ± 1.80)	(49.70 ± 3.70) nM	(99.46 ± 3.60)
	Grifo	0 nM	0 nM	0	0 nM	0
		50 nM	(48.20 ± 5.40) nM	(96.40 ± 5.40)	(50.50 ± 2.00) nM	(101 ± 2.90)
	Presa	0 nM	0 nM	0	0 nM	0
		50 nM	(49.50 ± 6.00) nM	(98.90 ± 6.00)	(53.80 ± 7.60) nM	(107.20 ± 7.60)

Conclusiones

El IIP sintetizado químicamente en esta investigación, representa el primer material de reconocimiento selectivo empleando 2-metiltofeno y ácido metacrílico como monómeros funcionales. Los parámetros analíticos obtenidos demostraron el desarrollo de una metodología con una alta selectividad para As(III), bajo límite de detección y amplio intervalo lineal debido a las propiedades únicas del IIP, siendo tan competitiva como las técnicas convencionales utilizadas para el análisis de metales pesados.

Agradecimientos

LERP agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para los estudios de doctorado (0960762).

Referencias

- [1] Reyes Y., Vergara I., Torres O., Díaz M., y González E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Ingeniería Investigación y Desarrollo, 16(2), 66-77.
- [2] EPA. (2009). National Primary Drinking Water Regulations. EPA 816-F-09-004.
- [3] Ferrer, Intoxicación por metales. (2003) Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 26 (Supl. 1), 141-153.
- [4] Moreno R., Monroy M.G., Castañeda E.P.,(2009). Geochemical evaluation of mining wastes (tailings) of epithermal ore mineralization, Rev. Geól. Amér. Central, 41: 79-9.

PREPARACIÓN DE ELECTRODOS DE CARBONO VÍTREO MODIFICADOS CON ÓXIDO DE IRIDIO Y SU APLICACIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE INSULINA

Ulrich Briones Guerash Silva^a, Jorge Alberto Velásquez Reales^b, Julio César Aguilar Cordero^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Ciudad Universitaria. Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México. México.
Tel: +52 (55) 54210938, e-mail: ulrichbgs@quimica.unam.mx

^b Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Escuela de Química. Ciudad Universitaria, Final 25 Avenida Norte. C.P. 1101, San Salvador, San Salvador. El Salvador.

Introducción

El óxido de iridio ($\text{IrO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, abreviado como IrOx) es un material estable que posee una excelente reversibilidad electroquímica en un amplio intervalo de pH, gracias al elevado valor de la constante de rapidez de transferencia electrónica del par redox Ir(IV)/Ir(III) [1]. Estas características han hecho posible su empleo en diversas aplicaciones, como lo son la fabricación de dispositivos de diagnóstico clínico, dispositivos electrocrómicos o para la generación de energía. En el campo de los sensores, los electrodos modificados con IrOx se han utilizado ya en diferentes sustratos para la detección de diversos analitos de interés biológico, entre los que se encuentran algunas catecolaminas, H_2O_2 , ácido-L-ascórbico, entre otros [2-4].

La insulina es una hormona que se secreta en el páncreas y cuya actividad permite regular los niveles de azúcar en la sangre. Por este motivo, el desarrollo de sensores para monitorear los niveles de insulina en el cuerpo humano o en productos farmacéuticos, es de gran relevancia [5]. Pikulski y Gorski [6] prepararon un electrodo de carbono vítreo (GC) modificado con un depósito de IrOx (GC-IrOx) preparado mediante voltamperometría cíclica y demostraron la actividad catalítica del electrodo respecto a la oxidación de insulina en medio acuoso neutro.

La preparación electroquímica de los recubrimientos de IrOx es muy versátil y permite modular características tales como la composición, morfología y textura del material depositado a través del control de parámetros experimentales como la magnitud y duración del potencial o densidad de corriente aplicados, el material del sustrato, la composición de la disolución de electrodeposición, etc [7]. Por ejemplo, Terashima *et. al.* realizaron depósitos de IrOx en electrodos de diamante dopado con boro mediante técnicas galvanostáticas, potenciodinámicas y de pulsos de potencial, encontrando que este último tipo de técnicas permitieron obtener los recubrimientos de IrOx con mayor estabilidad mecánica y electroquímica [3].

En este trabajo se estudió la preparación de electrodos de GC-IrOx con diferentes programas de pulsos de potencial (doble pulso o multipulso) y condiciones de composición de la disolución de electrodeposición, variando en el primer caso la magnitud y duración de los pulsos de potencial aplicados, mientras que en el segundo caso se varió la identidad del precursor metálico, Ir(III) o Ir(IV), así como la concentración de H_2O_2 en el medio y los días de envejecimiento de la disolución. Posteriormente, se evaluó el

desempeño analítico de los electrodos de GC-IrOx respecto a la cuantificación de insulina en medio acuoso neutro.

Parte Experimental

Reactivos

K₂IrCl₆ (Sigma-Aldrich), K₃IrCl₆ (Sigma-Aldrich), Na₂C₂O₄ (Técnica Química), H₂O₂ (al 30%, Química Rique), NaOH (J.T. Baker), K₂CO₃ (Merck), HCl (J.T. Baker), insulina comercial (100 UI/mL, Insulex R, PiSA), disoluciones amortiguadoras de pH = 4.00, 7.00 y 10.00 (Atlas Scientific), alúmina Micropolish de 1.0, 0.3 y 0.05 µm (Buehler). Todas las disoluciones se prepararon con agua desionizada (18.2 MΩ cm).

Equipo

Todos los experimentos se realizaron en una celda electroquímica de 3 electrodos, utilizando como electrodo de trabajo carbono vítreo (GC, 3 mm de diámetro), Ag/AgCl/KCl saturado como referencia y una barra de grafito como contraelectrodo. Las mediciones se llevaron a cabo con ayuda de un potencióstato CHI920C (CH Instruments). Adicionalmente se utilizaron un pHmetro Orion 5 Star (Thermo Scientific), una pulidora MetaServ 250 (Buehler) y un desionizador de agua PureLab Ultra (ELGA).

Metodología

Antes de cada experimento, el electrodo de GC se pulió consecutivamente con una suspensión de alúmina de 1.0, 0.3 y 0.05 µm, respectivamente. A continuación, se realizó un pretratamiento por voltamperometría cíclica para limpiar y activar la superficie del electrodo [8]. Para esto, se realizaron 5 barridos de 1.2 a -0.3 V en H₂SO₄ 0.10 mol/L a 50 mV/s.

La preparación de los electrodos de GC con recubrimiento de IrOx (GC-IrOx) se realizó, en primera instancia, utilizando el programa de pulsos de potencial propuesto por Terashima *et. al.* [3], identificado como D(IV)-1 en la tabla 1. Posteriormente, se ensayaron diferentes programas de pulsos y condiciones experimentales (días de envejecimiento de la disolución, presencia o ausencia de H₂O₂) a fin de optimizar el depósito de IrOx, descritos como D(IV)-2 a 7 en la misma tabla. Para estos experimentos, se emplearon disoluciones de Ir(IV) preparadas del siguiente modo, bajo una ligera modificación del método reportado por Kakoei *et. al.* [9]: 1) A una disolución acuosa con 4.5 mmol/L de K₂IrCl₆, añadir Na₂C₂O₄ hasta alcanzar una concentración de 40 mmol/L y agitar durante 10 min. 2) Posteriormente, agregar tanto H₂O₂ como sea necesario para obtener una concentración de 98 mmol/L y dejar en agitación por 15 minutos más. 3) Finalmente, el pH se ajusta a un valor de 10.5 mediante la adición de K₂CO₃. Previo a su empleo, las disoluciones de Ir(IV) se dejaron envejecer por al menos 2 días. Para fines de comparación, se realizaron algunos experimentos con disoluciones de Ir(III) preparadas a partir de K₃IrCl₆.

La caracterización y posibilidad de aplicación analítica de los electrodos de GC-IrOx se estudió por medio de voltamperometría cíclica (CV) a una rapidez de 100 mV/s en el intervalo de 0 a 0.8 V, en una disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 mol/L a pH= 7.00, en ausencia o presencia de diferentes concentraciones de insulina.

Resultados y Discusión

Preparación electroquímica de electrodos de GC-IrOx

En la tabla 1 se muestran las condiciones experimentales y las características del programa de pulsos utilizado para realizar 7 tipos de recubrimientos diferentes de IrOx en electrodos de GC. Por otra parte, en la figura 1 se pueden observar las curvas por voltamperometría cíclica en un medio de fosfatos 0.1 mol/L a pH=7.00, para los electrodos de GC y GC-IrOx obtenido mediante el depósito D(IV)-4.

Tabla 1. Condiciones para la obtención de depósitos a partir de una disolución de Ir(IV), conformada por 4.5 mmol/L K_2IrCl_6 + 40 mmol/L $Na_2C_2O_4$ + 98 mmol/L H_2O_2 , ajustando el pH a 10.5.

Depósito	Etapas	Pulsos	Tiempo total/s	Días de envejecimiento	$I_{p,a Ir(IV)/Ir(III)} / \mu A$
D(IV)-1*	1	$E_1 = -2.0 V, t_1 = 0.5 s$	20	5	16
	2	$E_2 = 0.8 V, t_2 = 0.5 s$			
D(IV)-2*	1	$E_1 = -2.0 V, t_1 = 0.5 s$	20	12	22
	2	$E_2 = 0.8 V, t_2 = 0.5 s$			
D(IV)-3	1	$E_1 = -2.0 V, t_1 = 0.2 s$	480.2	12	83.7
	2	$E_2 = -1.8 V, t_2 = 180 s$			
	3	$E_3 = 1.2 V, t_2 = 300 s$			
D(IV)-4	1	$E_1 = -1.8 V, t_1 = 300 s$	900	13	94
	2	$E_2 = 1.2 V, t_2 = 600 s$			
D(IV)-5	1	$E_1 = -1.8 V, t_1 = 300 s$	900	2	75.4
	2	$E_2 = 1.2 V, t_2 = 600 s$			
D(IV)-6**	1	$E_1 = -1.8 V, t_1 = 300 s$	900	2	2.35
	2	$E_2 = 1.2 V, t_2 = 600 s$			
D(IV)-7*	1	$E_1 = -1.2 V, t_1 = 0.5 s$	600	19	171
	2	$E_2 = 1.2 V, t_2 = 0.5 s$			

*Las etapas 1 y 2 se repiten consecutivamente hasta completar el tiempo total de depósito.

**Realizado en ausencia de H_2O_2 .

Los resultados de la figura 1a indican la ausencia de corriente faradaica en el electrodo de GC, mientras que el recubrimiento de IrOx presenta un conjunto de señales características para los pares redox Ir(IV)/Ir(III) e Ir(V)/Ir(IV). La intensidad de la corriente

de pico para la señal de oxidación del par Ir(IV)/Ir(III), $I_{p,a Ir(IV)/Ir(III)}$, se empleó en este trabajo como parámetro para determinar la calidad del recubrimiento, ya que este parámetro es proporcional a la cantidad de IrOx depositado. Por otra parte, la figura 1b muestra la diferencia en el aspecto de los electrodos de GC y GC-IrOx.

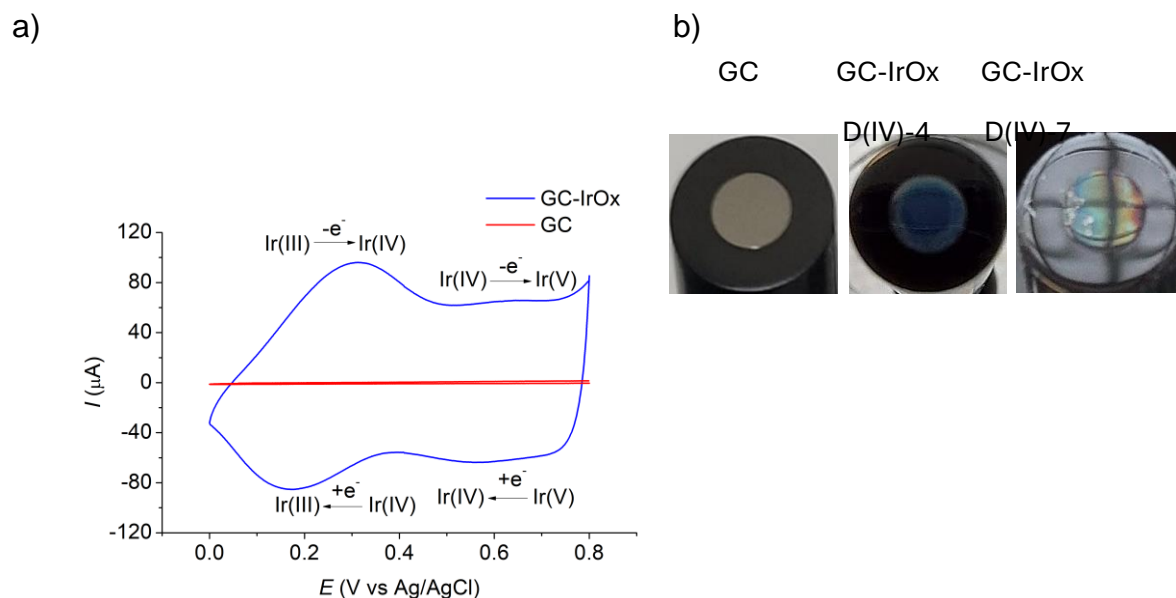


Figura 1. a) Voltamperometría cíclica a 100 mV/s para los electrodos de GC (línea roja) y GC-IrOx (línea azul) obtenido mediante el depósito D(IV)-4 en un medio de fosfatos 0.1 mol/L a pH=7.00. b) Aspecto de los electrodos de GC y GC-IrOx obtenidos mediante los tratamientos de depósito D(IV)-4 y 7.

El análisis del conjunto de los datos de la tabla 1 indica lo siguiente respecto a la preparación de los electrodos de GC-IrOx: 1) La composición de la disolución de Ir(IV) que favorece el depósito de una mayor cantidad de IrOx incluye la presencia de H₂O₂ y al menos 12 días de envejecimiento. 2) El programa de pulsos de potencial que favorece el depósito de una mayor cantidad de IrOx es el de multipulsos, con una duración individual de 0.5 s y total de al menos 600 s, siempre y cuando su magnitud sea lo suficientemente elevada (-1.2 y 1.2 V para los pulsos catódico y anódico, respectivamente). Experimentos previos no mostrados aquí demuestran que la ausencia del pulso catódico impide la formación del recubrimiento de IrOx, indicando así que este material se forma a través de la oxidación del Ir metálico depositado previamente durante el pulso catódico. Por otra parte, la estrategia de multipulsos resulta más eficiente que la de doble pulso ya que la alternancia entre ambos pulsos impide la evolución y acumulación de burbujas de H₂ u O₂ sobre la superficie del electrodo, así como los cambios de pH interfaciales que la acompañan.

Si bien el papel de los diferentes agentes presentes en la disolución de depósito de Ir(IV) es todavía tema de debate, las imágenes de la figura 2 e información reportada en la

literatura permiten concluir lo siguiente al respecto: la adición de H_2O_2 permite reducir el Ir(IV) a Ir(III), el cambio de color de amarillo a azul de la disolución está asociado a la formación de una suspensión de IrOx hidratado [10]. El carácter coloidal de la disolución de depósito desde que adquiere la coloración azul se corroboró por la presencia del efecto Tyndall. En este sentido, la presencia de iones oxalato se atribuye a que posee un efecto estabilizante para el coloide. La especie electroactiva de la disolución de depósito es entonces el IrOx coloidal, que se reduce a Ir metálico y reoxida posteriormente a IrOx en la superficie del electrodo durante el programa de multipulsos. Cabe resaltar que, de acuerdo con las imágenes de la figura 2c, si se utilizan disoluciones de depósito con Ir(III) o Ir(IV) a la misma concentración, cuando se dejan pasar suficientes días de envejecimiento se obtiene una coloración azul más intensa cuando el precursor metálico es Ir(III), lo que indica una mayor concentración de partículas de IrO₂ hidratado.

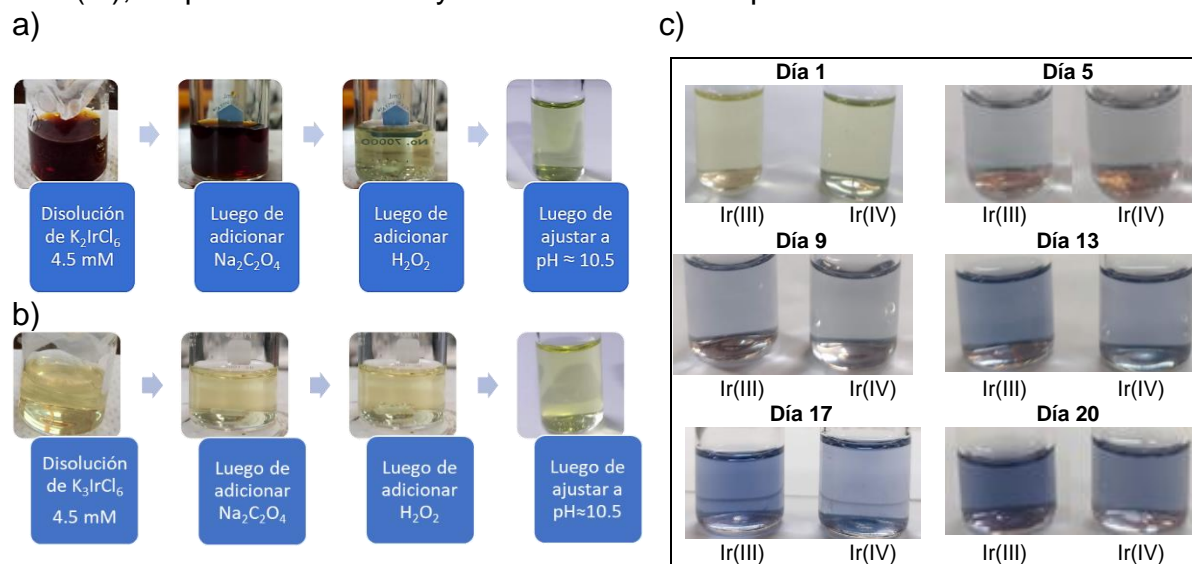


Figura 2. Preparación de disoluciones para la formación de recubrimientos de IrOx a partir de a) Ir (IV) y b) Ir(III). c) Envejecimiento de las disoluciones de Ir(III) e Ir(IV) a lo largo de varios días.

Aplicación de los electrodos de GC-IrOx en la determinación de insulina

En las figuras 3a y b se muestran las curvas por voltamperometría cíclica a 100 mV/s en un medio de fosfatos 0.1 mol/L a $pH=7.00$, en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de insulina para los electrodos de GC y GC-IrOx obtenido bajo las condiciones descritas en la tabla 2. Las mismas figuras revelan la presencia de una señal de oxidación para la insulina alrededor de los 0.7 y 0.88 V, para los electrodos de GC y GC-IrOx, respectivamente.

Tabla 2. Condiciones para la obtención de depósitos a partir de una disolución de Ir(III), conformada por 4.5 mmol/L K_3IrCl_6 + 40 mmol/L $Na_2C_2O_4$ + 98 mmol/L H_2O_2 , ajustando el pH a 10.5.

Depósito	Etapa	Pulsos	Tiempo		Días de envejecimiento
			Etapa/s	Total/s	
D(III)-1	1	$E = -1.8$ t= 0.5	0.5	591.8	16
	2	$E_1 = 1.2, E_2 = -1.2, t_1 = t_2 = 0.5$ s	5.5		
	3	$E_1 = -1.2, E_2 = 1.2, t_1 = t_2 = 0.5$ s	12.7		
	4	$E_1 = -0.4, E_2 = 1.2, t_1 = t_2 = 0.5$ s	97.1		
	5	$E_1 = -0.2, E_2 = 1.2, t_1 = t_2 = 0.5$ s	476.0		

*Los pulsos 1 y 2 se repiten consecutivamente hasta completar la duración de la etapa.

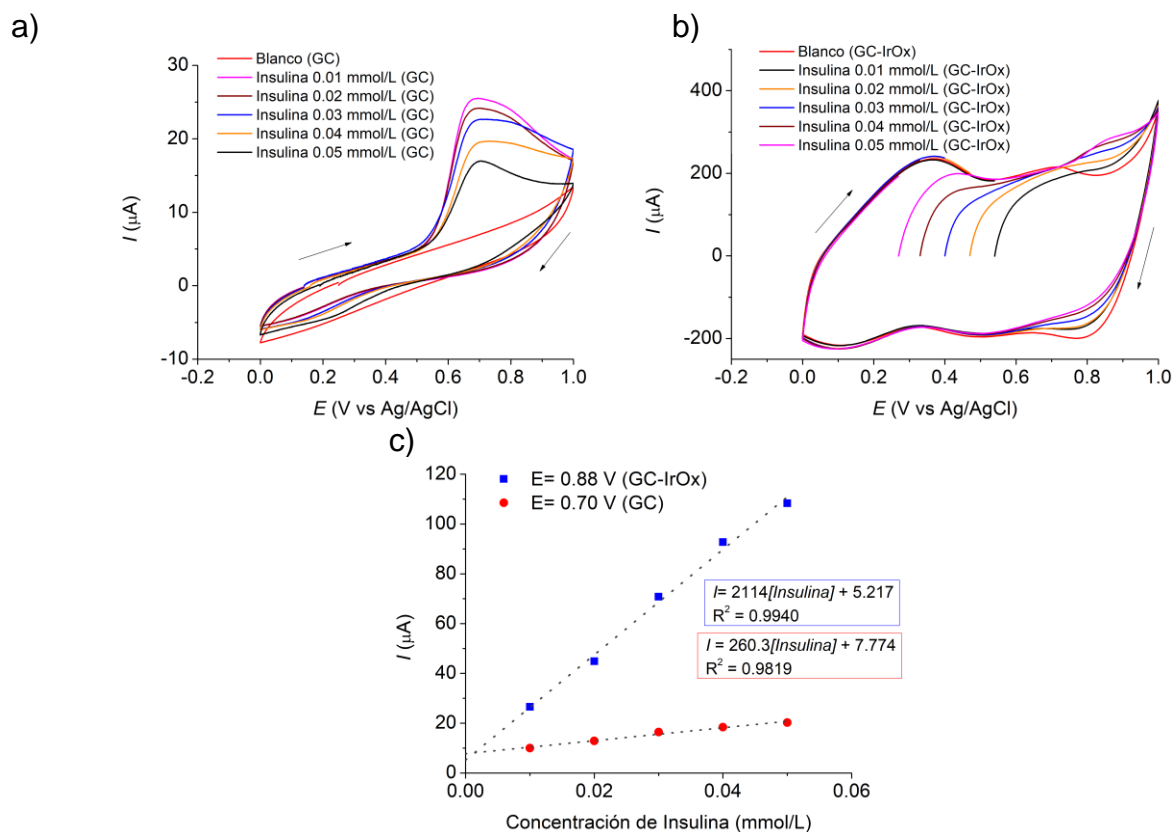


Figura 3. Voltamperometría cíclica a 100 mV/s en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de insulina para los electrodos de a) GC y b) GC-IrOx obtenido mediante el depósito D(III)-1. Electrolito soporte: disolución de fosfatos 0.1 mol/L a pH=7.00 c) Curvas de calibración asociadas.

En la figura 3c se aprecia que la sensibilidad del electrodo de GC-IrOx respecto a la oxidación de insulina es alrededor de 8 veces mayor a lo presentado por el electrodo de GC. El electrodo de GC-IrOx presenta valores de límite de detección (LD) y cuantificación (LC) para insulina de 1.4 y 4.7 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. La disminución del potencial de circuito abierto, así como las variaciones en la intensidad de corriente de las señales asociadas al par redox Ir(V)/Ir(IV) conforme incrementa la concentración de insulina, son indicios que apuntan a un proceso catalítico de oxidación de insulina sobre el recubrimiento de IrOx [6].

Conclusiones

Se estudió el efecto de los parámetros del programa de pulsos y de la composición de la disolución de depósito en la preparación de electrodos de GC-IrOx. Se determinó que un mínimo de 2 semanas de envejecimiento de la disolución de Ir(IV), así como la presencia de H_2O_2 y el uso de programas de multipulso resulta en condiciones más favorables se para la fabricación de los electrodos modificados. Bajo estas condiciones, de encontró también que el Ir(III) es un mejor precursor metálico. Los electrodos de GC-IrOx presentan en voltamperometría cíclica una señal asociada a la oxidación de insulina en medio acuoso neutro, la cual permite obtener valores de LD y LC en el orden de $\mu\text{mol/L}$.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Facultad de Química de la UNAM y al CONAHCYT por el financiamiento y las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] A. Salimi, R. Hallaj, B. Kavosi, B. Hagighi. *Analytica Chimica Acta*. **661**, [1], 28-34 (2010).
- [2] I. A. Ges, K. P. M. Currie, F. Baudenbacher. *Biosensors and Bioelectronics*. **34**, [1], 30-36 (2012).
- [3] C. Terashima, T. N. Rao, B. V. Sarada, N. Spataru, A. Fujishima. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **544**, [13], 65-74 (2003).
- [4] S. Kim, Y. L. Kim, A. Yu, J. Lee, S. C. Lee, C. Lee, M. H. Kim, Y. Lee. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **196**, [13], 480-488 (2014).
- [5] Y. Shen, W. Prinyawiwatkul, Z. Xu. *Analyst*. **144**, 4139-4148 (2019).
- [6] M. Pikulski, W. Gorski. *Analytical Chemistry*. **72**, [13], 2696-2702 (2000).
- [7] I. G. Cassella, M. Contursi, R. Toniolo. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **736**, [1], 147-152 (2015).
- [8] Y. Sheasha, K. A. Soliman, S. G. Sun, T. Jacob, L. A. Kibler. *Electrocatalysis*. **6**, 365-372 (2015).
- [9] S. Kakooei, M. C. Ismail, B. A. Wahjoedi. *International Journal of Electrochemical Science*. **8**, 3290-3301 (2013).
- [10] P. Steegstra, E. Ahlberg. *Electrochimica Acta*. **68**, 206-213 (2012).

EXTRACCIÓN DE PLOMO EMPLEANDO DICARBOXILATO DE CELULOSA NANOCRISTALINA ENTRECruzADO CON CALCIO

Tanese Montesinos Vázquez, Carlos Andrés Galán Vidal, Susana Rojas Lima, José Antonio Rodríguez Ávila, María Elena Páez Hernández*

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42084. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 2217, e-mail: paezh@uaeh.edu.mx

Introducción

Altas concentraciones de plomo en la sangre pueden afectar el comportamiento, las funciones cognitivas, los sistemas cardiovascular, nervioso central y órganos como el riñón. Las principales fuentes de exposición humana son a través de sales u óxidos del metal presentes en polvo atmosférico, emisiones vehiculares, pintura, comida contaminada y agua [1].

Diversos métodos se han desarrollado con el objetivo de reducir la concentración de plomo en diferentes medios; uno de estos es el uso de materiales con capacidad para retener a este y otros contaminantes [1].

Entre estos materiales se encuentran los derivados de celulosa que por su origen son biodegradables, amigables con el ambiente y pueden producirse de manera económica empleando un recurso renovable y abundante [2].

Oxidando celulosa se puede formar la celulosa nanocrystalina con cadenas amorfas libres la cual está compuesta por una región cristalina con cadenas amorfas que emergen de los extremos. Estas regiones amorfas proveen propiedades únicas como estabilidad estérica y electrostática, mayor densidad de grupos funcionales y mayor reactividad [2]. La ruptura selectiva del enlace C2 y C3 en la celulosa empleando periodato convierte a los alcoholes en estas posiciones en aldehídos; al producto de esta reacción se le conoce como dialdehído de celulosa nanocrystalina (DACN). Debido a la alta reactividad de los grupos aldehído, el DACN puede reaccionar con clorito para producir carboxilatos (dicarboxilato de celulosa nanocrystalina (DCCN)). Una de las desventajas de este material es la dificultad de separación en soluciones acuosas debido a su gran solubilidad. Para superar este problema se puede entrecruzar empleando iones de gran tamaño como el calcio produciendo sólidos con baja solubilidad (DC-Ca) sin afectar la capacidad de sorción. La capacidad de sorción de estos materiales se atribuye principalmente a la gran área superficial y a la estabilidad de dispersión que permite un mayor contacto entre la solución y el analito [2, 3].

El uso de estos materiales para remover o facilitar la cuantificación de analitos es una tarea en desarrollo por lo que en este trabajo se evalúa el uso del DC-Ca como sorbente de plomo presente en disoluciones acuosas.

Parte Experimental

Síntesis de celulosa dicarboxilada entrecruzada con calcio (DC-Ca)

Para realizar la síntesis del material (DC-Ca) se obtuvieron dos precursores, el primero (dialdehído de celulosa nanocrystalina (DACN)) se obtuvo a partir de la oxidación de celulosa y el segundo se obtuvo con una posterior oxidación produciendo el dicarboxilato de celulosa nanocrystalina (DCCN), finalmente este producto se entrecruzó con calcio (DC-Ca). La síntesis de cada material se detalla a continuación.

El DACN se sintetizó a partir de fibras de celulosa (Sigma), las cuales se humectaron por al menos 3 días, esto con el propósito de facilitar la reacción posterior. Posteriormente se mezcló con 1.3 equivalentes de metaperiodato de sodio (NaIO_4) (Sigma-Aldrich, 99.8%), 10.6 equivalentes de cloruro de sodio (NaCl) (J.T. Baker) y 100 mL de agua desionizada (Milli-Q Academic, Millipore) por gramo de celulosa; esta mezcla se recubrió con aluminio para evitar la descomposición del metaperiodato. La reacción se agitó a 105 rpm durante 96 horas a temperatura ambiente y para detener la reacción se agregó 1 mL de etilenglicol (Aldrich, 99%) por gramo de celulosa, neutralizando así, el metaperiodato residual. El producto de la reacción se centrifugó a 1500 rpm durante 10 minutos. El sólido recuperado (DACN) se lavó 3 veces con 20 mL de agua para eliminar el exceso de metaperiodato.

Para sintetizar el DCCN se colocó 1 mol del DACN con 2.7 moles de clorito de sodio (NaClO_2) (Sigma-Aldrich, 80%), 8.3 moles de NaCl y agua desionizada (250 mL por gramo de DACN). Mientras se agitaba la solución a 105 rpm se agregaron 0.04 moles de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Supelco, 30%). La mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente manteniendo el pH en 5 durante al menos las primeras 4 horas. La solución resultante se centrifugó durante 10 minutos a 5000 rpm. El sobrenadante se separó, se agregó etanol ($0.16 \text{ g/g}_{\text{sobrenadante}}$) y se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos. Después de separar las fases, al sobrenadante obtenido se le agregó etanol (J.T. Baker, 99.9%) ($1 \text{ g/g}_{\text{sobrenadante}}$) y se agitó magnéticamente durante 30 minutos; posteriormente la solución se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos recuperando así al DCCN.

El entrecruzamiento del DCCN con calcio se basó en lo sugerido por Visanko y colaboradores [3]. El DCCN se mezcló con una disolución al 10% (p/v) de cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (ACS, Sigma-Aldrich), empleando 50 mililitros de la disolución por gramo de DCCN. Después de agitar durante una hora a temperatura ambiente se centrifugó la mezcla resultante a 4000 rpm durante 10 minutos. El sólido obtenido (DC-Ca) se lavó con agua desionizada hasta pH neutro y finalmente se secó a temperatura ambiente. Todos los productos se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

Caracterización del DC-Ca

Los productos obtenidos se secaron y pulverizaron para su posterior análisis mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR). Este análisis se realizó en un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 2000 y se realizó un promedio de 10 barridos de 4000 a 400 cm^{-1} .

Además, se analizó la morfología y composición elemental mediante microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (SEM-EDS, Jeol IT 300).

Aplicación del DC-Ca como sorbente de Pb(II)

El DC-Ca se empleó en la extracción de plomo presente en soluciones acuosas. El proceso de extracción se llevó a cabo en columna, para esto el sólido se pesó y se empacó en jeringas de 1 mL en las que previamente se colocaron una membrana (tamaño de poro 0.45 μm , Millipore) y fibra de vidrio para evitar la pérdida del sorbente. La extracción se realizó con asistencia de un diseño de experimentos Box-Behnken, en el que se consideraron tres factores y tres niveles: pH (3, 4.3 y 5.5), tiempo de contacto (15, 52.5 y 90 minutos) y masa del sorbente (5, 10 y 15 miligramos). Los experimentos se realizaron por duplicado.

La disolución de plomo (5 mL) se hizo pasar a través de la columna empleando una bomba peristáltica con un flujo de 0.3 mL por minuto y se recirculó durante el tiempo necesario.

Una vez conocidas las mejores condiciones de extracción y con el propósito de verificar la necesidad de modificar el material, se evaluó la capacidad de retención de Pb(II) de los precursores del material: celulosa y DACN. Las soluciones antes y después de extraer se analizaron mediante espectroscopía de absorción atómica por flama en un equipo Varian SpectrAA 880.

Estudio del mecanismo de sorción

A partir de la variación de la concentración de plomo (300-2300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) se evaluó el tipo de sorción empleando los modelos de Langmuir y Freundlich. Para esto primero se determinó la cantidad de plomo retenida (q_e) expresada en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y calculada con la ecuación (1). Donde C_i y C_e es la concentración inicial y final de plomo ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), respectivamente, V es el volumen empleado expresado en litros y m es la masa del sorbente en gramos [4, 5].

$$q_e = \frac{(C_i - C_e) \cdot V}{m} \quad (1)$$

La isoterma de Langmuir describe una sorción en monocapa sobre una superficie heterogénea; la expresión lineal de la ecuación se muestra en (2), donde q_L ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) es la capacidad de sorción máxima y K_L ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$) es la constante de sorción de Langmuir. Además, puede determinarse el parámetro R_L con (3), donde C_0 es la concentración ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) más alta del analito empleada en el proceso de sorción. La constante R_L clasifica el proceso como favorable ($0 < R_L < 1$), irreversible ($R_L = 0$), lineal ($R_L = 1$) y no favorable ($R_L > 1$) [4, 5].

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_L K_L} + \frac{C_e}{q_L} \quad (2)$$

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (3)$$

La isoterma de Freundlich describe una sorción en multicapa sobre la superficie de un sorbente heterogéneo, la ecuación lineal se muestra en (4), en donde K_F ($L \cdot g^{-1}$) y n_F son constantes de Freundlich que describen la capacidad y la intensidad de sorción, respectivamente [4, 5].

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n_F} \cdot \log C_e \quad (4)$$

Resultados y Discusión

Caracterización del DC-Ca

Al entrecruzar el DCCN con calcio se obtuvo un polvo blanco insoluble en agua. En la Figura 1 se muestran los espectros de los materiales de partida $CaCl_2$ (Fig. 1a) y DCCN (Fig. 1b) y el producto del entrecruzamiento DC-Ca (Fig. 1c). En el espectro de $CaCl_2$ se observan las bandas características de agua de cristalización (propia de la sal) alrededor de 3400 y en 1630 cm^{-1} . Respecto a DCCN y DC-Ca en ambos se observan señales alrededor de 3600 y 3300 cm^{-1} atribuidas a la vibración del enlace -O-H y en 1434 cm^{-1} correspondiente a la vibración de -CH₂ de la estructura base de la celulosa [2, 6]. Las diferencias principales se observan en señales correspondientes a los grupos que podrían formar enlaces intra e intermoleculares; alrededor de 2900 cm^{-1} (estiramiento -C-H-) la señal en c) se encuentra mejor definida que en b); las señales atribuidas a carbonilo y carboxilato (entre 1597 y 1760 cm^{-1}) en c) se encuentran desplazadas a menores frecuencias con respecto a las del espectro b); en b) se tienen 2 señales de alcoholes en 1316 y 1244 cm^{-1} , las mismas se han desplazado a 1305 y 1236 cm^{-1} en el espectro c); finalmente las señales de vibración -C-O-C- en los enlaces β glicosídicos (1168 y 892 cm^{-1}) y de CH₂-O-CH₂ (1059 cm^{-1}) se encuentran mejor definidos en el espectro c) [2, 6]. Todo lo anterior corrobora que la adición del calcio modifica las interacciones en el polímero.

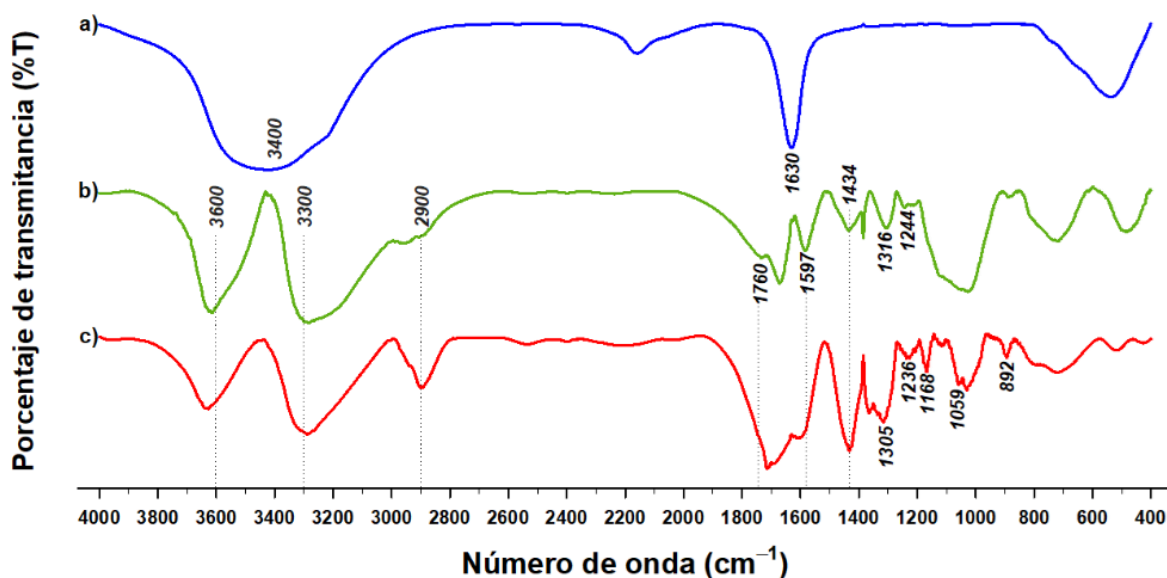


Figura 1. Espectros de FT-IR de a) CaCl_2 , b) DCCN y c) DC-Ca

La presencia de calcio se corroboró con el análisis EDS (Fig. 2). En el DCCN se encuentra el dicarboxilato como sal de sodio (Fig. 2a) y en el producto del entrecruzamiento DC-Ca (Fig. 2b) el sodio ha sido reemplazado por calcio. Morfológicamente ambos sólidos son similares, la diferencia en tamaño de las partículas puede atribuirse al proceso de pulverización de los sólidos.

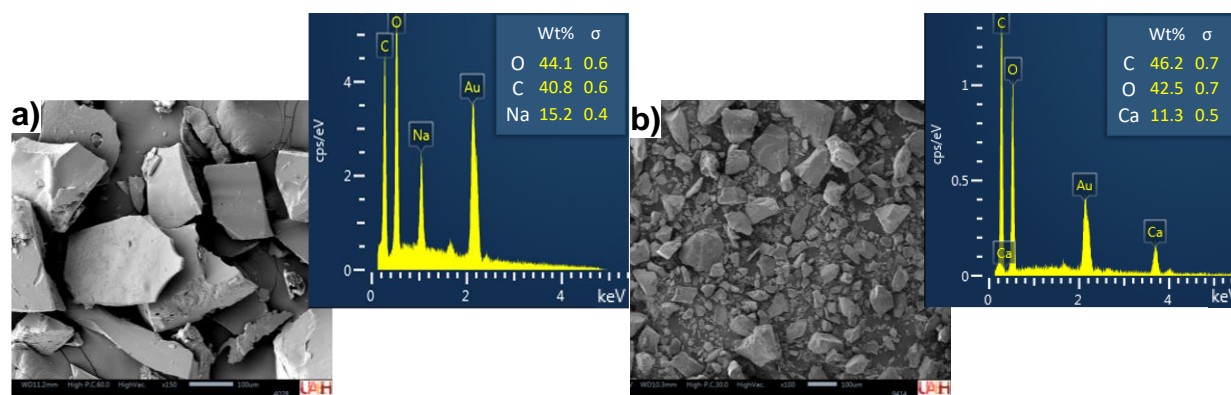


Figura 2. Microscopía electrónica de barrido y EDS del DCCN (a) y del DC-Ca (b).

Extracción de Pb(II)

La ecuación del modelo obtenida del diseño Box-Behnken se muestra en (5) donde A es el pH, B es el tiempo y C es la masa; la R^2 calculada fue de 0.8679. De este modelo y de

la ANOVA obtenida se puede deducir que el tiempo es el factor significativo ($P < 0.05$) en el proceso de extracción de Pb(II).

$$y = -12.7 + 34.4A + 0.467B + 0.58C - 4.95A^2 - 0.00866B^2 - 0.003C^2 + 0.1697AB - 0.241AC + 0.0195BC \quad (5)$$

En el rango de pH evaluado (3-5.5) no se observó una diferencia importante en la extracción (Figura 4). Esto puede explicarse por el mecanismo de interacción entre el DC-Ca y el Pb(II), la cual se considera de tipo electrostático y es posible que sea un intercambio entre los iones calcio por los de plomo, el cual se encuentra como catión y puede interactuar libremente con el sorbente. Al emplear pH de 4.3 se logró extraer más del 90.21 % del plomo presente en solución (L.C.: $0.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

Respecto a la masa del sorbente se observó que la extracción de plomo aumenta junto con la cantidad de sorbente. Esto puede explicarse por un aumento en los sitios activos al tener más sorbente.

El tiempo fue la variable que mostró mayor significancia: a los 15 minutos de experimentación los porcentajes de extracción son cercanos al 60% mientras que a partir de 50 minutos son mayores al 90%, esto se atribuye a que un mayor tiempo de contacto con el sorbente mejora la interacción con los iones en la disolución.

De acuerdo con la optimización del proceso, las mejores condiciones de extracción fueron pH: 4.3, tiempo: 80 minutos y 15 miligramos de DC-Ca. Con estas condiciones se evaluó la extracción de plomo empleando celulosa y DACN, los materiales precursores, obteniendo una extracción del 15.1% (7.5) y 8.9% (10.7) (coeficiente de variación entre paréntesis), respectivamente. Esto ratifica la utilidad de la modificación del material.

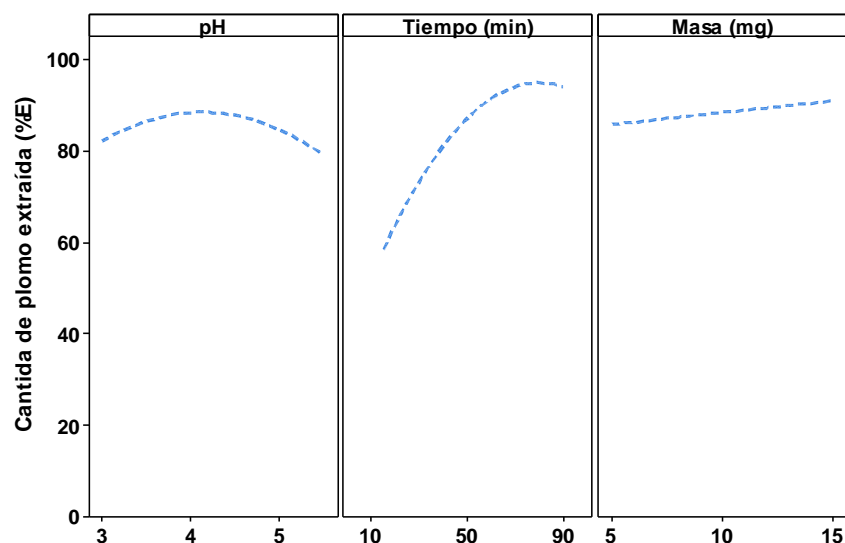


Figura 4. Gráfico de efectos principales en la extracción de Pb(II) empleando DC-Ca.

Estudio del mecanismo de sorción

La capacidad máxima experimental del sorbente fue de 493.6 (1.3) $\text{mg}_{\text{Pb}} \cdot \text{g}^{-1}$; esta cantidad coincide con los resultados obtenidos con varios materiales derivados de celulosa cuya $q_{\text{máx}}$ varía desde 5 hasta 833 $\text{mg}_{\text{Pb}} \cdot \text{g}^{-1}$ [7].

La correlación obtenida para los modelos de Langmuir y Freundlich fue de 0.9967 y 0.9107 respectivamente. Considerando lo anterior el modelo de Langmuir es el que describe mejor el proceso de sorción, indicando que este se lleva a cabo sobre una superficie homogénea. La q_L obtenida fue de 454.6, similar a la $q_{\text{máx}}$ experimental; el valor de K_L fue de 0.07, con el que se determinó el parámetro R_L (0.006) que clasifica al proceso como favorable [4, 5].

Conclusiones

Al entrecruzar el DCCN con calcio se logró obtener un material insoluble en agua (DC-Ca) que facilita su separación al emplearse como sorbente. El DC-Ca se empleó en la extracción de plomo, logrando retener más del 90.21% del metal en solución. Con asistencia de un diseño Box-Behnken se determinó que el factor significativo en el proceso es el tiempo.

Finalmente será necesario evaluar la capacidad de remoción de plomo con DC-Ca en presencia de interferentes y posteriormente emplear el sorbente en la remoción del metal en muestras reales, con lo que se seguirá trabajando para aprovechar las ventajas del sólido desarrollado.

Referencias

- [1] A. Kumar, A. Kumar, M.M.S, Cabral-Pinto, A.K. Chaturvedi, A.A. Shabnam, G. Subrahmanyam, R. Mondal, D.K. Gupta, S.K. Malyan, S.S. Kumar, S.A. Khan, K.K. Yadav. International Journal of Environmental Research and Public Health. **17**[7], 2179 (2020.)
- [2] J. Muthami, P. Wamea, M. Pitcher, M.N. Sakib, Z. Liu, S. Arora, D. Kennedy, Y.J. Chang, A. Sheikhi. Hairy cellulose nanocrystals: chemistry and fundamentals. En: Cellulose Nanoparticles: Chemistry and Fundamentals, Ed: V. K. Thakur, E. Frollini, J. Scott, V. K. Thakur, E. Frollini J. Scott. The Royal Society of Chemistry, Ch. 1, 1-36 (2021).
- [3] M. Visanko, H. Liimatainen, J.A. Sirviö, O. Hormi. Separation and Purification Technology, **154**, 44-50 (2015).
- [4] A. Aldemir, A. Turan, A.R. Kul, H. Koyuncu. International Journal of Environmental Science and Technology, **20** [3], 2601-2622 (2023).
- [5] M.O., Dawodu, K.G., Akpomie. Alexandria Engineering Journal, **55**[4], 3211-3218 (2016).
- [6] F. Mahrous, R. Koshani, M. Tavakolian, K. Conley, T.G.M. van de Ven. Cellulose, **28**, 8387-8403 (2021).
- [7] P.O. Oladoye. Chemosphere, **287**, 132130 (2022).

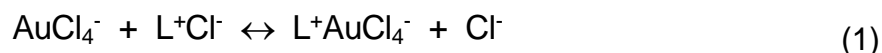
EFFECTO DE LA ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES EN LA RECUPERACIÓN DE Au(III) CON LÍQUIDOS IÓNICOS ENCAPSULADOS

Jessica Morales Aguilar, Liliana Hernández Perales, José Saúl Medina Zapién, Luz Paola Valencia Romero, Ricardo Navarro Mendoza*

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Cerro de la Venada s/n, Col. Pueblito de Rocha, CP 36040. Guanajuato, Gto., México.
Tel: +52(473)7320006 Ext:5410, e-mail: navarm@ugto.mx

Introducción

El alto valor del oro y su creciente demanda ha motivado el desarrollo de técnicas para su recuperación a partir de fuentes secundarias, como los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) [1]. El oro contenido en estos residuos puede ser lixiviado con soluciones ácidas, por ejemplo, mezclas de HCl y HNO₃, y luego separado mediante diversas técnicas, como la extracción líquido-sólido, utilizando líquidos iónicos (LI) [2]. Estos compuestos, entre otras propiedades, cuentan con una presión de vapor casi nula, lo que evita la contaminación atmosférica y pérdida del solvente por evaporación, tal es el caso del Cyphos IL 101 (cloruro de trihexil(tetradecil)fosfonio), constituido por un catión tetraalquilfosfonio (L⁺) y el anión cloruro (Cl⁻), el cual presenta buenas propiedades de extracción selectiva hacia algunos metales, destacando la afinidad hacia el Au(III), formando así clorocomplejos que son extraídos por el LI mediante un mecanismo de intercambio iónico, como se muestra en la Ecuación (1) [2].



En este trabajo se propone la preparación de materiales mediante la encapsulación del LI, fabricando microcápsulas (MC) con el LI disperso en su interior en forma de una emulsión, para aumentar el área de contacto y mejorar la eficiencia y la velocidad de extracción. La emulsión formada es tipo aceite/agua, la fase dispersa está constituida por el LI y la fase dispersante por una solución acuosa de cloruro de calcio, carboximetil celulosa (CMC) y eventualmente un agente emulsificante como la gelatina [3].

Las emulsiones se definen típicamente como las gotas de un líquido que se dispersan en otro líquido inmiscible, en forma de pequeños glóbulos. Estos sistemas son termodinámicamente inestables y al cabo de un cierto tiempo, tienden nuevamente a la separación de fases. Sin embargo, las emulsiones pueden llegar a considerarse como sistemas “estables” durante un tiempo razonable. Los procesos físicos y químicos pueden provocar la inestabilidad de una emulsión, provocando procesos de desestabilización como aglomeración y coalescencia, entre otros. Mediante el empleo de emulsificantes o estabilizantes, es posible prolongar la duración de esta, mediante efectos electrostáticos y estéricos-viscosos [4].

La estabilidad de las emulsiones a través del tiempo tiene un papel muy importante en el desempeño de las MC en el proceso de extracción de Au(III). Estudios previos han mostrado que las MC fabricadas utilizando CMC como emulsificante, presentan buenas propiedades de extracción, pero después de cierto tiempo se observa un deterioro de la emulsión al interior de las MC y disminuye su desempeño, en términos de eficiencia y velocidad de extracción de Au(III) [3]. Como un alternativa, se propone adicionar gelatina a la emulsión para tratar de mejorar sus características y el desempeño de las MC.

Primeramente, se determinaron las propiedades de emulsiones preparadas con CMC y gelatina (CMC/G) como emulsificantes y se compararon con las de emulsiones preparadas de manera similar únicamente con CMC (sin gelatina). Se determinó el tamaño de gota del LI en las emulsiones y sus variaciones a lo largo del tiempo, así como el índice de formación de crema, los cuales son indicativos de la estabilidad de la emulsión.

Después se fabricaron MC con ambas emulsiones (CMC o CMC/G), encapsulando la emulsión con alginato de calcio. Posteriormente, se realizó un estudio morfológico, se estudió la estabilidad de la emulsión al interior de las MC y se evaluó su desempeño en la extracción de Au(III), mediante estudios cinéticos y termodinámicos, después de diferentes tiempos de haber sido fabricadas (tiempo de almacenamiento).

Parte Experimental

Reactivos y equipos

En la fabricación de las emulsiones, como fase dispersa, se empleó el LI cloruro de trihexil(tetradecil)fosfonio (Cyphos IL 101, Sigma Aldrich), el cual tiene una pureza ≥ 95 %. Para la preparación de la fase dispersante, se utilizó la sal sódica de la carboximetilcelulosa (CMC) (Sigma Aldrich), gelatina de piel de cerdo (G) (Sigma Aldrich), alginato de sodio proveniente de algas pardas (Sigma Aldrich), cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Karal). Otros reactivos fueron grado analítico: ácido clorhídrico, HCl 37% (Karal) y ácido tetracloroaúrico trihidratado, $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich).

Preparación y síntesis de la emulsión

Se prepararon dos lotes de emulsiones, el primero a partir de una mezcla que contenía: 5.6 g de solución con una mezcla de CMC al 5%, 1.4 g solución de CaCl_2 0.5 M y 3.0 g de extractante (Cyphos IL 101); el segundo constituido de la mezcla dispersante anterior más gelatina al 2%, ambos a 25 °C, usando un homogeneizador Ultraturrax T-25 marca IKA, a una velocidad de rotación de 3200 rpm, durante tres minutos. Una vez lista, se realizaron estudios de índice de formación de crema, microscopía óptica (microscopio óptico Leica, DMLS) y con el software de análisis de imágenes ImageJ, se determinó el tamaño promedio de los glóbulos de LI presentes en la emulsión.

Fabricación de microcápsulas

Los materiales se fabricaron mediante el proceso de gelificación inversa, partiendo de la emulsión previamente descrita, la cual, fue extruída mediante una técnica de goteo con

una jeringa y una aguja de diámetro interno de 0.25 mm, en una solución de alginato de sodio al 0.2%, durante tres minutos, etapa en la que se produce la gelificación inversa, en la cual los iones calcio migran del interior hacia la superficie de las gotas y reaccionan con el alginato de sodio, generando de esta manera el recubrimiento de alginato de calcio en las microcápsulas. Posteriormente, el material se retiró de la solución de alginato y se lavó con agua para retirar el exceso de este. El siguiente paso fue la etapa de curado, donde las MC son dispersadas en una solución de CaCl_2 0.5 M, durante 4 horas, para dar firmeza al recubrimiento. Finalmente, los materiales fueron retirados de la solución, y se colocaron en una solución de CaCl_2 0.1 M para su almacenamiento [3].

Estudio termodinámico y cinético de extracción de Au (III)

Los estudios de extracción de Au(III) se llevaron a cabo bajo condiciones estacionarias, en discontinuo (tipo batch), empleando una incubadora tipo ping pong, INO650V-7 (SEV), agitando las muestras a 150 rpm, a una temperatura controlada de 20 ± 1 °C [3].

Para los estudios cinéticos, se utilizaron soluciones de Au(III) en concentraciones de 180 mg L^{-1} , aproximadamente, en 100 mL de HCl 0.1 M. Se pesaron 0.200 g de microcápsulas que contaban con 4 h, 2, 6 y 9 semanas de haber sido fabricados y se pusieron en agitación con la solución durante cuatro días, colectando muestras a tiempos preestablecidos para posteriormente determinar la concentración de Au en la solución.

Para las isotermas de sorción de Au(III) se pesaron 0.0200 g de MC y se agregaron 10 mL de soluciones de Au(III) desde 162 hasta 377 mg L^{-1} , bajo las mismas condiciones de agitación y temperatura anteriormente mencionadas, durante siete días. Posteriormente, se cuantificó el contenido del metal en la solución.

La concentración de Au(III) se determinó empleando un Espectrofotómetro UV-Vis VARIAN Cary 50 Probe, usando una celda de cuarzo y una longitud de onda de 314 nm. La cantidad del metal adsorbido fue calculada por balance de masa con la Ecuación (2):

$$q_t = (C_0 - C_t)V/m \quad (2)$$

donde C_0 y C_t (mg L^{-1}), son la concentración de Au(III) inicial y a diferentes tiempos, respectivamente; V es el volumen de la solución (L) ; y m la masa de las MC (g) [3].

El modelo de Zhu y Sengupta fue usado para determinar el coeficiente de difusión intraparticular (D_i , $\text{m}^2 \text{ min}^{-1}$), para el cual se obtuvo el mejor ajuste entre los valores experimentales de la fracción de aproximación al equilibrio (q_t/q_{eq}) y los calculados con el modelo, donde q_t y q_{eq} son la concentración de Au en las MC a un tiempo t y en el equilibrio (mg g^{-1}), respectivamente [3].

Las isotermas de sorción fueron modeladas mediante la Ecuación de Langmuir:

$$q_{eq} = (q_m b C_{eq}) / (1 + b C_{eq}) \quad (3)$$

donde q_m (mg g^{-1}) es la capacidad máxima de sorción; b (L mg^{-1}) es un parámetro relacionado con entalpía de sorción; y C_{eq} (mg L^{-1}) es la concentración de Au(III) en solución en equilibrio con las MC. Los parámetros característicos de la ecuación (q_m y b) fueron determinados mediante regresión no lineal [3].

Resultados y Discusión

En la Figura 1, se muestran las micrografías de las emulsiones obtenidas inmediatamente después de su preparación con A) CMC y B) CMC/G. Las gotas del LI en la emulsión con CMC tienen un diámetro promedio de $7.24 \mu\text{m}$, con una desviación estándar de $1.91 \mu\text{m}$ (representado como $7.24 \pm 1.91 \mu\text{m}$). En cambio, el tamaño inicial de las gotas de LI en la emulsión fabricada con CMC/G es notoriamente menor, observándose también una menor dispersión de tamaño ($2.39 \pm 0.35 \mu\text{m}$).

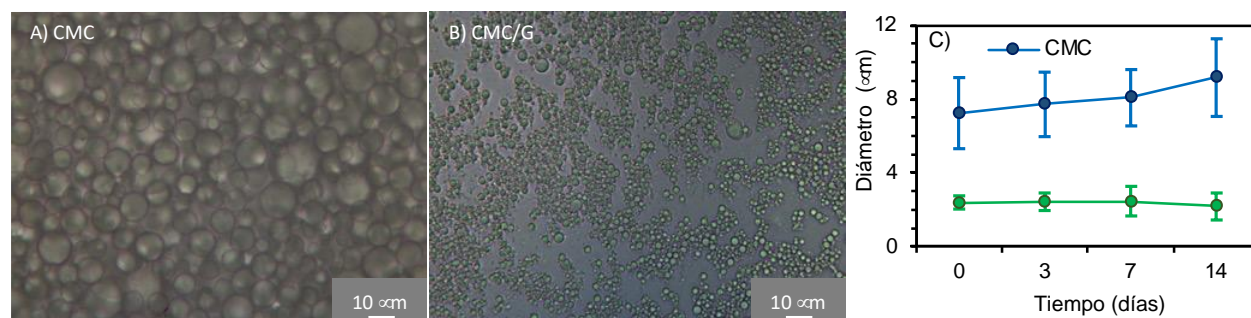


Figura 10. Micrografías de emulsiones inmediatamente después de su preparación, A) únicamente con CMC como emulsificante; B) con CMC/G. C) Gráfico de tamaños de gota de extractante en la emulsión (diámetro \pm desviación estándar) en función del tiempo de almacenamiento de las emulsiones.

En la Figura 1C, se presenta como varía el tamaño de gota de LI en la emulsión, en función del tiempo de almacenamiento (tiempo transcurrido después de la fabricación de la emulsión). Para el caso de la emulsión con CMC, el tamaño de gota muestra una tendencia a incrementarse con el tiempo, hasta $9.18 \pm 2.11 \mu\text{m}$, después de 14 días de almacenamiento, lo cual es indicativo de un deterioro progresivo de la emulsión, debido probablemente a fenómenos de coalescencia. Por el contrario, el tamaño de las gotas de LI en las emulsiones con CMC/G prácticamente no cambió, durante los primeros 14 días, evidenciando una mayor estabilidad. Durante este tiempo, ninguna de las dos emulsiones mostró deterioro evidente en las pruebas de índice de formación de crema.

En la Figura 2, se presentan las imágenes de las MC obtenidas con ambas emulsiones, después de 4 horas y 9 semanas de su fabricación, antes y después de la extracción de Au(III). Las MC inicialmente tiene una apariencia similar: esféricas, ligeramente ovaladas, con un diámetro de aproximadamente 2.5 mm , observándose al interior una emulsión aparentemente homogénea. Sin embargo, después de 9 semanas, se observa una evidente separación de fases en el interior de las MC con CMC, lo cual se hace más evidente después de la extracción de Au(III), tomando un color amarillo la porción en

donde se encuentra el Au(III) asociado al LI. En el caso de las MC con CMC/G, la emulsión en el interior es más homogénea, evidenciando una mayor estabilidad.

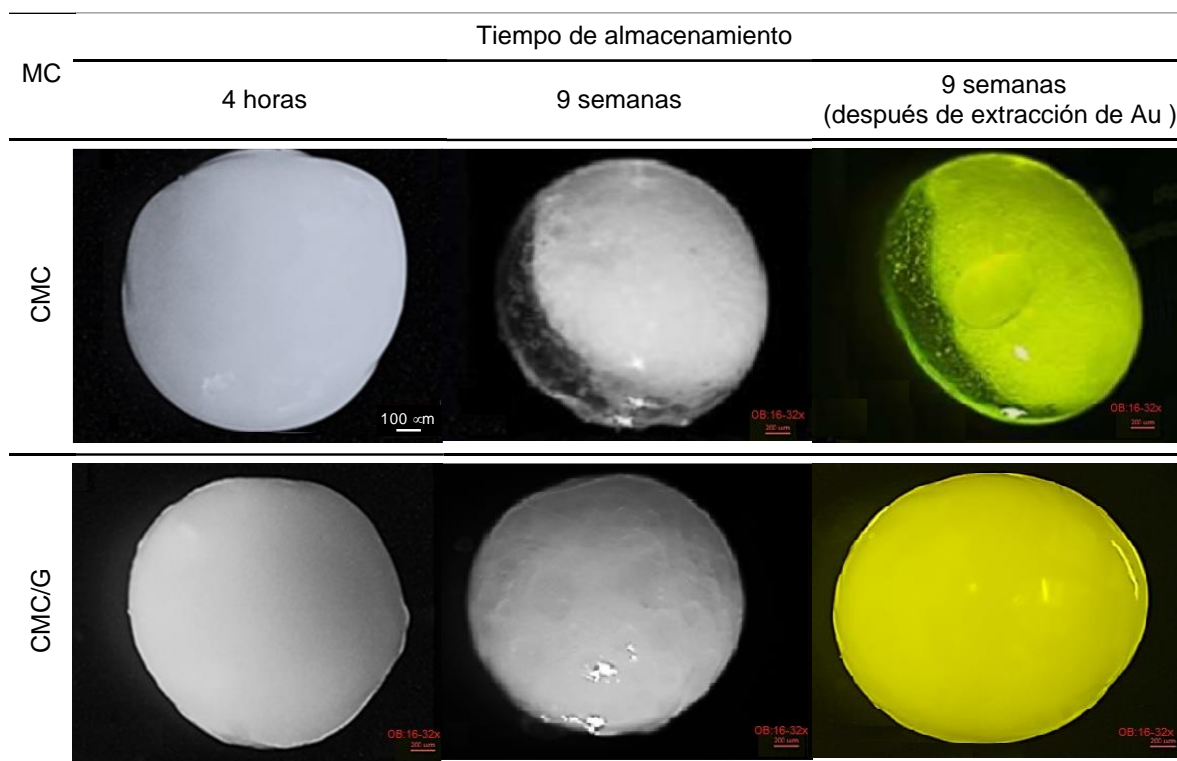


Figura 2. Micrografías de MC con CMC y CMC/G, después de 4 h y 9 semanas de almacenamiento, antes y después de la extracción de Au(III).

En la Figura 3, se presentan los resultados del estudio cinético de extracción de Au(III) con las MC fabricadas con CMC/G, después de diferentes tiempos de almacenamiento (4h, 2, 6 y 9 semanas). En la Figura 3A, se presenta la fracción residual de Au(III) en solución (C_t/C_0), en función del tiempo de extracción, observándose en todos los casos, un buen ajuste entre los datos experimentales (símbolos) y el modelo (línea continua), así como una disminución rápida y luego más lenta hasta alcanzar el equilibrio con valores $(C_t/C_0)_{eq}$ de 0.32 para las MC recién preparadas (4 h) e incrementándose hasta valores de 0.35 para MC de 9 semanas, lo cual muestra una pequeña disminución de la eficiencia de extracción al aumentar el tiempo de almacenamiento de las MC. También, se observa que la velocidad de sorción disminuye ligeramente con para las MC con mayor tiempo de almacenamiento. Esto se hace más evidente en la Figura 3B, en donde se muestra la fracción de aproximación al equilibrio (q_t/q_{eq}) en función del tiempo de extracción para MC con diferentes tiempos de almacenamiento, requiriéndose de mayor tiempo para alcanzar el equilibrio ($q_t/q_{eq}=1$), para MC con mayor tiempo de almacenamiento. Esto es congruente con la disminución de los valores de los coeficientes

de difusión intraparticular (mayor resistencia a la transferencia de masa) con el tiempo de almacenamiento (Tabla 1).

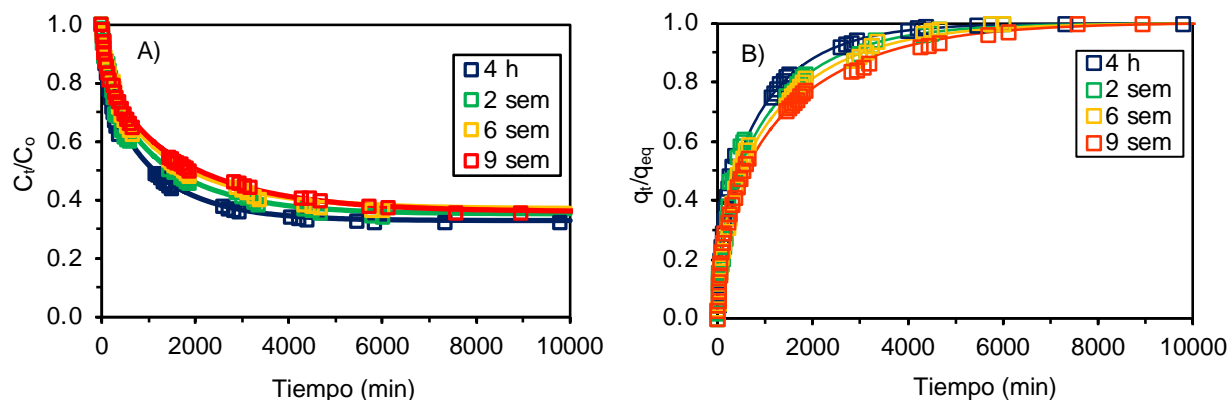


Figura 3. Cinética de extracción de Au(III) mostrando A) la fracción residual del metal en solución (C_t/C_0) y B) la fracción de aproximación al equilibrio (q_t/q_{eq}), en función del tiempo de extracción. MC CMC/G después de 4 h, 2, 6 y 9 semanas de su fabricación. Condiciones de extracción; $m/V= 2.0 \text{ g L}^{-1}$; $[\text{HCl}]= 0.1 \text{ M}$; $T= 20^\circ\text{C}$. $C_0(4 \text{ h})= 188 \text{ mg L}^{-1}$, $C_0(2 \text{ semanas})= 179 \text{ mg L}^{-1}$, $C_0(6 \text{ semanas})= 172 \text{ mg L}^{-1}$ y $C_0(9 \text{ semanas})= 181 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas el modelado.

En la Figura 4, se presentan las isotermas de sorción de Au(III) obtenidas para las MC con CMC/G después de diferentes tiempos de almacenamiento. Las capacidades máximas de extracción (Tabla 1) son mayores para las MC recién preparadas (92.5 mg g^{-1}) y disminuyen ligeramente y de manera gradual con el tiempo de almacenamiento de las MC, alcanzando valores de 88.1 mg g^{-1} , después de 9 semanas de almacenamiento. En general, se observó una ligera disminución en el desempeño de las MC con CMC/G al aumentar el tiempo de almacenamiento, probablemente debido a pequeño deterioro progresivo de la emulsión en el interior de las MC, lo cual se hizo evidente al observarse un incremento en el tamaño de gota de LI en el interior de la MC.

Sin embargo, todos estos cambios fueron mucho más drásticos en las MC fabricadas solamente con CMC sin G (resultados no mostrados). Por ejemplo, la fracción residual de metal en solución en equilibrio, se incrementó desde 0.047 hasta 0.190, para tiempos de almacenamiento de 4 h y 9 semanas, respectivamente. La velocidad de extracción y los coeficientes de difusión también mostraron disminuciones importantes. De manera similar, la capacidad máxima de sorción disminuyó desde 112.6 hasta 95.9 mg g^{-1} , para el mismo periodo.

Estos efectos pueden ser atribuidos a un mayor crecimiento de las gotas de LI en el interior de las MC, debido a fenómenos de coalescencia, de manera que, a mayor tamaño de gota de LI, hay una menor accesibilidad del LI y una mayor resistencia a la transferencia de masa.

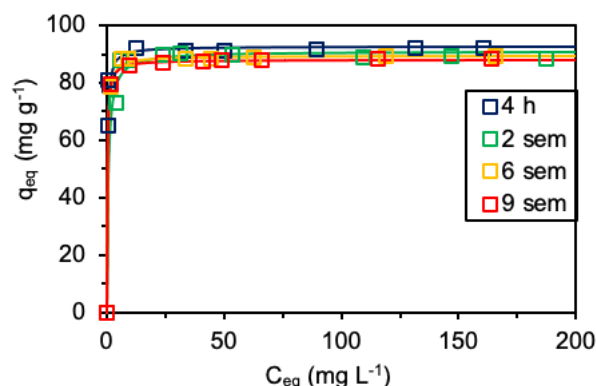


Figura 4. Isotermas de extracción de Au(III) con MC fabricadas con CMC/G, después de 4 h, 2, 6 y 9 semanas de almacenamiento. Condiciones de extracción: [HCl]= 0.1 M, T= 20°C, m/V= 2.0 g L⁻¹.

Tabla 1. Parámetros obtenidos con las cinéticas y las isotermas de sorción de Au(III). MC fabricadas con CMC/G, después de 4 h, 2, 6 y 9 semanas de almacenamiento. Condiciones de extracción descritas en las Figuras 3 y 4.

Tiempo	Diámetro	C _f /C ₀	D _i	q _m	b
	MC (mm)		(10 ⁻¹¹ m ² min ⁻¹)	(mg g ⁻¹)	(L mg ⁻¹)
4 h	2.47	0.32	12.56	92.5	4.23
2 sem	2.44	0.34	10.14	90.9	1.66
6 sem	2.46	0.36	9.07	89.5	3.95
9 sem	2.46	0.35	7.85	88.1	4.82

Conclusiones

Se fabricaron materiales a base de Cyphos IL 101 encapsulado con alginato por gelificación inversa, utilizando una emulsión con carboximetilcelulosa y gelatina (CMC/G) y se comparó la estabilidad de la emulsión y el desempeño de las MC en la extracción de Au(III), con respecto a materiales similares preparados sin gelatina. Las emulsiones y las MC con MCMC/G mostraron una mayor estabilidad. Al incrementarse el tiempo de fabricación, ambos materiales muestran una disminución de la capacidad y la velocidad de extracción, pero estas variaciones son menores para las MC con CMC/G, las cuales se mantienen relativamente estables durante al menos 9 semanas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Guanajuato (CIIC 228/2023) y al Laboratorio Nacional LACAPFEM, por el apoyo para la realización de este estudio.

Referencias

- [1] R. Gareth Charle, P. Douglas, I. Liv Hallin, I. Matthews G. Liversage. Waste Management. **60**, 505-520 (2017).
- [2] R. Navarro Mendoza, I. Saucedo Medina, M. A. Lira Hernández, E. Guibal. Separation Science and Technology. **45**, 1950–1962 (2010).
- [3] R. Navarro Mendoza, L. K. Miranda Navarrete, E. Salazar Calderón, S. Ramírez López, J. Morales Aguilar, L. Hernández Perales. Pádi. **11**, 68–75 (2023).
- [4] T. Mason, J. Wilking, K. Meleson, C. Chang, S. Graves. Journal of Physics: Condensed Matter. **18**, R635–R666 (2006).

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL MONÓMERO ALIL 4 – HIDROXIFENILCARBAMATO (A4HPHC)

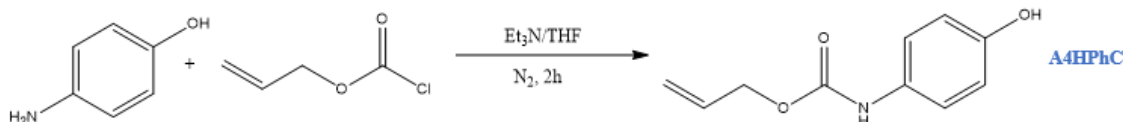
Irma Núñez Méndez^{a*}, Delia López Velázquez^b

^aPosgrado en Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Boulevard de la 14 Sur y Avenida San Claudio, Cd. Universitaria (Antiguo edificio de la Facultad de Ciencias Químicas) Col San Manuel. Puebla, Pue., C.P.72500. Tel: +52 (222) 229 55 00 ext.7530, e-mail: s132.irmit@gmail.com

^bFacultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Boulevard de la 14 Sur y Avenida San Claudio, Cd. Universitaria (Antiguo edificio de la Facultad de Ciencias Químicas) Col San Manuel. Puebla, Pue., C.P.72500. Tel: +52 (222) 229 55 00 ext.7530, e-mail: delia.lopez@correo.buap.mx

Introducción

En la actualidad se dispone de un número cada vez creciente de polímeros para satisfacer las diversas necesidades del ser humano [1]. Entre los cuales se encuentran polímeros funcionales que representan la clase de materiales con propiedades únicas en una variedad de campos [2]. Las propiedades de dichos materiales a menudo están determinadas por la presencia de grupos funcionales químicos que son diferentes a los de las cadenas principales, estos grupos funcionales les otorgan a los polímeros, diferente reactividad frente a distintos agentes e introducen nuevas propiedades o potencian propiedades ya presentes [3]. Estos polímeros tienen aplicaciones que incluyen polímeros inteligentes, polímeros con memoria de forma, polímeros autorreparables, biopolímeros, membranas, pinturas, recubrimientos, implantes compuestos, etc. [2,4-6]. En la literatura existen pocos estudios de polímeros funcionales con grupos fenol y uretano, por esta razón en esta investigación trabajamos con un compuesto polifuncional alil 4-hidroxifenilcarbamato (A4HPHC), el cual se podría polimerizar para obtener nuevos copolímeros con propiedades relacionadas con el grupo fenol y el grupo uretano. El A4HPHC se obtiene mediante una reacción de Schotten-Baumann [7], haciendo reaccionar 4-amino fenol y clorofomato de alilo en presencia de un medio básico (Esquema 1). La estructura química del alil 4-hidroxifenilcarbamato (A4HPHC), se elucidó por técnicas espectroscópicas FTIR, RMN ¹H, ¹³C y UV-Vis.



Esquema 1. Reacción general del A4HPHC.

Parte experimental

Para la síntesis del A4HPHC, en matraz de 250 mL de dos bocas se hace pasar flujo de N₂, se colocaron 40 mL de THF y 2 g (18.3 mmol) de 4-aminofenol y un agitador magnético. Posteriormente se añadieron 2.55 mL (18.3 mmol) de Et₃N, se deja en agitación por 10 min, pasado este tiempo la reacción se lleva a 0°C y se empieza la

adición gota a gota de 1.94 mL (18.3 mmol) de cloroformiato de alilo. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Al finalizar la reacción se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna con un sistema 7:3 (hexano - acetato de etilo) y se evapora la mayor parte de disolvente a presión reducida, finalmente se precipita en hexano formándose un sólido blanco, se filtra y se deja secar en la estufa a 60°C, obteniéndose un sólido cristalino (Figura 1a), con un punto de fusión de 112°C (Rendimiento 89%). Por recristalización se logró la preparación del monocristal (Figura 2b).

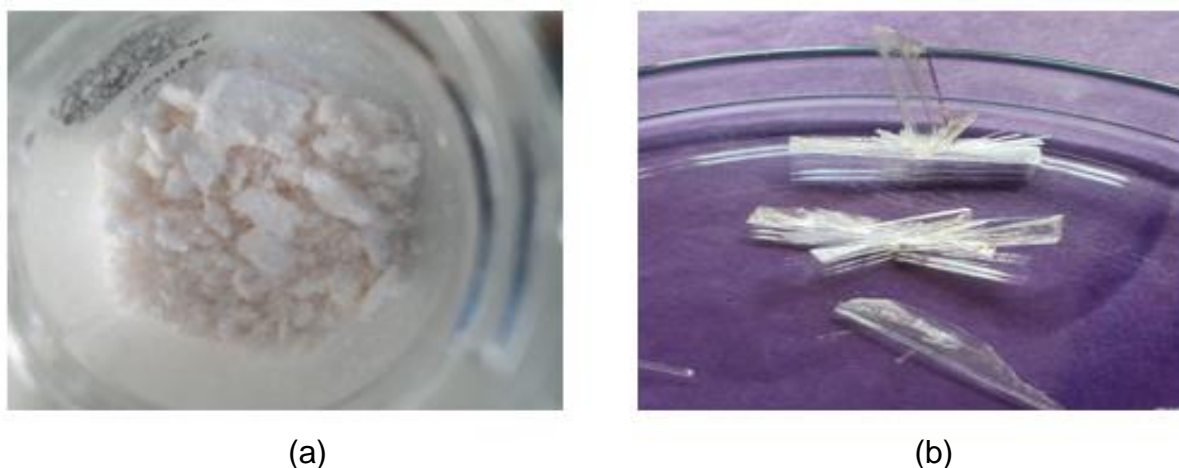


Figura 1. Compuesto alil 4-hidroxifenilcarbamato (A4HPHC). a) Sólido cristalino del A4HPHC obtenido por precipitación en hexano. a) Cristales del A4HPHC obtenidos por recristalización.

Para hacer el estudio de UV-Vis empleamos un espectrofotómetro UV-Vis marca HACH, Los espectros fueron medidos de 200-800 nm para la selección de la longitud de onda de trabajo y se utilizaron celdas de cuarzo de longitud 0.5cm.

Preparamos una solución stock del A4HPHC con una concentración $C_0 = 1.03 \times 10^{-3}$ en acetonitrilo HPLC, a partir de esa solución se hicieron las diluciones en acetonitrilo HPLC y consecutivamente las mediciones de absorbancia (Tabla 1).

Tabla 1. Mediciones de la absorbancia de las diluciones realizadas.

Dilución	Concentración [M]	Absorbancia (235 nm)	Absorbancia (287 nm)
$\frac{3}{4} C_0$	7.725×10^{-4}	3.646	1.132
$\frac{1}{2} C_0$	5.15×10^{-4}	3.376	0.782
$\frac{1}{4} C_0$	2.575×10^{-4}	1.971	0.420
$\frac{1}{5} C_0$	2.06×10^{-4}	1.55	0.368

Resultados y discusión

La confirmación de la estructura química del A4HPhC se hizo mediante espectroscopia FTIR, RMN ^1H y ^{13}C . La ruta de síntesis del A4HPhC se representa en el Esquema 1, debido a la presencia del aromático y uretano se realizó un estudio de UV-Vis para saber en qué región del espectro UV-Vis (Figura 5) absorbe el A4HPhC y calcular el coeficiente de absortividad molar.

FTIR (ATR) ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 3335(O-H estiramiento), 3331(N-H grupo uretano), 3061 (aromático =C-H), 2955 (C-H sp^3), 1691 (grupo carbonilo C=O estiramiento), 1660 (C=C alqueno), 1510 (C=C, aromático), 1434 (-CH₂- metileno), 1300-1050 (O-C=O estiramiento simétrico y asimétrico), 1248 (=C-O-C-), 991 (=CH₂), 794 (aromático). En este espectro de IR (Figura 2) observamos las bandas características de los grupos funcionales que contiene el A4HPhC, que están de acuerdo con su estructura esperada. La aparición de la banda asignada al grupo carbonilo del uretano, es la evidencia más importante que confirma la obtención del A4HPhC.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO, $\delta = \text{ppm}$): 9.37 (1H, s, H-d), 9.10 (1H, s, H-a), 7.23 – 7.22 (2H, d, H-c), 6.69 – 6.66 (2H, dt, H-b), 6.0 – 5.93 (1H, m, H-f), 5.36 – 5.32 (1H, d, H-g'), 5.23 – 5.20 (1H, dd, H-g), 4.57 – 4.56 (1H, d, H-e). En el espectro de RMN ^1H (figura 3) se observan la señal característica de los protones del grupo alilo (4.5-6 ppm), del grupo hidroxilo (9.10 ppm) y del grupo uretano (9.37 ppm).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl₃, $\delta = \text{ppm}$): 153.87 (C-a), 153.33 (C-f), 133.99 (C-h), 131.01 (C-j), 120.58 (C-d,e), 117.79 (C-i), 115.61 (C-b,c), 64.85 (C-g). En el espectro de RMN ^{13}C (figura 4), se observa la señal característica del carbonilo (153.33 ppm) del grupo uretano, confirmando la estructura química del A4HPhC.

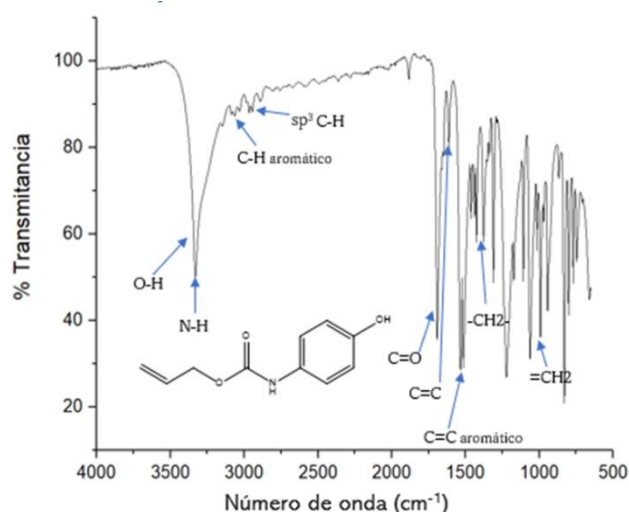


Figura 2. Espectro de FTIR del A4HPhC (muestra sólida).

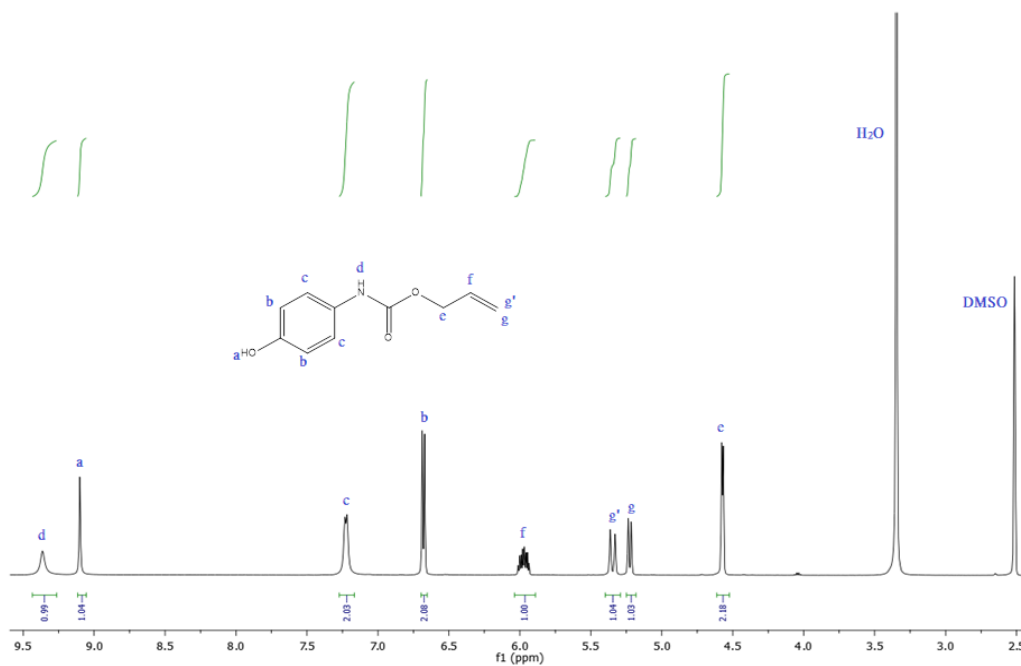


Figura 3. Espectro de RMN ¹H, (500 MHz, DMSO) del A4HPPhC.

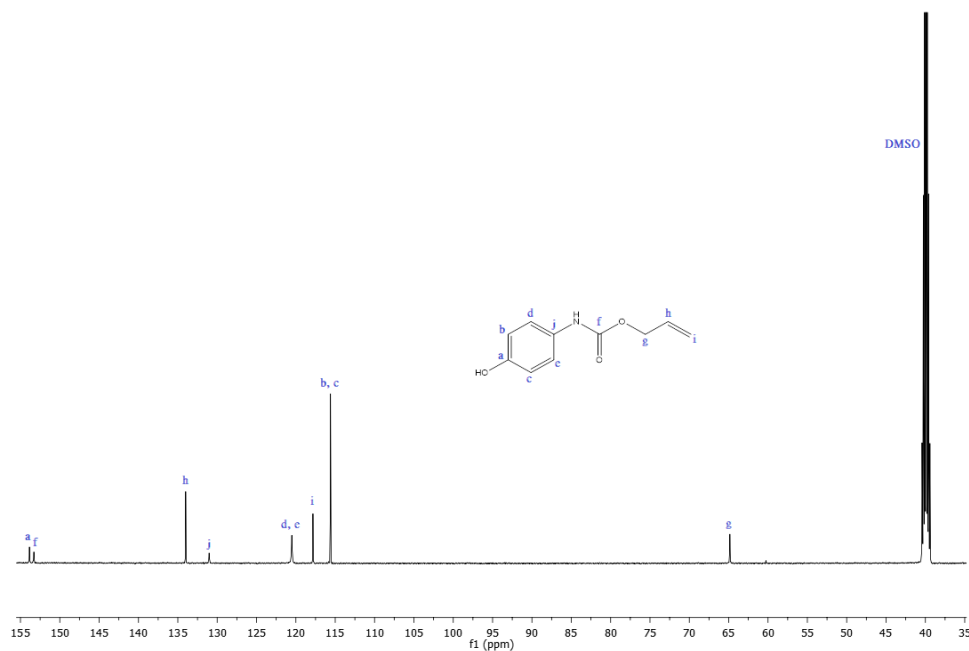


Figura 4. Espectro de RMN ¹³C, (500 MHz, DMSO) del A4HPPhC.

En la Figura 5 se muestran los espectros de absorción de UV-Vis del A4HPhC de acuerdo con cada una de las diluciones (Tabla 1), El A4HPhC presenta dos bandas de absorción a 235 y 287 nm, la banda de absorción a 235 nm se caracteriza por tener una mayor absorbancia, la absorptividad molar se obtuvo por el método gráfico con la ley de Lambert – Beer (Ecuación 1), graficando los valores absorbancia & concentración obtenemos la ecuación de la recta (Ecuación 2).

$$A = \epsilon l C \quad (1)$$

$$y = 1363.5x + 0.0789 \quad (2)$$

Partiendo del valor de la pendiente de la línea recta calculamos el coeficiente de absorptividad molar, la Ecuación 2 es para 287 nm, siguiendo el mismo procedimiento se calcula a 235nm. Los valores de absorptividad molar se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de absorptividad molar del A4HPhC.

Concentración [M]	Absorbancia (235 nm)	Absorbancia (287 nm)
7.725×10^{-4}	3.646	1.132
5.15×10^{-4}	3.376	0.782
2.575×10^{-4}	1.971	0.420
2.06×10^{-4}	1.55	0.368
$\epsilon \text{ (M}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{)}$	7510	2727

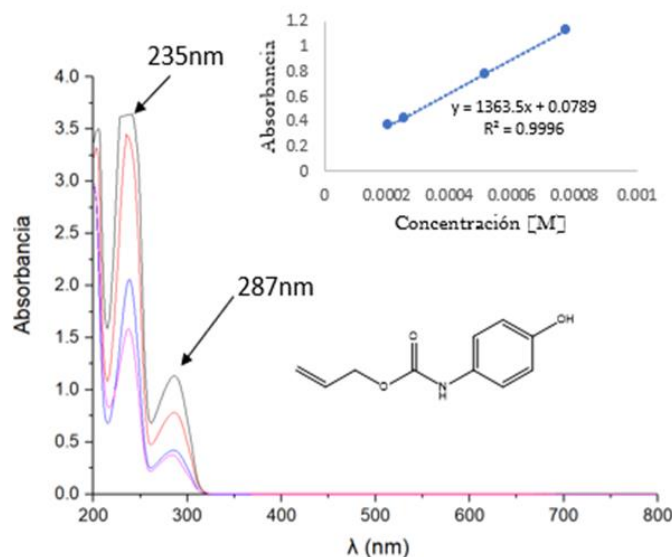


Figura 5. Espectro de UV-Vis del A4HPhC en ACN.

Conclusión

Se ha sintetizado el compuesto alil 4-hidroxifenilcarbamato y la estructura química se confirmó por FTIR y RMN de ^1H y ^{13}C . Con el estudio de UV-Vis se calculó la absorptividad molar del A4HPHC. Este compuesto alil 4-hidroxifenilcarbamato es la materia prima para obtener nuevos materiales de alto y bajo peso molecular. Actualmente se investiga en nuestro laboratorio la obtención de copolímeros del compuesto alil 4-hidroxifenilcarbamato, también se encuentra en estudio la determinación de su estructura cristalina por difracción de rayos X de monocristal.

Agradecimientos

A CONAHCYT por el apoyo económico que me brinda para realización de esta investigación.

Referencias

- [1]. J. Coreño-Alonso, M.A. Educación química, **21**, [4], 291-299 (2023).
- [2]. K. Shaker, A. Hafeez. Introduction to "Advanced Functional Polymers: Synthesis to Applications". Springer. Singapore (2023).
- [3]. M. Martinelli, P. Froimowicz, M. Calderón, M. Strumia. Revista Iberoamericana de polímeros, **4**, [4], 30-47 (2003).
- [4]. Y. El-Ghoul, F.M. Alminderej, F.M. Alsubaie, R. Alrasheed, N.H. Almousa NH. Polymers, **13**, [4], 4327 (2021).
- [5]. M.-S. Hossein, I. Amdjadi, M. Mohajeri, M. Z. Igbal, A. Wu, M. Mazafaru. Advance Functional Polymers for Biomedical Applications. Elsevier. (2019).
- [6]. L. Si-Ting, W. Chung-Chi, C. Chi-Jung, N. Yasuyuki, L. A. Kun-Yi, H. Chih-Feng. International Journal of Molecular Sciences, **21**, [24], (2020)
- [7]. R. T. Morrison, R. N. Boyd. Química orgánica. Pearson. Argentina. (1988)
- [8]. G. Odian. *Principles of Polymerization*. John Wiley & Sons. E. U. (2004).

DESARROLLO DE UN HIDROGEL DE ACRILAMIDA FUNCIONALIZADO CON ALIQUAT 336 PARA LA ELIMINACIÓN DE CADMIO EN MUESTRAS ACUOSAS

Yair Ordoñez Carbajal, Carlos Andrés Galán Vidal, Israel Samuel Ibarra Ortega, Rosa Luz Camacho Mendoza, Salvador Pérez Estrada, Irma Pérez Silva*

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: 7717172000 ext 2217, e-mail: iperez@uaeh.edu.mx

Introducción

Un hidrogel es un material polimérico con estructura tridimensional que posee diversos grupos funcionales tales como -OH, -NH₂, -COOH, -SO₃H y -CONH₂ lo cual permite que sean excelentes adsorbentes. Dentro de sus aplicaciones se encuentra la recuperación de petróleo secundario, la estabilización de la sedimentación mineral, la purificación de aguas residuales y la extracción de metales [1,2]. El principal inconveniente que presentan es su baja selectividad por lo que, pueden ser modificados mediante un proceso de copolimerización de monómeros o bien por una postmodificación [2-4]. Lo anterior ha permitido que tengan una gran capacidad de retención de líquidos y una buena difusión de los solutos en su estructura [3].

Considerando lo anterior en el presente trabajo se preparó un hidrogel funcionalizado (HF) útil para la adsorción de cadmio a partir de una base polimérica de acrilamida entrecruzada con N,N'-Metilenoisacrilamida y funcionalizada con Aliquat 336, empleando una solución de persulfato de amonio como iniciador. Esto debido a que el cadmio es capaz de producir diversos efectos adversos a la salud tales como disfunción renal, degeneración ósea, insuficiencia pulmonar, daño hepático e hipertensión por lo que su tratamiento es fundamental [5].

Parte Experimental

Síntesis del hidrogel funcionalizado (HF)

Para la síntesis del HF se preparó una solución polimérica con diferentes proporciones de monómero (acrilamida, Sigma-Aldrich 99%), entrecruzante (N,N'-metilenoisacrilamida, Sigma-Aldrich 99.5%) e iniciador (persulfato de amonio, Sigma-Aldrich) en 5 mL de etanol comercial. La solución resultante se calentó en baño maría a 65°C por 20 min. Transcurrido este tiempo, se adicionó cierta cantidad de agente extractante (Aliquat 336) previamente disuelto en 3mL de etanol. El calentamiento se mantuvo por un intervalo de 18 hrs. Finalmente el HF obtenido, se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y lavo con agua desionizada para ser secado a 65 °C por 6 hrs y triturado [6].

Caracterización de los hidrogeles

La caracterización del HF se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia infrarrojo con Transformada de Fourier (IR-FT) empleando un equipo JEOL IT-300 y PerkinElmer: Spectrum GX FT-IR System respectivamente.

Evaluación de los parámetros químicos para la adsorción de Cd(II)

Los experimentos de adsorción se realizaron en un sistema *batch* colocando 10 mg de HF elaborado bajo las mejores condiciones con una solución 5 mg L⁻¹ de cadmio (Cd(NO₃)₂·4H₂O, Alyt) en 1 mol L⁻¹ de HCl (J.T. Baker, 36.5-38%) durante cierto periodo de tiempo, el Cd(II) remanente fue determinado por Absorción Atómica por flama con un equipo SpectrAA 880 Varian. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados y Discusión

Síntesis del HF

Para determinar las mejores condiciones para la síntesis del hidrogel se llevaron a cabo los experimentos de un diseño factorial 2⁴ con la variables y combinaciones que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Matriz de diseño y resultados del diseño factorial 2⁴.

Experimento	Cantidad de monómero (%m/v)	Entrecruzante (% m/v)	Iniciador (%m/v)	Agente extractante (%m/v)	Adsorción* (%)
1	2.5	0.2	0.2	1.5	4.16 (2.11)
2	5.0	0.2	0.2	1.5	10.16 (8.20)
3	2.5	1.0	0.2	1.5	84.60 (4.92)
4	5.0	1.0	0.2	1.5	78.04 (8.82)
5	2.5	0.2	2.0	1.5	64.45 (4.92)
6	5.0	0.2	2.0	1.5	54.72 (5.53)
7	2.5	1.0	2.0	1.5	85.55 (1.49)
8	5.0	1.0	2.0	1.5	65.93 (8.34)
9	2.5	0.2	0.2	5.0	52.53 (2.44)
10	5.0	0.2	0.2	5.0	55.53 (9.97)
11	2.5	1.0	0.2	5.0	92.56 (4.24)
12	5.0	1.0	0.2	5.0	94.16 (8.49)
13	2.5	0.2	2.0	5.0	34.08 (6.47)
14	5.0	0.2	2.0	5.0	79.35 (4.55)
15	2.5	1.0	2.0	5.0	98.35 (1.71)
16	5.0	1.0	2.0	5.0	81.90 (7.98)

*CV entre paréntesis

De los resultados obtenidos, se puede decir que existe una relación directa entre el porcentaje de adsorción y la cantidad de entrecruzante, ya que, al existir una mayor cantidad de este, se formará una red más entrelazada lo cual puede facilitar la inmovilización del agente extractante, esto también se ve reflejado al modificar la cantidad

de iniciador, ya que a concentraciones altas se facilita la formación de cadenas cortas [7]. Es importante mencionar que una mayor cantidad de monómero aumenta la rigidez del hidrogel debido al incremento de la cantidad de polímeros en su estructura afectando así su capacidad de adsorción [8].

Por otro lado, al ser el agente extractante el encargado de llevar a cabo la adsorción del Cd(II), se pudo observar que, al incrementarlo, la adsorción del metal también lo hace, lo cual se puede atribuir a la generación de una mayor cantidad de sitios activos [9]. De todo lo anterior se puede concluir que las condiciones óptimas de síntesis son: 2.5% (m/v) de monómero, 1% (m/v) de entrecruzante, 0.2% (m/v) de iniciador y 5% (m/v) de agente extractante.

Caracterización de los hidrogeles

La morfología del hidrogel sintetizado bajo las mejores condiciones (sin funcionalizar (HSF, Figura 1a) y funcionalizado (Figura 1b)) fue analizada por SEM. El HSF muestra una superficie heterogénea con poros más pequeños ($\varnothing_{promedio} \sim 11 \mu\text{m}$, $n=40$) que los obtenidos en el HF ($\varnothing_{promedio} \sim 17 \mu\text{m}$, $n=40$) esto puede deberse a que, al no existir el agente extractante en el sistema hay un ligero aumento de la concentración de N,N'-metilenbisacrilamida lo que ocasiona un mayor entrecruzamiento [10]. Es importante mencionar que la Figura 1b muestra la adecuada inmovilización del agente dentro del hidrogel lo cual permite decir que la polimerización fue realizada correctamente.

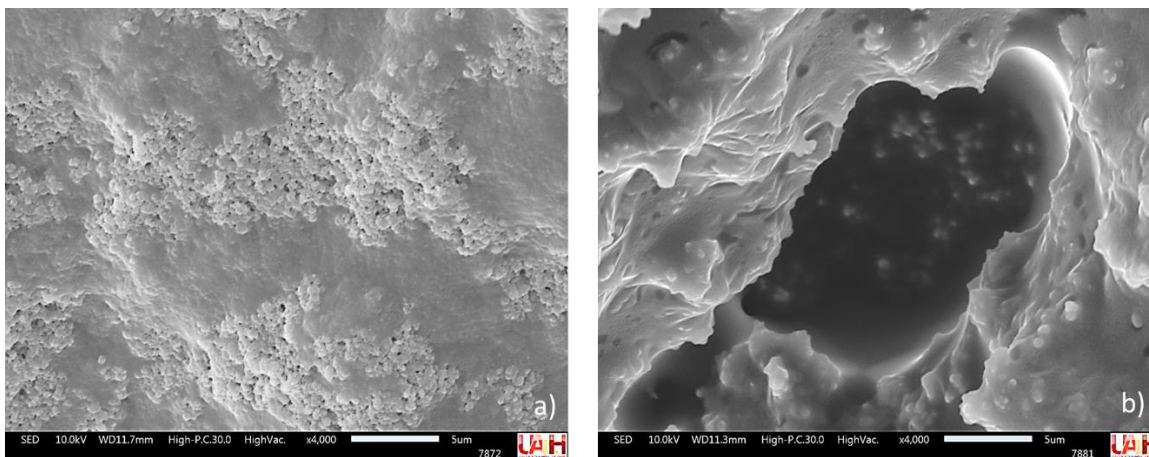


Figura 1. Microfotografía **a)** HSF (2.5% (m/v) de monómero, 1% (m/v) de entrecruzante, 0.2% de iniciador) **b)** HF (2.5% (m/v) de monómero, 1% (m/v) de entrecruzante, 0.2% de iniciador y 5% (m/v) de agente extractante).

Con la finalidad de confirmar la presencia del agente extractante en el HF se obtuvieron los espectros IR mostrados en la Figura 2. Se puede observar que los hidrogeles (HSF (Figura 2a) y HF (Figura 2b)) muestran una banda en 3400 y 3210 cm^{-1} correspondientes al grupo $-\text{NH}$, en 1660 cm^{-1} la típica del estiramiento $-\text{C}=\text{O}$ del grupo carbonilo; en 2931 cm^{-1} la de estiramiento CH_2 y una banda a 1450 cm^{-1} de $\text{C}-\text{N}$ [11]. En la Figura 2c, se

pueden observar las bandas correspondientes al estiramiento C-H (2955 cm^{-1}) y al estiramiento asimétrico y simétrico de CH_3 (2855 y 2926 cm^{-1}) características del agente extractante mismas que presenta el HF, lo cual permite corroborar la presencia del Aliquat 336 dentro del hidrogel.

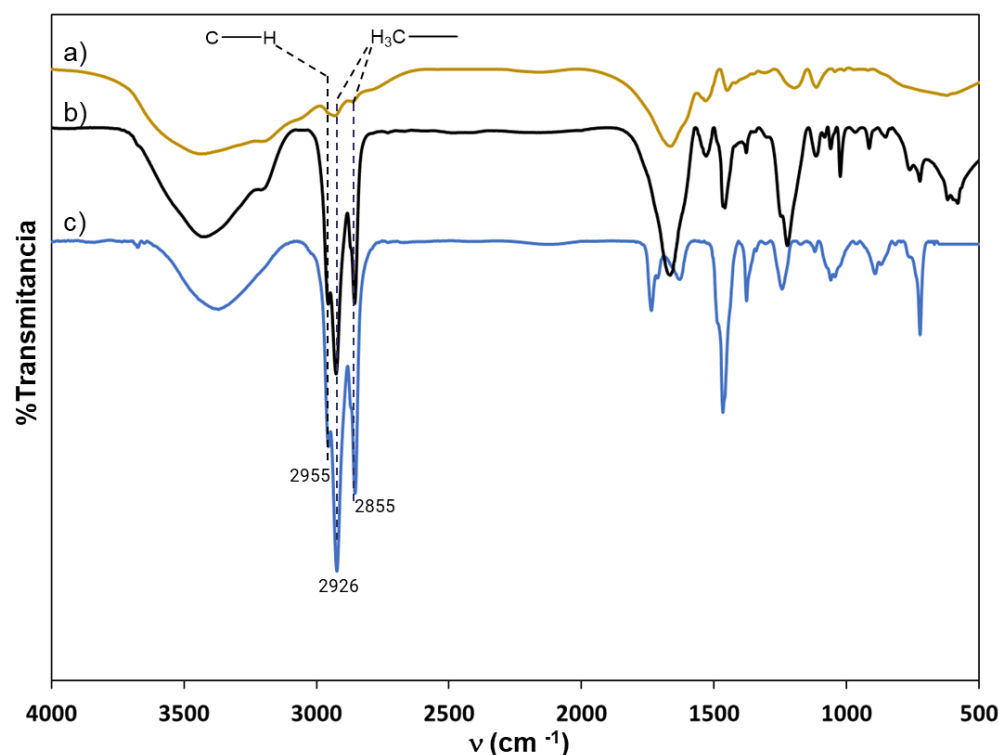


Figura 2. Espectros de infrarrojo. **a)** HSF **b)** HF **c)** agente extractante

Evaluación de los parámetros químicos para la adsorción de Cd(II)

Ya que el Aliquat 336 es un agente extractante por intercambio iónico, es necesario la formación de clorocomplejos de cadmio para poder llevar a cabo el proceso de adsorción [9]. Para realizar lo anterior, se evaluaron diferentes concentraciones de ácido clorhídrico tal y como se muestra en la Figura 3a, donde se puede observar que en ausencia de iones cloruro la adsorción se ve poco favorecida mientras que a partir de concentraciones de 1 mol L^{-1} se alcanza prácticamente el 100% de adsorción, esto puede atribuirse a que, al tener concentraciones altas de cloro en el medio las especies predominantes son el CdCl_3^- y CdCl_4^{2-} , las cuales son las principales responsables del proceso de adsorción [12]. Sin embargo, se seleccionó un valor de 0.25 mol L^{-1} para las siguientes pruebas ya que bajo estas condiciones se podrá ver la influencia de los otros parámetros propuestos. Otro factor a evaluar es la cantidad HF que se pone en contacto con el Cd(II) (Figura 3b). Se puede ver que a medida que se tiene más HF en el sistema, el porcentaje de cadmio adsorbido aumenta ya que se tienen más sitios activos disponibles [13] y ya que el utilizar

una masa superior a los 10 mg no incrementa de manera importante la adsorción de cadmio se utilizará esta cantidad para experimentos posteriores.

Por otro lado, el tiempo de contacto permite saber que tan rápido se lleva a cabo la adsorción del Cd(II) en el HF por lo que se evaluaron tiempos de contacto de 15 a 720 min con lo cual se obtuvo que a partir de 120 min ya es posible adsorber un 83.31% del cadmio presente en la solución mientras que a partir de los 360 minutos se llega al equilibrio (Figura 3c).

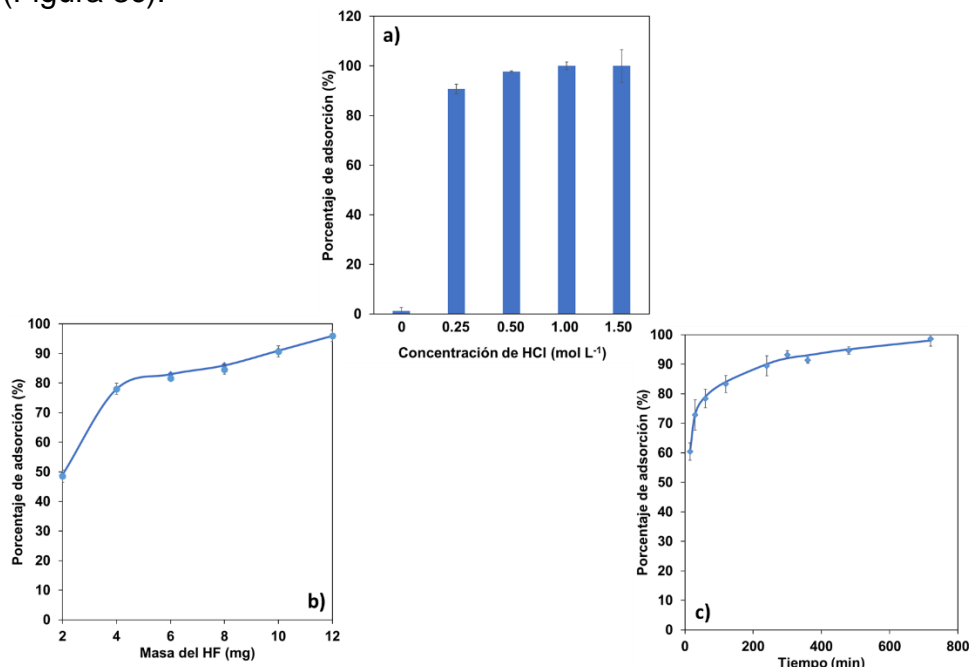


Figura 3. Influencia de diversos parámetros químicos en la adsorción de Cd(II). a) Concentración de HCl en el sistema, b) masa del HF, c) tiempo de contacto.

Eliminación de cadmio en una muestra sintética.

Con la finalidad de conocer cómo se modifica la adsorción de cadmio en el HF, se simuló un agua sintética de un hospital debido a sus actividades y a que diversos fármacos pueden contener metales pesados como impurezas [14]. El agua sintética contenía 6.29 mg L⁻¹ de Pb(II), 3.13 mg L⁻¹ de Cd(II), 1.19 mg L⁻¹ de Cu (II) y 0.09 mg L⁻¹ de Ni (II) acorde a lo reportado por Ahmad & M. Anam [15]. El porcentaje de adsorción de cadmio obtenido fue de 87.39 ± 2.36 % mientras que en un sistema ideal (únicamente cadmio), el porcentaje fue de 84.93 ± 2.38 % lo cual indica que no existe una competencia por los sitios de activos del HF.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que es posible desarrollar un hidrogel de acrilamida con N,N'-Metilénbisacrilamida y funcionalizado con Aliquat 336 para la adsorción de iones cadmio de medios acuosos, encontrando que las condiciones

óptimas de síntesis fueron: 2.5% (m/v) de monómero, 1% (m/v) de entrecruzante, 0.2% (m/v) de iniciador y 5%(m/v) de agente extractante.

También se evaluaron diversos parámetros químicos siendo los mejores resultados: 10 mg de HF en 10 mL de una solución de 5 mg L⁻¹ de Cd(II)/1M de HCl con lo cual fue posible alcanzar aproximadamente un 99% de adsorción.

Finalmente se evaluó el HF en un agua simulada de un hospital observando que no existe interferencia en la adsorción de cadmio debido a la presencia de otros metales pesados en la matriz. Lo anterior muestra que es posible desarrollar un hidrogel selectivo que permita la adsorción de cadmio de manera simple y con bajo consumo de energía.

Referencias

- [1] K. Zhang, X. Luo, L. Yang, Z. Chang, S. Luo. Progress toward hydrogels in removing heavy metals from water: Problems and solutions—A review, **5**, 1098-1116 (2021).
- [2] H. Kasgöz, S. Özgümüş, M. Modified polyacrylamide hydrogels and their application in removal of heavy metal ions, **6**, 1785-1793 (2003).
- [3] M. Pooresmaeil, H. Namazi. Application of polysaccharide-based hydrogels for water treatments, 411-455 (2020).
- [4] W. Wang, Y. Kang A. Wang. One-step fabrication in aqueous solution of a granular alginate-based hydrogel for fast and efficient removal of heavy metal ions, **20**, 1-10 (2013).
- [5] ATSDR (2016). Resumen de Salud Pública: Cadmio (*Cadmium*) [PHS] Recuperado: 7 de julio 2023 de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs5.html
- [6] K. Igarashi, Y. Yamada. Removal of Phenol From an Aqueous Solution Using Hydrogel Incorporated with Extractant Tributyl Phosphate. **10**, 1279-1283 (2004).
- [7] Y. Wangm G. Nian, J. Kim, Z. Suo. Polyacrylamide hydrogels. VI. Synthesis-property relation. Journal of the Mechanics and Physics of Solids, **170**, 1-13 (2023).
- [8] C.M. Ninciuleanu, R. Lanchis, E. Alezandrecu, C.I Mihaescu, C. Scomoroscenco, C.L. Nistor, S. Pectu, M. Teodorescu. The effects of monomer, crosslinking agent, and filler concentrations on the viscoelastic and swelling properties of poly (methacrylic acid) hydrogels: A comparison, **9**, 2305 (2021).
- [9] K. Annane, A. Sahmoune, P. Montels, S. Tingry. Polymer inclusion membrane extraction of cadmium (II) with Aliquat 336 in micro-channel cell, **94**, 605-610 (2015).
- [10] Y. Gombert, F. Roncoroni, A. Sánchez-Ferrer, N.D. Spencer. The hierarchical bulk molecular structure of poly (acrylamide) hydrogels: beyond the fishing net, **42**, 9789-9798 (2020).
- [11] E. Bocos, M. Pazos, M.A. Sanromán. Electro-Fenton decolourization of dyes in batch mode by the use of catalytic activity of iron loaded hydrogels, **8**, 1235-1242 (2014).
- [12] L. Wangm R. Paimin, R.W. Cattrall, W. Shen, S.D. Kolev. The extraction of cadmium (II) and copper (II) from hydrochloric acid solutions using an Aliquat 336/PVC membrane, **1**, 105-111 (2000).

- 13] E. Fosso-Kankeu, H. Mittal, F. Waanders, S. S. Ray. Thermodynamic properties and adsorption behaviour of hydrogel nanocomposites for cadmium removal from mine effluents, **48**, 151-161 (2017).
- [14] F. Nessa, S.A. Khan, K.A. Shawish. Lead, cadmium and nickel contents of some medicinal agents, **1**, 111 (2016)
- [15] R. Ahmad, M. Anam. Facile one pot green synthesis of Chitosan-Iron oxide (CS-Fe₂O₃) nanocomposite: Removal of Pb(II) and Cd(II) from synthetic and industrial wastewater, **186**, 342-352 (2018).

MACHINE LEARNING APLICADO A LA TERMODINÁMICA: ENTALPÍA DE FORMACIÓN, ENTALPÍA DE COMBUSTIÓN Y ENTALPÍA DE SUBLIMACIÓN

María Fernanda Saviñón Flores*, Fausto Díaz Sánchez, Ximena Limón Aguilar, Miguel Ángel García Castro, Jesús Andrés Arzola Flores

Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 18 Sur y Av. San Claudio, C.P. 72570, Puebla Pue, México. Tel: +52 222 229 5500 , e-mail: maria.savinon@alumno.buap.mx

Introducción

Se define a la inteligencia artificial como sistemas complejos que tienen como objetivo el simular comportamientos lo más parecido al de un ser humano, utilizando sistemas automatizados [1]. Dentro de la inteligencia artificial se encuentran los métodos de aprendizaje en los que se incluye Machine Learning, una herramienta que es capaz de resolver problemas que se relacionen con los algoritmos de autoaprendizaje para aplicarlo en la optimización, la automatización y en la predicción de datos [2, 3].

El uso de inteligencia artificial enfocado a la química ha generado conocimiento nuevo en los últimos años, donde Machine Learning ha cobrado gran relevancia desarrollando nuevos algoritmos enfocados a diferentes aplicaciones que van desde la optimización de condiciones de reacción, hasta la predicción de propiedades termoquímicas, optimizando el tiempo y el uso de recursos, pues permite generar información con una menor cantidad de experimentos en comparación con los estudios tradicionales [4, 5].

Algunas de las propiedades termoquímicas que se pueden predecir, son la entalpía de cambio de fase, así como las entalpías de sublimación, vaporización y fusión cuando se caracterizan compuestos a partir de técnicas térmicas, o la entalpía de combustión cuando se caracterizan por técnicas calorimétricas [6].

De esta forma, en este trabajo se describe el uso de Machine Learning para predecir entalpías de combustión, sublimación y de formación en fase cristalina y en fase gaseosa, específicamente para imidas, anhídridos y ácidos carboxílicos, por lo que se desarrolló una metodología que utiliza Regresión Lineal Múltiple (RLM) [7], Regresión de Vectores de Soporte (RVS) y Regresión Kernel Ridge [8]. Los resultados obtenidos para los coeficientes de determinación arrojaron valores mayores a 0.99, indicando un nivel de precisión elevado. Además se hizo una distinción por isomería estructural y por aromaticidad para realizar la estimación de los coeficientes de los grupos funcionales mencionados, lo que permite realizar estimaciones manualmente.

Así mismo, el conjunto de datos concentra únicamente tres grupos funcionales y no se consideran más grupos debido a que se desea evitar la influencia de otros grupos que no tienen una relación significativa entre ellos, de esta forma, la clasificación previa por la que pasan los datos contribuye a que las métricas de evaluación tengan un mejor rendimiento.

Parte Experimental

Se implementó un modelo que se fundamenta en el método de estimación basado en contribuciones de grupos funcionales originalmente propuesto por Benson [9], utilizando Machine Learning para realizar las predicciones. Para construir el conjunto de datos de este trabajo se utilizaron datos experimentales proporcionados por la base de datos del Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología [10], así como datos de diversos artículos encontrados en revistas indexadas al Journal Citation Reports.

Otros trabajos han usado métodos de aprendizaje automático complejos como las redes neuronales, inspirados en el procesamiento de información realizado por un cerebro biológico. A diferencia de ellos, este trabajo utiliza un algoritmo más sencillo que involucra la implementación de algoritmos de Regresión Lineal Múltiple, Regresión de Vectores de Soporte y Regresión Kernel Ridge, lo que permite replicar los modelos de manera sencilla.

Respecto a la regresión lineal múltiple, se trata de un modelo estadístico que realiza la evaluación de las relaciones entre la variable objetivo y los predictores, este modelo se considera lineal debido a que tiene términos aditivos para cada predictor que se multiplica por un coeficiente estimado. La Regresión de Vectores de Soporte se basa en los algoritmos utilizados por las Máquinas de Vectores de Soporte y tiene como objetivo el generar modelos de clasificación. Por otro lado, la Regresión Kernel Ridge se basa en la Regresión de Vectores de Soporte, pero se utilizan diferentes funciones, en lugar de tomar en cuenta al parámetro ϵ , se usa el error cuadrático ordinario, aunado a un parámetro denominado como α , que impone una penalización para el tamaño de los coeficientes, creando una dimensión superior con un nuevo hiperplano. Cabe señalar que al utilizar RLM se usan métricas de evaluación para todos los puntos del conjunto en entrenamiento, considerándose una extensión de la regresión de mínimos cuadrados, mientras que la gran diferencia con RVS, es que esta se limita a una zona del hiperplano que da el parámetro ϵ para ignorar los errores y así obtener una aproximación más precisa debido a que los resultados dependerán de una parte de los datos de entrenamiento. En cada uno de los modelos descritos se plantea a las variables predictoras como las variables dependientes, en las que se usan las contribuciones de grupos. De esta forma, las variables independientes son las que se desean predecir, siendo para cada caso la entalpía de formación en fase gas, en fase cristalina, de sublimación o de combustión.

Se muestran los parámetros para realizar el cálculo de las propiedades termoquímicas previamente especificadas, algunos de estos parámetros son los radicales que serán útiles al momento de identificar la posición de cada uno de ellos dentro de la molécula, así como su grupo base. Otros parámetros destacados son las correcciones que se realizaron por aromaticidad que indican las posiciones *orto*, *meta* y *para* y serán consideradas en el orden de aparición para cada compuesto.

Resultados y Discusión

Las métricas de evaluación que se obtuvieron para el modelo de predicción de la entalpía de formación se presentan en la Tabla 1, aquí se observan los resultados de cada una de las regresiones utilizadas, así como los coeficientes R^2 , el error absoluto medio, la raíz del error cuadrático medio y la desviación estándar del modelo.

Tabla 3. Métricas de evaluación para para $\Delta_f H^\circ$ (g, 298.15K).

MLR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.3101
	0.9994	0.9968		2.3857	8.4072		4.6085	10.4932		
KRR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.3035
	0.9994	0.9965		2.403	9.1024		4.6087	10.9662		
SVR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.2906
	0.9993	0.9959		2.1517	8.4977		5.2669	11.8202		

R^2 : Coeficiente de determinación, MAE: Error Absoluto Medio, RMSE: Raíz del Error Cuadrático Medico, CV: Coeficiente de Variación.

Así mismo, se presentan las métricas de evaluación que se obtuvieron para el modelo de predicción de la entalpía de formación en fase cristalina en la Tabla 2, y se observan los valores obtenidos a partir de las diferentes regresiones. También se reportan los coeficientes R^2 , el error absoluto medio, la raíz del error cuadrático medio y la coeficiente de variación del modelo.

Tabla 4. Métricas de evaluación para para $\Delta_f H^\circ$ (cr, 298.15K).

MLR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.1256
	0.9995	0.9972		3.3004	10.7096		5.3851	14.7127		
KRR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.1158
	0.9995	0.9972		3.3051	10.4398		5.3852	14.5321		
SVR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.1284
	0.9993	0.9965		2.899	12.1305		6.5505	16.465		

R^2 : Coeficiente de determinación, MAE: Error Absoluto Medio, RMSE: Raíz del Error Cuadrático Medico, CV: Coeficiente de Variación.

Los resultados de las métricas de evaluación para los valores predichos de la entalpía de combustión se reportan en la Tabla 3, donde se hace la distinción de los valores obtenidos por cada una de las diferentes regresiones. Nuevamente se reportan los coeficientes R^2 , el error absoluto medio, la raíz del error cuadrático medio y el coeficiente de variación estándar del modelo.

De la misma forma, ahora en la tabla 4 se incluyen los valores de las métricas de evaluación para el modelo predictivo de la entalpía de sublimación. También se observan los coeficientes R^2 , el error absoluto medio, la raíz del error cuadrático medio y el coeficiente de variación del modelo en cada una de las regresiones.

Tabla 5. Métricas de evaluación para para $-\Delta_c H^\circ$ (298.15K).

MLR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.0155
	0.9999	0.9993		4.059	28.5774		6.2658	68.5357		
KRR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.0131
	0.9999	0.999		5.8846	28.0447		7.812	65.626		
SVR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.0134
	0.9999	0.9964		3.4092	27.1622		8.8714	65.8494		

R^2 : Coeficiente de determinación, MAE: Error Absoluto Medio, RMSE: Raíz del Error Cuadrático Medico, CV: Coeficiente de Variación.

Tabla 6. Métricas de evaluación para para $-\Delta_{sub} H^\circ$ (298.15K).

MLR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.5536
	0.9771	0.9734		2.4766	3.9686		3.9974	5.3201		
KRR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.5836
	0.9771	0.9768		2.4766	3.4499		3.9974	4.9666		
SVR										
R^2	Train	Test	MAE	Train	Test	RMSE	Train	Test	CV	0.4751
	0.9656	0.9434		2.3466	5.7237		4.9047	7.7597		

R^2 : Coeficiente de determinación, MAE: Error Absoluto Medio, RMSE: Raíz del Error Cuadrático Medico, CV: Coeficiente de Variación.

Las Tablas 1-4 demuestran que el modelo usado presenta un buen ajuste para los valores que se han deseado predecir. De esta forma, en la Tabla 5 se muestra la comparación de dos diferentes rutas predictivas para llegar a la entalpía de formación en fase gaseosa, en la primera ruta se plantea la diferencia que existe entre los valores experimentales y los predichos. En la segunda ruta se encuentra la sumatoria de la entalpía de sublimación y la entalpía de formación en fase cristalina. Al ver ambas rutas, queda claro que no hay una variación significativa entre estas, pero es importante mencionar que para cierto compuesto puede existir una diferencia mayor que en los otros compuestos reportados, aunque esta sigue siendo mínima. Es así como se recomienda tener en cuenta las dos rutas si se desea tener mayor certeza en los resultados.

De forma semejante, en la tabla 6 se presentan dos diferentes rutas predictivas que se utilizan para obtener la entalpía de formación en fase cristalina. En la cuarta columna se presenta la diferencia que existe entre los valores experimentales y el valor predicho

directamente, así como en la sexta columna se presenta la sumatoria de la entalpía de combustión predicha más la entalpía de formación de H₂O (l) y de CO₂ (g). En algunos compuestos se puede observar que hay una variación entre las rutas, sin embargo los resultados arrojados siguen siendo buenos. Así, con los resultados de ambas rutas y con los valores experimentales, es posible conocer un rango en el que deberían encontrarse los valores.

Tabla 7. Obtención de $\Delta_f H^\circ$ (g) a partir de dos diferentes rutas predictivas.

Compuestos	$\Delta_f H^\circ_{\text{exp}}$ (g)	$\Delta_f H^\circ_{\text{pred}}$ (g)	Δ	$\Delta_f H^\circ_m$ (cr) + $\Delta_{g, cr} H^\circ_{\text{pred}}$	Δ
2-Methylbenzoic acid	-320.6	-318.9	-1.7	-321.1	0.5
2,6-Dimethylbenzoic acid	-341.6	-341.6	0	-337.5	-4.1
2,3,5,6-Tetramethylbenzoic acid	-400.1	-400.5	0.4	-402.4	2.3
Dodecanedioic acid	-976.9	-976.0	-0.9	-981.7	5.1
Benzoic anhydride	-319.0	-319.0	0	-320.5	1.5
Glutaric anhydride	-532.4	-545.7	13.3	-540.2	7.8
Phthalimide	-211.1	-217.4	6.3	-214.0	2.9
N,N'-(1,3-phenylene)bis(phthalimide)	-294.9	-294.9	0	-294.8	-0.1

Tabla 8. Obtención de $\Delta_f H^\circ$ (cr) a partir de dos diferentes rutas predictivas.

Compuestos	$\Delta_f H^\circ_{\text{exp}}$ (cr)	$\Delta_f H^\circ_{\text{pred}}$ (cr)	Δ	$\Delta_f H^\circ_{\text{pred}}$ (cr)	Δ
2-Methylbenzoic acid	-416.5	-417.6	1.1	-420.4	2.8
2,6-Dimethylbenzoic acid	-440.7	-440.7	0	-470.6	29.9
2,3,5,6-Tetramethylbenzoic acid	-506.2	-509.2	3	-507.5	-1.7
Dodecanedioic acid	-1130.0	-1151.2	21.2	-1140.9	- 10.3
Benzoic anhydride	-415.4	-416.7	1.3	-411.9	-4.8
Glutaric anhydride	-618.5	-623.8	5.3	-626	2.2
Phthalimide	-318.0	-317.4	-0.6	-316.5	-0.9
N,N'-(1,3-phenylene)bis(phthalimide)	-461.3	-461.2	-0.1	-460.9	-0.3

Conclusiones

Los métodos convencionales para obtener los valores de entalpía que se mencionan en este trabajo representan un serio problema debido a que en algunos casos se necesita obligatoriamente un conocimiento elevado en matemáticas o se necesitan equipos costosos que requieren largos periodos de cómputo. Es así como se da pauta a la predicción a partir de Machine Learning, ya que se resuelven los problemas mencionados que existen con los métodos convencionales y aunado a esto, se obtienen resultados con altos coeficiente de determinación, convirtiéndose en otra alternativa viable en cuanto a predicciones cada vez más confiables.

Agradecimientos

M.A.G.C. agradece a Conacyt (México) por su beca (número de registro 200481) y agradece a VIEP-BUAP por el apoyo financiero a través del proyecto número 100420555-VIEP2021 “Mecanosíntesis y estudio termoquímico de la o-diimida diácida derivada del anhídrido ftálico.” Los autores agradecen la experiencia técnica y el apoyo proporcionado por el Departamento de Química.

Referencias

- [1] Z. J. Baum, X. Yu, P. Y. Ayala, Y. Zhao, S. P. Watkins, Q. Zhou. Artificial Intelligence in Chemistry: Current Trends and Future Directions. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **61**, 3197–3212, (2021).
- [2] F. Strieth-Kalthoff, F. Sandfort, M. H. S Segler, F. Glorius. Machine Learning the Ropes: Principles, Applications and Directions in Synthetic Chemistry. *Chemical Society Reviews*, **49**, 6154–6168. (2020).
- [3] T. L. Fletcher, S. J. Davie, P. L. A Popelier. Prediction of Intramolecular Polarization of Aromatic Amino Acids Using Kriging Machine Learning. *Journal of Chemical Theory and Computation*. **10**, 3708–3719. (2014).
- [4] N. Choudhary, R. Bharti, R. Sharma. Role of Artificial Intelligence in Chemistry. *Materials Today: Proceedings*. **48**. (2021).
- [5] K. Hansen, F. Biegler, R. Ramakrishnan, W. Pronobis, O. A. von Lilienfeld, K.R Müller, A. Tkatchenko. Machine Learning Predictions of Molecular Properties: Accurate Many-Body Potentials and Nonlocality in Chemical Space. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. **6**, 2326–2331. (2015).
- [6] J. P. Janet, L. Chan, H. J. Kulik. Accelerating Chemical Discovery with Machine Learning: Simulated Evolution of Spin Crossover Complexes with an Artificial Neural Network. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **9**, 1064–1071. (2018).
- [7] H. T. Hoc, R. Silhavy, Z. Prokopova, P. Silhavy. Comparing Multiple Linear Regression, Deep Learning and Multiple Perceptron for Functional Points Estimation. *IEEE Access* **10**, 112187–112198. (2022).
- [8] H. Da, Y. Xie, X. Li, L. Li, Z. Lan, Inclusion of Machine Learning Kernel Ridge Regression Potential Energy Surfaces in On-The-Fly Nonadiabatic Molecular Dynamics Simulation. *Journal of Physical Chemistry Letters*, **9**, 2725–2732. (2018).
- [9] E. S. Domalski, E. D. Hearing, Estimation of the Thermodynamic Properties of C-H-N-O-S-Halogen Compounds at 298.15 K. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **22**, 805–1159. (1993).
- [10] J. D. Cox, G. Plicher, Thermochemistry of organic and organometallic compounds. NIST Chemistry Web Book. 69, (1970).

MACHINE LEARNING APLICADO A LA PREDICCIÓN DE ENTALPÍAS DE COMBUSTIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS INVOLUCRADOS EN EL COMPOSTAJE

María Fernanda Saviñon Flores^{a*}, Fausto Díaz Sánchez^a, Miguel A. García Castro^a,
Jesús Andrés Arzola Flores^a, Esmeralda Vidal Robles^a

^a Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 18 Sur y Av. San Claudio, C.P. 72570, Puebla Pue, Mexico
e-mail: maría.savinson@alumno.buap.mx

Introducción

La descripción del comportamiento de los sistemas de compostaje, ha sido realizada por varios intentos de modelado. Algunos, con enfoque de modelado analítico, como los trabajos de Nakasaki et al., Keener et al., Hamelers, Haug, Lynch y Cherry [1-4]. Otros, con enfoque de modelado numérico, como los desarrollados por Stombaugh y Nokes, Smith y Eilers [5,6]. Dentro de estos trabajos, los autores implementaron modelos de compostaje en pilas aireadas que incluyen degradación del sustrato, temperatura de operación y balances de energía, humedad y oxígeno. Respecto al modelado aplicando balances de energía en el proceso de compostaje, varios grupos de trabajo han desarrollado estos balances haciendo diversas consideraciones. Tal es el caso del trabajo de Khaler y colaboradores [7], quienes desarrollaron un modelo matemático de balance de calor para predecir la temperatura del compost durante la etapa de maduración. Los componentes del balance energético de la pila de compostaje incluyeron: calor ganado (generación de calor y radiación solar) y calor perdido (radiación, evaporación, convección y conducción) a diferentes temperaturas ambientales. El modelo fue capaz de predecir la temperatura de la pila a diferentes temperaturas ambientales y diferentes flujos de aire. Los resultados mostraron que la energía neta ganada a la pila aumenta con el aumento de la temperatura ambiente, mientras que el calor perdido disminuye con el aumento de la temperatura ambiente. Por otra parte, el uso de distintas metodologías como técnicas térmicas y calorimétricas, métodos de estimación y la implementación de nuevas herramientas como la inteligencia artificial han sido empleadas para la determinación, cálculo y/o predicción de propiedades termoquímicas en el estudio u optimización del proceso de compostaje. Una de las propiedades termoquímicas clave involucrada en el desarrollo del balance de energía del proceso de compostaje es la entalpía de combustión ($\Delta_c H$). La cual comúnmente es obtenida de simulaciones numéricas, métodos de estimación y modelos de machine learning y, pocas veces comprobadas con valores experimentales [8]. No obstante, aunque ya se han desarrollado varias estrategias para abordar propiedades termoquímicas del compostaje, en este trabajo se aplicaron los modelos de machine learning: regresión lineal, regresión Lasso y k vecinos cercanos para obtener valores de la predicción, en este caso, la entalpía de combustión [9].

Parte Experimental

Las etapas para la predicción de la entalpía de combustión se llevaron a cabo de la siguiente manera:

- 1) Se obtuvo el conjunto de datos a partir de la información suplementaria del trabajo publicado por Gharagheizi y colaboradores [10], el cual fue complementado con valores experimentales de los compuestos involucrados en el proceso de compostaje. Como variables predictoras se utilizó el estado de agregación del compuesto y la presencia de los diferentes grupos funcionales.
- 2) Se emplearon los modelos regresión lineal, regresión Lasso y k vecinos cercanos, como método de evaluación se seleccionó el método de hold-out (partición 70/30) y, como métricas de evaluación: la raíz del error cuadrático medio (RSME), el coeficiente de determinación (R^2) y el error absoluto medio (MAE) [11].
- 3) Por último, se obtuvieron los gráficos de paridad con el propósito de visualizar la precisión de los modelos de machine learning implementados sobre los conjuntos de entrenamiento y de prueba.

Resultados y Discusión

Las métricas de evaluación obtenidas de la predicción de las entalpías de combustión resultado de la aplicación del k vecinos cercanos al conjunto de datos particionado en subconjunto de entrenamiento y subconjunto de prueba, se resumen en la tabla 1. Algunas de las métricas de evaluación más importantes que permiten conocer la precisión del modelo de machine learning son la raíz del error cuadrático medio (RSME), el error absoluto medio (EAM) y el coeficiente de determinación (R^2), este último alcanzó un valor muy cercano a 1, lo que denota un buen poder predictivo.

Tabla 1. Métricas de evaluación

Modelo de machine learning	R^2	RMSE	MAE	Conjunto
Regresión Lineal	0.9975	99.24	52306.83	Entrenamiento
Regresión Lineal	0.9969	118.06	85269.63	Prueba
Regresión Lasso	0.9974	103.24	54140.92	Entrenamiento
Regresión Lasso	0.9975	114.62	68496.05	Prueba
K vecinos cercanos	0.9947	182.39	114085.41	Entrenamiento
K vecinos cercanos	0.9900	303.94	275422.53	Prueba

R^2 : coeficiente de determinación, RMSE: raíz del error cuadrático medio, EAM: error absoluto medio

Similarmente, los diagramas de paridad que se muestran en las figuras permiten observar un buen ajuste entre los valores experimentales y los valores de predicción, confirmando la precisión del modelo de regresión lineal (figura 1), regresión Lasso (figura 2) y k vecinos cercanos (figura 3).

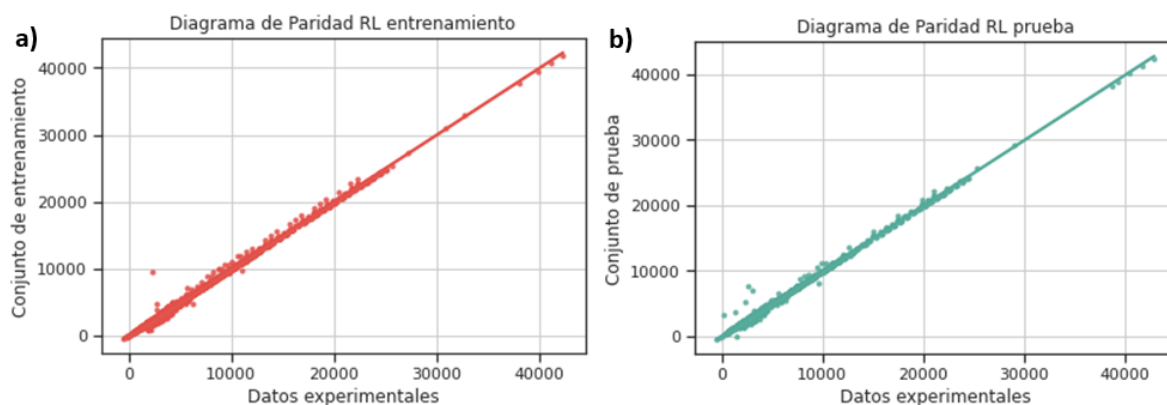


Figura 1. Diagramas de paridad del modelo de regresión lineal a) conjunto de entrenamiento y b) conjunto de prueba.

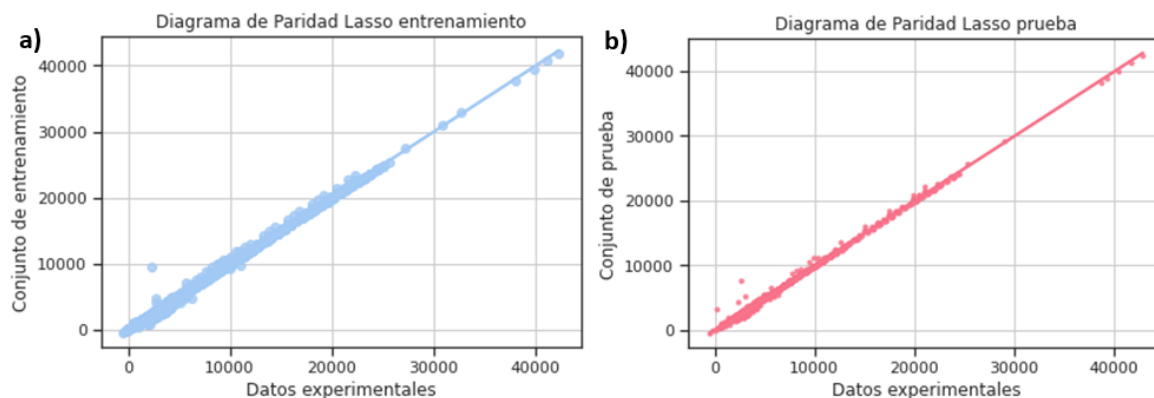


Figura 2. Diagramas de paridad del modelo de regresión Lasso a) conjunto de entrenamiento y b) conjunto de prueba.

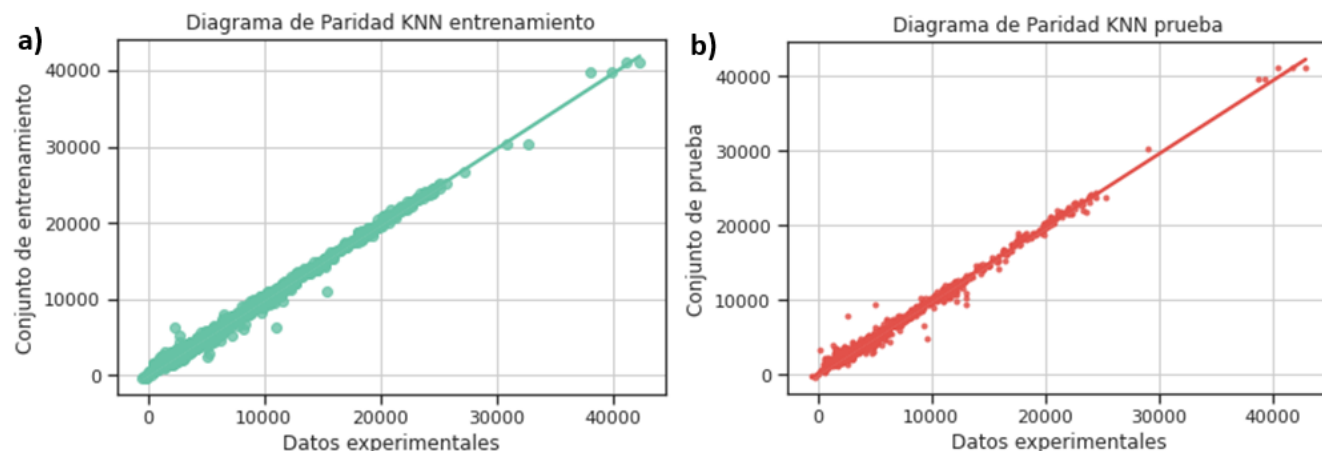


Figura 3. Diagramas de paridad del modelo de K vecinos cercanos a) conjunto de entrenamiento y b) conjunto de prueba.

En adición, en las tablas 2 y 3, se presentan los valores de entalpía de combustión de la predicción con el modelo de regresión lineal, regresión Lasso y k vecinos cercanos para el conjunto de entrenamiento y prueba respectivamente. Así como los errores calculados respecto a los valores experimentales

Tabla 2. Valores de entalpía de combustión de la predicción y del error sobre el conjunto de entrenamiento

	Entalpía de combustión Exp.	Entalpía de combustión de entrenamiento RL	Entalpía de combustión de entrenamiento KNN	Entalpía de combustión de entrenamiento Lasso	Error RL	Error KNN	Error LASSO
3376	9350.546728	10642.011207	8778.938445	10660.216717	1.381165e+01	6.113100	14.006347
2076	3527.530561	3613.370336	3380.107221	3614.632061	2.433424e+00	4.179222	2.469192
3196	4463.674474	4571.913505	4463.674474	4570.613629	2.424886e+00	0.000000	2.395765
3402	4290.384365	4672.702659	4293.712611	4685.566196	8.911050e+00	0.077575	9.210872
3948	6302.124511	6309.981860	6302.124511	6308.030589	1.246778e-01	0.000000	0.093716
4056	2270.620138	2230.683584	2061.723919	2240.894567	1.758839e+00	9.199963	1.309139
688	2818.908292	2920.343373	2818.908292	2918.743809	3.598382e+00	0.000000	3.541638
317	1075.617431	1075.617431	1654.307399	702.688881	2.980585e-12	53.800724	34.671114
3850	746.371327	705.863108	1179.800191	726.409122	5.427355e+00	58.071478	2.674567
3181	11189.070969	11201.783331	11189.192564	11197.314129	1.136141e-01	0.001087	0.073672

Exp.: Experimental, RL: regresión lineal, KNN: k vecinos cercanos, Lasso: regresión Lasso

Tabla 3. Valores de la predicción de entalpía de combustión y del error sobre el conjunto de entrenamiento

	Entalpía de combustión Exp.	Entalpía de combustión de prueba RL	Entalpía de combustión de prueba KNN	Entalpía de combustión de entrenamiento Lasso	Error RL	Error KNN	Error LASSO
1829	5523.478066	5529.373821	5319.596923	5528.308825	0.106740	3.691173	0.087459
2882	4910.697314	4923.301654	5113.966091	4922.941192	0.256671	4.139306	0.249331
898	16620.107149	16520.393440	16212.064226	16525.426103	0.599958	2.455116	0.569678
3025	5519.903876	5548.756923	5520.004378	5552.206089	0.522709	0.001821	0.585195
1710	2332.538754	2279.575003	2382.184686	2279.252196	2.270648	2.128408	2.284488
1144	4941.549750	4884.292852	4941.549750	4879.836560	1.158683	0.000000	1.248863
1830	5520.205381	5524.033192	5520.205381	5525.142561	0.069342	0.000000	0.089438
3767	3213.666331	3221.091767	3702.612831	3203.340594	0.231058	15.214601	0.321307
4154	10002.495573	9918.562795	10002.407628	9914.056119	0.839118	0.000879	0.884174
2033	2201.331012	2320.928359	2137.871066	2322.178953	5.432956	2.882799	5.489767

Exp.: Experimental, RL: regresión lineal, KNN: k vecinos cercanos, Lasso: regresión Lasso

Conclusiones

Los modelos de machine learning: regresión lineal, regresión Lasso y k vecinos cercanos mostraron ser una herramienta útil y precisa para la predicción de la entalpía de combustión a partir de un conjunto de datos experimentales, es decir, se obtuvieron valores del R2 muy cercanos a la unidad, tanto en el conjunto de entrenamiento como en el de prueba, por lo que se puede concluir que es posible predecir la entalpía de combustión empleando información sobre el estado de agregación del compuesto y la contribución de grupos funcionales.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CONAHCYT por el financiamiento a la estudiante de posgrado María Fernanda Saviñon Flores (2023-000002-01NACF-00835).

Referencias

- [1] K. Das, H. M. Keener. Transactions of the ASAE, 40(4), 1179-1189 (1997).
- [2] H. V. M. Hamelers. Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological, and Utilization Aspects, pp. 36-58. Worthington, Ohio: Renaissance Publications (1993).
- [3] H. M. Keener, R. C. Hansen, C. Marugg. Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological, and Utilization Aspects, pp. 59-94. Worthington, Ohio: Renaissance Publications (1992).
- [4] N. J. Lynch, R. S. Cherry. Presented at the European Commission Int. Conf. The Science of Composting, 30 May-2 June 1995, Bologna, Italy. Glasgow, UK: Blackie A&P (1995).

- [5] D. P. Stombaugh, S. E. Nokes. ASAE. Paper No. 94-3616. St. Joseph, Mich.: ASAE (1994).
- [6] R. Smith, R. G. Eilers. Report to USEPA, Report No. EPA-600/2- 80-191. Cincinnati, Ohio: Municipal Environ. Research Laboratory, USEPA (1980).
- [7] E. S. G. Khater, A. H. Bahnasawy, S. A. Ali. Journal of Environmental Analytical Toxicology, 4(6), 1 (2014).
- [8] I. G. Mason. Waste Management, 29, 2, 559-569 (2009).
- [9] El-Sayed G. Khater, Adel H. Bahnasawy, A. Ali Samir. Journal of Environmental & Analytical Toxicology, 4, 6, (2014).
- [10] F. Gharagheizi, M. Seyyed Alireza, T. M. Ahmad-Reza. Energy & fuels, 25, 6, 2651-2654 (2011).
- [11] F. Berzal. Editorial Independently Published, ISBN-10 1731265387 (2018).

07

Medicina, Farmacia y Salud



ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE TETRACICLINA EN MEDIO ACUOSO

Luis Diego González Garrido^a, Dafne Sarahia Guzmán Hernández^{b*}, María Teresa Ramírez Silva^a, Jorge Juárez Gómez^a, Alberto Rojas Hernández^a

^a UAM-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc, Iztapalapa, C.P. 09340 Ciudad de México. ^b CONHACYT- UAM-Iztapalapa- Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc, Iztapalapa, C.P. 09340 Ciudad de México. e-mail: dsguzman@conahcyt.mx

Introducción

La tetraciclina (Tc), ver figura 1, ((4S,6S,12aS)-4-(dimethylamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-3,6,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxonaphthacene-2-carboxamide), es un antibiótico de amplio espectro implementado para tratar infecciones urinarias, gastrointestinales, neumonías y oculares [1]. La Tc actúa inhibiendo la síntesis de las proteínas y es un agente bacteriostático con actividad contra diversos microorganismos [2]. Debido a su importancia y amplio uso se ha desarrollado investigación para su estudio y caracterización molecular [3-5]. El estudio de estabilidad de la Tc se ha llevado a cabo mediante diferentes técnicas, Liang y col investigaron su estabilidad en metanol mostrando que la molécula de Tc es inestable [6], pasando de ser un color amarillo claro a uno marrón y muestran la formación de sus productos de descomposición, ya reportados por otros investigadores [7], además de otros productos derivados de la misma descomposición. A pesar del interés sobre el estudio de caracterización y estabilidad de la Tc, no hay evidencia de investigaciones reportadas en la literatura sobre la estabilidad en medio acuoso por espectroscopía UV-Vis.

Por otra parte, algunos investigadores han estudiado la formación de complejos supramoleculares aplicados a diferentes tipos de fármacos con la finalidad de retirar malos sabores y darles estabilidad [8,9], una de las moléculas mayormente utilizadas es la α -ciclodextrina (α -CD), la cual es un oligosacárido cíclico compuesto por siete unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos [10] y tiene la capacidad de formar complejos de inclusión con diversas moléculas orgánicas o inorgánicas debido a su estructura la cual tiene una cavidad hidrofóbica en su interior y una superficie externa hidrofílica [11]. Por lo anterior, en este trabajo se presenta el estudio de estabilidad de Tc en medio acuoso por espectroscopía UV-Vis y se propone la formación de una supramolécula para conferir estabilidad a la molécula de Tc.

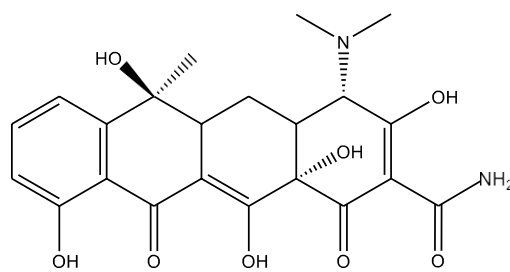


Figura 1. Estructura Tetraciclina (Tc).

Parte Experimental

Reactivos y equipo

Todos los reactivos son de grado analítico: $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich, $\geq 99.9\%$), $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (J. T. Baker, 99.3 %), NaOH 1N (J. T. Baker), K_2HPO_4 (Monterrey), KH_2PO_4 (J. T. Baker, 100.2 %), HClO_4 (J. T. Baker, 69.4 %), NaCl (J. T. Baker, 99.82 %), Tetraciclina (Sigma Aldrich, 98 – 102 %). Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada purificada mediante el sistema de gradiente Millipore Milli-Q (18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$, 25 °C).

El estudio espectrofotométrico UV-Vis se llevó a cabo en un espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 950, con una celda de cuarzo de 10 mm de longitud de paso óptico con dos paredes claras y dos esmeriladas. El pH de las soluciones fue medido con un potenciómetro Sension pH31 y un electrodo de vidrio HACH LANGE 50 10T con un intervalo de pH de 0 a 14.

Resultados y Discusión

En la literatura se encuentra reportado que la Tc presenta tres constantes de acidez (pKa) 9.4, 7.3 y 3.3 [12], por lo que se presentan diferentes especies de Tc, las cuales predominan según el valor de pH. Para $\text{pH} \leq 3.3$ se presenta la especie protonada (Tc^+), para un intervalo de $3.3 \geq \text{pH} \leq 7.3$ predomina la especie neutra (Tc^0), para el intervalo de $7.3 \geq \text{pH} \leq 9.4$ se presenta la especie aniónica (Tc^-) y finalmente para $\text{pH} \geq 9.4$ predomina la especie dianiónica (Tc^{2-}) [13]. Considerando la especiación de la Tc, se lleva a cabo el estudio de estabilidad a diferentes valores de pH. En la figura 2 se presentan los espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a diferentes valores de pH: (a) 1, (b) 7 y (c) 10; para cada pH se obtuvo el espectro de absorción de UV-Vis de la solución de trabajo a diferentes tiempos. A pH 1 es posible observar dos bandas de absorción máxima en 262 nm y en 359 nm, además se aprecia la formación de una tercera banda a 216 nm. Conforme incrementa el tiempo en la solución, la banda en 216 nm incrementa en su absorbancia, este notable incremento evidencia la inestabilidad de la solución de Tc. Al incrementar el pH se presenta un corrimiento batocrómico e hipocrómico formándose los picos de absorción máxima en 280 nm y 362 nm (ver figura 2b); además, es importante resaltar la formación de un nuevo hombro a 244 nm, mientras que en la banda de 223 nm se puede apreciar que conforme incrementa el tiempo ésta también incrementa en su absorbancia. Al continuar con el incremento del pH, los máximos de absorción se presentan en 271 nm y 380 nm (ver figura 3c) y se aprecia un ligero aumento en la absorbancia conforme incrementa el tiempo en la solución de Tc. En la figura 3 se presenta el gráfico de $A^{272 \text{ nm}} = f(t)$ a pH 1 y se aprecia un comportamiento lineal que no es constante, es decir presenta una ligera pendiente, lo que implica que en un tiempo de 16 minutos la Tc se descompone en al menos un 5 %. La misma tendencia se presenta a pH 7 y pH 10. Este comportamiento de descomposición concuerda con lo reportado en la literatura y se determina que la Tc en medio acuoso no es estable al menos en un intervalo de 16 min.

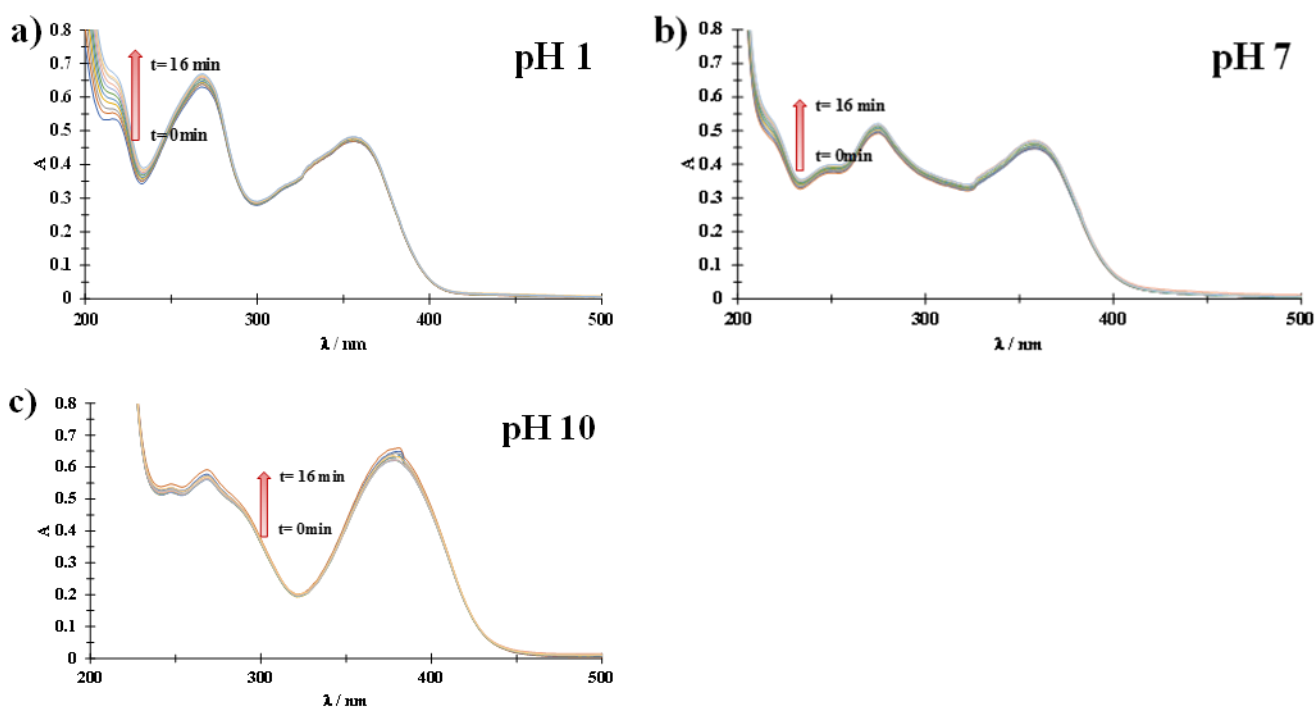


Figura 2. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a diferentes valores de pH: 1, 7 y 10 y, diferentes tiempos mostrados en la figura.

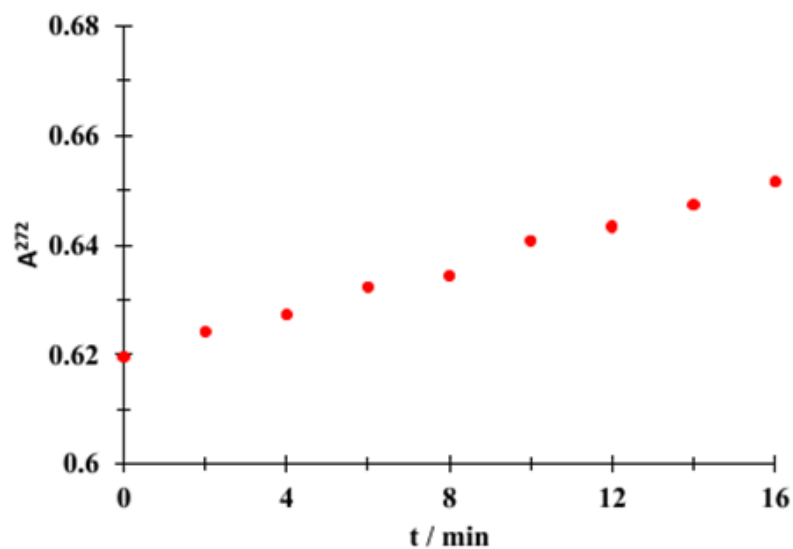


Figura 3. Gráfico $A^{272 \text{ nm}} = f(t)$ a pH 1 de Tc 0.043 mM

Para estabilizar la molécula de Tc en medio acuoso se propone la formación de una supramolécula derivada de nanoestrellas de oro con β -ciclodextrina (AuNE $\cdot\beta$ -CD). Las nanoestrellas de oro fueron sintetizadas a partir de la metodología reportada por Minati et al [14] y activadas con β -CD por sonicación. En la figura 4 se presenta la familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a pH 1 para diferentes concentraciones AuNE $\cdot\beta$ -CD. En línea punteada se observa el espectro de Tc en ausencia de AuNE $\cdot\beta$ -CD y se puede apreciar que a 216 nm se presenta la banda característica de la molécula de Tc a pH 1, esta banda se desvanece conforme se incrementa la concentración de AuNE $\cdot\beta$ -CD, así mismo se presenta un efecto hipercrómico en los máximos de absorción de 262 nm y 359 nm, además, se puede apreciar el espectro de AuNE $\cdot\beta$ -CD (línea roja) y se observa que no contribuye significativamente en la absorbancia en el rango de 200 a 500 nm por lo cual, los cambios en el espectro pueden ser un indicativo de la formación del complejo entre la molécula de Tc y las AuNE $\cdot\beta$ -CD.

La banda localizada en 216 nm se asocia a la transición electrónica del grupo N(CH₃)₂, la ausencia de esta banda cuando la Tc se encuentra en presencia de AuNE $\cdot\beta$ -CD, puede ser asociada a la interacción de las AuNE $\cdot\beta$ -CD con el grupo NH₂ o el grupo N(CH₃)₂ de la Tc formándose el complejo de inclusión. Este tipo de complejos se asocia a la rama de la química anfitrión-huésped. La figura 5 muestra una propuesta molecular de la interacción entre AuNE $\cdot\beta$ -CD y Tc.

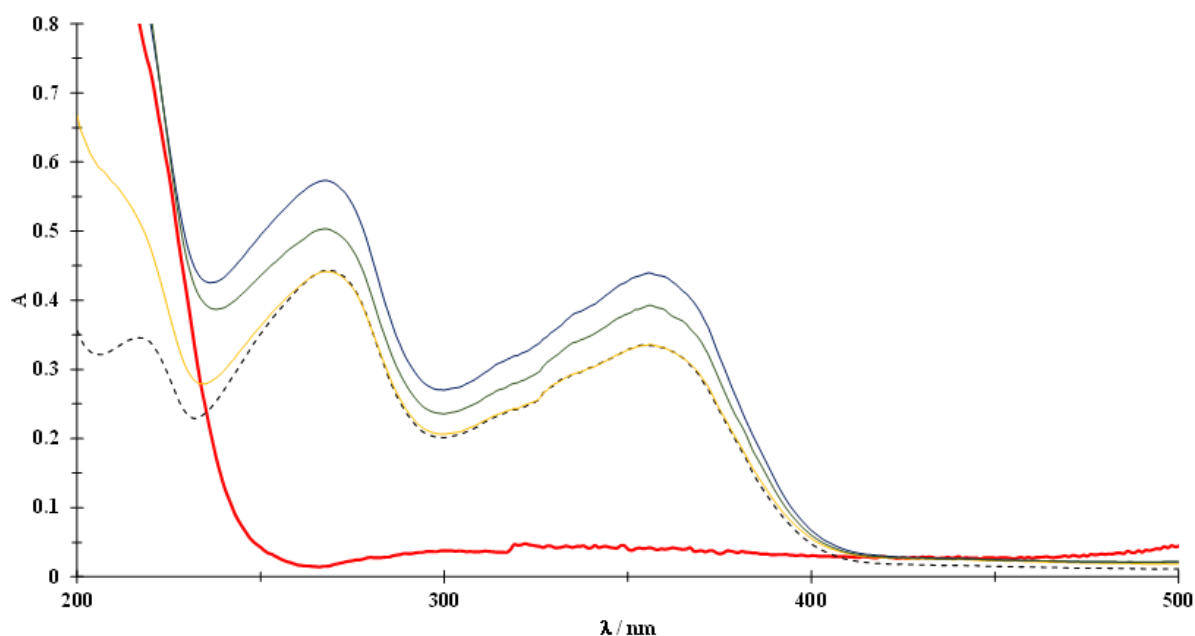


Figura 4. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM pH 1 a diferentes concentraciones de AuNE $\cdot\beta$ -CD mostradas en la figura. Línea punteada: Tc en ausencia de AuNE $\cdot\beta$ -CD.

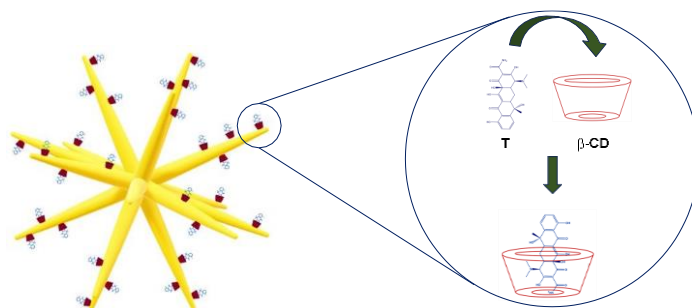


Figura 5. Modelo molecular del complejo de inclusión AuNE•β-CD-Tc.

En la figura 6 se presenta la familia de espectros de absorción de UV-Vis a diferentes pH: (a) 1, (b) 7 y (c) 10 de Tc 0.043 mM en presencia de AuNE•β-CD 0.07Mm en un rango de 0 a 16 min. A pH 1 es posible observar que las dos bandas máximas de absorción a 262 nm y 359 nm no presentan cambios en función del tiempo; a pH 7 se presenta un corrimientobatocrómico e hipocrómico formándose los picos de absorción máxima en 280 nm y 362nm y a comparación del espectro de la figura 2(b), cuando la Tc se encuentra en presencia de AuNE•β-CD, no se presenta la formación del hombro en 244 nm, manteniendo un comportamiento estable en el tiempo. A pH 10 las bandas de absorción que se encuentran a 271 nm y 380 nm se mantienen constantes. En los tres casos como se puede apreciar no existen cambios en función del tiempo en las familias de espectros a los diferentes valores de pH. Los resultados anteriores confirman que la interacción de Tc con AuNE•β-CD conllevan a la estabilidad del antibiótico en un intervalo de 16 min y que la interacción se estaría dando a través de los grupos NH_2 o $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ de la molécula de Tc.

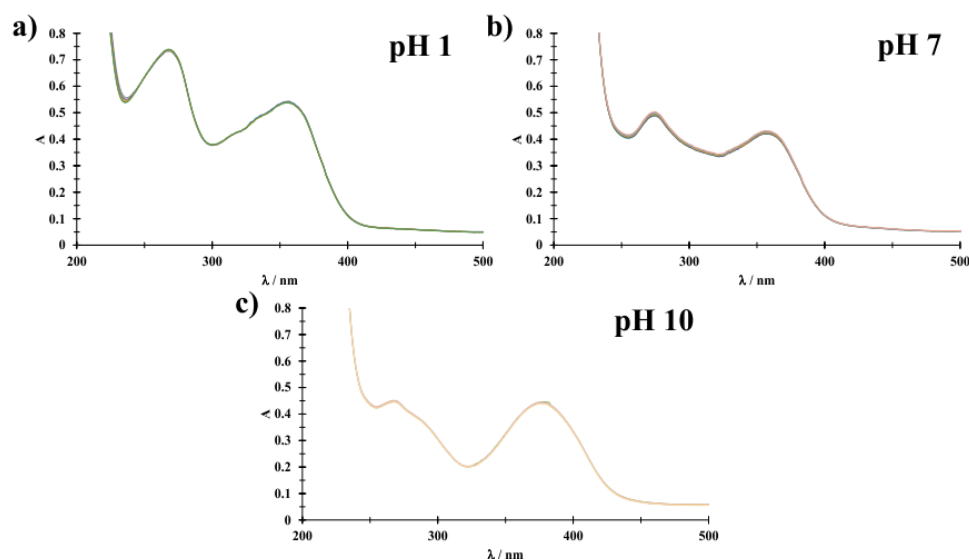


Figura 6. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM en presencia de AuNE•β-CD 0.0398 mM para valores de a) pH 1, b) pH 7 y c) pH 10.

Finalmente, la figura 7, muestra el gráfico $A^\lambda = f(t)$ a pH 1, 7 y 10 donde se aprecia una tendencia constante en los tres pH de estudio, mostrando la estabilidad del antibiótico en un intervalo de 16 min.

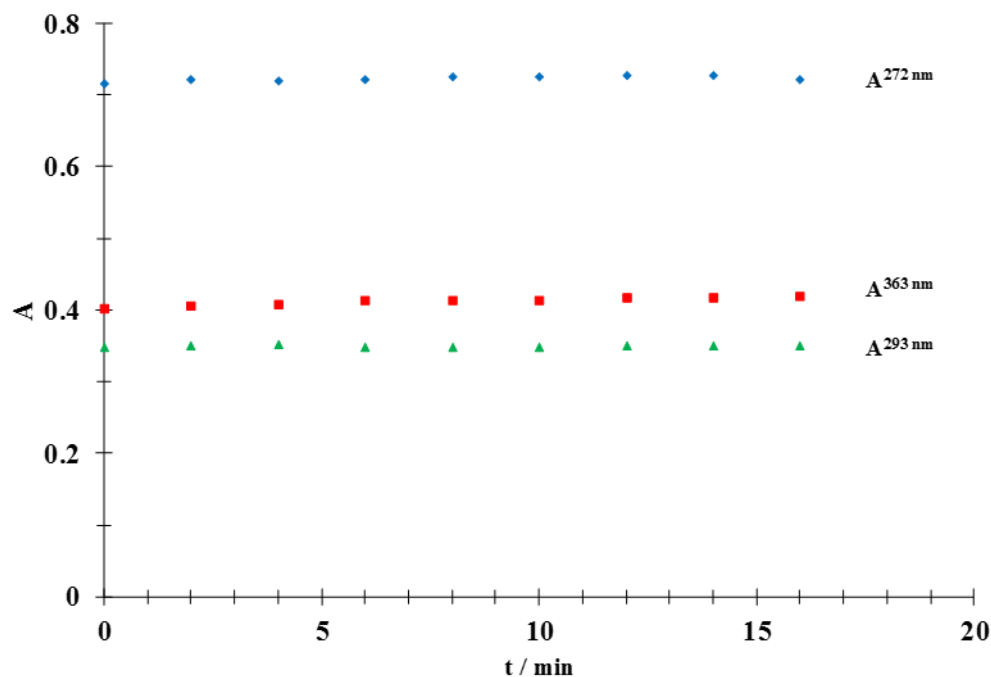


Figura 7. Gráficas $A^\lambda = f(t)$ a pH: 1 ($A^{272 \text{ nm}}$ marcador azul), 7 ($A^{363 \text{ nm}}$ marcador rojo) y 10 ($A^{293 \text{ nm}}$ marcador verde) de Tc estabilizada con AuNE• β -CD.

Conclusiones

El estudio de estabilidad de Tc demostró que la molécula tiende a alterar su estructura en un lapso corto de aproximadamente 16 min formando productos de descomposición que se ven reflejados en los espectros de absorción de UV-Vis. Sin embargo, cuando la molécula de Tc interacciona con AuNE• β -CD se estabiliza; además, los espectros de absorción de AuNE• β -CD-Tc mostraron cambios significativos en las bandas de absorción de la Tc.

Agradecimientos

LDGG agradece a la beca otorgada por CONAHCYT para los estudios de posgrado en el Programa 001824 – Maestría en Química. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159. También, JGG, ARH, DSGH y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada.

Referencias

- [1] I. Chopra, M. Roberts. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. **65**, [2] 232-260 (2001).
- [2] M. Griffin, E. Fricovsky, G. Ceballos, F. Villarreal. Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature. **299**, [3] C539-C548 (2010).
- [3] H. Myers, H. Tochon-Danguy, C. A. Baud. IR absorption spectrophotometric analysis of the complex formed by tetracycline and synthetic hydroxyapatite. **35**, [1] 745-749 (1983).
- [4] S. Tariq, S. Faheem, U. Anwar. Tetracycline: Classification, Structure Activity Relationship and Mechanism of Action as a Theranostic Agent for Infectious Lesions-A Mini Review. **7**, [2] 5787-5796 (2018).
- [5] R. Cánovas, N. Slegers, A. L. N. van Nuijs, K. De Wael. Tetracycline Antibiotics: Elucidating the Electrochemical Fingerprint and Oxidation Pathway. **9**, [7] 187 (2021).
- [6] Y. Liang, M. Denton, R. Bates. Stability studies of tetracycline in methanol solution. **827**, [1] 45-55 (2018).
- [7] L. J. Leeson, J. F. Weidenheimer. Stability of Tetracycline and Riboflavin. **58**, [3] 355-357 (1969).
- [8] H. Viernstein, P. Wolschann. Cyclodextrin inclusion complexation and pharmaceutical applications. **46**, 254-262 (2020).
- [9] J. Martínez, M. Palomar, M. Romero, S. Corona, D. S. Guzmán, A. Rojas, M. T. Ramírez. On the Curcumin and β -Cyclodextrin Interaction in Aqueous Media. Spectrophotometric and Electrochemical Study. **9**, 1-9 (2022).
- [10] B. Poulson, Q. Alsulami, A. Sharfalddin, E. El Agammy, F. Mouffouk, A. Emwas, L. Jaremko, M. Jaremko. Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications. **3**, 1-31 (2022)
- [11] A. Cid-Samamed, J. Rakmi, J. Mejuto, J. Simal-Gandara, G. Atray. Cyclodextrin inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. **384**, [132467] 1-14 (2022).
- [12] M. Schmitt, S. Siegfried, M. Nelson. Novel Insight into the Protonation-Deprotonation Equilibria of Tetracycline and Several Derivatives in Aqueous Solution. II. Analysis of the pH-Dependent Fluorescence Spectra by the SVD Technique. **221** 235- 271 (2007).
- [13] A. Amat, S. Fantacci, F. De Angelis, B. Carlotti, F. Elise. DFT/TDDFT investigation of the stepwise deprotonation in tetracycline: pKa assignment and UV-vis spectroscopy. **131**[1218] 3-13 (2012).
- [14] L. Minati, F. Benetti, A. Chiappini, G. Speranza. One-step synthesis of star-shaped gold nanoparticles, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. **441** 623-628 (2014).

MÉTODO PARA LA DETECCIÓN DE GASES ENDÓGENOS EN EL ALIENTO HUMANO PRODUCIDOS POR *HELICOBACTER PYLORI*, MEDIANTE MEFS-CG-EM

Luz Amairani Maldonado Tapia^a, Araceli Peña Álvarez^{a*}, Rocío Juárez Ciprés^a, Irán Ocaña Ríos^a

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica.
Av. Universidad 3000, Coyoacán, Ciudad de México. México. C.P. 04510. Tel: +52 (55) 56223794,
*e-mail: arpeal@unam.mx

Introducción

El análisis de los fluidos corporales es una herramienta fundamentalmente importante en la medicina que ofrece ventajas como la recolección de muestra poco invasiva y una matriz más simple. El análisis de aliento se ha propuesto como un método complementario de los métodos de análisis de sangre, orina y heces. El análisis de aliento para el diagnóstico clínico ha recibido mayor interés debido a su potencial para detectar el estado de una enfermedad en el paciente de una manera simple y no invasiva [1]. El aliento humano es una mezcla compleja de nitrógeno (~78%), oxígeno (~15%), dióxido de carbono (~4%), vapor de agua (~6%), gases inertes (~0.96%), compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos. Los compuestos orgánicos presentes en el aliento se clasifican en tres grupos debido a su origen: compuestos de origen sistémico o endógeno, compuestos de origen extra sistémico o exógeno, y compuestos sulfurados volátiles (CSV) [2,3]. Actualmente, se han identificado más de 1,000 compuestos presentes en el aliento. En estudios previos se encontró que la concentración de muchos de estos compuestos es baja, desde ppb hasta ppt [4]. En el aliento exhalado aproximadamente 35 compuestos han sido establecidos como biomarcadores de enfermedades particulares y trastornos metabólicos. La formación de estos biomarcadores se atribuye a las reacciones bioquímicas que suceden dentro del cuerpo como parte de procesos metabólicos % [5]. La bacteria *Helicobacter pylori* es un bacilo flagelado que es patógeno potencial para el ser humano y se reconoce como un importante agente causal en enfermedades gastroduodenales [6]. Las pruebas clínicas para el diagnóstico de *H. pylori* pueden ser invasivas (biopsia endoscópica del tejido) o no invasivas (prueba de aliento con urea, antígenos y PCR en heces) [7]. Aproximadamente el 50% de los seres humanos tienen colonias de *H. pylori* en el estómago, y aunque en la mayoría de los casos la infección es asintomática, alrededor del 10-15% de las personas infectadas experimentarán en algún momento la enfermedad de úlcera péptica. Por lo tanto, son necesarios métodos de diagnóstico alternativos que sean precisos, rápidos y no invasivos para su detección temprana.

Parte Experimental

Para los experimentos se realizaron dos muestreos. En el primero se dispuso de 7 voluntarios sanos (4 hombres y 3 mujeres), para cada voluntario se tomaron 4 muestras. Las muestras se recolectaron en dos días consecutivos, una por la mañana y una por la

tarde, obteniéndose 28 muestras en total. En el segundo muestreo se contó con 15 voluntarios sanos (6 hombres y 9 mujeres), para cada voluntario se tomaron dos muestras durante el día, una por la mañana y otra por la tarde, obteniéndose 30 muestras en total. Para la recolección de las muestras se usaron Bolsas FlexFoil PLUS (SKC, EUA) con capacidad de 1 L, las cuales se limpiaron previamente con nitrógeno. Una vez que se tomó la muestra de aliento, se realizó la MEFS con fibras de Carboxen/Polidimetilsiloxano (Carboxen/PDMS) con espesor de película 75 μm (Supelco, EUA). Las fibras se acondicionaron de acuerdo con las indicaciones del fabricante, y se insertó la fibra en la bolsa durante 10 min. Se realizó una desorción térmica de la fibra en un cromatógrafo de gases 6890N acoplado a un espectrómetro de masas 5973 (Agilent Technologies, EUA). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: inyección splitless (0.5 min) a 250 °C y columna capilar CP-PoraBOND Q (polímero poroso de estireno-divinilbenceno), 25 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno x 3.0 μm de grosor de película (Agilent Technologies, EUA). El gas acarreador fue helio de alta pureza con flujo de 1 mL/min. El programa de temperatura fue: temperatura inicial de 40 °C (1 min), incremento de 13 °C/min hasta 300 °C (3 min). Temperatura de la línea de transferencia y de la fuente de ionización fueron 280 °C y 220 °C, respectivamente. Electroionización a 70 eV y cuadrupolo como analizador másico. Para la identificación de compuestos se realizó el análisis en modo SCAN (40-550 m/z) y se compararon los espectros obtenidos con los de la base de datos del Instituto Nacional de Estandarización y Tecnología de EUA (NIST, por sus siglas en inglés).

Resultados y Discusión

Para la optimización del tiempo de extracción del método de MEFS en modo headspace, se utilizó una solución de 2-butanona y acetato de etilo a 10 $\mu\text{g/L}$. Se evaluaron los siguientes tiempos: 1, 5, 15 y 30 min. Se observó que la mayor extracción de 2-butanona y acetato de etilo fue a los 5 y 15 min, respectivamente. Sin embargo, se eligió 5 min como tiempo de extracción porque la respuesta de 2-butanona disminuye significativamente a tiempos mayores. Posteriormente, se evaluaron 5 y 10 min como tiempo de extracción utilizando la bolsa FlexFoil. Se observó que la respuesta de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) del aliento era mayor a 10 min, por lo que dicho tiempo se seleccionó como óptimo.

Se identificaron 43 COVs en el análisis de las muestras de aliento. Los compuestos se clasificaron de acuerdo con el grupo funcional: 5 alcoholes, 12 alcanos, 4 alquenos, 2 nitrocompuestos, 2 cicloalcanos, 6 cetonas, 2 clorados, 3 sulfurados, 4 aromáticos, 2 éteres y 1 éster. En el análisis de aliento de todos los voluntarios se identificaron los siguientes compuestos: etanol, acetona, isopreno, pentano, triclorometano, 2-butanona, acetato de etilo, 2-metilpentano, benceno, hexano y tolueno, los cuales se encuentran comúnmente en el aliento. La producción de COVs en el aliento incrementa conforme avanza el día, comparado con la muestra en ayunas. En la figura 1 se muestra el

cromatograma iónico total (TIC, por sus siglas en inglés) de una muestra de aliento de un voluntario sano.

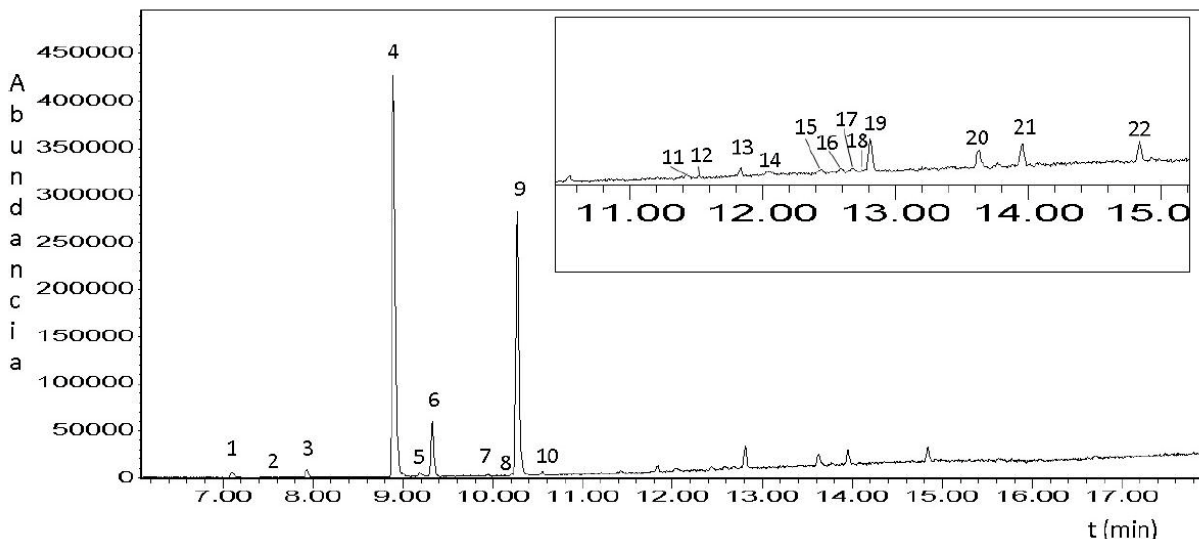


Figura 1. Cromatograma iónico total (TIC) de una muestra de aliento de la tarde de un voluntario sano hombre adulto. Identificación de picos: 1. etanol, 2. isobutano, 3. butano, 4. acetona, 5. 2-propanol, 6. DMS, 7. 1-propanol, 8. 2-metilbutano, 9. isopreno, 10. pentano, 11. triclorometano, 12. 2-butanona, 13. acetato de etilo, 14. metiliterbutileter, 15. 2-metilpentano, 16. 3-metilpentano, 17. benceno, 18. metilciclopentano, 19. hexano, 20. sulfuro de metilo de alilo, 21. sulfuro de 1-propenilo de metilo, 22. tolueno.

Aunque el número de voluntarios no es suficientemente grande para dar conclusiones significativas (15 voluntarios), el número de muestras totales analizadas se consideran suficientes para plantear algunos resultados preliminares. Se realizó el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA, por sus siglas en inglés) con el fin de clasificar por grupos y encontrar las variables que determinan dicha clasificación. Para el procesamiento de datos se utilizó el software MetaboAnalyst 5.0 (MetaboAnalyst, 2009). Las áreas obtenidas para cada compuesto identificado en la muestra de aliento fueron las variables y para el análisis se consideraron todos los COVs identificados. La grafica de “scores” (Figura 2) ilustra los resultados obtenidos al aplicar el PLS-DA a las muestras de mañana y tarde de todos los voluntarios. Se observa una clara separación de las muestras de los voluntarios con antecedentes de *H. pylori* y ulcera gástrica de los voluntarios sanos. Además, la prueba de validación cruzada mostró valores altos de predictibilidad y bondad de ajuste del modelo, $R^2= 0.7989$ y $Q^2= 0.6331$. De acuerdo con gráfico de “loadings”, los COVs que contribuyeron a una mayor discriminación entre el grupo de *H. pylori* y sanos, fueron: acetona, sulfuro de metilo de alilo, dimetil sulfoxido, butano e isobutano. También se aplicó PLS-DA a las muestras de aliento de la tarde de todos los voluntarios. Se observa en la gráfica de “scores” (Figura 3) la clasificación entre Hombre y Mujer. La prueba de validación cruzada mostró valores de predictibilidad y bondad de ajuste del modelo de $R^2= 0.62689$ y $Q^2= 0.58688$. De acuerdo con el grafico

de "loadings", los COVs que más contribuyeron a la discriminación entre grupos fueron: isobutano, 2,4-dimetilheptano, 2-metilpentano, 3-metilpentano y 4-metiloctano.

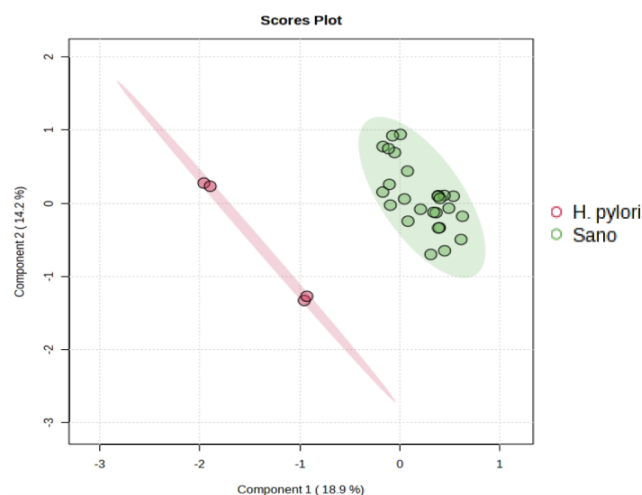


Figura 2. Gráfica de "scores" correspondiente a las 30 muestras de aliento de todos los voluntarios.

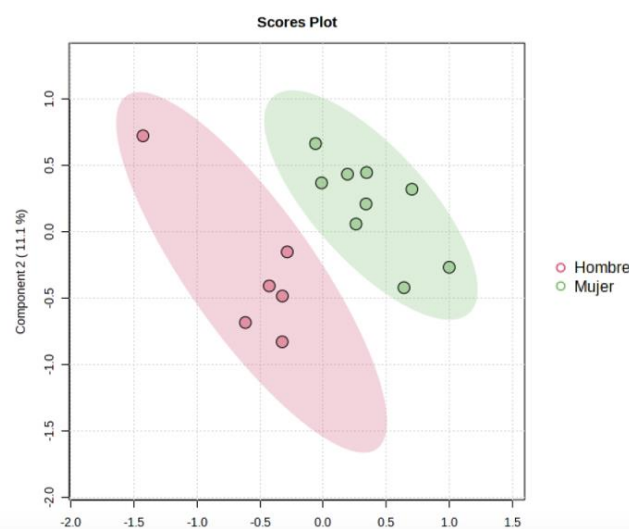


Figura 3. Gráfica de "scores" correspondiente a las 15 muestras de aliento de la tarde de todos los voluntarios.

Conclusiones

Se propuso una metodología sencilla, rápida e indolora para la identificación de gases endógenos: isobutano, 2-butanona y acetato de etilo producidos por *Helicobacter pylori*, mediante el análisis de aliento por microextracción en fase sólida seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). La aplicación de PLS-DA a los datos resultantes del análisis de aliento, permitió discriminar

entre personas con antecedentes de *H. pylori* y sanos, así como entre hombres y mujeres. Sin embargo, estos resultados son preliminares, ya que es necesario analizar un mayor número de voluntarios, así como optimizar y validar la metodología para ser probada como un método alternativo diagnóstico en pacientes infectados.

Agradecimientos

Se agradece al "Subprograma 127 "Formación básica en investigación", Fac. Química, UNAM. el apoyo económico brindado a la estudiante Amairani Maldonado y al programa PAIP 5000/9026, Fac. Química, UNAM, por el apoyo a este proyecto.

Referencias

- [1] M. Alonso, J.M. Sánchez. Analytical challenges in breath analysis and its application to exposure monitoring. *Trends in Analytical Chemistry*, **44**, 78-89 (2013).
- [2] T. Ligor, M. Ligor, A. Amann, C. Ager, M. Bachler, A. Dzien, B. Buszewski. The analysis of healthy volunteers' exhaled breath by the use of solid-phase microextraction and GC-MS. *Journal of Breath Research*, **2**, 046006 (2008).
- [3] A. Ulanowska, T. Kowalkowski, K. Hryniewicz, M. Jackowski, B. Buszewski. Determination of volatile organic compounds in human breath for *Helicobacter pylori* detection by SPME-GC/MS. *Biomedical Chromatography*, **25**, 391-397 (2011).
- [4] P. Španěl, D. Smith. Quantification of volatile metabolites in exhaled breath by selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS. *Clinical Mass Spectrometry*, **16**, 18-24, (2020).
- [5] C. Wang, P. Sahay. Breath Analysis Using Laser Spectroscopic Techniques: Breath Biomarkers, Spectral Fingerprints, and Detection Limits. *Sensors*, **9**, 8230-8262, (2009).
- [6] F.J. Bosques-Padilla, J.M. Remes-Troche, M.S. González-Huezo, G. Pérez-Pérez, J. Torres-López, J.M. Abdo-Francis, M.V. Bielsa-Fernandez, M.C. Camargo, F. Esquivel-Ayanegui, E. Garza-González, A.I. Hernández-Guerrero, R. Herrera-Goepfert, F.M. Huerta-Iga, Y. Leal-Herrera, A. López-Colombo, N.X. Ortiz-Olvera, A. Riquelme-Pérez, C.L. Sampieri, L.F. Uscanga-Domínguez, J.A. Velarde-Ruiz Velasco. IV Consenso mexicano sobre *Helicobacter pylori*. *Revista Gastroenterología de México*, **83**, 325-341, (2018).
- [7] K.N. Azad, S.E. Realegeno, R.M. Kagan, D.A. Schwab, H. J. Batterman, E.M. Marlowe. An Easily Digestible Review of *Helicobacter pylori* Diagnostics. *Clinical Microbiology Newsletter*, **44**, 51-61, (2022).

RED NEURONAL ARTIFICIAL PARA LA CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE ÁCIDO ÚRICO EN PRESENCIA DE ÁCIDO ASCÓRBICO, PARACETAMOL Y ÁCIDO OXÁLICO

Daniel Hernández Ramírez,^a Guadalupe Yoselin Aguilar Lira,^b Juan Manuel Gutiérrez Salgado^c, Luis Humberto Mendoza Huizar,^b Carlos Andrés Galán Vidal,^b Giaan Arturo Álvarez Romero^{b*}

^a Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz. Área Académica de Química. Avenida Universidad No.1, Nanchital, Veracruz, México. C.P. 96360.

^b Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076, e-mail: giaan@uaeh.edu.mx

^c Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Sección de Bioelectrónica, Departamento de Energía Eléctrica, Col San Pedro Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, Av. I.P.N. 2508, Ciudad de México, México

Introducción

Las pruebas clínicas para la determinación de ácido úrico (AU) en muestras fisiológicas utilizan comúnmente a la enzima uricasa, pero teniendo en cuenta algunas desventajas intrínsecas derivadas del uso de las enzimas como su poca estabilidad y alto costo, los sensores de AU no enzimáticos han atraído un creciente interés de investigación en los últimos años debido a su costo, alta estabilidad y bajo límite de detección. Las nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos han demostrado ser buenos candidatos para desarrollar sensores no enzimáticos para AU. Las nanopartículas de óxido de bismuto (Bi_2O_3 -NPs) se han utilizado recientemente en el desarrollo de sensores electroquímicos no enzimáticos para cuantificar biomoléculas [1,2]; debido a sus interesantes propiedades (gran área de superficie, estabilidad electroquímica y conductividad eléctrica mejorada) [3-5] también se incorporan fácilmente a la pasta de carbono para construir electrodos de pasta de carbono (CPE) y aprovechar el efecto sinérgico de las propiedades del grafito (eléctrico y mecánico) y Bi_2O_3 -NPs en el proceso de detección electroquímica de AU. Desafortunadamente, en algunas ocasiones los sensores no enzimáticos pueden presentar problemas de selectividad debido a la presencia de interferentes que dificultan el proceso de oxidación del analito en la superficie del electrodo o bien se oxidan a potenciales muy cercanos, y por lo tanto afectan los resultados obtenidos en la cuantificación con el sensor.

Para superar esta limitación, recientemente algunos grupos de investigación han optado por combinar las ventajas de las técnicas electroquímicas como la voltamperometría diferencial de pulsos (VDP) con herramientas quimiométricas robustas, como lo son las redes neuronales artificiales (RNA) [6,7].

Una RNA es un modelo matemático inspirado en el comportamiento biológico de las neuronas y en el funcionamiento del cerebro para generar aprendizaje [8]. Las RNAs están formadas por nodos o neuronas interconectadas formando redes capaces de almacenar y transmitir información a partir de datos de entrenamiento [9]. Las RNAs en combinación con las técnicas electroquímicas, han sido utilizadas principalmente en el

estudio de modelos no lineales y en tareas de cuantificación de analitos en muestras formadas por varios compuestos [10-12].

De acuerdo con lo anterior, en este trabajo se describe una metodología novedosa basada en RNA-VDP para la cuantificación de AU en presencia de ácido oxálico (AO), ácido ascórbico (AA) y paracetamol (PAR) que resultan ser interferentes encontrados en muestras de orina, utilizando un electrodo de pasta de carbono modificado con nanopartículas de óxido de bismuto (III) y voltamperometría diferencial de pulsos, en combinación con un modelo de red neuronal artificial.

Parte Experimental

Reactivos

Los electrodos de pasta de carbono se construyeron con polvo de grafito (tamaño <math><20\ \mu\text{m}</math>), nanopartículas de óxido de bismuto (III) (tamaño de partícula de 95 nm) y aceite mineral, todos marca Sigma-Aldrich.

Acetato de sodio, ácido úrico, paracetamol, ácido oxálico y ácido ascórbico (todos Sigma-Aldrich) fueron empleados para preparar las soluciones para las pruebas de entrenamiento y las pruebas de la RNA.

Todas las disoluciones se prepararon utilizando agua desionizada de alta pureza (18.2 M Ω cm). Todos los reactivos empleados fueron grado analítico.

Mediciones electroquímicas

Las mediciones electroquímicas se realizaron en un potencióstato/galvanostato BASInc modelo Epsilon y una celda electroquímica convencional de tres electrodos empleando Bi₂O₃-NPs/CPE (10 % m/m de Bi₂O₃-NPs), Ag/AgCl (3 molL⁻¹ KCl) y una barra de grafito de alta pureza (6 mm de diámetro), como electrodos de trabajo, de referencia y contraelectrodo, respectivamente.

Se empleó como electrolito soporte una disolución buffer de acetatos (ABS) 0.1 molL⁻¹ a pH 5.5.

La voltamperometría diferencial de pulsos se empleó como técnica electroanalítica programándola con los parámetros óptimos obtenidos en un estudio previo: paso de potencial 6 mV, ancho de pulso 30 ms, periodo de pulso 300 ms y amplitud de pulso 70 mV.

Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado con Bi₂O₃-NPs

El Bi₂O₃-NPs/CPE se preparó de acuerdo con el siguiente procedimiento: se colocaron en un vaso de precipitado 0.04 g de Bi₂O₃-NPs (material modificante) y 0.96 g de polvo de grafito, se mezcló manualmente hasta lograr una mezcla homogénea, posteriormente se adicionó aceite mineral (aglutinante), y se continuó el mezclado hasta lograr una pasta uniforme. Después, la pasta homogénea se incorporó y compactó en un tubo de plástico (tubo de jeringa de insulina). A continuación, se insertó un contacto de cobre en un extremo. Finalmente, la superficie del electrodo se pulió utilizando una hoja de papel de

alta blancura, este pulido se realiza previo a cada medición. Un electrodo de pasta de carbono sin material modificante (CPE) se preparó con fines comparativos (ver figura 1).

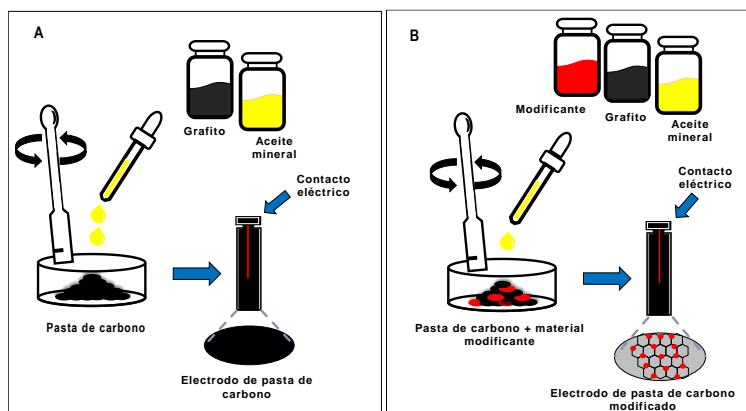


Figura 1. Representación de las etapas de elaboración de electrodos de pasta de carbono sin modificar (A) y electrodos de pasta de carbono modificados (B).

Preparación de soluciones de AU e interferentes para la etapa de entrenamiento y prueba.

Utilizando un diseño factorial de tres niveles, se obtuvieron 27 combinaciones para las diferentes concentraciones de AU, PAR, AA, y OA empleadas en la etapa de entrenamiento de la RNA (tabla 1).

Para la etapa de prueba se emplearon 10 combinaciones para las diferentes concentraciones de AU, PAR, AA y AO, como se muestra en la tabla 2.

Las disoluciones fueron preparadas en ABS 0.1 molL^{-1} ($\text{pH}=5.5$) y analizadas con $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-NPs/CPE}$ por medio de VDP y sus parámetros optimizados.

Se empleó una arquitectura del modelo matemático para la RNA basada en la configuración de un perceptrón multicapa y la función de entrenamiento Levenberg-Marquardt. El software Matlab R2015a, fue usado para realizar la programación, entrenamiento y prueba de la RNA.

Los datos de entrenamiento y prueba fueron normalizados en el intervalo de $[-1, +1]$ para facilitar el proceso de entrenamiento de la RNA.

La evaluación del ajuste correcto de la RNA se realiza mediante el error medio cuadrático (EMC) comparando los valores de salida (C_j obtenido) con los valores de concentración esperados (C_j esperado), de acuerdo con la ecuación 1; al existir diferencias significativas el algoritmo de entrenamiento ajusta los pesos de las conexiones entre las neuronas.

$$EMC = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (C_j \text{ esperado} - C_j \text{ obtenido})^2 \quad (1)$$

Además, se consideró el porcentaje de recobro (PR) para las muestras de AU y se evaluó la capacidad de predicción de información en RNA [13], de acuerdo con la ecuación 2, donde Y_i es el valor obtenido, y_i el valor esperado y N es el número de muestras.

$$PR = \frac{\sum_{i=1}^N 100 * (1 + \frac{Y_i - y_i}{y_i})}{N} \quad (2)$$

Tabla 1. Combinaciones de AU, PAR, AA y AO empleadas en la etapa de entrenamiento de la RNA.

AU mM	PAR mM	AA mM	AO mM
0.10	0.10	0.10	0.10
0.13	0.12	0.17	0.76
0.17	0.14	0.25	1.42
0.20	0.27	0.76	0.17
0.24	0.29	0.83	0.83
0.27	0.31	0.90	1.49
0.31	0.45	1.42	0.25
0.34	0.47	1.49	0.90
0.38	0.48	1.56	1.56
0.41	0.16	0.32	0.32
0.45	0.18	0.39	0.98
0.48	0.20	0.47	1.63
0.52	0.33	0.98	0.39
0.55	0.35	1.05	1.05
0.58	0.37	1.12	1.71
0.62	0.50	1.63	0.47
0.65	0.52	1.71	1.12
0.69	0.54	1.78	1.78
0.72	0.22	0.54	0.54
0.76	0.23	0.61	1.20
0.79	0.25	0.68	1.85
0.83	0.39	1.20	0.61
0.86	0.41	1.27	1.27
0.90	0.43	1.34	1.93
0.93	0.56	1.85	0.68
0.97	0.58	1.93	1.34
1.00	0.60	2.00	2.00

Tabla 2. Combinaciones de AU, PAR, AA y AO empleadas en la etapa de prueba de la RNA.

AU mM	PAR mM	AA mM	AO mM
0.18	0.33	1.65	0.79
0.26	0.37	1.83	1.48
0.35	0.42	2.00	0.27
0.43	0.46	0.10	0.96
0.51	0.51	0.27	1.65
0.59	0.55	0.45	0.45
0.67	0.60	0.62	1.14
0.75	0.10	0.79	1.83
0.84	0.15	0.96	0.62
0.92	0.19	1.14	1.31

Red Neuronal Artificial para cuantificar AU en presencia de interferentes

Además, se realizó una prueba de validación cruzada basada en la técnica K-fold (k=4) [14] para evaluar el rendimiento de RNA. Con esta técnica, todo el conjunto de datos se divide en k subconjuntos (entrenamiento y prueba) y el método de reserva se repite k veces. Cada vez, uno de los k subconjuntos se usa como conjunto de prueba y los otros k - 1 subconjuntos, se usan para entrenamiento, (ver tabla 3). El objetivo es analizar el rendimiento de la RNA con diferentes subconjuntos de entrenamiento y prueba para mostrar la capacidad del modelo en la tarea de cuantificación de AU en presencia de los interferentes.

Tabla 3. Representación de la división de los datos para la prueba de validación cruzada por la técnica K-fold.

RNA 1	Datos de prueba	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento
RNA 2	Datos entrenamiento	Datos de prueba	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento
RNA 3	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento	Datos de prueba	Datos entrenamiento
RNA 4	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento	Datos entrenamiento	Datos de prueba

Resultados y Discusión

Mediciones electroquímicas

En la figura 2, se representan los voltamperogramas individuales para el AO (100 mV), AA (280 mV), AU (378 mV), y PAR (474 mV). Se observa un traslape entre los picos anódicos de las tres moléculas respecto a la del AU, que demuestran su potencial interferencia en la señal analítica al usar el sensor Bi₂O₃-NPs/CPE.

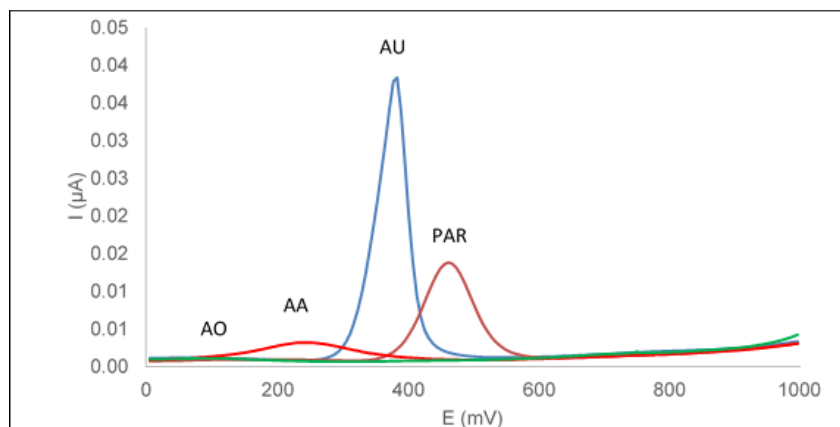


Figura 2. Voltamperogramas de disoluciones de AA (0.1 mM), PAR (0.1 mM), AA (0.1 mM) y OA (0.1 mM) obtenidos mediante VDP, usando $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-NPs/CPE}$ como electrodo de trabajo, ABS 0.1 M (pH 5.5) como electrolito soporte y una ventana de potencial de 0 a 1000 mV a una velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} en sentido anódico.

En las figuras 3A y 3B se presentan los voltamperogramas empleados para las etapas de entrenamiento y de prueba de la RNA, respectivamente. En estas figuras es posible observar que el pico anódico asociado a la oxidación de AU sufre interferencia de los picos correspondientes a las oxidaciones de PAR, AA y AO.

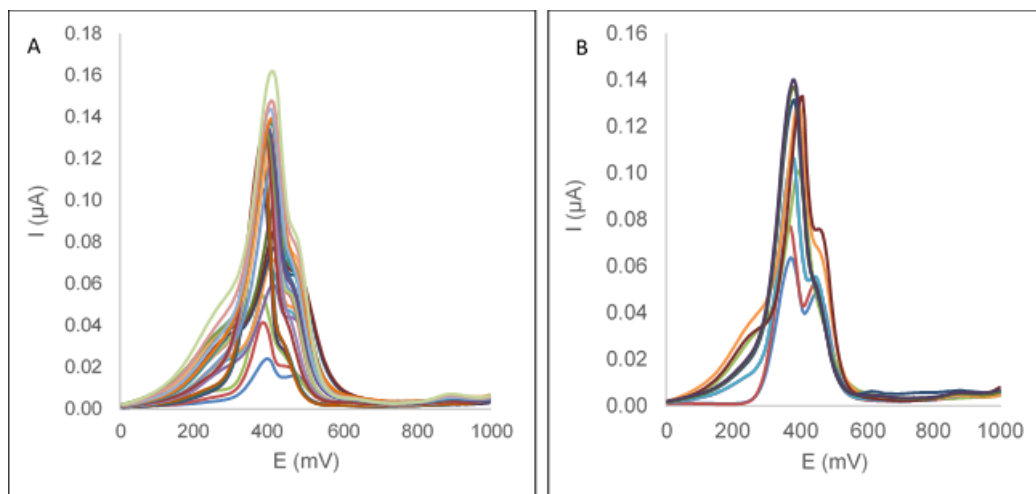


Figura 3. A) Voltamperogramas obtenidos para las 27 combinaciones de concentraciones de las especies AA, PAR, AA y OA empleadas para la etapa de entrenamiento y B) Voltamperogramas de las 10 combinaciones de las especies AA, PAR, AA y AO empleadas para la etapa de prueba, ambas obtenidas mediante VDP, $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-NPs/CPE}$, ABS 0.1 M (pH 5.5) y una ventana de potencial de 0 mV a 1000 mV (100 mVs^{-1}).

Pruebas con la RNA

Usando la programación del perceptrón con una capa oculta y estableciendo un proceso de prueba y error, se determinó una tasa de aprendizaje de 0.25, un impulso de 0.1, un error de 0.01 y una función de entrenamiento mediante una función Levenberg-Marquardt. Se logró maximizar el valor del coeficiente de correlación múltiple (R) y minimizar el valor de EMC para la señal de AU en presencia de los interferentes. El mejor número de neuronas resultó ser 8, que permitió maximizar el valor de R (ver figura 4) y minimizar el valor de EMC (ver figura 5).

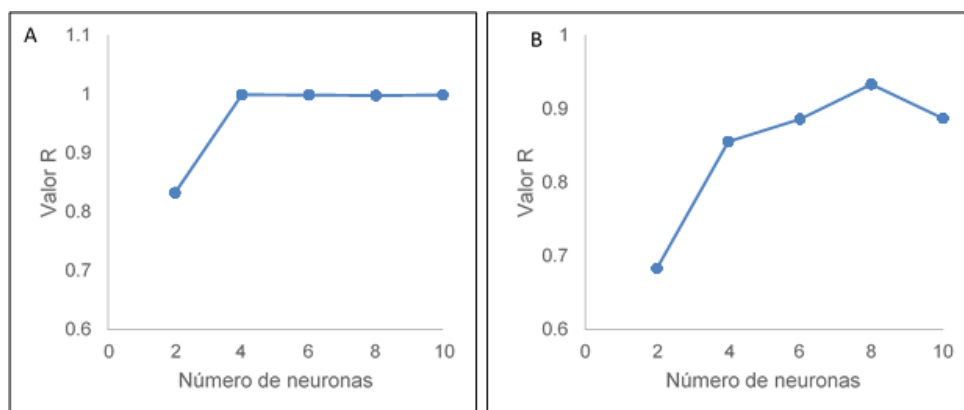


Figura 4. A) Evaluación del valor de R para la etapa de entrenamiento y B) la etapa de prueba para la RNA aplicada en la cuantificación de AU en presencia de interferentes.

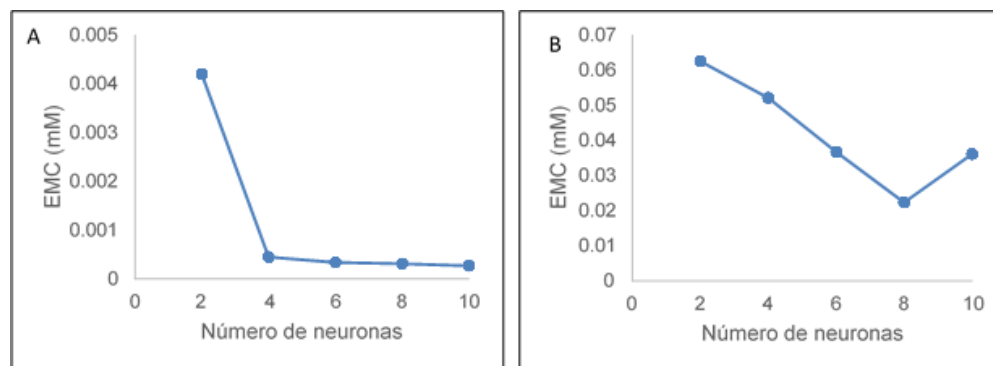


Figura 5. A) Evaluación del valor de EMC para la etapa de entrenamiento y B) etapa de prueba para la RNA aplicada en la cuantificación de AU en presencia de interferentes.

Se determinó el rendimiento de la RNA para el análisis cuantitativo de AU en presencia de los interferentes, mediante la relación estadística entre las concentraciones obtenidas y esperadas para la fase de entrenamiento (figura 6A) y de prueba (figura 6B). Se empleó el estadístico ji cuadrado (χ^2) para evaluar la bondad de ajuste de los datos obtenidos y los datos esperados en la RNA; en la etapa de entrenamiento se comprobó que $\chi^2_{calculada}$ (0.046) < $\chi^2_{critica}$ (38.9) y en la etapa de prueba resultó $\chi^2_{calculada}$ (0.0061) < $\chi^2_{critica}$ (16.92),

ambas con un nivel de significación de $\alpha = 0.05$. En ambas etapas $\chi^2_{calculada} < \chi^2_{critica}$, debido al buen ajuste de los datos obtenidos por la RNA y a la distribución de los datos esperados, por lo tanto, no se presentan diferencias estadísticamente significativas.

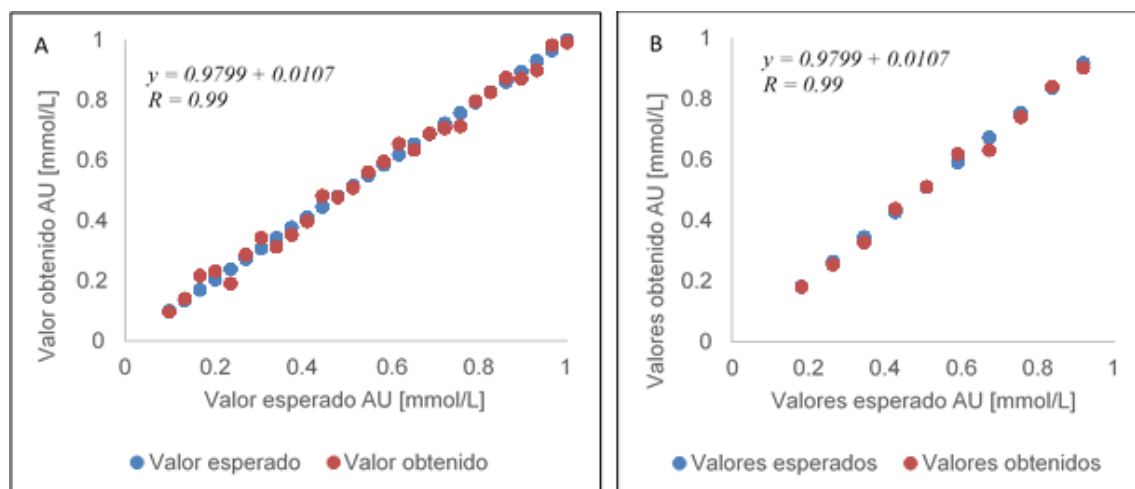


Figura 6. Valores reales (esperados) (azul) y valores obtenidos (naranja) para (A) 27 muestras estándares empleadas en la etapa de entrenamiento y (B) 10 muestras empleadas en la etapa de prueba.

En la tabla 4, se resumen los datos de rendimiento de la RNA.

Tabla 4. Datos de evaluación del rendimiento de la RNA para la cuantificación de AU en presencia de interferentes.

Valor	Entrenamiento	Prueba
Ecuación	$y = 0.9799 + 0.0107x$	$y = 0.9198 + 0.0644x$
R	0.99	0.93
PR	99.77%	96%
EMC	0.000178	0.0141
Validación cruzada	R = 0.9982 (validación 1)	R = 0.9328 (validación 1)
	R = 0.9986 (validación 2)	R = 0.8125 (validación 2)
	R = 0.9965 (validación 3)	R = 0.9246 (validación 3)
	R = 0.9981 (validación 4)	R = 0.9468 (validación 4)

El valor de R obtenido para la etapa de entrenamiento ($R=0.99$) y prueba ($R=0.93$), indican que la RNA presentó un buen rendimiento para la cuantificación de AU en presencia de interferentes. Además, el valor de PR fue cercano al 100% en ambas etapas, confirmando la capacidad de predicción cuantitativa de la RNA aplicada.

En la prueba de validación cruzada, los valores de R fueron superiores a 0.90 en tres subconjuntos (1,3 y 4) para la etapa de entrenamiento y prueba, sin embargo, para el subconjunto 2 el valor de R fue menor a 0.90 en la etapa de prueba. Este comportamiento puede deberse a la ubicación opuesta de los datos de prueba y datos de entrenamiento, ocasionando que la RNA no pueda ajustar correctamente los datos [15].

En la tabla 5 se muestran la concentración de AU en muestras de orina dopadas usando las metodologías de RNA-VDP y espectrofotometría enzimática. Una t crítica de 4.3 se considera para dos grados de libertad (nivel de confianza de 95%). Se observa que los datos obtenidos por ambos métodos no presentaron diferencias significativas.

Tabla 5. Cuantificación de AU en orina humana usando RNA-DVP

Muestras	DPV-RNA (mM)	S	Método uricasa (mM)	t_{exp}
Orina humana 1	0.3846	0.235	0.3748	0.072
Orina humana 2	0.4955	0.303	0.4803	0.087

Conclusiones

La RNA-VDP resultó ser eficiente para el procesamiento no lineal de las respuestas voltamperométricas superpuestas obtenidas en una mezcla de AU, PAR, AA y AO, sin ninguna etapa de pretratamiento de los datos o separación de los componentes de la mezcla empleada en la presente metodología. Los resultados obtenidos para el análisis cuantitativo en el presente trabajo indican que la técnica VDP puede ser aplicada con buenos rendimientos para la determinación de AU en presencia de interferentes, con la combinación de RNA.

Agradecimientos

HRD agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) la beca otorgada (733056) para estudios de doctorado. GAAR, MHLH, GVC y ALGY agradecen a CONAHCyT y al Sistema Nacional de Investigadores por el estipendio y reconocimiento otorgado, que apoyó esta investigación.

Referencias

- [1] A.N. Ananthi, S.M. Kumar, K.L. Phani, Facile one-step direct electrodeposition of bismuth nanowires on glassy carbon electrode for selective determination of folic acid, *Electrochimica Acta*, 151, 584 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.069>.
- [2] S. Knežević, M. Ognjanović, B. Dojčinović, B. Antić, S. Vranješ-Đurić, D. Manojlović, D. M. Stanković, Sensing platform based on carbon paste electrode modified with bismuth oxide nanoparticles and SWCNT for submicromolar quantification of honokiol, *Food Anal. Methods*, 15, 856 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02174-2>
- [3] N.M. Shinde, Q.X. Xia, J.M. Yun, P.V. Shinde, S.M. Shaikh, R.K. Sahoo, S. Mathur, R.S. Mane, K.M. Kim, (2019). Ultra-rapid chemical synthesis of mesoporous Bi₂O₃ micro-sponge-balls for supercapattery applications. *Electrochimica Acta*, 296, 308 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.11.044>.

- [4] A.P. Periasamy, S. Yang, S. M. Chen, Preparation and characterization of bismuth oxide nanoparticles-multiwalled carbon nanotube composite for the development of horseradish peroxidase based H₂O₂ biosensor, *Talanta*, 87, 15 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.09.021>
- [5] X. Chen, S. Chen, W. Huang, J. Zheng, Z. Li, Facile preparation of Bi nanoparticles by novel cathodic dispersion of bulk bismuth electrodes, *Electrochim Acta*, 54, 7370 (2009). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2009.07.068>
- [6] G. Zhao, H. Wang, G. Liu, & Z. Wang, Optimization of stripping voltammetric sensor by a back propagation artificial neural network for the accurate determination of Pb (II) in the presence of Cd (II). *Sensors*, 16, 9 (2016).
- [7] A. Nezhadali, & S. Sadeghzadeh, Optimization of stripping voltammetric sensor by mixture design-artificial neural network-genetic algorithm for determination of trace copper (II) based on iodoquinol-carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 224, 134-142 (2016).
- [8] J. Liu, Y. Xu, S. Liu, S. Yu, Z. Yu, & S. Low, Application and progress of chemometrics in voltammetric biosensing. *Biosensors*, 12(7), 494 (2022).
- [9] M. van Assen, S.J. Lee, & C.N. De Cecco, Artificial intelligence from A to Z: from neural network to legal framework. *European Journal of Radiology*, 129, 109083 (2020).
- [10] R.C. Barthus, L.H. Mazo, & R.L. Poppi, Simultaneous determination of vitamins C, B6 and PP in pharmaceuticals using differential pulse voltammetry with a glassy carbon electrode and multivariate calibration tools. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 38(1), 94-99 (2005).
- [11] G.K. Ziyatdinova, A.A. Saveliev, G.A. Evtugyn, & H.C. Budnikov, Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants with chemometric approaches. *Electrochimica Acta*, 137, 114-120 (2014).
- [12] G.Y. Aguilar-Lira, P. Hernandez, G.A. Álvarez-Romero, & J.M. Gutiérrez, Simultaneous Quantification of Four Principal NSAIDs through Voltammetry and Artificial Neural Networks Using a Modified Carbon Paste Electrode in Pharmaceutical Samples. *Chemistry Proceedings*, 5(1), 3 (2021).
- [13] N. Laguarda-Miro, F.W. Ferreira, E. García-Breijo, J. Ibáñez-Civera, L. Gil-Sánchez, & J. Garrigues-Baixauli, Glyphosate detection by voltammetric techniques. A comparison between statistical methods and an artificial neural network. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171, 528-536 (2012).
- [14] G. Paneiro, & M. Rafael, Artificial neural network with a cross-validation approach to blast-induced ground vibration propagation modeling. *Underground Space*, 6(3), 281-289 (2021).
- [15] G.Y. Aguilar-Lira, J.M. Gutiérrez-Salgado, A. Rojas-Hernández, J.A. Rodríguez-Ávila, M.E. Páez-Hernández, & G.A. Álvarez-Romero, Artificial neural network for the voltamperometric quantification of diclofenac in presence of other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and some commercial excipients. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 801, 527-535 (2017).

METABOLÓMICA BASADA EN RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR APLICADA AL SECTOR SALUD

Martha Elena García Aguilera, Nuria Esturau Escofet*

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear, Circuito exterior s/n Circuito de la Investigación Científica, C.U. Coyoacán, C.P. 04510, CDMX, México.
Tel.: +52 (55) 562 247 70 ext. 45648, e-mail: mgarciaa@iquimica.unam.mx, nesturau@iquimica.unam.mx

Introducción

Las tecnologías “ómicas” son un conjunto de tecnologías analíticas empleadas en diferentes disciplinas que permiten generar y agrupar información de un sistema biológico con el fin de obtener una visión lo más completa posible. Entre ellas están la genómica, la proteómica y la metabolómica, que permiten detectar a gran escala los genes, las proteínas y los metabolitos, respectivamente.

La metabolómica es la disciplina ómica de más reciente aparición y es capaz de revelar la respuesta de los sistemas biológicos a la influencia genética, nutricional y ambiental a través del análisis del metaboloma en un momento o condición en específico [1]. El metaboloma es la colección de compuestos de bajo peso molecular (incluidos aminoácidos, lípidos y ácidos orgánicos) productos o intermediarios (endógenos o exógenos) de los procesos químico-enzimáticos que resultan del metabolismo celular en un tejido, organismo o biofluidos como suero, plasma, LCR y orina [2-5].

El objetivo de la metabolómica es identificar si existe una diferencia significativa entre los grupos de muestras usando técnicas analíticas para visualizar tendencias y correlaciones mediante la construcción de modelos predictivos con métodos estadísticos [6].

De acuerdo al objetivo del estudio, la metabolómica puede ser abordada desde dos enfoques distintos: metabolómica no dirigida, que es el análisis de todo el perfil; y metabolómica dirigida, que involucra el análisis de metabolitos específicos [6-8].

Entre las plataformas analíticas más utilizadas en metabolómica se encuentra la espectrometría de masas. Por lo general, se acopla a técnicas cromatográficas de gases o de líquidos y tiene alta sensibilidad y selectividad. Sin embargo, necesita de un tratamiento previo de la muestra y es una técnica destructiva. Otra plataforma es la RMN, cuyo uso en metabolómica ha aumentado sustancialmente en los últimos años debido a los avances tecnológicos, como el uso de sondas criogénicas que mejoran su sensibilidad. Si bien otras técnicas son más sensibles en comparación con la RMN, la RMN es altamente reproducible, se puede cuantificar una amplia gama de metabolitos simultáneamente con una mínima preparación de muestra, no es destructiva y el perfil de metabolitos se puede adquirir en un breve período de tiempo [2-4].

Teniendo en cuenta la gran cantidad de datos obtenidos en un espectro de RMN, la extracción de información importante se convierte en un desafío continuo. Por lo tanto, es importante realizar un análisis multivariante (MVA) al conjunto de datos metabólicos para comparar patrones y encontrar características relevantes que distingan entre las

clases de muestras [9, 10]. A estos métodos se les conoce como métodos quimiométricos.

La quimiometría se define como la disciplina química que utiliza matemáticas y estadística, entre otros métodos que emplean la lógica, para extraer la máxima cantidad de información significativa de los datos disponibles [11].

Existen dos enfoques diferentes en MVA para el reconocimiento de patrones: los métodos no supervisados y los supervisados. Los primeros generalmente son el primer paso en el MVA, permiten reducir, explorar y visualizar los datos y encontrar patrones y valores atípicos. Una de las técnicas exploratorias y no supervisadas más útiles para excluir valores atípicos e identificar la variante dominante en el conjunto de datos no asociada con el efecto biológico es el análisis de componentes principales (PCA). Por otro lado, los métodos supervisados utilizan la clasificación de las muestras para maximizar la separación entre grupos, y así generar patrones o tendencias. Una de las técnicas supervisadas más común es el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), en donde se utiliza la pertenencia a clases para maximizar la discriminación entre grupos para un efecto biológico en particular. Otra técnica supervisada ampliamente utilizada es la proyección ortogonal a las estructuras latentes con análisis discriminatorio (OPLS-DA) para eliminar la variación sistemática en X que es ortogonal a Y. Ambas técnicas se utilizan para seleccionar las variables relevantes para facilitar la identificación de metabolitos importantes [3-5, 12-14].

La metabolómica tiene el potencial de convertirse en una herramienta de diagnóstico clínicamente útil. En la última década se han reportado estudios del perfil bioquímico que han demostrado la eficacia de la metabolómica en la identificación de biomarcadores asociados con el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de diversas enfermedades.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en tres proyectos desarrollados en el Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear (LURMN) del Instituto de Química de la UNAM. El primero, en colaboración con la Facultad de Química de UNAM, aborda el estudio del tratamiento del cáncer con Casiopeínas [15]. El segundo, en colaboración con el Instituto Nacional de Pediatría, estudia la orina de neonatos prematuros enfermos con diferentes tipos de nutrición [16]. El tercero, en colaboración con el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (INNN), estudia del líquido cefalorraquídeo (LCR) en sujetos con muerte encefálica (ME) [17].

Parte Experimental

A continuación, se describe el flujo de trabajo en estudios de metabolómica que aplica a los tres estudios presentados:

Primero se inicia con el planteamiento de la pregunta biológica. En segundo lugar se lleva a cabo el diseño experimental, el cual incluye la determinación de los criterios de inclusión, exclusión y el número de muestras, así como las variables y niveles de estudio. Posteriormente se realiza el muestreo y la preparación de las muestras de acuerdo con las características de la matriz y el objetivo de estudio. Una vez preparada la muestra con

buffer de fosfatos en D₂O (pH 7.0) con TSP, se transfieren 600 μ de la disolución con pH ajustado a un tubo de RMN de 5 mm. Los experimentos de RMN se adquieren a 298.15 K en un espectrómetro Bruker Avance III de 16.44 Teslas (699.96 MHz para ¹H), provisto de una sonda criogénica de triple sintonía con bobina de gradientes en el eje z y un muestreador automático "Sample Jet". La adquisición de los experimentos se realiza de manera automática con el software IconNMR. Los espectros de ¹H-RMN se adquieren utilizando la secuencia de pulsos unidimensional estándar utilizando el primer incremento de la secuencia de pulsos 1D NOESY-presat (secuencia de pulsos Bruker noesypr1d), que es la ideal para estos estudios porque no distorsiona la línea base. Las FID (*Free Induction Decay*) se multiplican por una función exponencial con un factor de ancho de línea de 0.3 Hz antes de la transformada de Fourier. La fase y la línea base de los espectros de ¹H-RMN se corrigen de forma manual. Los desplazamientos químicos de ¹H-RMN se referencian a la señal de TSP a 0.0 ppm. Con el software Chenomx NMR Suite v. 8.4 se identifican los metabolitos presentes en las muestras. La matriz de datos con las integrales normalizadas se somete a MVA en el software SIMCA 16.0.1.7928. Se utiliza el software Chenomx para cuantificar los metabolitos. Con el software MetaboAnalyst con la base de datos de la enciclopedia de vías de genes y genomas de Kioto (KEGG; www.genome.jp/kegg/) se identifican las vías metabólicas más relevantes enriquecidas.

Resultados y Discusión

Caso de estudio de la línea tumoral MDA-MB-231 tratada con Casiopeínas [26]:

Se analizó el efecto de los metalofármacos cisplatino y CasIIgly en la línea tumoral celular MDA-MB-231 a 20 y 40 minutos. La Figura 1A muestra el PCA de los datos espectroscópicos de las muestras sin tratamiento (amarillas), cisplatino (azul) y CasIIgly (rojo), en donde se observa una agrupación característica para cada tratamiento. En la Figura 1B y 1C se presenta el análisis de los tratamientos a 20 y 40 min respectivamente. Estos resultados sugieren que los tratamientos con cisplatino y CasIIgly tienen diferentes efectos en el metabolismo celular. Los metabolitos responsables de la separación entre muestras fueron glucosa, colina, alanina, lactato, piruvato, glutamato, valina, glutamina, leucina y succinato. Resultado del análisis de enriquecimiento de las rutas metabólicas, se encontró que el cisplatino contribuye principalmente a la biosíntesis de fosfolípidos, mientras que CasIIgly afecta procesos como el metabolismo de carbohidratos y nucleótidos. Asimismo, se observó que el tratamiento con CasIIgly tiene un efecto importante y rápido sobre el metabolismo de las células MDA-MB-231, lo que lo convierte en una buena alternativa de tratamiento en este tipo de cáncer.

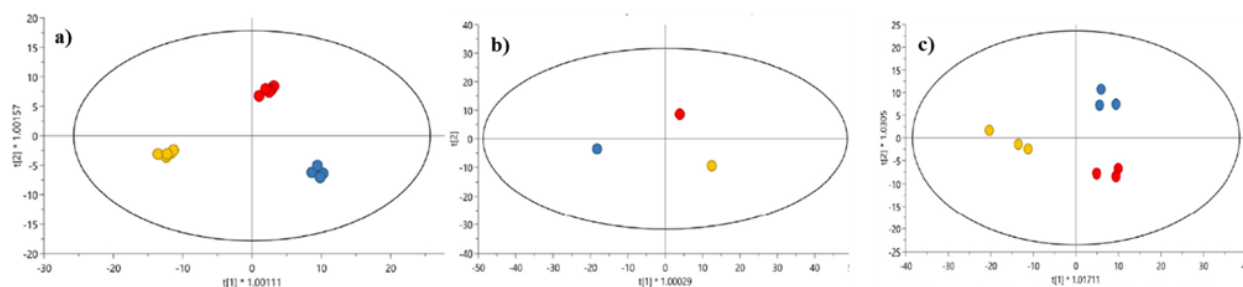


Figura 1. a) Scores del PCA de los datos espectrales de RMN durante todos los tiempos. b) Scores del OPLS-DA de los datos espectrales de RMN durante 20 min. c) Scores del OPLS-DA de los datos espectrales de RMN durante 40 min. Sin tratamiento (amarillo), cisplatino (azul) y CasIlgly (rojo).

Caso de estudio de la nutrición de recién nacidos prematuros enfermos [27]:

Se evaluó el efecto del tratamiento de la nutrición parenteral (NP) mediante metabólica no dirigida en 107 muestras de orina de 34 pacientes hospitalizados. Se utilizó MVA para identificar la asociación de datos espectrales específicos con diferentes tipos nutricionales (TN) y edades gestacionales. Los resultados revelaron una clara diferencia metabólica entre los prematuros de acuerdo al TN utilizado (Figura 2), siendo el ciclo del ácido tricarboxílico y las vías metabólicas de la galactosa las más afectadas. Los niveles bajos de citrato y succinato, a pesar de las concentraciones relativas altas de glucosa parecen constituir el perfil metabólico encontrado en los recién nacidos prematuros enfermos estudiados que recibieron NP, lo que indica una disfunción energética que debe tenerse en cuenta para un mejor manejo nutricional.

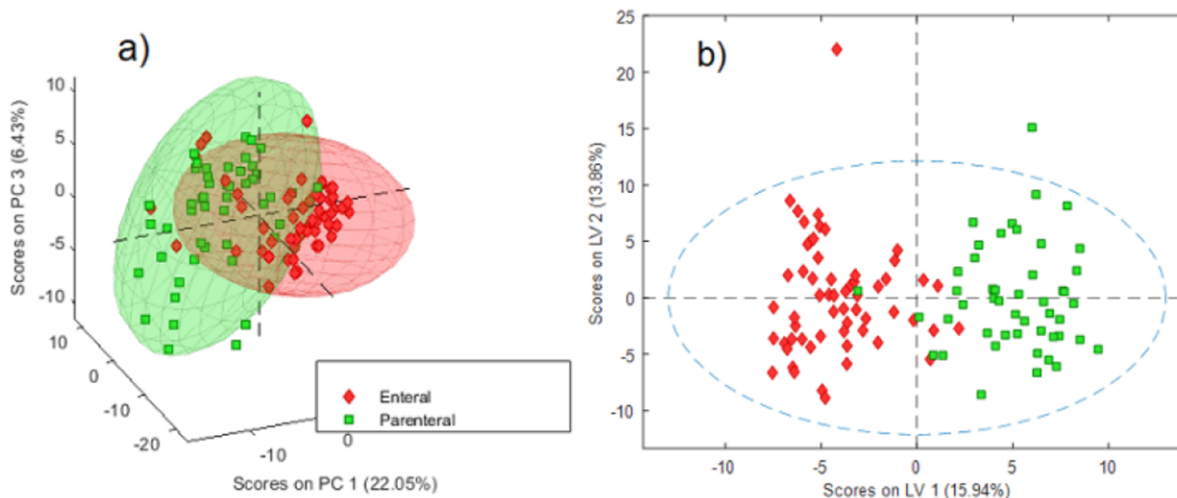


Figura 2. a) Scores del PCA de los datos espectrales de RMN. b) Scores del OPLS-DA de los datos espectrales de RMN.

Caso de estudio del LCR en ME [28]:

Los modelos del MVA separaron las muestras de sujetos con ME de los controles y revelaron veintiún metabolitos discriminatorios. Se observó una elevación en la concentración de estos metabolitos como son: glutamina, glutamato, asparagina, alanina,

piruvato, betaína, glicina, creatina, lactato, prolina, histidina, arginina, lisina, leucina, y valina. Lo que permitió la identificación de la huella metabólica de ME y de las rutas metabólicas enriquecidas más relevantes, por ejemplo: glutamina y metabolismo del glutamato; metabolismo de alanina, aspartato y glutamato; metabolismo de glicina, serina y treonina; metabolismo del piruvato; metabolismo de arginina y prolina; metabolismo de la histidina y biosíntesis de arginina y metabolismo de glioxilato y dicarboxilato.

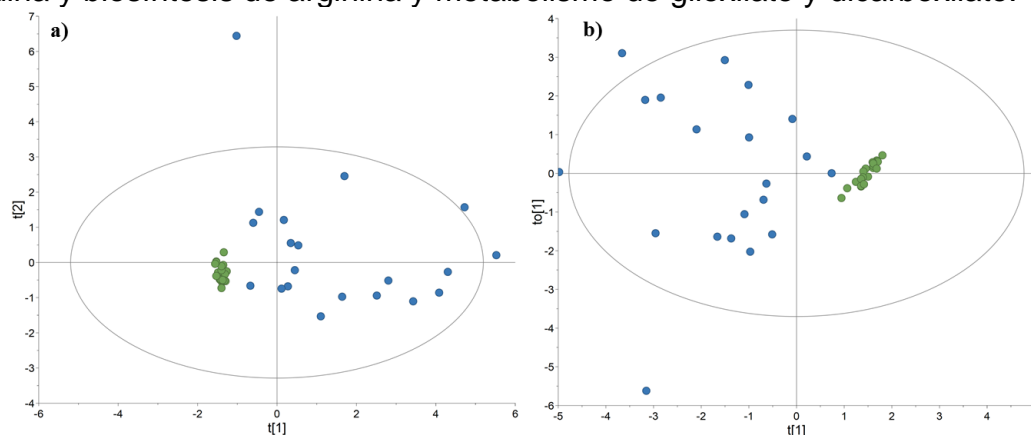


Figura 3. a) Scores del PCA de los datos espectrales de RMN. b) Scores del OPLS-DA de los datos espectrales de RMN. Ambos modelos son de 22 controles (verde) y 20 sujetos con ME (azul).

Conclusiones

La metabolómica es una herramienta que facilita la comprensión de distintos sistemas biológicos considerando los factores externos que ejercen algún impacto sobre ellos.

La metabolómica usa un abordaje interdisciplinario que resulta muy versátil para el estudio de distintos tipos de sistemas, así como para la identificación de biomarcadores de enfermedades o para la evaluación de tratamientos. Al ser rápida y precisa, se puede aplicar con un enfoque particular o de una manera global para clasificar el estado de los organismos en estudio.

-Caso de estudio de la línea tumoral MDA-MB-231 tratada con Casiopeínas [26]:

El estudio contribuye al conocimiento de los efectos de los metalofármacos en el metabolismo de las células cancerosas para mejorar el diseño de futuros fármacos. Con este análisis se piensa que CasIgly podría tener un efecto más rápido que el cisplatino y un gran impacto en el metabolismo de las células MDA-MB-231, lo que lo convierte en una buena alternativa de tratamiento en este tipo de cáncer.

-Caso de estudio de la nutrición de recién nacidos prematuros enfermos [27]:

El estudio realizado en muestras de orina permitió identificar la asociación de datos espectrales específicos con diferentes tipos de nutrición y comprender algunas características del metabolismo complejo de esta población pediátrica vulnerable. Los resultados revelan cambios en el perfil metabólico relacionados con el tratamiento de la NP. Las bajas concentraciones relativas de citrato y succinato en los recién nacidos

prematuros que recibieron NP podrían indicar un déficit nutricional energético que debe ser considerado para un mejor manejo de estos pacientes.

-Caso de estudio del LCR en ME [28]:

En el estudio del perfil metabolómico del LCR en ME se confirmó la importancia en la fisiopatología del lactato y el glutamato. El aumento de estos dos metabolitos y de la glutamina marcó la principal diferencia entre los grupos. Este estudio también permitió la identificación de las rutas metabólicas más relevantes que se enriquecieron significativamente en los datos metabolómicos.

Las investigaciones realizadas demuestran la importancia y la versatilidad de la RMN para el estudio del perfil metabolómico de diferentes sistemas, en donde se pueden identificar y cuantificar una gran variedad de metabolitos.

Estas investigaciones sientan las bases para construir futuros modelos capaces de predecir la evolución del paciente y del tratamiento con la identificación de marcadores de diagnóstico y pronóstico.

Agradecimientos

Se agradece a los grupos de trabajo de la Facultad de Química, del Instituto Nacional de Pediatría y del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez por la colaboración realizada para la realización de estos proyectos.

Referencias

- [1] M. Harker, H. Coulson, I. Fairweather, et al. Study of metabolite composition of eccrine sweat from healthy male and female human subjects by ^1H NMR spectroscopy. *Metabolomics* **2**[3]:105–112 (2006).
- [2] J. L. Griffin. Metabonomics: NMR spectroscopy and pattern recognition analysis of body fluids and tissues for characterisation of xenobiotic toxicity and disease diagnosis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **7**[5]:648–654 (2003).
- [3] J. K. Nicholson, J. C. Lindon, E. Holmes. “Metabonomics”: Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica* **29**[11]:1181–1189 (1999).
- [4] S. Ren, A. A. Hinzman, E. L. Kang, et al. Computational and statistical analysis of metabolomics data. *Metabolomics* **11**[6]:1492–1513 (2015).
- [5] A. M. Weljie, J. Newton, P. Mercier, et al. Targeted profiling: Quantitative analysis of ^1H NMR metabolomics data. *Anal. Chem.* **78**[13]:4430–4442 (2006).
- [6] J. Bartel, J. Krumsiek, F. J. Theis. Statistical methods for the analysis of high-throughput metabolomics data. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **4**[5]:e201301009 (2013).
- [7] V. Shulaev. Metabolomics technology and bioinformatics. *Brief. Bioinform.* **7**[2]:128–139 (2006).
- [8] G. Blekherman, R. Laubenbacher, D. F. Cortes, et al. Bioinformatics tools for cancer metabolomics. *Metabolomics* **7**[3]:329–343 (2011).

- [9] F. H. Long. Multivariate Analysis for Metabolomics and Proteomics Data. *Proteomic Metabolomic Approaches to Biomark. Discov.* 299–311 (2013).
- [10] B. Worley, R. Powers. Multivariate Analysis in Metabolomics. *Curr. Metabolomics* **1**[1]:92–107 (2012).
- [11] D. L. Massart, P. K. Hopke. Chemometrics and Distributed Software. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **25**[3]:308–313 (1985).
- [12] E. Holmes, H. Antti. Chemometric contributions to the evolution of metabonomics: Mathematical solutions to characterising and interpreting complex biological NMR spectra. *Analyst* **127**[12]:1549–1557 (2002).
- [13] L. Eriksson, H. Antti, J. Gottfries, et al. Using chemometrics for navigating in the large data sets of genomics, proteomics, and metabonomics (gpm). *Anal. Bioanal. Chem.* **380**[3 SPEC.ISS.]:419–429 (2004).
- [14] J. Trygg, E. Holmes, T. Lundstedt T. Chemometrics in metabonomics. *J. Proteome Res.* **6**[2]:469–479 (2007).
- [15] K. Resendiz-Acevedo, M. E. García-Aguilera, N. Esturau-Escofet and L. Ruiz-Azuara. ¹H -NMR Metabolomics Study of the Effect of Cisplatin and Casiopeina Ilgly on MDA- MB-231 Breast Tumor Cells. *Front. Mol. Biosci.* **8**[742859] (2021).
- [16] N. Esturau-Escofet; E. Rodríguez de San Miguel; M. Vela-Amieva; M. E. García-Aguilera; C.C. Hernández-Espino; L. Macias-Kauffer; C. López-Candiani; J. J. Naveja; I. Ibarra-González. A Longitudinal ¹H NMR-Based Metabolic Profile Analysis of Urine from Hospitalized Premature Newborns Receiving Enteral and Parenteral Nutrition. *Metabolites* **12**[255] (2022).
- [17] M. E. García-Aguilera; E. Rodríguez de San Miguel; · J. Cruz-Pérez; · L. Aguirre-Cruz; · C. M. Ramirez-Alfaro; N. Esturau-Escofet. NMR-based metabolomics of human cerebrospinal fluid identifies signature of brain death. *Metabolomics* **17**[40] (2021).

08

Jóvenes Investigadores

Estudiantiles

EXTRACTOS VEGETALES UNA ALTERNATIVA LIMPIA PARA LA RECUPERACIÓN DE PLATA METÁLICA DE DESECHOS DE LA INDUSTRIA FOTOGRAFICA

Laura Erika Sosa, Lidia Meléndez Balbuena, Esteban Sánchez Muñoz

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ciencias Químicas. Avenida San Claudio y 18 sur, Colonia San Manuel, Ciudad Universitaria. Puebla, Pue. C.P. 75570. México. Tel: (222) 2295500 ext 7545
e-mail: laura.sosamun@alumno.buap.mx , lidia.melendez@correo.buap.mx, esteban.sanchezmu@correo.buap.mx

Introducción

En la actualidad existe una preocupación creciente en lo concerniente a los problemas medioambientales provocados por la actividad humana y en cómo estos problemas pueden afectar a nuestra salud, entre los residuos contaminantes se encuentran los de la industria fotográfica cuyos desechos contienen sales de plata, provenientes de las películas radiográficas utilizadas en todos los hospitales del mundo, estas son desechadas en la basura e impactan en la contaminación de los ríos. La plata es un recurso natural cuya demanda actual es mayor que su producción, siendo la industria fotográfica la mayor usuaria de la plata en el mundo, debido a que es única en su habilidad para reaccionar con la luz y producir imágenes en aplicaciones tales como la fotografía y en la elaboración de las placas radiográficas [1]. Es el insumo más importante del servicio de rayos X de cualquier hospital o clínica del mundo, desafortunadamente, una vez que las placas radiográficas han cumplido su función, terminan siendo desechadas por completo y puede afirmarse que la plata contenida en las radiografías va a parar a los ríos y mares, la plata que se solubiliza de las películas radiográficas y es muy difícil recuperarla posteriormente, por lo que debemos hacer todo lo posible para conservar y reutilizar tan valioso recurso natural que existe en una cantidad limitada en el planeta; adicionalmente es importante mencionar que es un recurso natural cuya demanda actual es mayor que su producción, tal y como lo da a conocer Shayne McGuire en su libro titulado *The Silver Bull Market Investing in the Other Gold*. En el menciona la importancia de la plata puntualizando que en poco tiempo será el otro oro en los mercados financieros [2].

Es importante resaltar los beneficios de recuperar la plata de las placas radiográficas ya que es un metal precioso considerado altamente rentable para su comercialización, es decir, el beneficio económico es evidente sustentado en el mercado actual de metales preciosos que considera a este metal como un componente de alta rentabilidad debido a los usos tecnológicos que ofrece [3, 4].

Actualmente, se cuenta con diversos métodos para recuperar plata de los residuos generados por el sector fotográfico, los más comunes reportados en la literatura son los métodos químicos que incluyen reemplazo o sustitución metálica, electrólisis, intercambio iónico y precipitación [5]. Estas técnicas están usualmente relacionadas con un alto costo inicial en cuanto al equipamiento, operación y purificación de los productos finales. Debido a este problema existe el interés de explorar métodos menos contaminantes con el ambiente como son los métodos biológicos que emplean plantas que contienen en su

estructura química compuestos fenólicos que constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, que desempeñan diversas funciones fisiológicas en las que resaltan sus propiedades antioxidantes. Los compuestos

intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta.

Estos métodos son ampliamente utilizados con éxito en la reducción de sustancias como radicales libres e iones metálicos, siendo utilizados extractos vegetales con gran éxito en la síntesis de nanopartículas de plata y otros metales como el oro y el cobre, en donde actúan como agentes reductores de los metales [6].

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue analizar el comportamiento de los extractos vegetales con propiedades antioxidantes en la recuperación de la plata metálica contenida en las placas radiográficas. Los extractos vegetales a emplear son aquellos que contienen metabolitos como los compuestos *polifenólicos* [7] y los *flavonoides*, que poseen bajos potenciales de reducción con alta capacidad antioxidante. Los bajos potenciales redox de estos antioxidantes hacen termodinámicamente favorable la reducción de la gran mayoría de radicales libres y algunos metales [8]. Los extractos vegetales estudiados fueron las hojas de Eucaliptus y de Pipicha, se utilizaron como solventes agua y etanol con la finalidad de comparar la cantidad de plata obtenida con diferentes solventes ya que la cantidad extraída de la plata depende en gran medida de la naturaleza del solvente empleado siendo los solventes polares los más reportados para el caso de los polifenoles [9, 10].

Parte Experimental

En este apartado se describe la metodología experimental que se llevó a cabo para recuperar la plata en forma metálica.

Vegetales elegidos

Los vegetales elegidos fueron las hojas de árbol eucaliptus y pipicha, pepicha o chepiche, vegetales a los que inicialmente se les aplicó el método de Folin-Ciocalteu para determinar el contenido en polifenoles [11].

Elaboración de extractos vegetales

La elaboración de extractos se llevó a cabo para cada especie mediante un proceso de extracción sólido-líquido, empleando como solventes, agua y etanol. Los vegetales fueron previamente lavados secados y posteriormente triturados, se obtienen los extractos por contacto de 1.0 g del vegetal con 100 ml de disolvente, en el caso del agua se calentó a una temperatura de 80 ° C por un tiempo de 40 min tras el cual se obtiene el extracto líquido por filtración. Los extractos se almacenan a 4°C protegidos de la luz.

Tratamiento de las placas radiográficas

La recuperación de la plata contenida en las placas radiográficas se realizó mediante el siguiente procedimiento. Se colocaron 100 g de radiografías trituradas a un tamaño alrededor de 1 cm², en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, se sometieron a una digestión ácida, con una disolución de ácido nítrico (20% w/w), la mezcla color azul obtenida (Figura 1) se agito por 2 horas a una temperatura de 80 °C tornándose amarilla. La disolución amarilla conteniendo la plata en forma de nitrato de plata fue filtrada utilizando papel filtro Whatman No. 42. A la solución filtrada amarilla (nitrato de plata) se adicionó una

disolución de cloruro de amonio preparada con 2.56 g de cloruro de amonio en 40 mL de agua destilada, tornándose lechosa de color blanco debido a la formación del cloruro de plata, se deja reposar un día hasta la precipitación total del cloruro de plata en forma de un precipitado blanco. Se filtra el precipitado y se lava varias veces con agua destilada; el precipitado de cloruro de plata después se seca mediante una estufa de calentamiento a una temperatura de 25 °C para su posterior uso.

A 1.0 g cloruro de plata obtenido se le adiciona 20 mL de disolución acuosa de amoniaco al 20% [12] y se aplica calentamiento suave para facilitar la formación del complejo diaminplata en solución, finalmente se adicionó la disolución de los extractos vegetales con la finalidad de llevar a cabo la reacción de reducción de la plata.

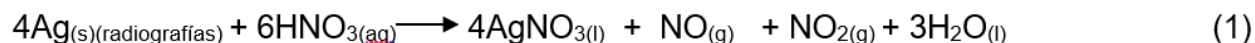
Resultados y Discusión

Como se mencionó con anterioridad a ambos vegetales (hojas de Eucalipto y la pipicha) elegidos se les aplicó el método de Folin-Ciocalteu para determinar el contenido en polifenoles presentes, el estudio realizado reveló que la cantidad de polifenoles presente en 50 microlitros del extracto de Eucaliptus fue de 7.50988×10^{-5} M y la de la pipicha 6.69715×10^{-5} M.

La reacción de digestión de 100 g de placas radiográficas con ácido nítrico se produjo sobre la emulsión que cubre el acetato de la radiografía formada por halogenuros de plata [13], dando como resultado una disolución de color amarillo, correspondiendo a la forma líquida del nitrato de plata. La Figura 1 muestra la imagen de este proceso químico y la Ecuación 1 muestra la reacción química ocurrida [12].



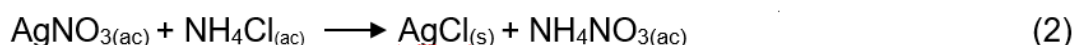
Figura 1. Proceso de la digestión química para la obtención de plata a partir de placas radiográficas



En la disolución amarilla obtenida la plata se encuentra en medio ácido en forma de nitrato de plata, disolución que se hizo reaccionar con NH_4Cl de lo cual se obtuvo un sólido blanco que corresponde a cloruro de plata AgCl , fue separado por decantación y llevado a sequedad para ser tratado posteriormente (Ecuación 2). La Figura 2 muestra el proceso de la formación y precipitación del AgCl [12].



Figura 2. Proceso de formación del AgCl



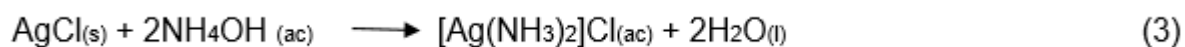
El proceso se realizó con tres muestras de 100.00 g de las placas radiográficas con la finalidad de obtener un promedio de la cantidad de AgCl obtenido. La Tabla 1, contiene la cantidad de cloruro de plata obtenido de cada una de las muestras.

Tabla 1. Cantidad de cloruro de plata obtenida de 100 g de placas radiográficas.

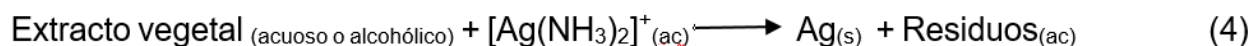
Placas radiográficas 100 g	$\text{AgCl}_{(s)}$ obtenido (g)
Muestra 1	0.9104
Muestra 2	0.8194
Muestra 3	0.8793
Promedio	0.8697

La cantidad de cloruro de plata obtenida en promedio fue de 0.8697 g por 100.00 g de radiografías. Como es de esperarse la cantidad de AgCl obtenida en los tres casos no es la misma debido a que la cantidad de plata depende de las condiciones de la placa radiográfica utilizada.

Recuperación de la plata: Para el estudio de la recuperación de la plata se utilizó en todos los casos 1.00 g de cloruro de plata, obtenido del tratamiento de las radiografías, este fue tratado con hidróxido de amonio al 20% con la finalidad de obtener el compuesto diaminplata. La Ecuación 3 muestra la reacción química del proceso [12].



El $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ es un oxidante muy débil con un potencial de oxidación (0.376 V), que reacciona con los componentes de los extractos vegetales de Eucalipto y Pipicha preparados tanto en solución acuosa como en solución alcohólica (en etanol), originando que los iones plata se reduzcan a plata metálica por la oxidación de los extractos vegetales, la ecuación 4 muestra la reacción química ocurrida [14].



En ambos casos, con los extractos de Eucalipto y Pipicha en solución acuosa y en solución alcohólica se observa que la plata aparece en la solución en forma de un sólido en forma de capa delgada con apariencia plateada, como resultado de la reducción de la plata de Ag^+ a $\text{Ag}^0_{(\text{s})}$, considerándose una evidencia de la reducción de la plata Ag^+ a plata metálica Ag^0 , al mismo tiempo poniendo en evidencia el poder reductor de los extractos vegetales. Capa de plata se fue precipitando poco a poco al fondo del recipiente. La apariencia y cantidad de la plata recuperada varían dependiendo del extracto utilizado y su composición química. La Figura 3 muestra la apariencia de la plata recuperada con extractos de eucalipto en etanol.



Figura 3. Formación de la plata con el extracto de Eucalipto en etanol

Por otra parte, en el caso de la utilización de los extractos preparados con etanol, la plata recuperada presenta una apariencia granular de diferentes tamaños, desde un polvo fino hasta un polvo con gránulos de mayor tamaño, con una apariencia más limpia.

La precipitación de la plata con extractos acuosos se llevó a cabo de forma más lenta, y con mayor velocidad cuando se utilizaron los extractos con alcohol. Con respecto a la apariencia de la plata recuperada, se observó que con los extractos acuosos la plata precipitada se obtiene en forma de hojuelas y polvo muy fino y 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 extractos acuosos y alcohólicos.



Figura 4. Plata recuperada con los extractos acuosos y alcohólicos de Eucalipto y Pipicha.

La plata obtenida fue filtrada, lavada con agua destilada, posteriormente se mantuvo en la estufa por 30 minutos a una temperatura de 100 °C y finalmente fue pesada. La Tabla 2, muestra la cantidad de plata recuperada por 1.0 g de AgCl con cada uno de los extractos en solución acuosa y etanol.

Tabla 2. Cantidad de plata obtenida con los extractos acuosos y los extractos alcohólicos

Extracto	Cantidad de Ag en gramos (Extracto en agua)	Cantidad de Ag en gramos (Extracto en etanol)
Eucaliptus	0.807	0.974
Pipicha	0.635	0.790

En ambos casos la cantidad de plata recuperada es mayor cuando se emplean los extractos elaborados con etanol como solvente muy probablemente a que son disueltos los metabolitos presentes en las plantas en mayor proporción.

Conclusiones

El uso de extractos vegetales acuosos y alcohólicos para la recuperación de la plata contenida en las placas radiográficas es una opción eficiente amigable con el ambiente y de bajo costo. Este método ofrece vastas posibilidades de su aplicación en la reducción de la plata teniendo en cuenta que existe una gran diversidad de plantas con gran variedad de metabolitos que poseen con propiedades como agentes reductores y estabilizantes en su composición.

Se logró obtener plata limpia brillante en forma de polvo y hojuelas con un rendimiento aceptable, que depende de cada uno de los extractos vegetales y los solventes utilizados. Finalmente se considera que la reducción de la plata con extractos vegetales es una alternativa viable para recuperarla en forma metálica disminuyendo la contaminación por lo que se plantea seguir los estudios con otros vegetales, así como realizar estudios analíticos de la plata recuperada para determinar su pureza.

Referencias

- [1] F.J. Cabrero. Imagen radiológica: principios físicos e instrumentación. Elsevier Masson. (2004).
- [2] Shayne McGuire. The Silver Bull Market Investing in the Other Gold. Wiley. (2013).
- [3] G. Barba (11 de mayo de 2015). Forbes. Obtenido de forbes: <https://www.forbes.com.mx/plata-el-metal-mas-importante-de-nuestrotiempo/>
- [4] G. Barba. (24 de marzo de 2017). Forbes. Obtenido de Forbes: <https://www.forbes.com.mx/la-plata-va-hacia-maximos-jamas-vistos/>
- [5] J. Fabregas, E.C Francesc, Oliver, P. R. Recuperación de la plata de las radiografías. Diversos métodos analíticos y galvánicos que permiten recuperar la plata de las

- radiografías médica para evitar la contaminación del medio ambiente. *Técnica industrial*. **245**. (2002).
- [6] A. K. Mittal, Y. Chisti & U. C. Banerjee. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, **31** (2) (2013).
- [7] V. Makarov, S. S. Makarova, A. J. Biosynthesis of Stable Iron Oxide Nanoparticles in Aqueous Extracts of *Hordeum vulgare* and *Rumex acetosa* Plants. *Langmuir*, **30** (20). (2014).
- [8] R.M Han, J. P Zhang, L.H Skibsted. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules*. **17**. (2012).
- [9] B. Sultana, F. Anwar, M. Ashraf. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*. **14**. (2009).
- [10] M. Naczek, F. Shahidi. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **41**.
- [11] J. A. M. Muñoz, E. F. Ramos, O. U. Alvarado y C. B. Castañeda. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev. Soc. Quím. Perú*. **73**. (2007).
- [12] A. Douglas, A. Skoog, M. Donald West. Introducción a la química analítica. Reverté, S.A. (2002)
- [13] R. J. González, R. Delabat y C. Muñoz. Tecnología Radiológica. Ed. Thomson-Paraninfo, Madrid. (1996).
- [14] R. Chang, W. College. Química. 7^a Ed. MC. Graw.Hill. (2002).

ESTUDIO TEÓRICO DEL ORDEN DE DESPROTONACIÓN DE TAUTÓMEROS DEL ÁCIDO-5-AMINOLEVULÍNICO

Rafael Pérez Torres^a, Brenda Michel Rodríguez Gutiérrez^a, Miriam Vázquez Flores^a, Virginia Montiel-Corona^b, Adriana Pérez-González^c, José Antonio Guevara-García^{a*}, Gabriela Mendoza-Sarmiento^a.

^a Facultad de Ciencias Básicas, Ingeniería y Tecnología. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Carretera San Luis Apizaquito S/N, Apizaco, Tlaxcala, C.P. 90401, México. Tel: 241 417 2544, e-mail: *joseantonio.guevara@uatx.mx, gymar88@gmail.com

^b Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Unidad Académica Juriquilla-Querétaro, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Campus Juriquilla UNAM. Blvd. Juriquilla 3001, Querétaro, C. P. 76230, México. Tel: (442) 19 26 167, e-mail: zeltzin24.VM@gmail.com

^c CONAHCYT-Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. Avenida Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Colonia Leyes de Reforma 1A Sección, Alcaldía Iztapalapa, C. P. 09310, Ciudad de México, México. Tel +52 (55) 58 04 46 70. e-mail: adriperjiji88@gmail.com

Introducción

El ácido 5-aminolevulínico (5-ALA), Figura 1, es un precursor natural en la ruta de síntesis del grupo hemo, de la clorofila, y vitamina B12; siendo importante en el crecimiento y flujo celular.[1]

Dentro de las aplicaciones médicas del 5-ALA se encuentra como un compuesto fotodinámico natural como agente anticanceroso. Además de sus múltiples funciones dentro de la industria agrícola, como herbicida, insecticida, promotor del crecimiento de plantas, además que puede mejorar la tolerancia de la planta bajo un estrés abiótico, como lo es en los casos de la salinidad, la sequía, el calor, el frío, y los rayos UV-B.[2, 3]

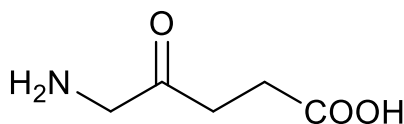


Figura 1. Ácido 5-aminolevulínico (5-ALA)

A pH fisiológico 5-ALA se encuentra como zwitterión, por lo que su naturaleza hidrofílica afecta su paso a través de las barreras biológicas y lograr entrar en las células de interés. Esto es un reto para la aplicación tópica de 5-ALA en dermatología donde atravesar el estrato corneo lipofílico ha llevado a realizar números estudios químicos y no químicos para lograr la penetración y distribución homogénea en los tejidos específicos. La biodisponibilidad del 5-ALA es limitada cuando se administra vía parenteral y se asocia con efectos adversos significativos. Mientras que a pH fisiológico y alcalino, 5-ALA es inestable debido a una auto condensación formando una base de Schiff dimérica irreversible, impidiendo su uso como detector de tumores malignos [4]. Cuando las soluciones son tratadas con solución Buffer a pH fisiológico, se decoloran a bajas temperaturas debido a la descomposición de 5-ALA y por lo tanto las soluciones para uso clínico necesitan ser preparadas al momento de ser usadas. La inestabilidad del 5-ALA a pH neutro y alcalino ha sido investigada y se ha demostrado la dimerización del 5-ALA

para formar 2,5-dicarboxietil-3,6-dihidropirazina (DHPY) que se oxida espontáneamente a 2,5-dicarboxietilpirazina (PY). De igual forma existen otras propuestas donde menciona que el dímero 5-ALA forma fosfobilinógeno (PBG) y pseudofosfobilinógeno. Además de todos los inconvenientes que están asociados con las propiedades físicas de 5-ALA y la estabilidad química, existe el problema para la administración tópica y sistémica de 5-ALA y asegurar la discriminación de células normales y tumorales, todo esto para diseñar derivados de 5-ALA que estén dirigidos selectivamente a células particulares y que liberen 5-ALA, de forma adecuada. [5]

Se han estudiado por métodos computacionales los estados de ionización de la molécula de 5-ALA, así como sus tautómeros, Encontraron que las especies zwitteriónicas son aproximadamente 5 kcal/mol menos estables que el compuesto neutro no zwitteriónico en solución acuosa y en medio no polar (lipídico) el zwitterión es menos estable por arriba de 8.5 kcal/mol. [6]

Parte experimental

Todos los cálculos se llevaron a cabo usando el programa Gaussian 09 y 16 [7]. Para los cálculos de optimización de geometría y frecuencias se utilizó la teoría de funcionales de la densidad (DFT) y el funcional M05-2X [8], el cual es recomendado para realizar cálculos termodinámicos y cinéticos [9, 10]. Además de utilizó un conjunto de funciones de base 6-311+G(d,p) y un modelo continuo como solvente SMD [11]. Para la simulación del medio se utilizó agua y las correcciones termodinámicas a 298.15 K fueron incluidas en los cálculos de energías relativas.

Resultados y Discusión

Estudio conformacional

La molécula 5-ALA presenta un equilibrio ceto-enol, además que la molécula 5-ALA se puede hidratar, para este trabajo se realizó el estudio conformacional de las dos formas enólicas (3-enol y 5-enol) e hidratada solamente. Para los 2 tautómeros y la molécula hidratada se optimizó su geometría, frecuencia y la energía local mínima se encontró después de realizar un scan con la rotación de los posibles ángulos diedros. Y se encontró que la mejor conformación es la que se muestra en la Figura 2, a partir de estas moléculas se realizó el orden de desprotonación para cada una de ellas.

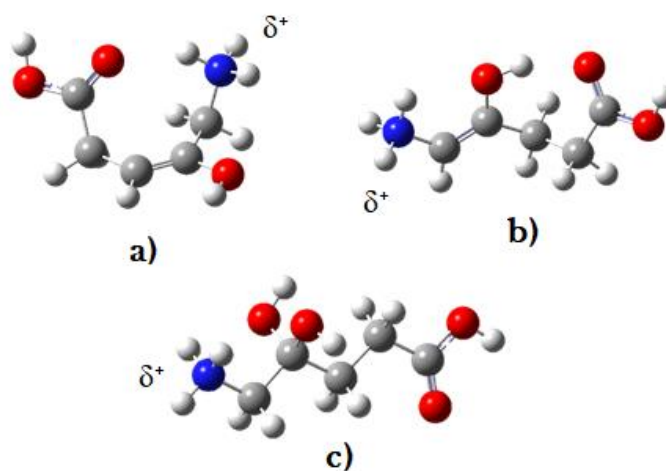
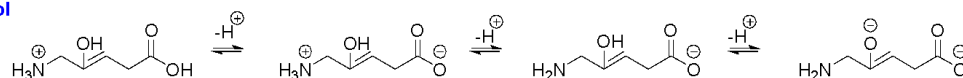


Figura 2. Mejor conformación calculada para los enantiómeros enólicos e hidratada del 5-ALA protonada, a) 3-enol, b) 5-enol, c) hidratada.

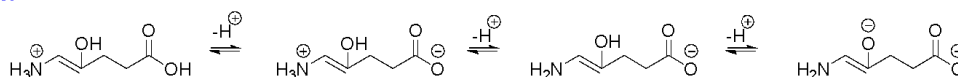
Orden de desprotonación

El estudio de desprotonación partió de las moléculas totalmente protonadas en solución acuosa, en todos los casos tenían carga +1, la ruta que sigue cada molécula lo vemos en la figura 3, para las moléculas enólicas se tienen 3 sitios de desprotonación, que son el ácido carboxílico, amina y grupo hidroxilo, mientras que para la hidratada son 4 sitios.

3-Enol



5-enol



Hidratada

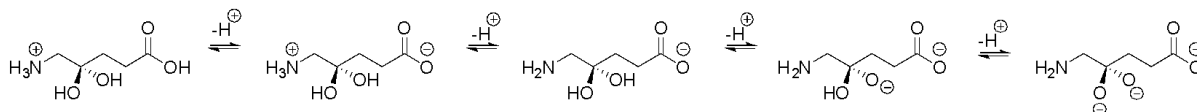


Figura 3. Orden de desprotonación para los tautómeros y molécula hidratada de 5-ALA en solución acuosa, obtenidos por cálculos teóricos con nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d,p)/SMD

Tabla 1. Energías de desprotonación la molécula.

		ΔG (Kcal/mol)		
		hidratada	3-Enol	5-Enol
Primera	Posición desprotonación			
	OH	0.00	0.00	0.00
	N	2.52	7.03	3.48
	Enol 1	11.08	9.71	9.87
	*Enol 2	12.30	--	--
Segunda	N	0.00	0.00	0.00
	Enol 1	8.18	8.92	10.40
	*Enol 2	9.26	--	--
Tercera	*Enol 1	0.00	--	--
	*Enol 2	0.51	--	--

*Solo aplica para la molécula hidratada

La desprotonación se analizó mediante la energía libre de Gibbs de cada desprotonación, en todos los casos el primer sitio de desprotonación fue por el ácido carboxílico, lo cual es lo esperado para cadenas alifáticas ya que es el hidrógeno más ácido, para el caso de la molécula hidratada y 5-enol la diferencia de energía solo fue de 2.52 y 3.48 kcal/mol respectivamente esto por la influencia del grupo enol (o enóles en el caso de la hidratada) cercano al grupo amino.

Para la segunda desprotonación, el protón de la amina resultó más ácido que los grupos enóles, esto incluye para la molécula hidratada, con una energía similar en los tres casos, debido a que el hidrógeno de los grupos hidroxilo tienen mayor interacción con el oxígeno de ácido carboxílico, incluso llegando a formar puente de hidrógeno. Tabla 1.

Conclusiones

El modelamiento de la molécula 5-ALA, sus tautómeros y dienol en solución acuosa, es el paso inicial para determinar el diagrama de distribución de especies dependiente de pH y el pKa de cada tautómero. Este conocimiento es el punto de partida para modelar derivados del 5-ALA que observen mayor estabilidad a nivel teórico, antes de intentar su síntesis en el laboratorio. Esto tendría un gran impacto para aplicaciones en medicina y en agricultura que, hasta ahora, utilizan soluciones de 5-ALA en donde un alto porcentaje de la solución es inactiva.

Agradecimientos

Laboratorio de Visualización y Cómputo en Paralelo UAM - Iztapalapa por el acceso a su computadora. A. P.-G. Agradece al programa de Cátedras – CONAHCYT de CONAHCYT - UAMI (2015-2025). G. M.-S. Agradece el apoyo SNI- CONAHCYT, CVU 386072.

Referencias

- [1] N. Mills-Davies, D. Butler, E. Norton, D. Thompson, M. Sarwar, J. Guo, R. Gill, N. Azim, A. Coker, S.P. Wood, P.T. Erskine, L. Coates, J.B. Cooper, N. Rashid, M. Akhtar, P.M. Shoolingin-Jordan, Structural studies of substrate and product complexes of 5-aminolaevulinic acid dehydratase from humans, *Escherichia coli* and the hyperthermophile *Pyrobaculum calidifontis*, **73**, 9-21, (2017).
- [2] S. Tan, J. Cao, X. Xia, Z. Li, Advances in 5-Aminolevulinic Acid Priming to Enhance Plant Tolerance to Abiotic Stress, **23**, 702, (2022).
- [3] H. Yang, J. Zhang, H. Zhang, Y. Xu, Y. An, L. Wang, Effect of 5-Aminolevulinic Acid (5-ALA) on Leaf Chlorophyll Fast Fluorescence Characteristics and Mineral Element Content of *Buxus megistophylla* Grown along Urban Roadsides, **7**, 95, (2021).
- [4] S. Collaud, A. Juzeniene, J. Moan, N. Lange, On the Selectivity of 5-Aminolevulinic Acid-Induced Protoporphyrin IX Formation, **4**, 301-306, (2004).
- [5] K.M. Tewari, I.M. Eggleston, Chemical approaches for the enhancement of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy and photodiagnosis, **17**, 1553-1572, (2018).
- [6] E. Erdtman, L.A. Eriksson, Theoretical study of 5-aminolevulinic acid (5ALA) and some pharmaceutically important derivatives, **434**, 101-106, (2007).
- [7] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A.V. Marenich, J. Bloino, B.G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H.P. Hratchian, J.V. Ortiz, A.F. Izmaylov, J.L. Sonnenberg, Williams, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V.G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M.J. Bearpark, J.J. Heyd, E.N. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T.A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A.P. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J.M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J.B. Foresman, D.J. Fox, Gaussian 16 Rev. C.01, Wallingford, CT, 2016.
- [8] Y. Zhao, N.E. Schultz, D.G. Truhlar, Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions, **2**, 364-382, (2006).
- [9] C. Zavala-Oseguera, J.R. Alvarez-Idaboy, G. Merino, A. Galano, OH Radical Gas Phase Reactions with Aliphatic Ethers: A Variational Transition State Theory Study, **113**, 13913-13920, (2009).
- [10] Y. Zhao, D.G. Truhlar, How Well Can New-Generation Density Functionals Describe the Energetics of Bond-Dissociation Reactions Producing Radicals?, **112**, 1095-1099, (2008).

[11] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions, **113**, 6378-6396, (2009).

OBTENCIÓN DE NANOCRISTALES DE CELULOSA A PARTIR DE DESECHOS TEXTILES

Diana Laura Camacho Pérez^a, Vicente Esquivel Peña^{b*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química, Departamento de Química Analítica. Cto. Escola S/N, C.U., Coyoacán, 04510 Ciudad de México. México. C.P. 04510. Tel: 5543898115 e-mail:

314147044@quimica.unam.mx

^b Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química, Departamento de Química Analítica. Cto. Escola S/N, C.U., Coyoacán, 04510 Ciudad de México. México. C.P. 04510. Tel: 5556223792 e-mail:

esquivelp@quimica.unam.mx

Introducción

La celulosa es el polímero más abundante en la tierra, da soporte mecánico y estructural a las células vegetales, está compuesta por anillos de D-glucopiranosos unidos por medio de enlaces β -1,4 formando unidades llamadas celobiosas. Este biopolímero es biodegradable, insoluble en agua, ligero, resistente, y tiene la capacidad de ser modificado física y químicamente. Por lo tanto, sus aplicaciones van desde la purificación de agua gracias a la actividad fotocatalítica de los materiales que se recubren con ella; hasta aplicaciones biomédicas dando la posibilidad de fabricar implantes flexibles y biocompatibles. Para lograrlo se deben dar una serie de tratamientos físicos y químicos a dicho material para lograr obtener las propiedades de interés [1-4].

Este material posee una jerarquía estructural de manera natural, está formado por fibras que a su vez están formadas por fibrillas; las cuales tienen regiones cristalinas (ordenadas) y amorfas (desordenadas). Las regiones cristalinas son aquellas que llamamos nanocristales de celulosa (CNCs, por sus siglas en inglés) [5]. Los CNCs tienen forma de varillas con dimensiones que van de 3-50 nm de ancho y 50-500 nm de longitud. Estos nanocristales presentan características como alta rigidez, módulo de Young alto, excelente resistencia mecánica, así como alta estabilidad térmica [2].

El objetivo en todos los métodos de obtención de estos nanocristales es retirar todas las regiones amorfas del material. La forma de obtención de celulosa nanométrica más conveniente es la hidrólisis ácida. Este proceso tiene como primer paso la difusión del ácido en la fibrilla y la posterior ruptura del enlace glucosídico que une a las dos moléculas de glucosa, lo cual ocurre más rápido en la región amorfa [6, 7].

Un método de obtención de CNCs es la digestión con ácido sulfúrico. Este proceso de hidrólisis ácida propicia que las regiones amorfas de la celulosa se degraden, mientras que las regiones cristalinas de la celulosa permanecen como CNCs. La celulosa reacciona mediante la esterificación de los grupos OH, colocando en la superficie grupos sulfato los cuales aportan cargas superficiales que facilitan la suspensión dándoles así una excelente dispersabilidad en agua y algunos otros solventes polares; es decir, la funcionalización parcial de los grupos hidroxilo de la superficie con grupos sulfónicos permite la suspensión de los CNCs resultantes en medio acuoso [8].

La mayoría de los métodos de obtención de este material parten de materia prima como aceite de palma, cáscara de arroz, cáscara de coco, hoja de piña, residuos de cítricos,

bagazo de caña de azúcar, etc [9]. Sin embargo, diversos textiles con los que convivimos de forma cotidiana están compuestos por un alto porcentaje de celulosa. El algodón, por ejemplo, es una fibra natural compuesta casi es su totalidad por celulosa, este material ha acompañado a la humanidad por cientos de años y sus usos han sido diversos. La industria textil en México aprovecha 1.16 megatoneladas que se producen anualmente de esta materia prima, por consiguiente, se tiene una gran cantidad de residuos textiles ricos en celulosa. Solo en la CDMX se recolectan 3700 megatoneladas de residuos textiles y aunque solo una fracción de estos contine algodón; se puede reducir la cantidad de desechos de esta naturaleza y convertirlos en un material de provecho [10, 11].

Una forma de hacer más eficiente el trabajo en el laboratorio cuando se tienen que modificar varias variables a la vez es hacer uso de diseño de experimentos (DoE, por sus siglas en inglés) que es un método de trabajo para conocer cómo funciona un proceso y estudiar las variables que le afectan, empleando herramientas estadísticas se obtiene la información necesaria para su mejora [12]. En el presente trabajo se llevó a cabo la obtención de CNCs mediante hidrólisis ácida asistida por microondas. Para ello, se implementó un DoE para optimizar el proceso de obtención. A su vez, los nanocristales obtenidos fueron purificados y secados por medio de diálisis y liofilización, respectivamente. La caracterización se realizó con la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) con aditamento de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés), difracción laser de tamaño de partícula y difracción de rayos X de polvos.

Parte Experimental

Digestión y diseño de experimentos

La digestión ácida de la materia prima se llevó a cabo con ácido sulfúrico (H_2SO_4 , J.T. Baker, RA) asistida por microondas y con ayuda de un diseño de experimentos se optimizaron las condiciones del tratamiento. Para realizar dicho DoE se realizaron algunos experimentos preliminares para delimitar los factores a estudiar como: concentración del ácido, tiempo de digestión, temperatura de digestión y tipo de materia prima. Por lo tanto, se decidió emplear un DoE factorial mixto $2^2 \times 3^2$. A su vez se utilizó como variable respuesta categórica la obtención positiva o negativa de CNCs.

La metodología consistió en cortar la materia prima en trozos que se lavaron con detergente para ropa, esto con el fin de retirar la mayor cantidad de suciedad e impurezas posible. La tela se secó a temperatura ambiente a la sombra, y se deshilo por completo con un cepillo con cerdas de metal. Posteriormente, se tomaron 0.5 g de la materia prima, se agregaron 20 mL de una disolución de H_2SO_4 y se mantuvo en agitación magnética por 30 min, para después llevar la mezcla a un ultrasonido (BRANSON modelo 2800) y sonicar por 20 minutos. Pasado este tiempo, la mezcla se colocó en un horno de microondas (CEM modelo MARS 6) para digerir la materia prima con un programa de tiempo y temperatura correspondiente a cada tratamiento.

Purificación

Para retirar el ácido remanente de la digestión se realizan ciclos de lavado con agua destilada desionizada. Se utilizaron ciclos de centrifugación de 30 minutos a 3000 rpm con una centrifuga (VLAB modelo PRO-COMBO). Una vez que se obtiene la suspensión de CNCs, estos se purifican por medio de diálisis. Para lograrlo, la suspensión de CNCs se colocó dentro de una membrana de diálisis (D9402-100FT SIGMA-ALDRICH lote #3110) sumergida en agua destilada desionizada con agitación constante.

Secado

El secado de los CNCs se llevó a cabo por liofilización. En este procedimiento se requiere que la muestra sea congelada con nitrógeno líquido para así poder colocarla en la liofilizadora (Heto DRYWINNER), la cual sublima el agua libre presente en la muestra y la retira empleando una bomba de vacío. Al término del proceso se obtiene un sólido blanco voluminoso.

Caracterización

Los CNCs se caracterizaron por FTIR para determinar los grupos funcionales presentes en el material. Todos los espectros fueron obtenidos con un espectrómetro Spectrum GX (Perkin-Elmer) con un aditamento de ART. Se empleó la técnica de difracción laser de tamaño de partícula para determinar la distribución de tamaños en un equipo MASTERZISER (Malvern Panalytical). Para determinar el tamaño de cristal se usó difracción de rayos X de polvos en un difractor D8 ADVANCE (BRUKER AXS) en configuración Bragg-Brentano.

Resultados y Discusión

Lo descrito anteriormente se realizó para cada uno de los 36 tratamientos realizados y los resultados se analizaron con ayuda del software Statgraphics; el cual dio como resultado que los niveles óptimos para la obtención de CNCs son los mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles que optimizan la obtención de CNCs.

FACTORES	NIVEL ÓPTIMO
Concentración de ácido	50%
Tiempo de digestión	30 min
Temperatura de digestión	60° C
Materia prima	Algodón 100% Blanco

Espectroscopia infrarroja

Mediante FTIR se identificaron señales características para los grupos funcionales tales como la del grupo O-H de la glucosa que se espera observar entre 3550-3100 cm^{-1} con un afilamiento en 3332 cm^{-1} y algunas otras señales características de la celulosa en

1200-1030 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de estiramiento C-O-C del anillo [7]. Asimismo, también se pudieron observar los cambios que ocurridos durante los diferentes tratamientos realizados para la obtención y purificación de los CNCs.

En primer lugar, se compararon los espectros de infrarrojo de los nanocristales obtenidos sin purificar de dos tratamientos iguales (mismos factores y niveles). En los dos casos se identifican señales como la del grupo O-H del carbono 6 de la glucosa entre 3400-3250 cm^{-1} con un afilamiento en 3332 cm^{-1} y algunas otras señales en 1200-875 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de estiramiento C-O-C del anillo. Por lo tanto, las condiciones optimizadas resultan ser condiciones en donde también se consigue repetibilidad.

En una segunda caracterización, se compararon los espectros de una muestra de CNCs dializados y liofilizados contra un caso en donde los nanocristales se encuentran sin purificar y sin liofilizar. Se puede notar que la banda representativa de agua o humedad alrededor de 3400-3250 cm^{-1} desaparece en el caso de la muestra liofilizada. Sin embargo, conserva la señal en 3332 cm^{-1} característica del grupo O-H de la glucosa. También, se logró observar una modificación en la señal de 1650 cm^{-1} que corresponde a enlaces dobles carbono-oxígeno pertenecientes a oligómeros de celulosa y ácido glucónico, subproductos de la hidrólisis ácida presentes antes de dializar. En los tres casos descritos, los espectros mantienen la señal en 3332 cm^{-1} característica del grupo O-H de la molécula de glucosa (y agua), además, se mantienen las señales en 1200-875 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones de estiramiento C-O-C del anillo.

Difracción laser de tamaño de partícula

La técnica de difracción laser nos proporciona información sobre el tamaño de las partículas que desvían la luz del haz incidente, y gracias al ángulo de la difracción el tamaño de la partícula puede ser calculado considerando que la partícula es esférica. En la caracterización de distribución de tamaños de partícula para una muestra comercial de CNCs de marca Celluforce; los tamaños de partícula se encuentran entre 49-257.5 nm, sin embargo, la mayoría de las partículas en la muestra oscilan dentro de los 98- 112.5 nm.

La Figura 1 corresponde al gráfico de la distribución de tamaños para los CNCs obtenidos con la metodología optimizada antes de su purificación por diálisis; mostrando un comportamiento bimodal. Los tamaños de partícula varían entre 37.5 y 1025.5 nm en donde la mayoría de las partículas se encuentran entre los 98.0 y 112.5 nm al igual que en el caso de la muestra comercial.

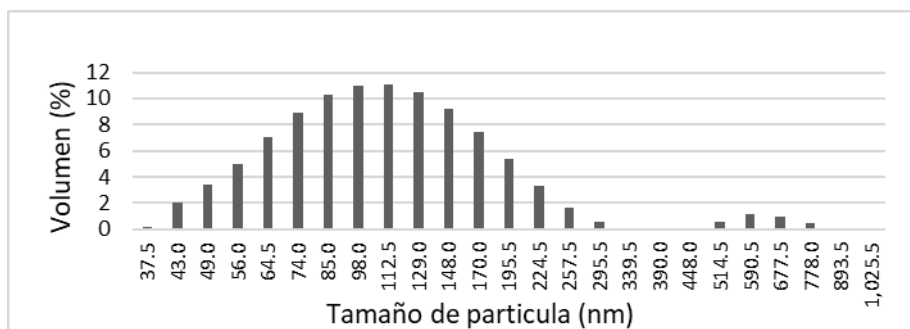


Figura 1. Gráfico de las distribuciones de tamaño de partícula para los CNCs obtenidos con la metodología optimizada.

Difracción rayos X de polvos DRX

Para determinar el tamaño del cristal es necesario conocer el valor del ángulo de difracción en donde se presenta un pico, este se relaciona con el tamaño mediante la ecuación de Scherrer (ecuación 1). Donde D_{hkl} es el tamaño del cristalito en nm, k es una constante cuyo valor es de 0.94, λ es la longitud de onda de la radiación de rayos-X utilizada, y θ es el ángulo de Bragg. En los patrones XRD se pudo observar tres picos prominentes en las posiciones 2θ de ~ 15 , 23 y 34° que corresponden a los planos cristalográficos (101), (002) y (040), picos característicos de la celulosa, respectivamente [13]. El tamaño de los CNCs obtenidos se comparó con los tamaños de los CNCs comerciales mostrados en la Tabla 3.

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\Delta(2\theta)\cos\theta} \quad (1)$$

Tabla 3. Tamaños promedio de cristal de los CNCs comerciales y obtenidos.

NANOCRISTALES	TAMAÑO (nm)
Comerciales	5.3
Obtenidos	5.2

Debido a que los CNCs tienen forma de varillas estos tamaños de cristal corresponden a las anchuras de los nanocristales, mientras que el tamaño obtenido por difracción laser se correlaciona con la longitud, ya que mide el radio hidrodinámico de las partículas.

Conclusiones

Se obtuvieron CNCs mediante hidrólisis ácida asistida por microondas con una metodología optimizada de un diseño de experimentos factorial mixto siendo las condiciones óptimas: concentración de ácido 50 %, tiempo de digestión 30 min,

temperatura de digestión 60 °C y tela de algodón 100 % sin teñir como materia prima. Se hizo posible la obtención de un polvo manejable para posteriores aplicaciones. La caracterización por espectroscopia infrarroja permitió corroborar la eliminación de los subproductos de la reacción (oligómeros de celulosa y otras moléculas pequeñas). Las nanovarillas obtenidas tienen dimensiones de aproximadamente 5 nm de diámetro y 100 nm de longitud como se pudo corroborar mediante difracción laser de tamaño de partícula y difracción rayos X de polvos. Las características observadas de los CNCs obtenidos son comparables con las características de nanocristales obtenidos con metodologías similares reportadas en la literatura y productos comerciales. Todo esto demuestra que es posible aprovechar los desechos textiles de algodón para obtener un producto de valor agregado con una metodología reproducible.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de QI. María Cecilia Salcedo Luna, M. en I. Víctor Hugo Lemus Neri (USAI-FQ-UNAM) por los análisis de DRX y tamaño de partícula realizados; a la Dr. Araceli Peña por permitir el fácil acceso a una liofilizadora, a la Q. Nadia M. Munguía Acevedo y a la Dr. Josefina de Gyves y Marciniak por el apoyo a la realización de este trabajo. Este proyecto fue financiado a través del PAIP (5000-9206).

Referencias

- [1] B. Thomas, M. C. Raj, K. B. Athira, M. H. Rubiyah, J. Jithin, A. Moores, G. L. Drisko, C. Sanchez. *Chemical Reviews*. **118**. [24]. 11575-11625. (2018)
- [2] A. Dufresne. *Nanocellulose: Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials*, Berlin, Boston. De Gruyter, (2013).
- [3] D. Klemm, F. Kramer, S. Moritz, T. Lindström, M. Ankerfors, D. Gray, A. Dorris. *Angewandte Chemie*. **123**. [24]. 5550-5580. (2011).
- [4] H. Wang. *Cotton Science and Processing Technology*. Shanghai. Springer Singapore (2020).
- [5] K. Heise, G. Delepierre, A. W. T. King, M. A. Kostianen, J. Zoppe, C. Weder, E. Kontturi. *Angewandte Chemie International Edition*. **60**. [1]. 66-87. (2021).
- [6] A. Poulouse, J. Parameswaranpillai, J.J. George, J.A. Gopi, S. Krishnasamy, C. D., M. Dominic, N. Hameed, N.V. Salim, S. Radoor, N. Sienkiewicz. *Molecules*. **27**. [22]. 8032. (2022).
- [7] M. Ruiz-Caldas, J. Carlsson, I. Sadiktsis, A. Jaworski, U. Nilsson, A. P. Mathew. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. **10**. [11]. 3787-3798. (2022)
- [8] M. Gao, Y. Shang, B. Li, H. Du. *Green Chemistry*. **24**. 9346-9372. (2022)
- [9] C. Ruiz-Palomero, M. L. Soriano, M. Valcárcel. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **87**. 1-18. (2017).
- [10] de Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s/f). El algodón de México, fibra suave y cultivo generoso. gob.mx. Recuperado el 20 de junio de 2022, de

<https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-algodon-de-mexico-fibra-suave-y-cultivo-generoso?idiom=es>.

[11] S, Delgado. Gaceta UNAM. **5263**. 9. (2022).

[12] G. D. Bowden, B. J. Pichler, A. A. Maurer. Scientific Reports. **9**. 11370. (2019)

[13] J. Alarcón-Moyano, D. Acuña, S. Matiacevich, L. Caballero, F. Melo, F. Quero, P. Díaz-Calderón. Food Hydrocolloids. **140**. 108571. (2023).

SÍNTESIS CONTROLADA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE TITANIO PARA APLICACIÓN COMO SOPORTE DE ELECTROCATALIZADORES

Raúl Emmanuel Anzaldúa Ramírez^a, Vicente Esquivel Peña^{b*}

^a Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. C.P. 04510. Tel. (55) 5622-3792, e-mail: yaskyn.raul@comunidad.unam.mx

^b Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. C.P. 04510. Tel. (55) 5622-3792, e-mail: esquivelp@quimica.unam.mx

Introducción

El desarrollo de la tecnología en las últimas décadas ha tenido una estrecha relación con diversas ramas de la ciencia de los materiales, en particular, la síntesis y diseño de nanomateriales recibe atención cada vez más grande (paradójicamente), si se buscan en Scopus las palabras clave “*nanomaterial*” y “*synthesis*” juntas, puede observarse que el número de artículos tratando el tema por año en los últimos veinte años ha crecido desde 20 hasta 2029. El gran interés por los materiales en la nanoescala reside en las diferencias notables en las propiedades de un material al disminuir su tamaño por debajo de ciertos límites espaciales, las principales diferencias en el comportamiento de nanomateriales con su contraparte macroscópica se deben a dos efectos: el crecimiento de la relación área-volumen o *superficie específica* a medida que disminuye el tamaño, y al confinamiento cuántico que modifica tanto niveles energéticos como comportamientos de átomos y electrones en el material [1].

El dióxido de titanio nanoparticulado es un material de interés en diversas aplicaciones, principalmente en la de catálisis, por tener propiedades semiconductoras con una brecha energética alrededor de 3.2 eV [2] suele utilizarse como fotocatalizador para la degradación de moléculas orgánicas, debido a que en contacto con agua y radiación electromagnética puede promover la generación de radicales como el superóxido e hidroxilo que permiten la oxidación de colorantes y otras moléculas contaminantes, se le puede considerar un material que facilita la producción de especies oxigenadas activas. Existen 3 fases estables de óxido de titanio (IV): anatasa, rutilo y brookita, de las cuales, tiene mejor actividad catalítica la anatasa [3].

Una propiedad que hace interesante al TiO₂ en aplicaciones de catálisis también es que es una especie estable y oxofílica [4], es decir, su interacción con el oxígeno es favorable, en particular las especies oxigenadas pueden adsorberse fácilmente en este material[5]. El uso de una especie oxofílica como soporte de un electrocatalizador de oxidación de alcoholes permite mejorar su actividad al evitar su envenenamiento, así como proporcionar especies oxigenadas que interaccionan con éste para seguir oxidando a los intermediarios de la reacción[5], [6].

Se han propuesto métodos de síntesis para óxido de titanio en que el precursor es el tetraisopropóxido de titanio (IV) (TIPT), un alcóxido con gran impedimento estérico, la hidrólisis de este precursor genera hidróxido de titanio (IV) que rápidamente se deshidrata al óxido del metal por el gran poder polarizante del catión Ti(IV). Yuenyogsuan *et al.*, [7] reportan una síntesis de TiO₂ usando el tetraisopropóxido de titanio en una disolución

acuosa de dodecilsulfato de sodio que tuvo buenos resultados controlando la fase cristalina en la que se recupera el TiO_2 en condiciones de pH controlado y posterior calcinación a $550\text{ }^\circ\text{C}$ por 5.5 h. Esta síntesis deja un precedente interesante por explorar, que es el uso de micelas en presencia de sólo la fase acuosa para controlar la dispersión en la mezcla de reacción.

Otro tensoactivo aniónico similar al dodecilsulfato de sodio, pero, que tiene mayor impedimento estérico es el dodecylbencensulfonato de sodio (DBSS). Superando la concentración micelar crítica del DBSS (entre 0.001 y 0.013 mol/L) se puede asegurar que casi todo el contenido de tensoactivo presente en una disolución está en su forma micelar [8], en particular, también se propone una concentración por encima de la segunda transición micelar, donde se plantea que las micelas de DBSS tienen una forma alargada [9].

En los métodos de síntesis hidrotermal existen diferentes formas de calentamiento; se ha planteado la irradiación de microondas sobre la mezcla de reacción debido a que, una vez estabilizada la dispersión, permite que el calentamiento sea más homogéneo, alcanzando temperaturas muy altas localmente en la disolución y que cada micela sea calentada eficientemente en comparación con el uso de una parrilla o autoclave como es común en este tipo de síntesis.

Por consiguiente, en este trabajo se propone una modificación al método de las micelas anteriormente mencionado, utilizando como tensoactivo aniónico DBSS, para generar el hidróxido de titanio (IV) y deshidratarlo mediante calentamiento asistido por microondas que permite un control más homogéneo de la temperatura, la posibilidad de sobrecalentar de manera puntual la disolución y con esto, promover la formación temprana de una fase cristalina del producto deseado. Las nanopartículas de TiO_2 se caracterizaron mediante difracción de rayos X y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.

Parte Experimental

Se prepararon nanopartículas de TiO_2 por un método con 4 variaciones, donde se exploró el efecto de las condiciones de pH y el uso o ausencia de calcinación del sólido como muestra la Tabla 1. Se comenzó preparando una disolución del tensoactivo DBSS de concentración superior a la determinada como su segunda transición micelar, se llevó a agitación suave durante 30 min para disolver el tensoactivo completamente sin generar excesiva espuma. Se separó la disolución de DBSS en dos porciones, llevándose a agitación magnética cada una a 980 rpm. A cada porción se adicionó la disolución de TIPT lentamente con una pipeta graduada limpia y seca. Al agregar el TIPT a la disolución de tensoactivo se observan grandes aglomerados de sólido precipitar rápidamente, con la agitación vigorosa estos aglomerados se van rompiendo y dispersando el sólido. Luego de 5 min de la adición se midió el pH de ambas mezclas de reacción, siendo de 4, sabiendo esto, a una de las mezclas se le adicionó gota a gota HCl concentrado hasta ajustar el pH a 1.

Tabla 1. Condiciones de reacción para las variantes de síntesis

Síntesis	TIPT añadido (mL)	[DBSS] (mol/L)	Ajuste de pH	Calcinación
Sin ajuste MO	1.8	0.156	Ninguno	Ninguna
Ajuste MO	1.8	0.156	0-1	Ninguna
Sin ajuste MO Cal	1.8	0.156	Ninguno	1.5 h a 400°C
Ajuste MO cal	1.8	0.156	0-1	1.5 h a 400°C

Se mantuvo la agitación vigorosa de las mezclas de reacción durante 1 h a temperatura ambiente, terminado este tiempo se transfirieron a tubos de teflón para microondas. Los tubos de teflón con la mezcla de síntesis se cerraron herméticamente e introdujeron en el horno de microondas para comenzar un programa de digestión a 100 °C con una rampa de calentamiento de 20 min y tiempo de digestión de 30 min.

Terminada la digestión se realizaron lavados del sólido con agua destilada y desionizada para retirar el exceso de tensoactivo para después centrifugar, decantar y, posteriormente secar el producto a 65 °C.

Los productos secos se transfirieron a dos crisoles de cerámica para llevarlos a calcinar en una mufla a 400 °C por 1.5 h. Se caracterizaron los productos en cada etapa del proceso para evaluar el efecto de cada tratamiento.

Resultados y Discusión

Mecanismo de la síntesis

Cuando se prepara la disolución de DBSS se generan micelas que en la agitación vigorosa a la que se somete el sistema, tienen un tamaño pequeño, estas micelas ya representan una dispersión de agregados estable en disolución acuosa, el DBSS pasa por una transición micelar a concentraciones cercanas al 0.1 mol/L de agregados esféricos a cilíndricos[10], cuando se supera esta concentración de tensoactivo se permite que micelas alargadas puedan estabilizarse. Al agregar TIPT, el precursor puede interaccionar de dos formas principalmente con el tensoactivo: con especies polares (por el poder polarizante del catión) o cargadas de Ti (IV), al hidrolizarse total o parcialmente exponiendo la parte alifática del ion a la mezcla de reacción o bien, encerrando al precursor en su forma neutra. En ambas formas de interacción se puede presentar la estabilización de una dispersión por las micelas, en el primer caso formando vesículas de doble capa en las que la cabeza aniónica del DBSS interaccione con especies de Ti(IV) en el interior de la vesícula, mostradas en la Figura 1 c), y con el agua en el exterior o, en el segundo caso, exponiendo las colas alifáticas hacia el precursor que se encierra en la micela y las cabezas cargadas al medio acuoso, como se muestra en la Figura 1 a).

Las micelas que encierran al precursor o intermediarios mantienen separadas pequeñas regiones donde la reacción puede suceder, por esto es que se les nombra *microreactores micelares*. La reacción que sucede dentro es la hidrólisis del ion isopropóxido, generando

un ion hidróxido que queda coordinado al centro metálico e isopropanol, que queda dentro de la micela.

La presencia del tensoactivo también puede interferir con la deshidratación rápida que sufre el hidróxido de titanio naturalmente en medios acuosos puesto que puede proteger a esta especie del medio parcialmente impidiendo la salida de agua y, entonces, favorecer que el equilibrio de la deshidratación de hidróxido sea menos cuantitativo hacia la formación del óxido de titanio, por esto es que se favorece la deshidratación al hacer uso de un medio de calentamiento posterior a la dispersión del precursor y su hidrólisis. La tercera razón para la estabilización del hidróxido de titanio radica en el uso de un ajuste de pH muy ácido debido a que el sistema de titanio puede estabilizar especies como el ion TiO^{2+} en disolución a $\text{pH} < 2$ como ha sido reportado por Acevedo-Peña *et al.*, [11] al considerar las especies hidratadas de Ti en disolución acuosa. Lo anterior también explica que en la síntesis con ajuste de pH se haya observado una dispersión rápida y muy estable del sólido, pues una parte de éste se vuelve a solubilizar y las especies iónicas permiten estabilizar el sistema como una suspensión de pequeñas partículas, sobre todo con la agitación vigorosa, esto también hace que se pueda recuperar menor cantidad de TiO_2 en las síntesis con ajuste de pH, donde la centrifugación no separa del todo el sólido, causando muchas pérdidas.

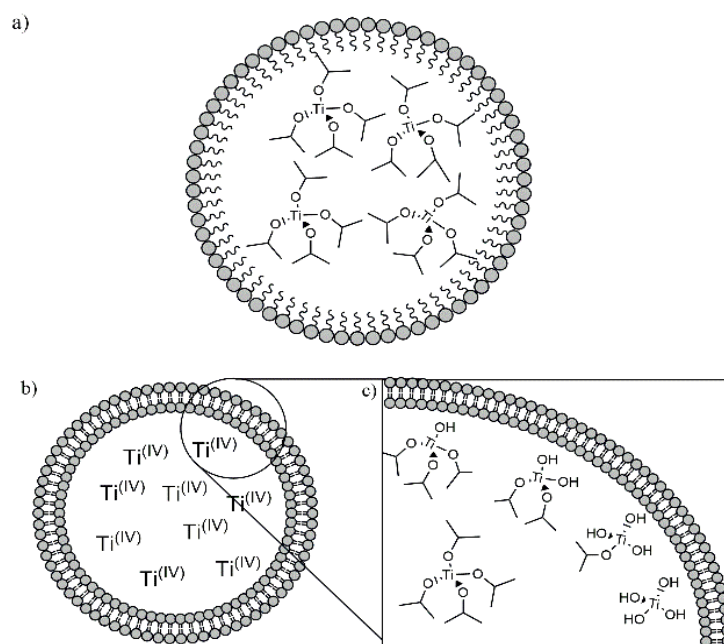


Figura 1 Esquema caricaturizado de 2 formas de interacción de agregados de DBSS con TIPT e intermedios: a) modelo de micelas encerrando TIPT, b) modelo de vesículas encerrando especies de $\text{Ti}(\text{IV})$ c) acercamiento en el modelo de vesículas con posibles

Observación y caracterización de los productos

Tras la síntesis es clara una diferencia en aspecto entre los sólidos obtenidos, donde las muestras que no se calcinaron tienen una coloración amarilla blanquecina, debido a que se queda adsorbido el tensoactivo en su superficie, en cambio en el sólido que fue calcinado se observa una capa grisácea debido a que el tensoactivo adsorbido en las altas temperaturas se grafitiza y queda sobre la superficie, esto podría ayudar a la conductividad del material en el caso de utilizarse como soporte de un electrocatalizador. Para dar seguimiento a la formación de sólido amorfo y cristalino, y para elucidar la fase cristalina obtenida en cada una de las variantes de la síntesis se obtuvieron los patrones de difracción de rayos X (DRX). Como primera observación se puede notar que antes de hacer el paso de calcinación se obtuvieron patrones que indican la presencia de TiO_2 sin haber pasado por la calcinación. En los patrones de DRX se establece la presencia de las principales reflexiones de las 2 fases más estables del óxido de titanio: anatasa y rutilo.

La fase cristalina observada en todas las condiciones de síntesis fue anatasa, obtenida en proporciones mayoritarias marcadas por la Tabla 2. La principal diferencia entre las síntesis en ausencia o presencia de un paso de calcinación se ven en el tamaño de cristal (reflejado en los anchos de pico) y la aparición de cantidades distinguibles de rutilo. Cuando se realiza el proceso de calcinación, las partículas de TiO_2 se sinterizan, haciendo que el tamaño de cristal crezca, y dando picos de difracción más angostos y definidos, por el contrario, podemos observar que antes de la calcinación, se produjeron nanopartículas de óxido de titanio en la fase predominante de anatasa, con tamaños promedio de cristal entre 2 y 3 nm. Caracterizaciones posteriores por microscopía electrónica permitirán confirmar si el uso de micelas cilíndricas de DBSS funcionaron como un director de morfología hacia nanovarillas de TiO_2 preferibles en el ámbito de la fotocatalisis y como soporte de electrocatalizadores.

Tabla 2 Resumen de resultados de las variantes de síntesis y observaciones

Método	Ajuste MO	Ajuste Cal	Sin ajuste MO	Sin ajuste Cal
Anatasa	~100 %	46 %	100 %	86 %
Rutilo	Trazas	54 %	No detectable	14 %
Tamaño promedio crecimiento en $\langle 011 \rangle$ de anatasa	2.7 nm	10.9 nm	2.8 nm	11.8 nm

Conclusiones

Se realizaron experimentos de hidrólisis de tetraisopropóxido de titanio (IV) en una disolución acuosa de DBSS a concentraciones que superan su concentración de segunda

transición micelar, explorando condiciones de ajuste de pH y de ausencia o presencia de un paso de calcinación. La síntesis de digestión por microondas sin ajuste de pH y sin necesidad de calcinar llevó a un producto sólido de TiO₂ con tamaños de cristal promedio de 2 nm y elevada pureza de anatasa, con posibles aplicaciones en la catálisis heterogénea como degradación fotocatalítica de colorantes o como soporte de catalizadores metálicos para la electrooxidación de alcoholes.

Posteriores estudios de caracterización son requeridos para confirmar si existe un efecto de dirección de morfología al utilizar micelas cilíndricas aportadas por el DBSS en concentración 0.16 mol/L y los mecanismos de agregación tanto del precipitado durante la síntesis como del producto al recuperarse de la digestión por MO.

Agradecimientos

Este trabajo se financió mediante el presupuesto PAIP 5000-9206. Se agradece a la QI. Ma. Cecilia Salcedo Luna (USAI-FQ-UNAM) por los análisis de difracción de rayos X. Los autores expresan su agradecimiento a la Q. Nadia M. Munguía Acevedo, la Dra. Minerva Monroy Barreto y la Dra. Josefina de Gyves y Marciniak (Departamento de Química Analítica, FQ-UNAM) por el apoyo brindado en el uso de sus instalaciones para la realización del trabajo.

Referencias

- [1] C. de Mello Donegá. *Nanoparticles: Workhorses of Nanoscience*. Springer. Alemania. (2014)
- [2] P. Praveen, G. Viruthagiri, S. Mugundan, N. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **117**, 622–629 (2014).
- [3] M. Castellote, N. Bengtsson. *Applications of Titanium Dioxide Photocatalysis to Construction Materials*, Springer. Holanda. (2011).
- [4] K. P. Keep. *Inorganic Chemistry*, **55**, [18] 9461–9470 (2016).
- [5] R. M. I. S. Santos, R. Z. Nakazato, E. G. Ciapina. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **894**, 115342 (2021).
- [6] E. G. Ciapina, S. F. Santos, E. R. Gonzalez. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **17**, [7] 1831–1842 (2013).
- [7] J. Yuenyongsuwan, N. Nithiyakorn, P. Sabkird, E. A. O’Rear, T. Pongprayoon. *Materials Chemistry and Physics*, **214**, 330–336 (2018).
- [8] Jean-Louis Salager, “Surfactantes en solución acuosa.” Universidad de los Andes, Mérida, pp. 1–28, 1993. Accessed: May 18, 2023. [Online]. Available: <https://es.firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/06/S201A.pdf>
- [9] A. J. M. Valente, J. J. López Cascales, A. J. Fernández Romero. *Journal of Chemical Thermodynamics*, **77**, 54–62 (2014).
- [10] A. Derzhanski, A. Zheliaskova. *Physics Letters A*, **91**, [8] 421-424 (1982).
- [11] P. Acevedo-Peña, J. Vazquez-Arenas, R. Cabrera-Sierra, L. Lartundo-Rojas, I. González. *Journal of The Electrochemical Society*, **160**, [6] C277–C284, (2013).

RECUPERACIÓN DE CLORFENIRAMINA EMPLEANDO COMPONENTES NATURALES MEDIANTE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.

Lucía Campos Magallanes^a, Leonardo Daniel Moreno Soria^a, Guadalupe Falcón Millán^a,
María del Pilar González Muñoz^a, Teresa Alejandra Razo Lazcano^{a*}

^a Departamento de Química, sede Pueblito de Rocha, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada s/N, C.P. 36040, Guanajuato, Guanajuato, México. Tel (+52) 4737320006 Ext. 5413. E-mail: teresarazo@ugto.mx

Introducción

Ciertas sustancias de uso cotidiano como son fármacos, plaguicidas, detergentes, aditivos alimenticios y productos de cuidado personal son conocidas al encontrarse en el medio ambiente como contaminantes orgánicos emergentes, (EOCs). Durante los últimos años la preocupación de la existencia de EOCs en aguas residuales ha ido en aumento debido a que no son del todo conocidas las consecuencias perjudiciales y ecotóxicas de su presencia en el ambiente. Los fármacos han sido detectados en aguas residuales de numerosos países siendo los más comunes analgésicos, antiinflamatorios, antibióticos, antiepilépticos, hormonas, antidepresivos y ansiolíticos [1 –3]. La 3-(4-Clorofenil)-N,N-dimetil-3-piridin-2-il-propan-1-amina o clorfeniramina (CPM) (Figura 1) es un antihistamínico de primera generación antagonista de los receptores H₁, perteneciente al grupo de las alquilaminas, es utilizado comúnmente para aliviar los síntomas de reacciones alérgicas potenciadas por liberación de histamina, además de contar con leves efectos sedantes. CPM se incluye en la formulación de numerosos medicamentos de venta libre para el alivio de resfriados con múltiples síntomas, por lo que es ampliamente utilizado [4].

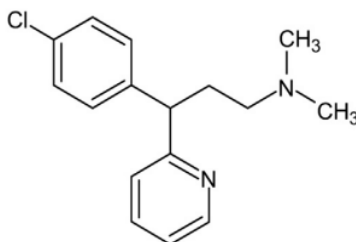


Figura 1. Estructura química de la clorfeniramina (C₁₆H₁₉ClN₂).

La elevada solubilidad de la clorfeniramina (50 mg/ml) explica su fácil transporte en fase acuosa y la razón por la cual este fármaco ha sido encontrado en aguas residuales de diferentes zonas del mundo. La CPM es considerada un fármaco de prioridad para futuros estudios de potenciales peligros en ambientes acuáticos [5, 6]. La exposición a este fármaco produce en animales efectos sedativos o de hiperexcitabilidad [7] y puede formar N-nitrosodimetilamina durante algunos procesos de tratamiento de agua [8], siendo la N-nitrosodimetilamina una sustancia cancerígena que puede provocar cáncer en diversos órganos y tejidos como lo son los pulmones, cerebro, hígado, riñón, vejiga, estómago y esófago [9, 10].

Las Plantas Tratadoras de Aguas Residuales (PTAR) tienen como objetivo cumplir con los lineamientos para el control de la calidad del agua, Actualmente se ha demostrado que los tratamientos convencionales de las PTAR no son capaces de remover al cien por ciento todos los compuestos orgánicos (tales como los fármacos), metales o patógenos presentes en aguas residuales. Así, la lista de fármacos encontrados en aguas residuales es bastante amplia, lo cual pone en riesgo la calidad del agua y supone una gran problemática ambiental, por lo que es indispensable hacer uso de otras técnicas para la remoción de estos contaminantes del agua.

En años recientes se han contemplado diversos procesos fisicoquímicos con el fin de eliminar medicamentos de aguas residuales, destacando entre ellos la extracción líquido-líquido (ELL) debido a su simplicidad, bajo coste y sencillo aumento de escala. La ELL es una técnica de separación en la cual al poner en contacto dos fases líquidas inmiscibles se transfiere un compuesto de una fase a otra, esta técnica aprovecha la diferencia de solubilidad en ambas fases de dicho compuesto, por ello cuanto mayor sea la solubilidad del soluto en el disolvente orgánico, mayor será el rendimiento de extracción. Para esta técnica usualmente se utilizan disolventes orgánicos volátiles como lo son hidrocarburos, alcoholes, glicoles, éteres, ésteres y cetonas los cuales proporcionan rendimientos excelentes, pero son tóxicos y nocivos para el medio ambiente además de ser en su mayoría inflamables [11]. Por ello se propone el uso de solventes más amigables con el medio ambiente, tal como, los aceites domésticos (aceite de soya). Así, el objetivo del proyecto es desarrollar un método de separación mediante la técnica de ELL, que permita la recuperación de clorfeniramina presente en soluciones acuosas, utilizando como diluyente aceite de soya.

Parte Experimental

Para la evaluación de la extracción, se realizaron extracciones líquido-líquido con cantidades iguales de fase orgánica y fase acuosa. Para la fase orgánica se utilizó aceite de soya y la fase acuosa consistió en clorfeniramina 50 mg/L disuelta en una solución de fosfatos 0.1 M (NaH_2PO_4) ajustada a diferentes valores de pH en un intervalo de 5.5 a 10. Así mismo, se trabajó en condiciones ácidas con CPM 50 mg/L diluido en HCl a concentraciones de 1×10^{-3} M y 1×10^{-4} M. La fase orgánica y la fase acuosa se pusieron en contacto y se mezclaron en un agitador ping-pong durante 60 minutos, después de esto, se realizó la separación de fases y se cuantificó el fármaco en la fase acuosa mediante la técnica de espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 262 nm, además, se midió el pH utilizando un potenciómetro marca Oakton pH 700. Una vez obtenida la extracción total del fármaco en un pH óptimo, se realizó la cinética de extracción, en donde se varió el tiempo de agitación (10 s – 60 min) y se procedió con el mismo protocolo antes descrito.

La desextracción de CPM se llevó a cabo con una fase acuosa de desextracción de HCl (0.0001 - 0.1M). Para llevar a cabo este proceso se pusieron en contacto volúmenes iguales de fase orgánica cargada con fármaco y de fase acuosa de desextracción durante

un tiempo de 60 minutos. Posteriormente se separaron fases, se midió el valor de pH y la concentración de fármaco de igual manera que en las extracciones. Después de obtener los resultados de las desextracción variando concentración de HCl, se realizó la cinética de desextracción variando el tiempo de agitación de 10 s – 60 min.

La ecuación para calcular el porcentaje de extracción fue la siguiente:

$$\%Extracción = \frac{[ppm]FA_{inicial} - [ppm]FA_{final}}{[ppm]FA_{inicial}} \times 100 \quad (1)$$

donde:

[ppm]FA_{inicial} = Concentración inicial de fármaco en fase acuosa, antes de extracción.

[ppm]FA_{final} = Concentración final de fármaco en fase acuosa, después de extracción.

Por otra parte, la ecuación para el porcentaje de desextracción fue la siguiente:

$$\%Extracción = \frac{[ppm]FO_{inicial} - [ppm]FO_{final}}{[ppm]FO_{inicial}} \times 100 \quad (2)$$

donde:

[ppm]FO_{inicial} = Concentración inicial de fármaco en fase orgánica.

[ppm]FO_{final} = Concentración final de fármaco en fase orgánica.

Resultados y Discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la extracción y desextracción de CPM empleando aceite de soya en la fase orgánica, de igual manera, se muestran también los resultados de la cinética de extracción y desextracción.

Influencia del pH en el rendimiento de extracción

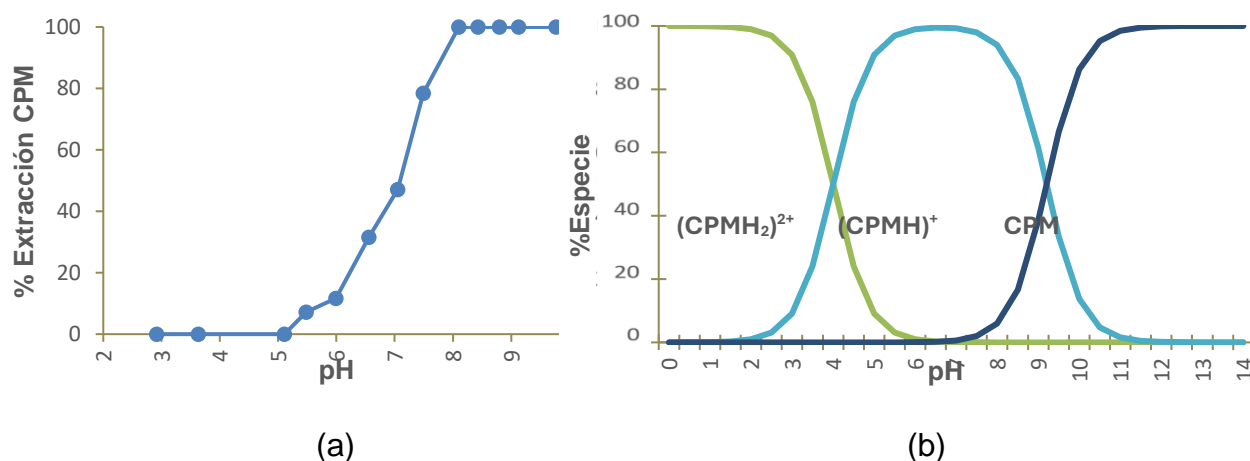


Figura 2. Influencia del pH en el rendimiento de extracción. a) Porcentaje de extracción de CPM en función de pH. Fase orgánica: aceite de soya, Fase acuosa: CPM 50 mg/l en agua desionizada a diferentes valores de pH. Tiempo de agitación 60 min. b) Diagrama de distribución de especies Clorfeniramina.

En la figura 2a, se puede observar que la transferencia del fármaco a la fase orgánica incrementa con el aumento del pH, esto puede ser explicado por las propiedades ácido-base de CPM. De acuerdo con el diagrama de distribución de especies de la CPM (Figura 2b), existen 2 especies iónicas, $(CPMH_2)^{2+}$ que predomina a pH menores a 4.0 y $(CPMH)^+$ que se encuentra entre pH 4.0 y 9.2 y la molécula neutra (CPM) que predomina a pH superiores a 9.2 [12], así, cuando la molécula se encuentra en su forma neutra se favorece su transferencia a la fase orgánica mediante un mecanismo de solvatación. Esto explica la extracción a pH superior a 9.2 sin embargo, la extracción es sumamente efectiva desde un pH de 8. Lo último se puede deber a la composición del aceite de soya, el cual contiene ácidos grasos insaturados de cadena larga los cuales en valores altos de pH se encuentran cargados negativamente, esto neutraliza la carga positiva de la especie $(CPMH)^+$, favoreciendo su transferencia a la fase orgánica. Entre dichos compuestos se encuentran el ácido linolénico y ácido palmítico; cuyos pKa son de 8.28 y 8.6 respectivamente [13]. Por otro lado, la lecitina de soya, también presente en el aceite de soya, está constituida por fosfolípidos, entre los cuales destaca el fosfatidilinositol. Este último adopta una carga aniónica a pH bajos, debido a su valor de pKa de 2.5, lo que resulta en la neutralización de las cargas positivas de $(CPMH_2)^{2+}$ y $(CPMH)^+$, permitiendo que estas sustancias se transfieran hacia fase orgánica [12].

Influencia de la concentración de HCl en el proceso de desextracción

En la Figura 3, se muestran los porcentajes de desextracción de CPM obtenidos a partir del contacto de las fases orgánicas cargadas con fármaco con la fase acuosa de desextracción, la cual consistió en HCl a diversas concentraciones.

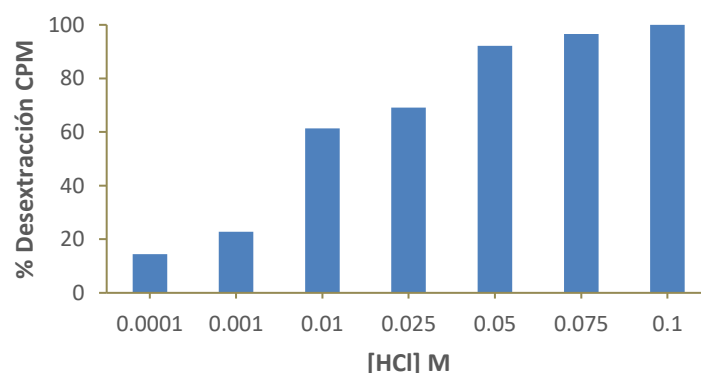


Figura 3. Porcentaje de desextracción de CPM en función de la concentración de HCl. Fase orgánica: Aceite de soya + CPM, Fase acuosa de desextracción: HCl 0.0001 - 0.1 M. Tiempo de agitación 60 min.

A mayor concentración de HCl mayor porcentaje de desextracción, esto se puede deber a que a valores de pH bajos la interacción entre el aceite y el fármaco se ve interrumpida por lo que su solubilidad en la fase orgánica disminuye y aumenta en la fase acuosa. La

figura además muestra que la concentración 0.1 M de HCl es la que presenta un mayor porcentaje de extracción por lo que se determinó como la óptima.

Cinéticas de extracción y desextracción de la clorfeniramina

Los porcentajes de extracción y desextracción del fármaco utilizando como fase orgánica y de desextracción al aceite de soya y HCl 0.1M, respectivamente, son presentados en la Figura 4.

Como se puede observar en la Figura 4a, la transferencia de CPM hacia la fase orgánica (extracción) es del cien por ciento a partir de los 2.5 minutos de agitación, un proceso que ocurre de forma rápida lo cual favorece la eficiencia del sistema. En cuanto a la cinética de desextracción (Figura 4b) se aprecia que, al igual que la extracción, es un proceso rápido, obteniendo porcentajes de 100% a partir de 7.5 minutos de contacto entre las fases.

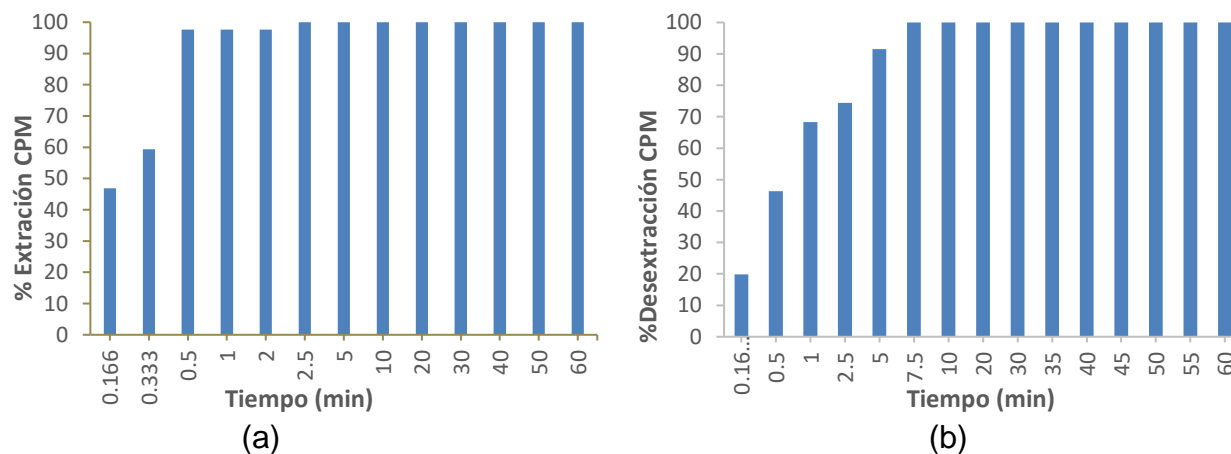


Figura 4. a) Cinética de extracción de CPM. Fase orgánica: aceite de soya; fase acuosa: CPM (50 mg/L) en NaH_2PO_4 0.1 M pH 8. b) Cinética de desextracción de CPM. Fase orgánica: aceite de soya + CPM, Fase acuosa: HCl 0.1 M.

Conclusiones

La recuperación de Clorfeniramina es posible bajo condiciones específicas de pH y tiempo, mismas que se trabajaron en este proyecto. El aceite de soya mostró ser un buen extractante orgánico para la CPM obteniendo extracciones del 100% a pH 8. Se observó que a menores valores de pH los porcentajes de extracción van disminuyendo y, por otro lado, un aumento en el pH superior a 8 no afecta la recuperación de CPM, debido a que los porcentajes de extracción siguen siendo completos. La transferencia de fármaco entre fases es rápida obteniendo extracciones del 100% desde los 2.5 min de agitación. En la desextracción se concluye que el HCl 0.1 M es el ideal para lograr una recuperación completa del fármaco a partir de 7.5 minutos de contacto entre las fases. Lo anterior resulta favorable para el objetivo del proyecto, ya que se puede tener un proceso de recuperación y/o separación de clorfeniramina, presente en efluentes acuosos, en altos

porcentajes en un corto periodo de tiempo y, además, utilizando un disolvente menos contaminante como lo es el aceite de soya.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Guanajuato por el apoyo otorgado en la realización de este proyecto durante el periodo junio – julio 2022.

Referencias

- [1] J., Lukač Reberski, J., L. D., Terzić, Maurice, & D. J., Lapworth. Emerging organic contaminants in karst groundwater: A global level assessment. **604**. [127242] (2022)
- [2] Mukhopadhyay, A., Duttagupta, S., & Mukherjee, A. Emerging organic contaminants in global community drinking water sources and supply: A review of occurrence, processes and remediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **10**(2022).
- [3] Miège, C., Choubert, J., Ribeiro, L., Eusèbe, M., & Coquery, M. Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants – Conception of a database and first results. *Environmental Pollution*, **157**, 1721–1726, (2009).
- [4] Hall, E., & Hall, G. Chlorpheniramine. *Encyclopedia of Toxicology*, 923–924, (2014).
- [5] Boxall, A. B. A. The environmental side effects of medication. *EMBO reports*, **5**, 1110–1116, (2004).
- [6] Hilton, M. J., Thomas, K. V., & Ashton, D. Targeted monitoring programme for pharmaceuticals in the aquatic environment. Bristol: Environment agency.(2003).
- [7] Swanson-Biearman, B. Chlorpheniramine. *Encyclopedia of Toxicology*, 577–578 (2005).
- [8] Lv, J., Wang, L., Song, Y., & Li, Y. N-nitrosodimethylamine formation from ozonation of chlorpheniramine: Influencing factors and transformation mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, **299**, 584–594, (2015)
- [9] Ray, S. D., & Mehendale, H. M. N-Nitrosodimethylamine. *Encyclopedia of Toxicology*, 255–258, (2005)
- [10] Robles, H. Nitrosamines. *Encyclopedia of Toxicology*, 584–585, (2014).
- [11] García Fernández, C. Extracción de tetraciclina de medios acuosos empleando nuevos disolventes. E.T.S.I. Industriales (UPM), (2019).
- [12] Razo-Lazcano, T. A., González-Muñoz, P., Stambouli, M., Pareau, D., Reyes-Aguilera, J. A., & Avila-Rodriguez, M. Distribution modeling of diazepam and chlorpheniramine between aqueous and non-polar phases in the presence of soy lecithin. *Journal of Molecular Liquids*, **303** [112653], (2020).
- [13] Kanicky, J. R., & Shah, D. O. Effect of Degree, Type, and Position of Unsaturation on the pKa of Long-Chain Fatty Acids. *Journal of Colloid and Interface Science*, **256** [1], 201–207, (2002).

QUÍMICA ANALÍTICA COMO HERRAMIENTA DE CONTROL DE CALIDAD Y DETERMINACIÓN DEL FPS DE UNA EMULSIÓN DÉRMICA ELABORADA CON EXTRACTOS DE CHIMALACATE (*Viguiera dentata*) Y ACEITE ESENCIAL DE ACEITILLO (*Bursera schlechtendalii*)

Eugenio Martínez García, María del Carmen Hernández Galindo, Rocio Rosas López*. Universidad de la Cañada. Carretera Teotitlán - San Antonio Nanahuatípam Km 1.7 s/n. Paraje Titlacuatitla. Teotitlán de Flores Magón, Oax. México, C.P. 68540. Tel: +52 (236) 3720712 ext. 305, e-mail: rocio@unca.edu.mx

Introducción

La radiación solar es uno de los problemas que afecta negativamente a la salud de nuestra piel. Debido a la contaminación, las moléculas de ozono han disminuido en las capas altas de la atmósfera provocando un marcado decremento en su actividad protectora de los rayos UV, aumentando la probabilidad de padecimientos como: eritema, fotoinmunosupresión, pigmentación de la piel y melanoma [1]. Esto ha llevado a generar formulaciones principalmente de origen químico con factor de protección solar (FPS) usualmente alto. Sin embargo, algunos de estos ingredientes han demostrado ser nocivos para el cuerpo humano y para el ambiente. Por lo anterior, la búsqueda de ingredientes naturales que fortalezcan el cuidado de la piel sin causar daños al organismo o a los ecosistemas ha tomado gran importancia [2]. Actualmente se ha incrementado el uso de extractos de plantas medicinales en productos tópicos, como una alternativa natural para mantener y recuperar la salud de la piel [3]. Estudios han revelado que existen biomoléculas con acción fotoprotectora siendo las más abundantes los flavonoides que tienen absorción significativa en la región ultravioleta A (UVA: 320-400 nm) y la región ultravioleta B (UVB: 290-320 nm); razón por la cual, pueden ser usados como ingredientes activos en formulaciones para protección solar de la piel [4].

El chimalacate (*Viguiera dentata*), es una de las especies más abundantes en casi toda la región Cañada del Estado de Oaxaca, se localiza a la orilla de caminos; presente en algunos bosques de encino y de coníferas, en el tropical caducifolio y en algunos matorrales xerófilos [5]. En la medicina tradicional se le atribuyen propiedades antibacteriales. Es usada para contrarrestar el picor e inflamación del piquete de hormiga, erupción por pañal en los bebés y heridas. Estudios indican que en su composición existen grupos polifenólicos de tipo flavona, acetofenona y fenoles [6]. Canales [7] reportó que el extracto de la parte aérea de la planta presenta actividad antimicrobiana y antifúngica. Tumulán [6] menciona la presencia de fenoles y flavonoides en el extracto metanólico, con actividad antioxidante, antiinflamatoria y analgésica.

El aceitillo (*Bursera schlechtendalii*), se origina en bosques secos caducifolios de Oaxaca y Puebla. Florece de marzo a junio, con follaje de junio a diciembre [8]. El uso medicinal de muchas burseras es para curar heridas, se cree que tienen potencial antiinflamatorio y cicatrizante. El aceitillo posee en sus extractos flavonas tales como florizina y quercetina tanto en tallos como hojas, y muestra actividad antioxidante, antifúngica y antiinflamatoria [9]. La especie ha mostrado actividad citotóxica [10].

Por lo anteriormente expuesto se propuso formular y caracterizar un protector solar en emulsión con extractos de chimalacate y el aceitillo, y medir *in vitro* su factor de protección solar (FPS) con la finalidad de generar una alternativa natural para la prevención de las afecciones de la piel provocadas por la radiación solar.

Parte Experimental

El proceso metodológico está conformado por 3 partes: Se inicia con la obtención de los extractos vegetales, posteriormente se lleva a cabo la formulación de la crema fotoprotectora, y finalmente el estudio de estabilidad de la crema y la determinación de FPS.

Obtención de los extractos vegetales.

La colecta del chimalacate y del aceitillo se realizó en los Municipios de Teotitlán de Flores Magón y San Antonio Nanahuatípam, referenciando el sitio de colecta con GPS. Las maceraciones de las plantas se hicieron por separado. Se usó únicamente la parte aérea, dejándose secar a la sombra y ventilado a una temperatura no mayor a 40°C. Se llevaron a cabo dos tipos de extracciones: una en etanol y otra en propilenglicol. Para la obtención de extractos en etanol: el material seco se molió y colocó en un recipiente de vidrio ámbar (452g), posteriormente se agregó etanol al 70% (1.9L) como disolvente para llevar a cabo la maceración. La maceración de ambas plantas tuvo una duración de 15 días con agitación cada 3 días. Posteriormente se filtraron y el disolvente se eliminó a temperatura ambiente. Los extractos obtenidos se conservaron a 4°C hasta su uso. Para la maceración en propilenglicol se usaron 420 mL de propilenglicol como disolvente y 136 g de planta seca molida, incorporando la planta al solvente hasta macerarla totalmente y obtener una mezcla homogénea. Posteriormente se agregaron 280 mL de agua destilada y se calentó en baño maría por 30 min a 60 °C, se dejó reposar tapado por 24 h y se filtró. Adicionalmente, se obtuvo el aceite esencial de aceitillo por destilación de arrastré de vapor durante 3 horas.

Formulación.

Los porcentajes de extractos de ambas plantas fueron: 2.5%, 5%, 7.5% y 10% con relación 50/50 (1.25, 2.5, 3.75 y 5 % c/u), en preformulaciones indicadas en la tabla 1, usando extracto etanólico para ambas plantas y otra serie con extractos de propilenglicol. El pH de las formulaciones tópicas debe aproximarse al de la piel (4 a 6.5), fuera de éste intervalo, puede producir irritaciones o daños a la piel [11]. Para las mediciones de pH se realizó una disolución de la muestra al 1%. Las lecturas se tomaron por triplicado y se registró la media con su respectiva desviación estándar.

Estudio de estabilidad y determinación de FPS.

En el estudio de estabilidad a corto plazo (estudio de estabilidad intrínseca) el producto es sometido a ciclos térmicos bruscos alternándolo a diferentes temperaturas simulando

las condiciones de conservación y uso del producto cosmético. Las condiciones recomendadas por la legislación internacional indican una duración de 15 días a temperaturas de $45 \pm 2^\circ\text{C}$ y $5 \pm 2^\circ\text{C}$, por períodos de 24 h, con una frecuencia de evaluación de cada 24 h en cada ciclo térmico, midiendo propiedades organolépticas, pH, separación de fases, tipo de emulsión y pruebas microbiológicas [12].

Tabla 1. Preformulaciones realizadas

Fases		Componentes	Función
Fase acuosa	Excipiente	Agua destilada (57 – 49 %)	Vehículo
	Principio activo	Extracto de Chimalacate y extracto de Aceitillo (1.25, 2.5, 3.75 y 5 % c/u)	Fotoprotector y antioxidante
	Aditivo	Tween 80 (3%)	Tensoactivo
Glicerina (2%), Gel de <i>Aloe vera</i> (2%)		Humectante y emoliente	
<i>Emulsificante</i>		Propilenglicol (3%), Trietanolamina (1%)	Emulsificante,
Fase oleosa	Excipiente	Aceite mineral (10%)	Hidratante
		Ácido esteárico (8%)	Tensoactiva, emulgente, brinda dureza, propiedades emolientes.
		Alcohol cetílico (5%)	Emoliente
		Cera de abeja (1%)	Emoliente y humectante
	Aditivos	Aceite de almendras (3.5%)	Emoliente, suavizante de la piel
		Aceite de aguacate (1.5%)	Hidratante
		Aceite de germen de trigo (1)	Vitamina E, suavizante e hidratante
		Aceite esencial de aceitillo (1%)	Conservador

El FPS de la formulación, se determinó siguiendo un método espectrofotométrico *in vitro* descrito por Mansur [13], esto debido a que a nivel industrial el uso de equipos UV es muy común por ser equipos robustos y de bajo costo (con usos diversos de análisis en control de calidad en industrias, determinaciones en laboratorios de química clínica, etc.), mayormente usados que algún otro equipo tal como los de determinación electroquímica o potenciométrica (los cuales suelen ser algo más costosos y específicos para ciertos análisis). Para realizar el análisis se diluye la formulación a una concentración de 0.2 mg/ml, y empleando la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación. La medición de las absorbancias se realizó por triplicado, empleando el espectrofotómetro UV vis (en un intervalo de 290 a 320 nm, obteniendo lecturas cada 5 nm). El FPS fue calculado de acuerdo con la ecuación de Mansur (Ecuación 1) y usando los valores del efecto eritematígeno de la radiación solar por cada longitud de onda establecida por Sayre [13].

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC * \sum_{290}^{320} EE(\lambda) * I(\lambda) * Abs(\lambda) \quad (1)$$

Donde FPS es factor de protección solar; FC es factor de corrección =10; EE (λ): efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda λ ; I (λ): intensidad del sol en la longitud de onda; Abs (λ): absorbancia de la solución en la longitud de onda.

Se aplicó dicho procedimiento para analizar el FPS de tres protectores solares comerciales (Maya, Eternal secret y Medimart) para hacer comparaciones de los datos obtenidos contra los componentes de la fórmula. Aunado al estudio de cálculo FPS se realizaron los espectros IR de las formulaciones y de los protectores solares comerciales en un equipo IR con ATR.

Resultados y Discusión

Todas las preformulaciones presentaron un olor característico por la presencia de los extractos de las plantas. Las preformulaciones realizadas con los extractos etanólicos, mostraron color verde en el producto, el cual difería de la presentación tradicional de los protectores solares. El producto se absorbió en la piel correctamente, sin embargo, en el momento de la aplicación el color verde era persistente por alrededor de 3 minutos. En pruebas de estabilidad a diferentes temperaturas se encontró que las formulaciones eran estables, y que no presentaron separación de los componentes. Aunque posterior a la absorción desaparecía el color, se optó por hacer uso de extractos con propilenglicol para evitar la presencia de la clorofila. Con los extractos en propilenglicol, se realizaron las preformulaciones encontrando una mejor apariencia visual del producto. En las pruebas de absorción del mismo no se encontraron problemas de presencia persistente del producto en la piel, ni de reacción alérgica alguna a los componentes, además de dejar una sensación de humectación en la piel en comparación con las formulaciones comerciales de las cuales se disponían (Maya, Eternal secret, Medimart). Esto se realizó en personas del grupo de trabajo para poder calificar las características organolépticas. Las pruebas de estabilidad a diversas temperaturas se realizaron a todas las formulaciones en los diversos porcentajes propuestos, observando estabilidad en todas las formulaciones, por lo que se procedió a realizar las mediciones de pH. Las mediciones (tabla 2), indicaron estabilidad de las formulaciones.

Tabla 2. Datos obtenidos de las mediciones de pH

Formulación	pH	pH	pH
	Temperatura Ambiente	Temperatura Baja (<5 °C)	Temperatura Alta (45 °C)
2.50%	6.21 ± 0.201	5.79 ± 0.205	5.81 ± 0.030
5.00%	6.43 ± 0.209	6.26 ± 0.270	4.57 ± 0.758
7.50%	6.29 ± 0.272	6.19 ± 0.173	5.40 ± 0.064
10.00%	6.20 ± 0.015	6.04 ± 0.072	5.55 ± 0.012

Finalmente, de todas las preformulaciones se eligió la del 10% de los extractos, con la finalidad de tener mejores propiedades protectoras en la piel. Para el análisis de FPS las muestras de la formulación al 10% a diferentes temperaturas se diluyeron en dimetilsulfóxido para ser medidas y las de los protectores solares comerciales en etanol al 97%, esto debido a que las formulaciones realizadas en este trabajo presentaban problemas de disolución en etanol. Para el cálculo de FPS el análisis se llevó a cabo aplicando el factor de corrección de 10 y dilución de 3.333, como lo marca la literatura [13]. La tabla 3 presenta los resultados de las mediciones de la muestra a temperatura ambiente, para la primera serie de cinco mediciones. Las mediciones se hicieron por quintuplicado con tres muestras a diferentes tiempos.

Tabla 3. Cálculo de FPS de la muestra de formulación al 10% a temperatura ambiente

long onda	promedio ABS	constante EE(λ)xI(λ)	Producto EE(λ)xI(λ)xABS
290	0.0480	0.0150	0.0007
295	0.0455	0.0817	0.0037
300	0.0424	0.2874	0.0122
305	0.0378	0.3278	0.0124
310	0.0368	0.1864	0.0069
315	0.0330	0.0839	0.0028
320	0.0308	0.0180	0.0006
sumatoria	$\Sigma\{[EE(\lambda) \times I(\lambda)] \times ABS\}$	0.0392	SPF: 1.3059

Para las formulaciones realizadas en este trabajo se obtuvo un valor de FPS de 1.3 a temperatura baja, de 2.5 a temperatura ambiente y 1.2 a altas temperaturas. Para el caso de los protectores solares comerciales, el protector solar marca Maya no cumple con la especificación, ya que indica tener protección 50 y por el análisis se obtuvo 7.3, y a temperatura alta el valor cae a 6.6. Para el caso de Medimart y Eternal Secret, éstos rebasaron el FPS50 que indican obteniéndose 82 y 77 respectivamente. Al observar la formulación de Maya se encontraron más ingredientes naturales que para los otros protectores solares que incluían metoxicinamato de octilo, metoxicinamato de etilhexilo, octocrileno, dióxido de titanio, avobenzona, octocrileno (Medimart); y para el caso de

Eternal Secret los ingredientes Metilen Bis Benzotriazol tetrametilbutilfenol, Metoxifenil triazina y Butil Metoxidibenzoilmetano que funcionan como filtros UV.

En los espectros IR (figura 1) se observan bandas similares para los espectros b, c, f, g, h y es debido a la presencia del propilenglicol en grandes proporciones en las formulaciones (ν O-H $3200-3400\text{cm}^{-1}$, ν C-O $1600-1700\text{cm}^{-1}$). Además, en las formulaciones se observa la banda que corresponde a puentes de hidrógeno ($3200-3400\text{cm}^{-1}$) que apoya la sensación de humectación obtenida en la prueba organoléptica. Si se deseara usar el extracto de *bursera* como fotoprotector se necesitaría en grandes concentraciones, generando productos con olor fuerte de los extractos, por ello se propone la búsqueda de nuevas formulaciones.

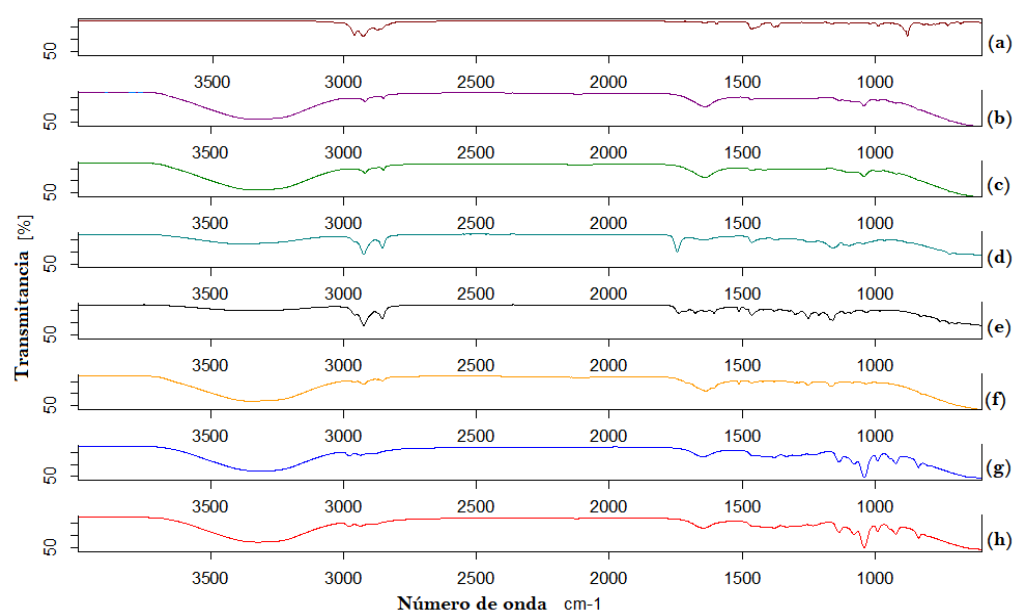


Figura 1. (a) Aceite *bursera*, (b) Formulación con aceite de *bursera* extraído por destilación, (c) Formulación sin aceite de *bursera*, (d) Protector comercial Maya, (e) Protector comercial Medimart, (f) protector comercial Eternal Secret, (g) Extracto de *bursera* extraído con propilenglicol, (h) Extracto de chimalacate extraído con propilenglicol.

Conclusiones

Se generaron formulaciones tópicas con extractos de aceitillo y chimalacate, los cuales mostraron ser humectantes, con ingredientes naturales que permiten una mejor salud en la piel. Dichos ingredientes le confieren un bajo FPS a la formulación sin poder competir con los valores comerciales. Sin embargo, es menos agresiva con el tejido tegumentario y es amigable con el ambiente. Los protectores solares comerciales que presentan niveles FPS altos incluyen sustancias químicas que ayudan a ejercer una función de pantalla fotoprotectora, sin embargo, suelen ser altamente contaminantes. Se usó el método de espectrofotometría UV para la determinación de FPS por ser el equipo

frecuentemente encontrado en docencia, así como por ser los equipos más baratos y robustos en las industrias.

Referencias

- [1] M. E. Carretero A., T. Ortega Y., Plantas medicinales frente al daño solar. Panorama actual del medicamento, **42**, [415], 730-734, (Agosto 2018).
- [2] M. A. Inocente Camones, G. E. Tomas Chota, J. Huamán Malla, A. M. Muñoz Jáuregui, R. I. García Morán, G. Quispe Fuentes, C. J. Palomino Pacheco, E. R. Taype Espinoza, Actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu (*Myrciaria dubia*, Kunth). Revista de la Sociedad Química del Perú, **80**, [1], 65-67, (2014).
- [3] M. V. Cevallos M., Elaboración y control de calidad de una crema corporal hidratante a base de mucílagos y aromas naturales. Tesis Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador, (2013).
- [4] S. M. Sepúlveda Soria, L. A. González Tejeda, L. F. Villaseñor Villagómez, J. C. Ramírez Granados, Protección solar de la piel con extractos de frutas y vegetales. XXVI Jóvenes en la Ciencia, **10**, (2021).
- [5] G. Calderón de Rzedowski, Y. Rzedowski, Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, Digital , **1**, (2005).
- [6] O. D. Tumalán Gil, Determinación Fitoquímica y Evaluación de las actividades antiinflamatorias y analgésica de *Viguiera dentata*. Tesis de Licenciatura Ingeniería en Farmacobiología. Universidad de la Cañada, (2014).
- [7] M. Canales, T. Hernández, M. A. Rodríguez-Monroy, M. Jiménez-Estrada, C. M. Flores, L. B. Hernández, I. C. Gijón, S. Quiroz, A. M. García, G. Ávila. Antimicrobial Activity of the Extracts and Essential Oil of *Viguiera dentata*, *Pharmaceutical Biology*, **46**, [10-11], 719-723, (2008).
- [8] R. Medina-Lemos, Burseraceae. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, (2008). http://www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/floras_tehuacan/F66_Burs_carat-p24.pdf
- [9] M. B. Sánchez, A. M. García, J. L. Contreras, D. E. Torres, R. San Miguel, P. Guevara, Biological activity and flavonoid profile of five species of the Bursera genus. *Botanical Sciences*, **98**, [4], 545-553, (2020).
- [10] M. Acevedo, P. Núñez, L. González Maya, A. Cardoso, Taketa, M. L. Villareal, Cytotoxic and Anti-inflammatory Activities of *Bursera* species from Mexico. *J Clinic Toxicology*, **5**, [1], (2015).
- [11] E. A. Fernández-Montes, Control de calidad, Fórmulas Dermatológicas. Farmacia profesional, Elsevier, **17**, [2], 70-75, (2003).

[12] SGS, Estudios de Estabilidad (2022). Obtenido de SGS Life Science Services: <https://www.sgs.mx/es-es/consumer-goods-retail/cosmetics-personal-care-and-household/cosmetics-and-personal-care/testing/stability-studies>

[13] L. G. Gutiérrez Mesías, A. M. Romero Qwisgaard, G. P. Chávez Untiveros, L. A. Palomino Kobayashi, L. E. Moromisato Shimabukuro, A. A. Kitazono Sugahara. Comparison of the photoprotective effects of sunscreens using spectrophotometric measurements or the survivability of yeast cells exposed to UV radiation. *Rev Soc Quím Perú*, **83**, [3], (2017).

DISEÑO, PREPARACIÓN Y CONTROL DE UNA FAMILIA DE DISOLUCIONES AMORTIGUADORAS DEL TIPO BRITTON-ROBINSON PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS ELECTROQUÍMICOS.

Emmanuel Ruiz Villalobos^a, Arturo García Mendoza^{b*}

^{a,b} UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Teoloyucan Km 2.5. San Sebastián Xhala. 54714 Cuautitlán Izcalli. México. ^aTel: +52 (55) 6181 6354, E-mail: ruviemmanuel@gmail.com, ^bTel: +52 (55) 2212 5320, E-mail: arturogm@unam.mx

Introducción

El buffer de Britton-Robinson es una disolución amortiguadora multicomponente operativamente útil en valores de pH comprendidos entre 2 a 12 aproximadamente. Esta propiedad le es conferida por los valores de pKa de los pares conjugados que la conforman (una mezcla de ácidos) y a la presencia de un agente alcalinizante (KOH, por ejemplo) al que se le atribuye la desprotonación de los ácidos que componen la disolución, generando en consecuencia un ajuste en el valor del pH que es directamente proporcional a la cantidad agregada de este agente. En su preparación clásica, la mezcla ácida está dada por ácido fosfórico (H_3PO_4), ácido acético (CH_3COOH) y ácido bórico (H_3BO_4) en concentraciones equimolares. Aunque esta formulación es ampliamente usada en distintas áreas, es común encontrarse en la literatura con trabajos en donde se dispone de una disolución stock de la mezcla ácida para la toma de alícuotas cuyo valor de pH es ajustado por medio de una valoración con el agente alcalinizante, auxiliándose de un método potenciométrico que permita determinar el pH y eventualmente detener la operación en el valor de interés; sin considerar el valor final de la fuerza iónica realmente alcanzada. Esto conduce principalmente a dos problemáticas que se proponen resolver: (1) la imposibilidad de ajustar la fuerza iónica de los buffers y (2) la oportunidad de conocer el valor real del pH asociado a las concentraciones de sus componentes. En este trabajo se presenta una metodología que permite diseñar y preparar una familia de disoluciones amortiguadoras del tipo Britton-Robinson a valores de pH exactos y previamente seleccionados por el analista que atiendan a sus necesidades experimentales en cuestión de acidez, capacidad amortiguadora y de ajuste del valor de la fuerza iónica mediante la incorporación de un electrolito verdadero neutro.

Consideraciones teóricas

Partiendo del supuesto de que existe la necesidad de ajustar la fuerza iónica de las disoluciones a un valor de $I=0.2$ mol/L, es menester emplear valores de constantes de formación aparentes que efectivamente operen a ese valor de fuerza iónica. Bajo esta consideración será posible conocer del pH exacto que se alcanzaría dadas las concentraciones molares efectivas de todos los componentes en el sistema.

Primero se realizó el estudio teórico sobre la variación de los valores de $\log(\beta)$ de todos los equilibrios químicos concurrentes mediante la generación de sus superficies de respuesta frente a la temperatura (T) y la fuerza iónica (I). Para ello se usó un modelo extendido de la ecuación de Debye-Hückel en donde fueron considerados los efectos de

la temperatura, la fuerza iónica, la permitividad relativa, la densidad del disolvente y los radios iónicos de las especies partícipes. En la Figura 1 se ejemplifica dicha variación para los pares conjugados ácido bórico/borato y ácido acético/acetato.

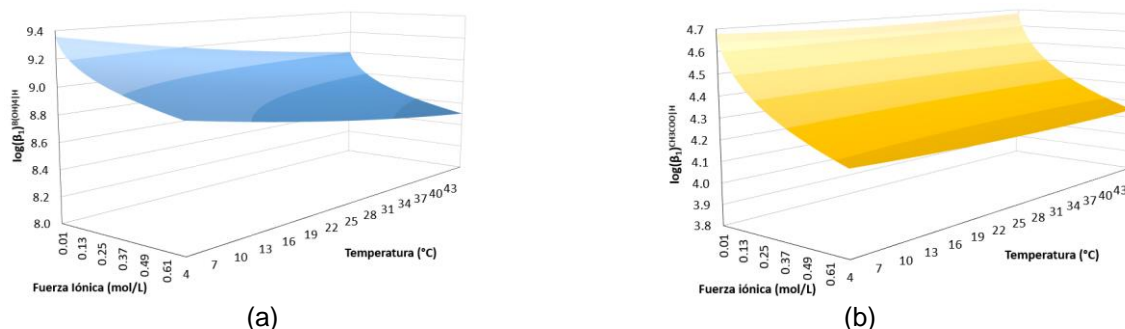
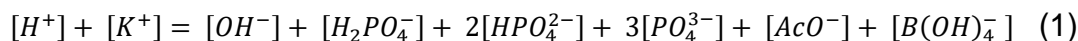


Figura 1. Superficies de respuesta para la variación de $\log(\beta_n)$ para algunos de los equilibrios concurrentes en el sistema en función de la temperatura y la fuerza iónica. a) $\log(\beta_1)^{B(OH)_4/H}$. b) $\log(\beta_1)^{CH_3COO/H}$.

Estas superficies fueron interpoladas en $I = 0.2 \text{ mol/L}$ y $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$ para obtener la información correspondiente a los valores de $\log(\beta)$ de los equilibrios de interés: ($\log(\beta_1)^{B(OH)_4/H} = 8.9043$ y $\log(\beta_1)^{CH_3COO/H} = 4.3869$). Estos valores fueron comparados con aquellos extraídos de la literatura clásica ($\log(\beta_1)^{B(OH)_4/H} = 9.23$, $\log(\beta_1)^{CH_3COO/H} = 4.76$) [1] y se observó que el empleo indiscriminado de estos últimos lleva a cálculos erróneos que distan de la realidad pues ni el valor de la temperatura ni el valor de fuerza iónica con la que se reportan coincide con lo necesario.



Se propusieron nueve sistemas que conformarían a una familia de disoluciones amortiguadoras regidas por el balance de electroneutralidad presentado en (1). Para determinar el valor del pH al equilibrio se utilizó una metodología basada en una función de tipo apuntador (2). En ella, la expresión matemática de tipo polinomial se describe en términos de una sola variable que es evaluada dentro del intervalo $0.000 \leq \text{pH} \leq 14.000$ para determinar el valor que satisface una condición dada. Con la resolución de este polinomio se determinó la concentración de KOH requerida para imponer el valor de pH deseado, así como el resto de los parámetros preparativos para cada sistema propuesto.

$$0 = 10^{-14+pH} + (C_1 \Phi_{PO_4^{3-}}) + (C_2 \varphi_{AcO^-}) + (C_3 \varphi_{B(OH)_4^-}) - 10^{-pH} - C_B \quad (2)$$

Donde:

$$\Phi_{PO_4^{3-}} = 3 \varphi_{PO_4^{3-}} + 2 \varphi_{HPO_4^{2-}} + \varphi_{H_2PO_4^-}$$

Esto abre paso al cálculo de la concentración molar efectiva de cada uno de los iones presentes mediante el producto del valor de su fracción molar distributiva y la concentración analítica (o de diseño) de la especie responsable de dicho aporte. Así, es

viable el cálculo exacto de la fuerza iónica que adquiriría el buffer a esas condiciones. Se asignó una concentración de KNO_3 de tal manera que su aporte fuera el necesario para alcanzar al valor deseado de fuerza iónica, $I = 0.2 \text{ mol/L}$. La elección de la sal empleada atiende a su naturaleza como electrolito verdadero de iones univalentes cuyo aporte a la fuerza iónica corresponde enteramente con el valor de su concentración analítica de acuerdo con (3).

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n ([i] z_i^2) \quad (3)$$

De esta forma la concentración requerida de este electrolito responde a la diferencia de la fuerza iónica de diseño menos la que adquiere el buffer de acuerdo con la mezcla de sus componentes iniciales al pH al que fue diseñado. Si bien, los valores de pH seleccionados para las disoluciones están sujetos a necesidades experimentales de acidez, es importante hacer hincapié en el hecho de que el buffer de Britton-Robinson tendrá la capacidad para brindar un mayor amortiguamiento en valores específicos de pH. Para justificarlo, se presenta la capacidad amortiguadora de Van Slyke ($\beta_{\text{Van Slyke}}$) [2] que queda descrita como la concentración en mol/L, tras la adición, que debe presentarse de un agente nivelante (sea un ácido o una base) en una disolución para desplazar el valor de pH de esta en una unidad, según (4) y expresada para un amplio intervalo de concentraciones, como se muestra en la Figura 2.

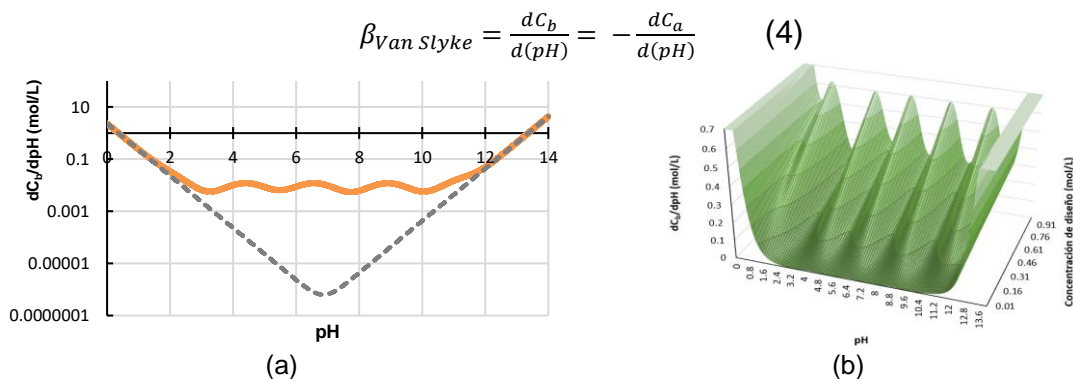


Figura 2. $\beta_{\text{Van Slyke}}$ en escala logarítmica correspondiente al buffer de Britton-Robinson. a) Capacidad amortiguadora a una concentración de 0.02 mol/L . b) Variación de la $\beta_{\text{Van Slyke}}$ para el intervalo de concentración $0.01 \text{ mol/L} \leq C \leq 1 \text{ mol/L}$.

Parte experimental

Preparación de disoluciones amortiguadoras

Las disoluciones amortiguadoras se prepararon de acuerdo con la siguiente secuencia de pasos. Primero se asignó el volumen a preparar de cada buffer. Luego, para la integración de los componentes (grado reactivo analítico) se pesaron las masas de H_3BO_3 y KNO_3 requeridas y se colocaron en un vaso de precipitados al que se le añadió un

volumen suficiente de agua desionizada para completar su solubilización; posteriormente se tomaron alícuotas correspondientes a disoluciones stock de H_3PO_4 , CH_3COOH y KOH previamente preparadas y estandarizadas para finalmente trasvasar la mezcla a un matraz volumétrico y llevar al aforo utilizando agua desionizada. Los buffers fueron almacenados en contenedores de plástico herméticos a 5.0 °C.

Etapa de control

La determinación de las concentraciones reales de cada componente en disolución se llevó a cabo con un proceso volumétrico de estandarización con monitoreo potenciométrico. Se usó un electrodo combinado de vidrio marca Mettler Toledo DG-11 y un pH-metro/conductímetro Thermo Fisher Scientific Orion Star A215 ajustando que la temperatura fuera siempre igual a 22 °C. La valoración del buffer de Britton-Robinson implica la determinación de la concentración de cuatro analitos distintos, de los cuales se espera, en principio, que tres de ellos tengan aproximadamente la misma concentración analítica (refiriéndonos a la mezcla ácida $H_3PO_4 - CH_3COOH - H_3BO_3$) mientras que el cuarto (el agente alcalinizante) dependerá del buffer en cuestión. Como el proceso de valoración se llevó a cabo con KOH como titulante, es relevante sopesar que debe adicionarse un agente acidificante extra con la finalidad de llevar a todos los sistemas propuestos a las mismas condiciones iniciales de titulación. De otra forma resultaría complicado observar la evolución del pH a lo largo de los procesos de desprotonación sucesiva de los ácidos, dificultando su cuantificación. Entre las consideraciones del montaje experimental, destaca la importancia de realizar los ensayos a lecho cerrado, minimizando el intercambio de gases entre el aire circundante y la disolución. Adicionalmente, en la etapa de control, se determinó la conductividad de cada una de las disoluciones usando una celda conductimétrica Orion 013010MD.

Resultados y Discusión

La estimación de las concentraciones analíticas atiende a sus criterios preparativos, por lo que es posible establecer una función continua que describa la respuesta que se obtendría durante el proceso de valoración volumétrica. Así, el polinomio presentado en (5) representa la curva de valoración potenciométrica a cada volumen de adición del titulante conforme ocurren los cambios que se presentan en el valor del pH de la disolución. Su planteamiento retoma lo indicado en el balance de electroneutralidad, donde las concentraciones molares efectivas de cada uno de los miembros de la ecuación pueden ser sustituidas en función de sus respectivos parámetros operacionales de concentraciones y volúmenes.

$$v = \frac{(V_{Total})([OH^-] - [H^+]) + (V_{alicuota}) (C_1 \Phi_{PO_3^{3-}} + C_2 \Phi_{AcO^-} + C_3 \Phi_{B(OH)_4^-} - C_B) + (V_{acidificante} C_{acidificante})}{(C_{titulante} + [H^+] - [OH^-])} \quad (5)$$

El establecimiento de una función continua confiere ciertas bondades al análisis teórico como la incorporación de variables correspondientes a parámetros operacionales que no

fueron invocados en la etapa de diseño. De esta forma es posible, incluso, verificar la concentración del titulante y la del agente acidificante inicial. Los resultados obtenidos se ejemplifican en la Figura 3.

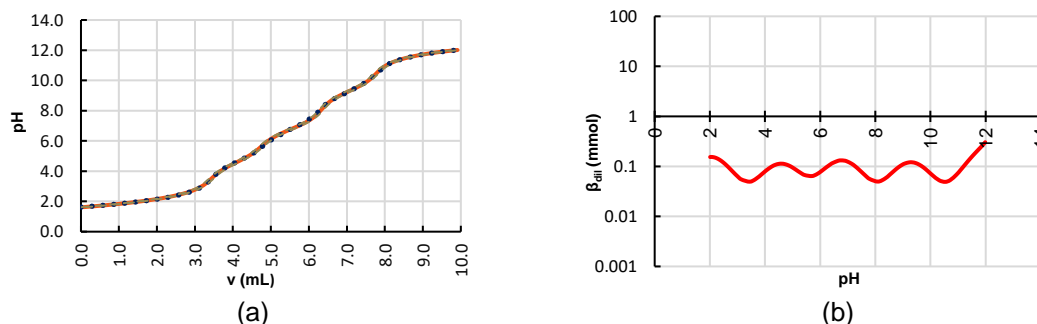


Figura 3. Control del buffer de Britton-Robinson. a) Ajuste no lineal típico de la curva de titulación del buffer. En azul, puntos experimentales; en rojo, polinomio. b) Capacidad amortiguadora en escala logarítmica del buffer considerando la dilución del sistema durante la valoración (β_{dil}).

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante un ajuste no lineal, en el que se buscó la coincidencia de los datos experimentales ($n=101$) con los reproducidos teóricamente. Para ello se modificaron los parámetros operaciones de las concentraciones a determinar y los valores de $\log(\beta_n)$ asociados a cada cambio de especiación en los componentes de cada polisistema, como se observa en la Figura 3a. La concordancia de los datos fue tal que bajo la escala ilustrada resulta imposible distinguir la incertidumbre representada con los cinturones de confianza al 95%. Adicionalmente se realizó el cálculo la capacidad amortiguadora con dilución, β_{dil} [3], que también corresponde a una medida de la capacidad que tiene un buffer para soportar los cambios de pH; sin embargo, ahora se considera el efecto de la dilución ante las perturbaciones dadas por un volumen definido de agente nivelante añadido experimentalmente (6).

$$\beta_{dil} = C_B \frac{dv}{dpH} = -C_A \frac{dv}{dpH} \quad (6)$$

De manera paralela, se empleó una variante del método para corroborar las concentraciones de los componentes. Se propuso la adición de Ca^{2+} para el retiro selectivo de los fosfatos totales mediante la precipitación de $Ca_3(PO_4)_2$ en condiciones de alcalinización, con la subsecuente operación analítica de filtración. Con este proceso resultó viable la determinación del H_3BO_4 y CH_3COOH con cuantitatividades de 99.3% y 96.1% respectivamente (Figura 4). Este ejercicio resulta, de particular interés para ilustrar los conceptos de selectividad química y enmascaramiento en cursos regulares de Química Analítica en condiciones de amortiguamiento múltiple para sistemas heterogéneos.

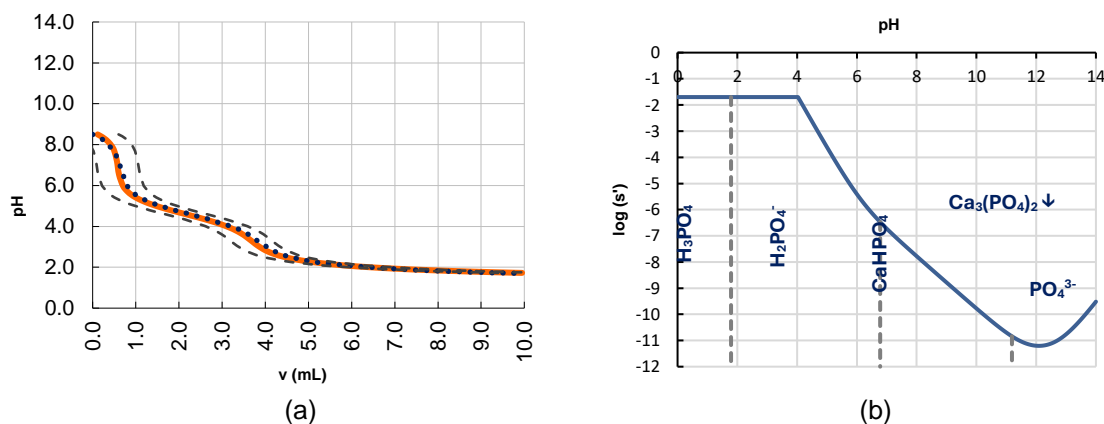


Figura 4. Control del buffer de Britton-Robinson mediante la adición de Ca^{2+} como agente enmascarante de fosfato. a) Ajuste no lineal típico de la curva de titulación del buffer tras el retiro de fosfatos insolubles. b) Diagrama de $\log(s') = f(pH)$ de las especies de fosfato (0.02 mol/L) a $pCa' = 1.48$.

En los ajustes no lineales realizados para la curva de titulación tras el retiro de fosfatos, se obtuvieron coeficientes de determinación de $R^2 \geq 0.992$; mientras que para el caso en el que se realizó el análisis completo los valores ascendieron a $R^2 \geq 0.999$. Este proceso se realizó para cada una de las disoluciones buffer propuestas, permitiendo ofrecer tanto el valor de pH exacto como el correspondiente a la fuerza iónica de cada sistema perteneciente a la familia de disoluciones amortiguadoras. La Figura 5 contrasta de manera gráfica los datos obtenidos tras la etapa de control e invita a concluir que la medición conductimétrica de una disolución no es una vía para ajustar ni estimar el valor de la fuerza iónica pues como tal no existe una relación entre la conductividad medida con los valores efectivamente alcanzados de la fuerza iónica que pueda aplicarse de forma generalizada. Así, la conductividad depende de la abundancia relativa de cada especie en la fase dispersiva pues los iones poseen de manera intrínseca una conductividad molar límite a dilución infinita; mientras que la fuerza iónica evalúa el producto de esas concentraciones efectivas y el cuadrado de sus cargas, haciendo que los componentes de un sistema que está compuesto mayormente por iones policargados (como los correspondientes al cambio de especiación del ácido fosfórico en ambientes alcalinos) incrementan abruptamente el valor de la fuerza iónica.

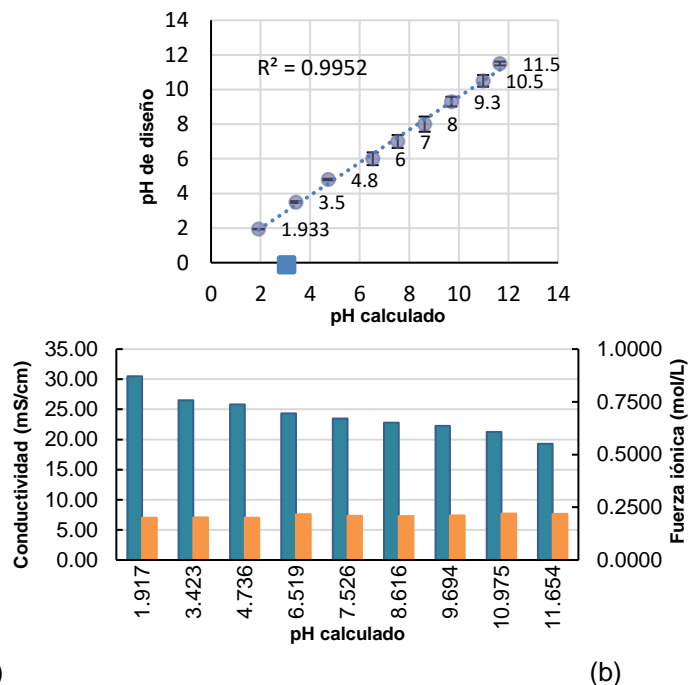


Figura 5. Resumen de los datos obtenidos tras la etapa de control de las disoluciones amortiguadoras. a) Regresión lineal pH calculado vs pH de diseño. b) Conglomerado de resultados obtenidos para cada disolución amortiguadora.

Conclusiones

Existe una correlación lineal entre el valor del pH estimado de manera teórica y aquel que fue calculado mediante la determinación de las concentraciones exactas de los componentes globales de cada disolución amortiguadora. Esto permite afirmar que la metodología empleada resulta funcional y subsana los errores inicialmente mencionados en donde el pH suele ser ajustado mediante una lectura potenciométrica, dejando que el valor de la fuerza iónica sea desconocido o deliberadamente ajeno a los fines aplicativos. Es posible emplear este método para ajustar de manera exacta el valor del pH de una disolución para obtener un producto altamente controlado y caracterizado. Así, la presente metodología resulta conveniente para diseñar, preparar y realizar el control sistemático de disoluciones amortiguadoras multicomponente en términos de sus niveles de acidez e ionicidad, lo que permite orientar su aplicación, por ejemplo, al estudio de sistemas electroquímicos en donde se requieran medios de reacción específicos, conductores y en los que se evite el empleo de especies electroactivas.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del programa UNAM-DGAPA-PAPIME PE209023.

Referencias

- [1] Ringbom, A. Formación de complejos en química analítica. Alhambra. España. (1979).
- [2] Urbansky, E. T, Schock, M. R. Understanding, Deriving, and Computing Buffer Capacity. *Journal of Chemical Education*, **77**, 1640-1644. (2000).
- [3] Rodríguez, N, Rojas, A. The Conditions Needed for a Buffer to Set the pH in a System. IntechOpen. (s. f.).
- [4] V. Bagotsky, *Fundamentals of Electrochemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, **2**,(2006).
- [5] Leslie, N, Mauzeroll, J. Spatially resolved electrochemical measurements. En Elsevier eBooks. (2023).
- [6] Britton, H. T. S, Robinson, R. CXCVIII.—Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal. *Journal of the Chemical Society*, 1456-1462. (1931).

SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ADITIVOS ALIMENTARIOS MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR

Fernanda Estrada Calva, Gabriela Islas Guerrero*, Israel Samuel Ibarra Ortega*, Juan Francisco Flores Aguilar, Irma Pérez Silva, Rosa Luz Camacho Mendoza
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica.
Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076.
Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2216, e-mail: gislas.uaeh@gmail.com; israel_ibarra@uaeh.edu.mx

Introducción

La evolución de la industria alimentaria ha permitido el desarrollo de productos con mejor aspecto, sabor, olor y vida de anaquel mediante la incorporación de compuestos naturales o sintéticos, denominados como aditivos. En años recientes, ha surgido la preocupación por este tipo de compuestos ya que algunos de ellos son clasificados como contaminantes emergentes de alto impacto ambiental [1], cuya presencia en el medio ambiente puede originar problemas de contaminación cruzada y daños a la salud humana. Entre la gran variedad podemos encontrar a los colorantes, conservadores, edulcorantes entre otros [2].

Los edulcorantes artificiales son sustancias químicas que se utilizan como sustitutos del azúcar en alimentos y bebidas debido a que tienen un mayor potencial endulzante y son bajos en calorías, sin embargo, el abuso de estos puede generar efectos en la salud; contaminación del suelo y agua [2]. Los colorantes, por su parte, son sustancias químicas que proporcionan tinte a un producto y son usados para mejorar la apariencia y devolver el color natural que se pierde durante el proceso de fabricación, sin embargo, pueden traer problemas de salud como alergias [3]. Aunado a los dos anteriores, tenemos a los conservadores que son considerados aditivos alimentarios; según la Food and Drugs Administration (FDA) son sustancias que se añaden a los alimentos para aumentar su estabilidad microbiológica y no necesariamente tienen valor nutricional pero sí retardan el tiempo de descomposición de los alimentos [4].

Debido a la problemática que representan, se han implementado diversas técnicas analíticas que permitan la identificación y determinación de edulcorantes, colorantes y conservadores. Dentro de estas técnicas de análisis se encuentran las cromatográficas, electroquímicas, entre otras. Sin embargo, la electroforesis capilar (EC) es una técnica de separación que tiene buena resolución y sensibilidad, además de ser una técnica rápida, económica, fácil de automatizar, lo que permite su uso en muestras complejas como alimentos o bebidas. [5]

Parte Experimental

Materiales y reactivos

Las soluciones estándar utilizadas fueron preparadas mediante diluciones de soluciones madre de aspartame (ASP), fenilalanina (FEN), benzoato de sodio (BEN), sacarina (SAC), acesulfame-K (ACE), tartrazina (TAR), amarillo ocaso (AMA) a concentraciones de 500 y 100 mg L⁻¹; estas soluciones se almacenaron en refrigeración siendo renovadas

cada 15 días. La solución del electrolito soporte consta de tetraborato de sodio 5 mmol L^{-1} ajustado a pH 10. El ácido pícrico fue utilizado como estándar interno (E.I) en concentraciones de 15 y 30 mg L^{-1} . Para la separación se utilizó un capilar de sílice fundida ($41.7 \text{ cm} \times 75 \text{ }\mu\text{m}$ diámetro interno).

Condiciones de análisis para el sistema de EC-UV

Las condiciones de separación fueron para un proceso de separación convencional CE-UV, la separación se realizó a un voltaje de 12 kV y longitud de onda de 215 nm; el capilar a una temperatura de 25°C y separación en polaridad normal.

Cada día de trabajo el capilar se activó mediante la siguiente secuencia: NaOH 1 mol L^{-1} 15 minutos, NaOH 0.1 mol L^{-1} 10 minutos, agua desionizada 10 minutos y finalmente el electrolito soporte 10 min. Entre cada análisis el capilar tenía lavados de la siguiente manera: NaOH 1 mol L^{-1} 2 min, NaOH 0.1 mol L^{-1} 1 min, agua desionizada 1 min y el electrolito soporte 2 min.

Resultados y Discusión

Optimización del sistema electroforético EC-UV

La optimización del sistema electroforético (EC-UV) se realizó mediante el método univariable. Las siguientes variables a optimizar fueron: pH, voltaje de separación y composición del electrolito soporte. La solución estándar analizada en cada variable contenía los aditivos y E.I a una concentración de 10 mg L^{-1} y longitud de onda (λ) de 215 nm.

Efecto del pH

Para llevar a cabo la separación por EC es necesario que los analitos estén en forma iónica, por lo que se debe mantener un pH fijo en el electrolito soporte [6]. Esto garantiza que los analitos se encuentran de forma desprotonada, lo que genera una movilidad electroforética dentro del sistema debido a la carga negativa que se genera.

El efecto del pH se determinó de acuerdo con los valores de pKa de los aditivos en un intervalo de 8.0 a 10.0, con una variación de 0.5 entre cada uno [6]. Durante este estudio se analizó una solución estándar de los 7 aditivos (ASP, FEN, BEN, SAC, ACE, TAR, AMA) y E.I en una concentración de 10 mg L^{-1} , voltaje de 12 kV y longitud de onda (λ) de 215 nm.

La Figura 1 muestra los electroferogramas obtenidos a diferentes valores de pH, como resultado se obtuvo que los electroferogramas con valores de pH 8.0, 8.5 y 9.0 no muestran una buena resolución e incluso no existe la presencia de señales analíticas que correspondan a los analitos de trabajo; a un pH 9.5 se empiezan a obtener algunas señales correspondientes de los edulcorantes (ASP, FEN, BEN, SAC, y ACE), de acuerdo a valores de pKa, sin la presencia de los colorantes (TAR, AMA); Sin embargo a pH=10 podemos observar todas las señales de los analitos de interés, por lo cual y en función de sus pKa's, todos los analitos se encuentran cargados negativamente,

presentando buena separación y resolución analítica. Por lo cual se establece un pH óptimo de 10.0 en la separación de aditivos.

Composición del electrolito soporte

El compuesto seleccionado para preparar el electrolito soporte fue el tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), se evaluó en un intervalo de concentraciones de 1 a 9 mmol L^{-1} de acuerdo con la bibliografía consultada [7]. En la Figura 2 se muestra los electroferogramas correspondientes en la separación de los aditivos, observando que a bajas concentraciones de electrolito se tiene una menor corriente eléctrica y consecuentemente el tiempo de migración de cada una de aditivos es nulo. A altas concentraciones del electrolito, se incrementa la viscosidad disminuyendo la corriente eléctrica y afectando el tiempo el tiempo de migración de los aditivos ocasionando un aumento del tiempo de retención de AMA. Es por lo anterior que cuando se trabaja a una concentración intermedia de 5 mmol L^{-1} se tiene una línea base más estable y la viscosidad del medio es baja, por lo que el tiempo de migración es menor, obteniendo una resolución y separación adecuada de los aditivos.

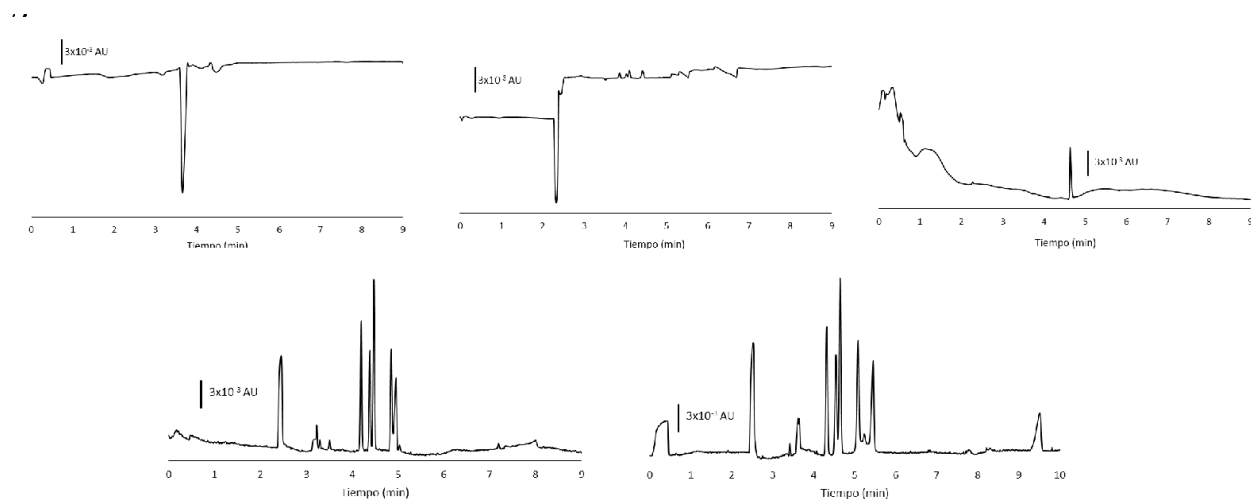


Figura 1. Electroferogramas obtenidos en la evaluación de pH, a) pH=8.0, b) pH=8.5, c) pH=9.0, d) pH=9.5 y e) pH=10.0.

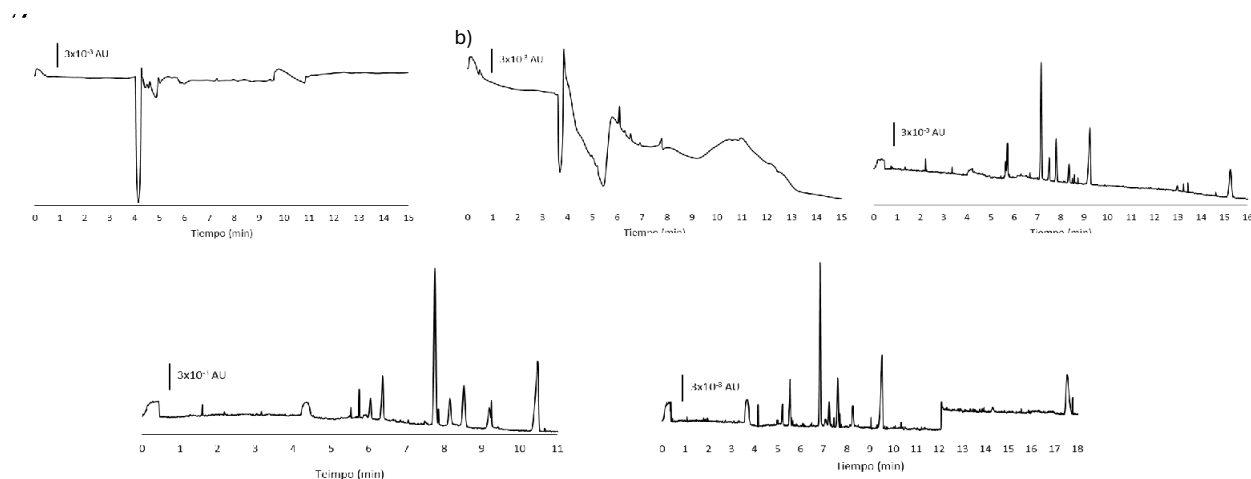


Figura 2. Electroferogramas obtenidos en la evaluación de la composición del electrolito de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$; a) 1 mM, b) 3 mM, c) 5 mM, d) 7 mM y e) 9 mM.

Voltaje de separación

Establecida la concentración y pH del electrolito soporte se realizó la evaluación del voltaje aplicado durante la separación de los aditivos (Figura 3), se preparó una solución de todos los aditivos y E.I a 30 mg L^{-1} , evaluando el voltaje de separación en un intervalo de 10 a 18 kV.

Con base en los resultados obtenidos, se observó que a menor voltaje aumenta el tiempo de migración de los aditivos y viceversa, es decir, a voltajes altos el tiempo es tan corto que no se permite la separación los aditivos, por lo que se decide continuar trabajando con un voltaje en la separación de 12 kV, observando una separación adecuada con un menor tiempo de análisis.

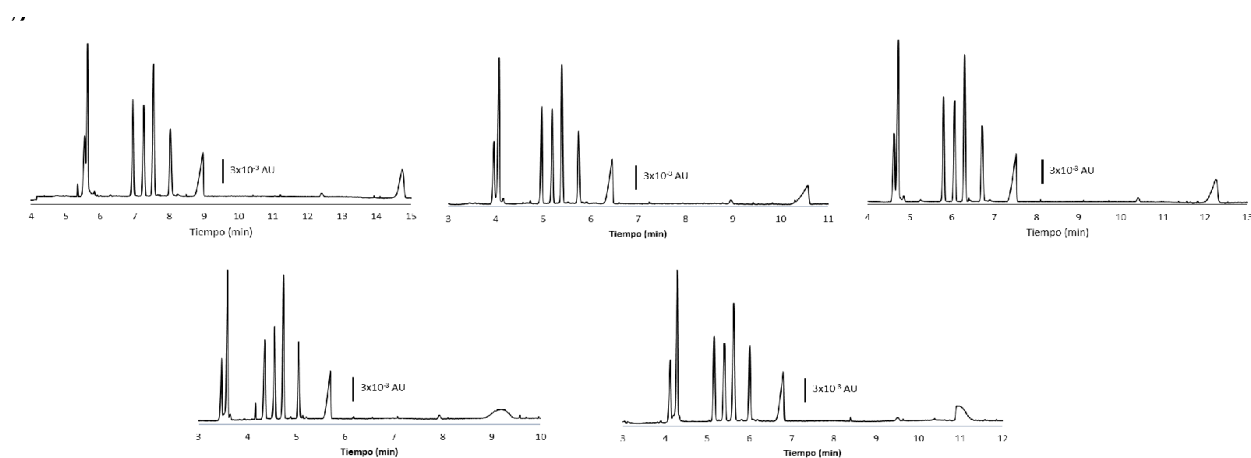


Figura 3. Electroferogramas obtenidos en la evaluación del voltaje de separación. A) 10 kV, b) 12 kV, c) 14 kV, d) 16 kV y e) 18 kV.

Identificación de señales

Para la identificación de cada señal se analizaron soluciones individuales de cada uno de los aditivos y el E.I en concentraciones conocidas, permitiendo la identificación con sus respectivos tiempos de migración. Una vez identificada cada una de las señales se preparó una solución que contenía los siete aditivos y E.I bajo las condiciones óptimas seleccionadas para el sistema de EC-UV; Electrolito soporte 5 mmol L⁻¹, ajustado a pH 10, 12 kV y 215 nm (Figura 4).

Una vez identificadas las señales, se observa que cada analito tiene una absorbancia distinta lo que generan señales con intensidades diferentes generando diferencias significativas en términos de sensibilidad analítica, para ello se establece una relación de concentraciones de 1:3, donde la relación 1: SAC, BEN y ACE que fueron los analitos que tuvieron mayor absorbancia y la relación 3: FEN, ASP, TAR y AMA fueron los de menor absorbancia.

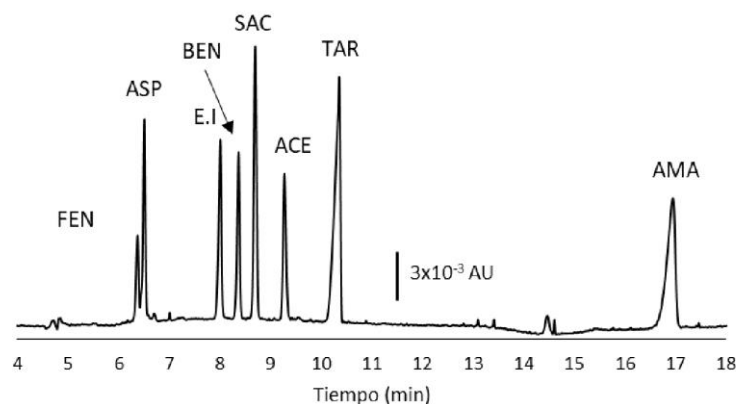


Figura 4. Electroferograma obtenido al análisis de una solución de 15 mg L⁻¹ de E.I (ácido pícrico); SAC, BEN y ACE 30 mg L⁻¹; FEN, ASP, TAR y AMA 90 mg L⁻¹. Analizado a 12 kV y 215 nm.

Obtención de parámetros analíticos

Se construyeron curvas de calibrado manteniendo la relación 1:3 (SAC, BEN, ACE: FEN, ASP, TAR, AMA), se realizó en un intervalo de 0.25 a 15 mg L⁻¹ manteniendo constante la concentración del E.I de 15 mg L⁻¹. Los resultados obtenidos de la curva de calibrado se muestran en la Tabla 1. Las áreas de los picos obtenidos en unidades arbitrarias (A.U.) fueron medidas, construyendo la línea de calibrado a partir de las relaciones de área. Los Límites de Detección (LOD por sus siglas en inglés) fueron calculados mediante la relación señal/ruido igual a 3.29; para los Límites de Cuantificación (LOQ por sus siglas en inglés), considerado que debe tener un valor 3 veces mayor que LOD, conforme las recomendaciones de IUPAC.

Para evaluar la precisión y exactitud se realizaron pruebas de repetitividad y reproducibilidad evaluados a dos niveles de concentración y por triplicado de análisis. Se

calculó la desviación estándar relativa (%DER) $\leq 10\%$ en todos los casos, tal y como se muestra en la tabla 2.

Tabla 1. Parámetros analíticos del sistema EC-UV para la determinación de aditivos.

Aditivo	Pendiente b_1 (mg L ⁻¹)	Ordenada b_0 (mg L ⁻¹)	r^2	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
FEN	0.0139	0.0006	0.998	1.0169	3.0508
ASP	0.0294	-0.0021	0.998	1.0284	3.0851
BEN	0.0644	-0.0117	0.996	0.8812	2.6435
SAC	0.1057	0.0012	0.997	0.7241	2.1723
ACE	0.0633	-0.005	0.995	1.0053	3.0158
TAR	0.0725	0.0329	0.997	1.7453	5.2376
AMA	0.0558	0.0466	0.992	3.4165	10.2495

Tabla 2. % DER desviación estándar relativa de las áreas. (% DER, n=3); ^a CE-UV; 2.5 mg L⁻¹ y 7.5 mg L⁻¹; ^b CE-UV; 7.5 mg L⁻¹ y 22.5 mg L⁻¹.

Aditivos	%DER Repetitividad		%DER Reproducibilidad	
	^a 2.5 mg L ⁻¹	^a 7.5 mg L ⁻¹	^a 2.5 mg L ⁻¹	^a 7.5 mg L ⁻¹
	^b 7.5 mg L ⁻¹	^b 22.5 mg L ⁻¹	^b 7.5 mg L ⁻¹	^b 22.5 mg L ⁻¹
FEN	^b 1.68	^b 2.33	^b 6.79	^b 4.14
ASP	^b 3.71	^b 1.21	^b 7.73	^b 8.73
BEN	^a 1.72	^a 1.36	^a 2.45	^a 3.27
SAC	^a 1.30	^a 1.34	^a 1.82	^a 4.55
ACE	^a 1.80	^a 1.59	^a 4.87	^a 5.54
TAR	^b 3.56	^b 1.81	^b 4.31	^b 5.61
AMA	^b 1.38	^b 6.52	^b 4.87	^b 7.44

Conclusiones

La metodología propuesta brinda una buena separación e identificación de los aditivos de interés, además de proporcionar rapidez, permitiendo buena reproducibilidad y sensibilidad analítica y realizar varios análisis al día

Las condiciones óptimas de separación y análisis para edulcorantes, colorantes y conservadores alimentarios mediante EC-UV fueron: electrolito soporte de tetraborato de sodio 5 mmol L⁻¹ a pH 10.0, con un voltaje de separación de 12 kV a una longitud de onda de 215 nm.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), (distinción al SNI como miembro de investigación) y Estancias Posdoctorales por México 2022, por el apoyo financiado.

Referencias

- [1] A. Pérez-Vázquez, D. A. Leyva-Trinidad, F. C. Gómez Merino. Revista mexicana de ciencias agrícolas. **9**, 175-189. (2018).
- [2] C. A. Torres-Morillo. Estudio del impacto ambiental ya la salud humana provocado por edulcorantes artificiales como contaminantes emergentes. **1**, 13-90 (2021).
- [3] J.F. Flores-Aguilar, L.C. Medrano, E. Pérez-Escalante, J.A. Rodríguez, R.L. Camacho-Mendoza, I.S. Ibarra. Revista internacional de química analítica ambiental. 1-13, (2019).
- [4] J. Spoelstra, S. L. Schiff, & S. J. Brown. Revista de hidrología X. **7**, 1-8. (2020).
- [5] M. Chopin-Doroteo. Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. **2**, 86-89. (2012).
- [6] L. Camargo-Medrano, J. F. Flores-Aguilar, G. Islas, J. A. Rodríguez, & I. S. Ibarra. Métodos analíticos de alimentos. **12**, 526-533. (2018).

OXIDACIÓN ELECTROCATALÍTICA DE GLICEROL EMPLEANDO CATALIZADORES MONO Y BIMETÁLICOS DE NANOPARTÍCULAS DE Cu, Au y CuAu SOPORTADOS EN NANOTUBOS DE CARBONO Y ÓXIDO DE CERIO (IV)

Frida Peña Medina^a, Josefina de Gyves^a, Ana Lilia Ocampo^a, Nadia M. Munguía Acevedo^a & Vicente Esquivel Peña^{a*}

^aDepartamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. C.P. 04510. Tel. (55) 5622-3792, e-mail: esquivelp@quimica.unam.mx

Introducción

Los biocombustibles se obtienen a través de recursos naturales o de residuos orgánicos, y son renovables, por lo tanto, son una fuente sostenible de combustible, se consideran una forma importante de progreso tecnológico para disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero y reducir la contaminación. El biodiésel es un combustible renovable y limpio que se obtiene a partir de lípidos naturales como el aceite vegetal o la grasa animal mediante procesos industriales de transesterificación [1], es bajo en azufre, emite un bajo nivel de partículas nocivas como CO, es biodegradable, tiene un alto punto de inflamación, mejor viscosidad y no es tóxico [2]. La gran desventaja de la producción de biodiésel es que su principal subproducto es el glicerol, generalmente, del 10 al 20% del volumen total se compone de glicerol. Esto ha provocado que el valor del glicerol esté disminuyendo en el mercado global [3] y representa una seria amenaza para la industria de los biocombustibles, debido a los costos de eliminación y purificación, además de ser un problema ambiental, ya que no se puede eliminar en el medio ambiente ([1, 3, 4]. Aunque el glicerol es una materia prima y tiene más de 2000 usos en industrias como alimentos, cosmética y farmacia, entre otras, la enorme e incesante producción de biodiésel está provocando que se trate como un producto de desecho [3, 5]. La mala gestión de este residuo ha llevado a los investigadores a encontrar una solución de reciclaje, con el fin de mantener la sostenibilidad que alivia el impacto ambiental y al mismo tiempo impulsa el mercado de los biocombustibles. La fabricación de productos químicos de valor agregado a partir de glicerol crudo es la única forma de mejorar el valor del glicerol y reemplazar los costos de su eliminación y purificación con una aplicación más inteligente. Empleando métodos electroquímicos, la oxidación de glicerol se puede realizar a temperatura ambiente, en presencia de agua y un electrolito soporte (NaOH o KOH para medio alcalino). Debido a sus tres grupos hidroxilo, el glicerol es un material con alto potencial para varios productos químicos finos o de valor agregado. Los compuestos de valor agregado que se pueden producir a partir de la conversión electroquímica de glicerol incluyen gliceraldehído, dihidroxiacetona, ácido glicólico, ácido glicérico, ácido láctico, ácido tartrónico y ácido mesoxálico, entre otros. [3]. Las reacciones de electrooxidación correspondientes son catalizadas por varios metales como paladio, platino, bismuto u oro [6]. Los catalizadores de Au son más activos para la oxidación de glicerol en medios alcalinos que en medios ácidos [2, 7], además este metal es más abundante y menos costoso que otros metales nobles, es más selectivo, estable y menos propenso a envenenarse por subproductos adsorbidos. En este trabajo se

presenta la síntesis de nanopartículas de Cu y Au soportadas en una mezcla de MWCNT y CeO₂, a través de síntesis intermatricial, posteriormente por desplazamiento galvánico se sintetizaron nanopartículas bimetálicas CuAu, para evaluar sus propiedades catalíticas frente a la electrooxidación de glicerol empleando voltamperometría cíclica. Los electrocatalizadores se caracterizaron a través de técnicas instrumentales tales como: espectroscopía infrarroja y difracción de rayos X. Finalmente se realizó un diseño de experimentos multifactorial para encontrar la composición adecuada para el catalizador más eficiente del sistema Cu-Au NPS/ MWCNTs-CeO₂

Parte experimental

Funcionalización de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT)

Los MWCNT se funcionalizaron basándose en el procedimiento descrito en [8], con algunas modificaciones: Se pesaron 250 mg de MWCNT y se colocaron en un matraz bola de dos bocas de 30 mL. Se midieron 13.5 mL de HNO₃ y 15 mL de H₂SO₄ en probetas. Posteriormente se colocaron los 13.5 mL de HNO₃ en un vaso de precipitados de 50 mL dentro de un baño de hielo y se agregaron lentamente los 15 mL de H₂SO₄. Se colocó el matraz bola en una canastilla de calentamiento a 60 °C. Una vez alcanzada la T, se llevó a cabo la reacción por 90 minutos. Pasado el tiempo, se agregaron 300 mL de agua desionizada para detener la reacción. Se filtraron a vacío los nanotubos y se lavaron varias veces con agua desionizada hasta que el pH de las aguas de lavado fue neutro. Finalmente se secaron a vacío los nanotubos de carbono en la estufa a 65 °C durante 24 h.

Síntesis de nanopartículas de Cobre soportadas en MWCNT funcionalizados

Se pesaron 50 mg de MWCNT y se añadieron 20 mL de NaBH₄, se agitó y sonicó por 5 minutos, al cabo de este tiempo se añadieron gota a gota 10 mL de una solución de Cobre (II) 0.02 mol/L bajo sonicación constante, se dejó sonicando por 60 minutos. Se añadió gota a gota el volumen restante de NaBH₄ y continuó la sonicación por 60 minutos más. Posteriormente, se dejó reposar por unos minutos para filtrar a vacío. Finalmente se secaron a vacío los nanotubos de carbono en la estufa a 65 °C durante 24 h.

Síntesis de nanopartículas bimetálicas por desplazamiento galvánico

Se añadieron 10 mL de agua desionizada a 25 mg de MWCNT, se agitaron y sonicaron durante 5 minutos. Posteriormente se añadió la disolución de HAuCl₄ 1000 ppm y se sonicó por dos horas. Al término de este tiempo se dejó reposar por unos minutos para filtrar a vacío. Finalmente se secaron a vacío los nanotubos de carbono en la estufa a 65 °C durante 24 h.

Síntesis de CeO₂

Se sintetizó a través de un método asistido por microondas: se pesó aproximadamente 1 gramo de nitrato de cerio (III) hexahidratado. Se disolvió en agua desionizada y se

añadieron 10 mL de NaOH 3 mol/L., hasta una temperatura de 180 °C. Finalmente, se lavó con ácido nítrico, agua desionizada y etanol.

Preparación de tintas catalíticas

Se pesaron 5 mg del catalizador deseado, se añadieron 425 μL de agua desionizada, 50 μL de nafión y 50 μL de isopropanol. Se agitó ligeramente y se dejó sonicar hasta que la mezcla se integró por completo. Se depositaron 5 μL de la tinta obtenida en un electrodo de carbón vítreo previamente pulido a espejo.

Voltamperometría Cíclica

Se utilizó un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo, un electrodo de mercurio/óxido de mercurio como electrodo de referencia y un electrodo de platino como electrodo auxiliar. Como electrolito soporte se empleó NaOH 0.5 mol/L, la disolución de glicerol se preparó a una concentración 0.1 mol/L.

Diseño de experimentos factorial 3^2

Se variaron las concentraciones de Au y CeO_2 en el electrocatalizador (factores) para evaluar su probable influencia sobre la actividad catalítica mediante voltamperometría cíclica. Las variables respuesta fueron la relación de áreas entre ambas oxidaciones y el potencial de inicio de oxidación. Se realizaron 9 experimentos, variando la cantidad de oro en tres niveles: 1.5%, 3% y 4.5%. El CeO_2 también se añadió en tres niveles: 10%, 17.5% y 25%.

Resultados y discusión

Funcionalización

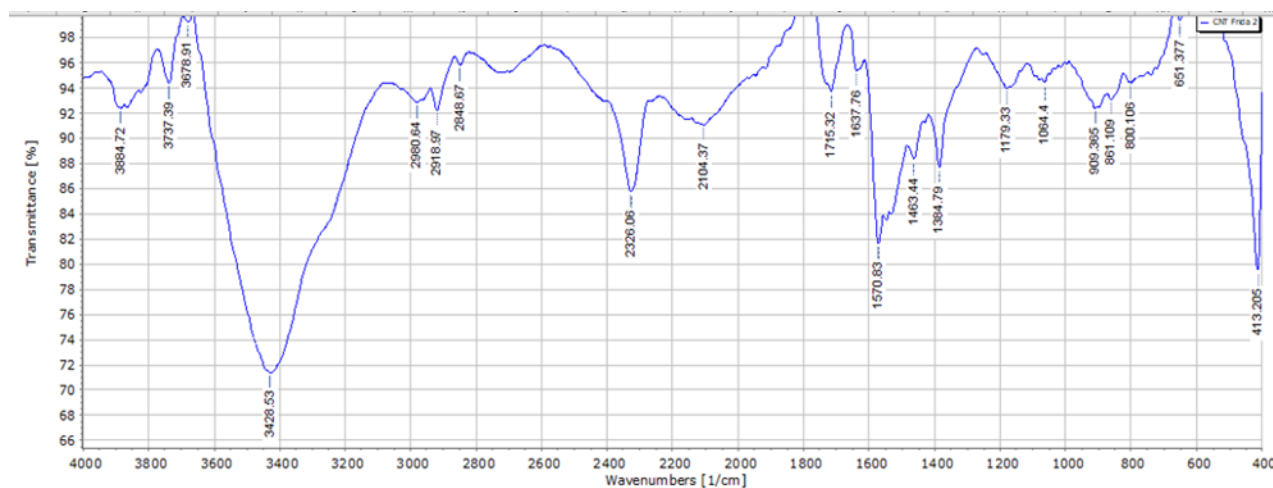


Figura 1. Espectro IR de nanotubos de carbono funcionalizados, obtenido por transformada de Fourier utilizando la técnica de pastillas de KBr, desde 400 cm^{-1} hasta 4000 cm^{-1}

La espectroscopia infrarroja es útil para identificar los grupos funcionales presentes, después de la funcionalización de los nanotubos de carbono se midió el espectro IR para comprobar que los grupos oxigenados se adsorbieran en ellos. En la Figura 1 se observan las bandas correspondientes a la funcionalización, la banda de absorción en 3428.53 cm^{-1} es debida al estiramiento del enlace O-H, la banda en 1570.83 cm^{-1} indica la presencia de enlace N-O perteneciente a los grupos nitro, en 1715.32 cm^{-1} se observa el estiramiento del puente de hidrógeno inter carboxílico COOH, la señal en 1637.76 cm^{-1} también corresponde a COOH. En 1179.33 cm^{-1} y 1064.4 cm^{-1} las señales corresponden a la deformación MWCNT-OH, las bandas alrededor de 2100 cm^{-1} y 2300 cm^{-1} corresponden a los enlaces entre carbonos.

Análisis elemental

Tabla 1. Resultados del análisis elemental de los Nanotubos de Carbono funcionalizados

Carbono	Hidrogeno	Nitrógeno
89.34%	0.5%	2.1%
89.33%	0.49%	2.1%

Se encontró que la relación molar entre Carbono y Nitrógeno es $\frac{N}{C} = 0.02$, este análisis representa el grado de funcionalización de los nanotubos de carbono.

Difracción de rayos X

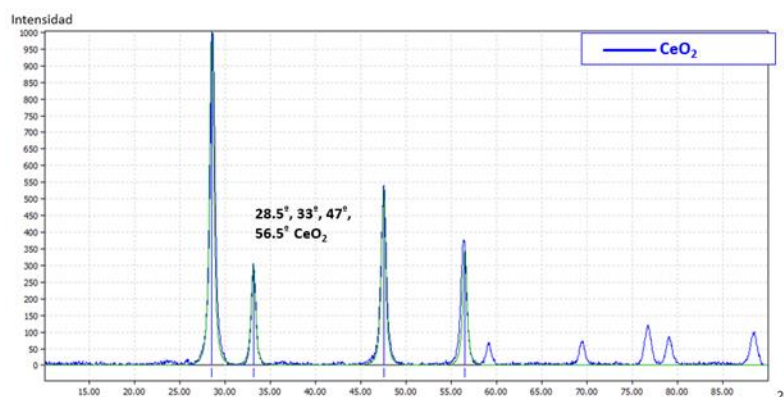


Figura 2. Difractograma de la muestra de CeO_2 .

Se empleó difracción de rayos X para determinar el tamaño promedio del cristal y la fase cristalina obtenida. En la Figura 2 se observan los picos de difracción correspondientes al Óxido de Cerio (IV), utilizando la ecuación de Scherrer se determinó que el tamaño de partícula es de 14.7 nm.

Voltamperometría cíclica

Como se observa en la Tabla 2, en los catalizadores que tienen 10% y 17.5% de CeO_2 la relación de áreas entre la primera y la segunda oxidación es mayor cuando se añade 3% de oro, por lo que no es necesario utilizar mayores cantidades de oro para mejorar la reducibilidad del catalizador, mientras que, el potencial de máximo de pico no aumenta respecto al incremento de la cantidad de CeO_2 , a pesar de no ser un buen conductor no se requiere aumentar la energía para oxidar al glicerol, esto puede deberse a que mejora la actividad catalítica debido a que oxida los intermedios adsorbidos en el material. En la figura 3 se observa el voltamperograma del catalizador que presentó la menor relación de áreas.

Tabla 2. Resumen de datos de voltamperometría cíclica

Catalizador	Relación de áreas	Potencial de máximo de pico (V)
Au 1.5% Ce10%	3.9708	0.2567
Au 3% Ce10%	4.41864	0.2548
Au 4.5% Ce10%	3.6679	0.2555
Au 1.5% Ce 17.5%	3.8939	0.2427
Au 3% Ce 17.5%	4.2985	0.2541
Au 4.5% Ce 17.5%	2.9007	0.2494
Au 1.5% Ce 25%	2.9535	0.2370
Au 3% Ce 25%	2.4088	0.2506
Au 4.5% Ce 25%	2.3528	0.2405

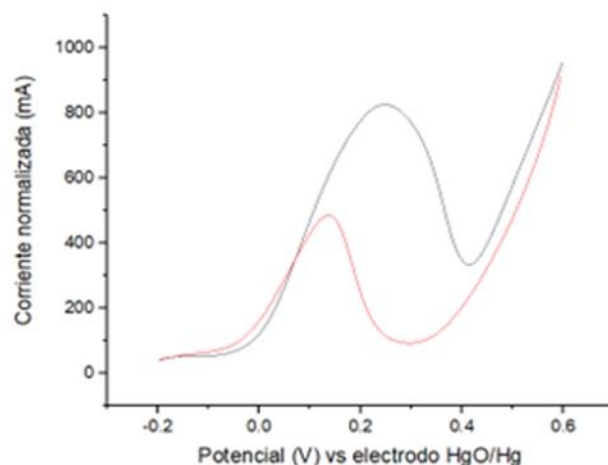


Figura 3. Voltamperograma de catalizador con 4.5% Au y 25% CeO_2

Diseño de experimentos

Al realizar un diseño de experimentos tomando en cuenta dos factores (cantidad de Au y de CeO₂ en el catalizador) y dos respuestas (Relación de áreas y Potencial de inicio de oxidación) se observó que la relación de áreas entre la primera y la segunda oxidación es máxima cuando la cantidad de Au añadida es de 3% y la cantidad de CeO₂ es 10%. El potencial de máximo pico es mayor cuando se añade Au 3% y 10% de CeO₂.

Conclusiones

Una mayor relación entre áreas indica que el catalizador no se desactiva tan fácilmente, de los nueve catalizadores bimetalicos, el que presenta la mayor relación de áreas es el que tiene la menor cantidad de CeO₂ (10%) y la cantidad intermedia de Au (3%). Aunque se incremente la cantidad de CeO₂ el potencial de máximo de pico no aumenta, al contrario, disminuye por lo que no se está viendo afectada la conductividad del material ni la actividad catalítica. Esto puede atribuirse a las propiedades oxofílicas del CeO₂ y a su rápido y reversible proceso redox Ce⁴⁺ /Ce³⁺ que ocurre en la red, donde se transfiere el oxígeno de la fase gaseosa a la superficie sólida donde ocurre la reacción química.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado a través del proyecto DGAPA-PAPIIT IN104323. Los autores expresan su agradecimiento a la Q.I. Cecilia Salcedo Luna y al M. en I. Victor Hugo Lemus Neri (USAI-FQ-UNAM) por los análisis de DRX y AE.

Referencias

- [1] A. Quispe, J.R. Coronado, A. Carvalho Jr. Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013. **27**, 475-493 (2013).
- [2] J. Knothe, J. Krahl, J.V. Gerpen. *The Biodiesel Handbook*. AOCS press 2nd ed (2010).
- [3] S. A. Nadhirah, Ch. S. Lee, F. Abnisa, K.A. Mohamed, A.Wan, D.Wan, P. Cognet, Y. Pérès. A review of recent developments on kinetics parameters for glycerol electrochemical conversion -A by-product of biodiesel. *Science of The Total Environment*, 705 (2020).
- [4] C. R. Coronado, J. Calvalho, C. A. Quispe, C. R. Sotomonte. Ecological efficiency in glycerol combustion. 2014. **63**, 97 (2014)
- [5] C.D. Ciriminna, M. Pina, M.Rossi, M. Pagliaro. Understanding the glycerol market. *EUR. J. Lipid Sci. Tecnología* 2014. **116**, 1432 – 1439 (2014).
- [6] B. Katryonik, H. Kimura, E. Skryzbska, J. S. Giardon, P. Fongarland, M. Capron, R. Ducoulombier, N. Mimura, S. Paul, F. Dumeignil. Selective catalytic oxidation of glycerol: perspectives for high value chemicals. 2011 [11] 160 (2011)

- [7] Y, Kwon, K.J.P. Schouten, M.T.M. Koper. Mechanism of the catalytic oxidation of glycerol on polycrystalline gold and platinum electrodes. *ChemCatChem*, 2011.**3**, 1176-1185 (2011).
- [8] Esquivel-Peña, J. Bastos-Arrieta, M. Muñoz, L. Mora-Tamez, N. Munguía-Acevedo, A. Ocampo. Metal nanoparticle–carbon nanotubes hybrid catalysts immobilized in a polymeric membrane for the reduction of 4-nitrophenol. *Springer Nature Applied Sciences* 2019. **1**, 347 (2019).

RESIDUOS DE *Euphorbia antisyphilitica* Zucc COMO BIOADSORBENTE PARA LA REMOCIÓN DE Cd, Cr, Ni y Pb PRESENTE EN AGUA

América Regina Gómez Galindo^a, Mara Sarahí Florencio Martínez^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{a*}

^aUniversidad 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, México. ilianagarza@uadec.edu.mx

Introducción

La *Euphorbia antisyphilitica* Zucc es un arbusto endémico que crece en el Norte de México y en algunas partes de Estados Unidos de América, principalmente en zonas semidesérticas.[1] Es un arbusto sin flores, de tallos largos, erectos y grisáceos; dichos tallos exudan un tipo de cera que previene de la evaporación de agua del arbusto en tiempos de sequía, esta cera está compuesta principalmente de hidrocarburos, ésteres y alcoholes.[2] La producción de cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc, comúnmente conocida como cera de candelilla, es una de las actividades económicas más importantes de las regiones semiáridas del país, esto debido a su versatilidad funcional, pues es utilizada en el recubrimiento de frutos, manufactura de productos abrillantadores, en la industria cosmética, mecánica y plástica, así como en la medicina.[3] El método actual de obtención de cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc utiliza agentes de extracción corrosivos como el ácido sulfúrico concentrado [4], este método de extracción produce solamente en el estado de Coahuila, reconocido como el principal productor, de 60 a 120 toneladas de residuos al año. Estos residuos están compuestos de celulosa, lignina y compuestos polifenólicos que se pretende sean utilizados de manera alternativa con el objetivo de establecer una economía circular orientada al desarrollo sustentable de este proceso de extracción. [5] Debido a la cantidad de residuo disponible, el bagazo de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc, supone un área de interés para su uso como adsorbente en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados. En la actualidad, se ha reportado que los residuos de biomasa pueden ser utilizados como bioadsorbentes en el tratamiento de aguas, algunos de los residuos utilizados son las cáscaras de: naranja, pimienta, corteza de eucalipto, etc. Estos bioadsorbentes, al igual que el bagazo de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc provienen de residuos maderables, y por lo general son modificados para aumentar su capacidad de adsorción. [6] La adsorción es un proceso de fijación de moléculas en la superficie de un material sólido que es posible gracias a las fuerzas de atracción intermoleculares entre sitios activos presentes en el adsorbente y del sustrato. [7] Fundamentalmente, se reconocen dos tipos de adsorción, la adsorción física (fisiadsorción) y la química (quimiadsorción) y difieren principalmente en las interacciones adsorbente-sustrato, pues en la adsorción física las principales interacciones son las de tipo Van der Waals mientras que, en la química, simulan enlaces. [8] Cuando la adsorción está derivada de residuos de biomasa se le conoce como bioadsorción y depende, primordialmente, de los compuestos orgánicos capaces de intercambiar iones metálicos. [9] La bioadsorción es posible debido a ciertos grupos

funcionales dispuestos hacia el exterior celular y son por lo general componentes de paredes celulares, por ejemplo, los grupos carboxilo, amino, hidroxilo, fosfato y sulfhidro. Dentro de los principales componentes de los bioadsorbentes se pueden reconocer dos tipos de grupos funcionales, aquellos que son débilmente reactivos (lípidos o glucanos donde la reactividad es debida al grupo hidroxilo) o fuertemente reactivos (ácidos carboxílicos, ligninas, polifenoles y aminoácidos) [10] debido a la riqueza en celulosa, lignina y compuestos polifenólicos del residuo de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc [5] el objetivo de este trabajo fue evaluar su capacidad como bioadsorbente de Cd, Cr, Ni y Pb presentes en agua.

Parte Experimental

Tratamiento del residuo de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc (cera de candelilla)

Los residuos de candelilla se lavaron con agua del grifo para remover el exceso de tierra, después se colocaron en papel estroza para eliminar el exceso de agua, a continuación, se llevaron a la estufa a 80°C durante 2h para eliminar toda la humedad. Los residuos secos se trituraron utilizando un procesador de alimentos y fueron tamizados utilizando un Rotap y un tamiz malla 100 (tamaño de partícula de 149 µm).

Una parte de estas partículas se tomaron para realizar un segundo tratamiento, para el que se pesaron 10 g de las partículas en un vaso de precipitado de 250 ml, al cual se le añadieron 60 ml de agua desionizada y se agitaron hasta hidratación completa para posteriormente filtrarlos utilizando un sistema de filtración por gravedad con papel Whatman #41, las partículas que se retuvieron en el papel se colocaron nuevamente en un vaso de precipitado y se añadieron nuevamente 60 mL de agua desionizada, este procedimiento se realizó 12 veces. Finalmente las partículas lavadas se llevaron a la estufa a 80°C durante 2 horas para eliminar la humedad.

Diseño de estudio multifactorial 2³

Para evaluar la capacidad de remoción de las partículas de los desechos de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc se realizó a un diseño factorial 2³, las variables de estudio se pueden ver en la tabla 1. Se obtuvieron ocho tratamientos y los valores se obtuvieron de forma aleatoria.

Tabla 1. Variables de estudio en el diseño factorial 2³ utilizando *Euphorbia antisyphilitica* Zucc como bioadsorbente.

VARIABLES DE ESTUDIO	Nivel bajo (-1)	Nivel alto (1)
A: g de bioadsorbente	0.05	0.1
B: Velocidad de agitación (rpm)	360	1200
C: Tiempo de agitación (min)	1	2

El diseño factorial propuesto se realizó en dos ocasiones, en la primer ocasión se utilizó el bioadsorbente sin lavados y en la segunda ocasión se utilizó el bioadsorbente previamente lavado. Esto con el fin de determinar si se puede omitir el lavado del bioadsorbente y así disminuir los costos de operación.

Procedimiento General

En vasos de precipitado con capacidad de 100 ml se pesaron los g del bioadsorbente (con y sin lavados) propuesto para cada tratamiento, se les añadió 15 ml de un multiestándar con 1mg/L de Cd, Cr, Ni y Pb (se utilizaron estándares certificados de 1000 mg/L de la marca AccuStandard de cada metal), se llevaron a una parrilla de agitación magnética donde se ajustaron las velocidades de agitación, y el tiempo de agitación de acuerdo a cada uno de los valores propuestos en el diseño factorial. Finalmente se filtraron las disoluciones obtenidas de cada tratamiento utilizando el sistema de filtración antes mencionado. Las 16 disoluciones se llevaron al Espectrofotómetro de Absorción Atómica con Flama (Varian 240FS) para determinar la concentración de Cd, Cr, Ni y Pb.

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se presentan los tratamientos con los valores de cada variable que se obtuvieron aleatoriamente.

Tabla 2. Tratamientos obtenidos del diseño factorial 2^3 , junto con los valores de las variables de gramos de bioadsorbente (A), velocidad de agitación (B) y tiempo de agitación (C).

Tratamientos	A	B	C
1	-1	1	1
2	1	1	1
3	-1	-1	1
4	1	-1	1
5	1	1	-1
6	1	-1	-1
7	-1	1	-1
8	-1	-1	-1

En la tabla 3 se presentan los parámetros instrumentales utilizados para la cuantificación de Cd, Cr, Ni y Pb.

Tabla 3. Parámetros Instrumentales utilizados en la cuantificación de los metales estudiados.

Metal	Slit (nm)	λ (nm)	Flujo aire/acetileno (L/min)	Corriente de lámpara
Cd	0.5	228.8	13.88/2.29	4
Cr	0.2	357.9	13.33/3.04	6
Ni	0.2	232	14.03/2.25	5
Pb	1	217	13.75/2.14	11

Previo a la cuantificación de los metales de estudio se realizaron las curvas de calibrado para cada uno, en la tabla 4 se presentan los parámetros analíticos que se obtuvieron de cada metal.

Tabla 4. Parámetros analíticos.

Metal	Intervalo de trabajo	Ecuación	R ²	LD
Cd	0.2 a 1 mg/L	0.3195x - 0.0014	0.9982	0.0014
Cr	0.5 a 2.5 mg/L	0.0643x + 0.0041	0.9997	0.0070
Ni	0.3 a 1.5 mg/L	0.0696 - 0.0015	0.9997	0.0009
Pb	0.5 a 2.5 mg/L	0.0337x - 0.0022	0.9993	0.0087

Una vez que se obtuvieron las concentraciones de los metales presentes en las disoluciones, se determinó el porcentaje de remoción de cada metal.

En la figura 1 se presentan los porcentajes de remoción de los metales de estudio utilizando el bioadsorbente con y sin lavados.

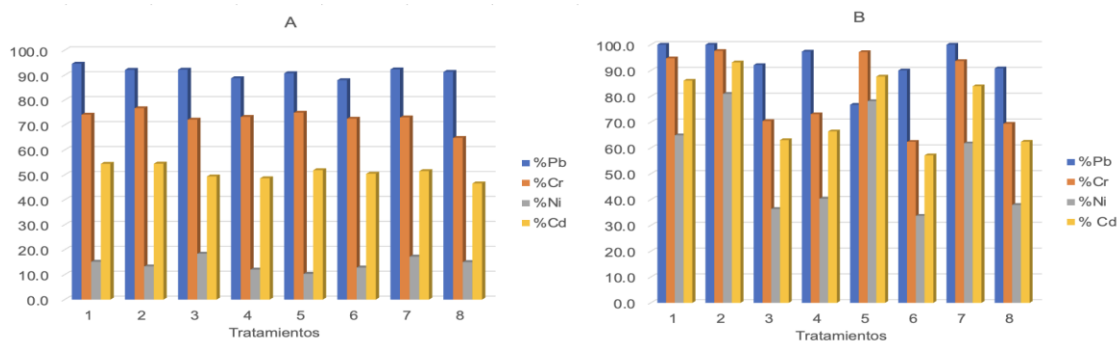


Figura 1. Porcentajes de remoción de Cd, Cr, Ni y Pb utilizando el bioadsorbente. a) sin lavados; b) con lavados.

Al comparar los porcentajes de remoción de la figura anterior se observa una mayor remoción utilizando las partículas del bioadsorbente con lavados, además, las disoluciones acuosas obtenidas de cada tratamiento no presentaron color, por lo que se decidió utilizar estos porcentajes para realizar el ANOVA, los resultados del ANOVA se presentan en la figura 2 donde se observan los diagramas de Pareto de cada uno de los metales estudiados.

En la figura 2b podemos observar que las variables estudiadas para la remoción de Cr presentan un efecto estándar menor al margen de error (línea azul), por lo tanto, no presentan significancia y el color fucsia de las barras indica que el valor de las variables estudiadas a niveles altos presenta los mejores porcentajes de remoción. En la figura 2d se observa que las tres variables de estudio para la remoción de Pb presentan un efecto estándar menor al margen de error, esto nos indica que no presentan significancia, sin embargo, solo dos variables (tiempo de agitación y velocidad de agitación) nos indican que la utilización de los valores a niveles altos supone una mayor remoción y la tercer variable (gramos de adsorbente) presenta una barra color rojo que nos indica que el valor a nivel bajo presenta una mejor remoción de Pb. En las figuras 2a y 2c presentan un comportamiento similar dos de las variables estudiadas para la remoción de Cd y Ni (tiempo de agitación y gramos de adsorbente) indicando que a niveles altos de los valores estudiados presentan una mayor remoción, por el contrario, la variable de velocidad de agitación presenta un efecto estándar mayor que el margen de error, indicando que presenta una diferencia significativa a valores de niveles altos, sin embargo, ya no fue posible estudiar un valor más alto debido a que la parrilla de agitación nos limita a 1200 rpm, considerandola como valor óptimo para una mayor remoción de ambos metales. En la tabla 5 se presentan las variables óptimas para la remoción de los cuatro metales estudiados.

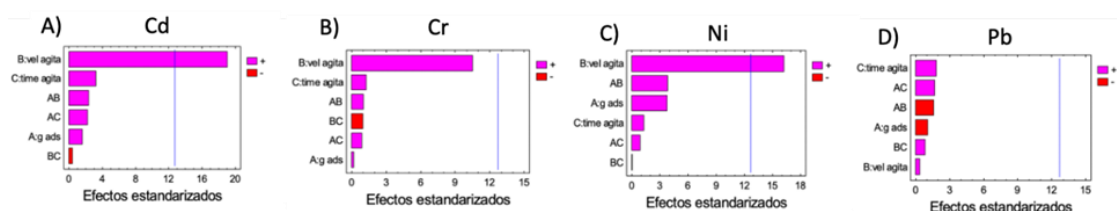


Figura 2. Diagramas estandarizados de Pareto para a) cadmio, b) cromo, c) níquel y d) plomo.

Tabla 5. Valores óptimos de las variables de estudio (gramos de bioadsorbente (A), velocidad de agitación (B) y tiempo de agitación (C)) para la remoción de Cd, Cr, Ni y Pb.

Metal	A	B	C
Cd	0.1	1200	2
Cr	0.1	1200	2
Ni	0.1	1200	2
Pb	0.05	1200	2

Una vez que se obtuvieron los valores óptimos de las variables de estudio para cada metal se realizaron pruebas de repetibilidad. Se utilizaron tres tratamientos para determinar el porcentaje de remoción de Pb y tres tratamientos para determinar el porcentaje de remoción de Cd, Cr y Ni, en ambas pruebas de repetibilidad se utilizó el multiestándar de 1 mg/L de cada metal. Los resultados se presentan en la figura 3.

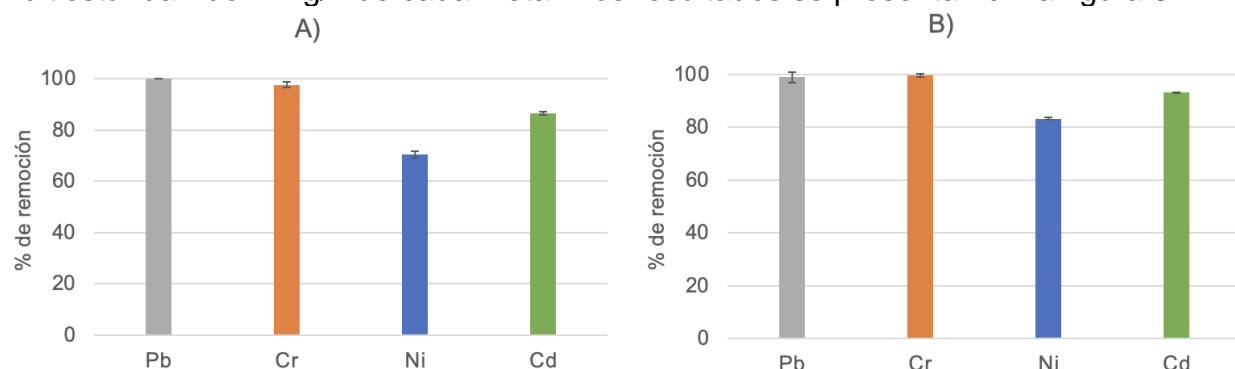


Figura 3. Porcentajes de remoción de Cd, Cr, Ni y Pb de las pruebas de repetibilidad a) variables óptimas para Pb y b) variables óptimas para Cd, Cr y Ni.

En la figura anterior se puede observar que se removió el 100 % de Pb y también se alcanzó a remover el 100 % de Cr, los porcentajes de remoción de Cd fueron favorables debido a que son mayores del 93 %, mientras que la en el caso de Ni apenas se alcanzó a remover más del 83 %.

Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que el residuo de la producción de cera con *Euphorbia antisyphilitica* Zucc o cera de candelilla puede utilizarse como bioadsorbente de Pb, Cr, Cd y Ni. Si bien, puede ser utilizada sin lavados, se obtienen mejores porcentajes de remoción con el bioadsorbente lavado. El bioadsorbente es mucho más afín con Pb, puesto que para remover con totalidad este metal es suficiente una mínima cantidad de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc. Con 1 g de bioadsorbente se puede remover 20 mg/L de Pb, 10 mg/L de Cr, 9.3 mg/L de Cd y 8.3 mg/L de Ni

Agradecimientos

A la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesario para la realización de este proyecto.

Referencias

[1] Maldonado-Ortiz, M., López-Serrano, P. M., Váldez-Cepeda, R. D., Mata-González, R., García González, F., & Martínez-Salvador, M. (2022). Ecuaciones para estimar biomasa total de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) en Chihuahua. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, **13**, 173-200.

- [2] Torres-Castro, A., Garza-Navarro, M. A., Ortiz-Mendez, U., & González-González, V. (2015). Candelilla del semidesierto mexicano como biocombustible. *Ingenierías*, **18**, 22-29.
- [3] Martínez-Balleste, A., & Mandujano, M. (2013). The Consequences of Harvesting on Regeneration of a Non-timber Wax Producing Species (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) of the Chihuahuan Desert. *Economic Botany*, **67**, 121-136.
- [4] Ochoa-Reyes, E., Saucedo-Pompa, S., de la Garza, H., Martínez, D., & Aguilar-Gonzalez, C. N. (2010). Extracción Tradicional de Cera de *Euphorbia antisiphilitica*. *Acta Química Mexicana*, **2**.
- [5] Núñez-García, I., Martínez-Ávila, G. C. G., Ochoa-Martínez, A., Rojas, R., & Rutiaga-Quñones, M. (2022). Candelilla: Recurso vegetal endémico con potencial para su uso integral. *Revista Agraria*, **19**, 57-62.
- [6] Núñez, J. E., Colpas, F., & Tarón, A. (2017). Aprovechamiento de residuos maderosos para la obtención de resinas de intercambio iónico. *Temas Agrarios*, **22**, 52-59.
- [7] Rodríguez, A. C., Campos-Rosario, A. M., & Pérez-Flores, A. (2019). Obtención y caracterización de materiales adsorbentes a partir de cascarilla de arroz. *Mutis*, **9**, 29-39.
- [8] Tubert, I., & Talanquer, V. (1997). Sobre adsorción. *Educación Química*, **8**, 186-190.
- [9] Navarro, A. E., Ramos, K. P., Campos, K., & Maldonado, H. J. (2006). Elucidación del efecto del pH en la adsorción de metales pesados mediante biopolímeros naturales: Cationes divalentes y superficies activos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **7**, 115-128.
- [10] Cuizano, N. A., & Navarro, A. E. (2008). Biosorción de metales pesados por algas marinas: Una posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. *Anales de Química de la RSEQ*, **104**, 120-125.

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE SEMILLAS DE CACAO MEXICANO

Linda Patricia Tapia Hernández^a, Luis Ángel Moreno García^a, Ulrich Briones Guerash Silva^a, Edgar Islas Ortíz^a, Gerardo Reyes García^a, Eugenio Octavio Reyes Salas^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Ciudad Universitaria. Alcaldía Coyoacán. 04510 Ciudad de México. México +525554210938 E-mail: oresal@quimica.unam.mx

Introducción

El cacao es el fruto proveniente del árbol de cacao; es conocido por su nombre científico como "*Theobroma cacao*" que en griego significa "Alimento de los dioses". En la época prehispánica el cacao se utilizó como un tipo de moneda, la cual era empleada en los intercambios comerciales, también se utilizaba en los rituales o ceremonias, como alimento, y en la preparación de bebidas exclusivas para las personas con más poder de la época. [1] Su área de distribución natural abarca desde la cuenca sur del Amazonas hasta la región meridional de México. A nivel mundial se producen alrededor de 4.84 millones de toneladas de cacao al año; el 45% de esta producción proviene de Costa de Marfil y México ocupa el decimoprimer lugar con el 0.8% de la producción mundial. En México se producen 29,457 toneladas de cacao al año. Entre los principales estados de la República Mexicana en los que se produce el cacao se encuentran Tabasco (68.59%), Chiapas (30.97%) y Guerrero (0.42%). [2]

Para plantear parámetros de calidad en muestras de cacao es necesario conocer su composición y para ello se requiere cuantificar diferentes compuestos, entre los que se encuentran los siguientes: teobromina, cafeína, azúcares reductores, lípidos, compuestos polifenólicos, ácidos grasos, proteínas y algunos minerales. [4]

La teobromina, la cafeína y los azúcares reductores son compuestos solubles en agua. La cafeína representa alrededor del 0.2 % de la composición del cacao y combinada con la teobromina pueden reducir el riesgo de enfermedades neurodegenerativas. Los granos de cacao contienen altas concentraciones de polifenoles, aproximadamente del 12-18% del peso seco de granos sin fermentar. [5].

En el presente trabajo se muestran los resultados de la determinación de teobromina, cafeína, azúcares reductores, sacarosa, humedad y % m/m de grasas para establecer parámetros de calidad en muestras de cacao verde mexicano provenientes de Tabasco, por métodos electroquímicos, potenciométricos y gravimétricos.

Parte experimental

Determinación de humedad

Se pesaron 10 g de semillas de cacao verde, se descascarilló manualmente y se volvió a pesar. Las semillas de cacao descascarilladas se molieron en un molino eléctrico para café y se pesó el polvo de cacao molido.

La determinación de humedad se llevó a cabo por gravimetría de volatilización a diferentes temperaturas: 65.6, 79.4, 93.3, 107.0 y 121.11 °C, con el fin de encontrar la temperatura más adecuada para la determinación de humedad.

Tratamiento de la muestra

Extracción orgánica de aceites de cacao

Se pesaron 10 g de cacao verde molido y descascarillado y se dejó a reflujo por 1 hora con 25 mL de hexano, con el fin de extraer la grasa de la muestra. Terminado el reflujo se secó la muestra al vacío durante 1 hora con una trampa para atrapar el hexano y se pesó el polvo de cacao obtenido. Esta operación se repitió 3 veces más, con el propósito de incrementar el rendimiento de la extracción de la grasa del cacao.

Extracción Soxhlet del cacao

Para realizar el resto de las determinaciones el cacao molido se sometió a una extracción con un equipo Soxhlet. Para esto 6.4068 g del polvo de cacao se colocaron en un cartucho de algodón envuelto en un papel filtro, junto con 100 mL de agua desionizada. La extracción se realizó hasta completar 12 ciclos, después de los cuales el extracto obtenido se centrifugó por 20 minutos a 3000 rpm una vez que alcanzó la temperatura ambiente. El sobrenadante obtenido se separó y se llevó a 100.0 mL con agua desionizada (disolución I). De esta disolución, se tomaron 50 mL para la determinación de azúcares reductores, mientras que los 50 mL restantes (disolución II) se sometieron a 4 extracciones sucesivas con 10 mL de cloroformo cada una. Cada porción de extracto orgánico se recolectó por separado.

Determinación de azúcares reductores y sacarosa

La determinación de azúcares reductores y sacarosa se llevó a cabo por la reacción de Fehling; se prepararon disoluciones de Fehling A (CuSO_4 0.2498 mol L⁻¹), Fehling B (NaOH 2.098 mol L⁻¹ + $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.2 mol L⁻¹) y Glucosa 0.015 mol L⁻¹.

Determinación de azúcares reductores mediante titulación redox por retroceso

El montaje experimental consistió en un electrodo de referencia ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ 3 mol L⁻¹) y uno de trabajo (Cu) en una celda con 2.0 mL de disolución Fehling A y B, respectivamente, bajo calentamiento. Cuando se alcanzó la temperatura de ebullición se añadieron 5.0 mL de la disolución I, observando que la mezcla se volvió de un color ligeramente verdoso debido a la reacción entre los azúcares reductores de la muestra y el cobre(II) de la disolución de Fehling. Posteriormente, el cobre(II) remanente se tituló por retroceso con una disolución de glucosa estandarizada 0.01525 mol L⁻¹. El punto de equivalencia se determinó potenciométricamente.

Determinación de sacarosa invertida

A 5.0 mL de la disolución I se le agregaron 3 gotas de HCl concentrado y se dejó en reposo toda la noche para permitir que ocurra la inversión por hidrólisis ácida de la sacarosa (disolución III). Después se repitió el mismo procedimiento para la determinación de azúcares reductores con la reacción de Fehling, pero ahora añadiendo la disolución III. [6]

Determinación de cafeína

Cada extracto orgánico se sometió a un proceso de evaporación para reducir su volumen a una décima parte y llevarlo posteriormente a un volumen final de 10.0 mL con agua desionizada (disolución IV). Para el análisis electroquímico de la cafeína se utilizó la técnica de polarografía diferencial de impulsos y el método de adiciones estándar, bajo las siguientes condiciones: potencial de inicio: 0.0499 V, potencial final: -0.4999 V, amplitud de pulso: -0.05 V, tiempo de pulso: 1 s, velocidad de barrido: 5 mV/s. [6]. En la celda electroquímica se agregaron 10.0 mL de electrolito soporte "ES" (KH_2PO_4 0.5 mol L⁻¹) y se purgó con N₂ por 300 s para eliminar el oxígeno del medio. Se realizaron tres adiciones de 100 µL de la disolución IV y después se hicieron adiciones de 50 µL de estándar de cafeína (1×10^{-3} mol L⁻¹) hasta un volumen final de 350 µL de estándar.

Estudio polarográfico fundamental de la teobromina

Con el fin de encontrar el mejor medio para cuantificar la teobromina en un intervalo de potencial que permita medir variaciones lineales de la concentración se preparó un estándar de teobromina 8.72×10^{-4} mol L⁻¹ y se analizó en distintos medios utilizados como electrolitos soporte: buffer de fosfatos 0.5 mol L⁻¹ con pH=4.27, buffer de boratos 0.02 mol L⁻¹ con pH=9.97 y buffer de acetatos 0.5 mol L⁻¹ con pH=3.37, Para el estudio fundamental de la teobromina se utilizaron las técnicas de polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos bajo las siguientes condiciones: potencial de inicio: 0.3 V, potencial final: -1.4 V, amplitud de pulso: -0.05 V, tiempo de pulso: 1 s, velocidad de barrido: 5 mV/s. En la celda electroquímica se adicionaron 10.0 mL de electrolito soporte y se purgó el sistema con N₂ por 600 s para eliminar el oxígeno del medio, posteriormente se obtuvo la señal residual. Se realizaron adiciones de 50 µL del estándar de teobromina (8.72×10^{-4} mol L⁻¹) hasta un volumen final de 350 µL.

Resultados y discusión

Después de descascarillar las semillas de cacao verde se determinó que la cáscara representa el 10.9 % en peso de las semillas. Los resultados de humedad de las muestras de cacao determinados en un intervalo de temperatura de 65.6 a 121.1 °C se encuentran en la tabla 1. La ecuación empleada para la determinación de humedad es la siguiente:

$$\%H = \frac{m_{\text{muestra húmeda}} - m_{\text{muestra seca}}}{m_{\text{muestra húmeda}}} \cdot 100 \% \quad (1)$$

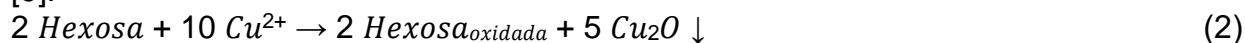
Tabla 1. Resultados de la humedad de muestras de semillas de cacao verde a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	% Humedad
121.1	3.710
107.0	3.969
93.3	3.669
79.4	2.453
65.6	1.631

En la tabla 1 el porcentaje de humedad máximo se alcanzó cuando la operación de secado se realizó a 107.0 °C, por lo que se considera a esta temperatura como óptima para realizar el secado de la muestra de cacao sin ocasionar la descomposición térmica de otros componentes. De acuerdo con la NOM-186-SSAI/SCFI-2013 el cacao no debe de contener más de 7.5 % de humedad, por lo que la muestra analizada proveniente de Tabasco sí cumple con este parámetro.

Durante el tratamiento de la muestra para llevar a cabo el desengrasado, se partió de una masa de 9.9839 g de semillas de cacao molido; luego de realizar 4 extracciones sucesivas a reflujo con hexano para la misma muestra, se obtuvieron 5.0079 g de cacao seco, representando esto un contenido de 50.2% de manteca de cacao. En la norma Codex Stan 105-1981 se establece que el cacao debe de contener un mínimo de manteca de cacao del 20% m/m, por lo que la muestra analizada sí cumple con esta norma.

La determinación de azúcares reductores se llevó a cabo a través de una titulación redox por retroceso en la que se titula el cobre remanente con glucosa estandarizada (0.01525 mol L⁻¹). Para esto, se toman en cuenta el tratamiento realizado a la muestra de cacao y una relación estequiométrica cobre: glucosa de 5:1 de acuerdo con la siguiente reacción [9]:



A partir de la siguiente reacción de hidrólisis ácida se concluye que por cada mol sacarosa hidrolizada se forman una mol de glucosa y sacarosa, respectivamente:



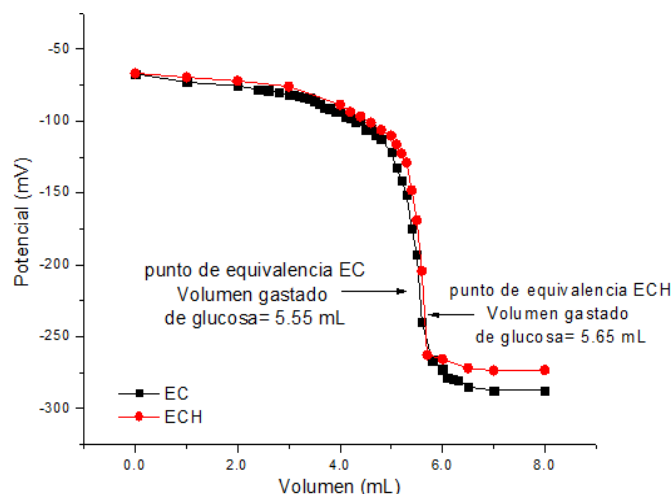


Figura 1. Curva de titulación por retroceso de la muestra de cacao, donde EC: extracto de cacao y ECH: extracto de cacao hidrolizado.

En la figura 1 los volúmenes al punto de equivalencia para las curvas de titulación del extracto de cacao hidrolizado y sin hidrolizar, $V_{PE,ECH}$ y $V_{PE,EC}$, respectivamente, son prácticamente iguales y se encuentran en 5.65 mL. Para muestras de cacao que si contengan sacarosa se esperaría que $V_{PE,ECH} < V_{PE,EC}$. Por lo tanto, se puede concluir que la muestra de cacao analizada no contiene sacarosa. El resultado obtenido para el porcentaje de azúcares reductores libres es del 4.3 %.

Determinación de cafeína

Cada porción de extracto orgánico se analizó de manera independiente por la técnica de polarografía diferencial de impulsos para determinar la concentración de cafeína correspondiente, teniendo en cuenta que en la primera operación de extracción se extrae la mayor cantidad de cafeína y esta disminuye conforme se realizar un mayor número de operaciones de extracción.

En la figura 2 se muestra un polarograma diferencial de impulsos representativo para el análisis de la fase orgánica de la tercera operación de extracción; para cada una de las extracciones se obtiene un polarograma análogo. En el polarograma se mide intensidad de corriente de pico de cada señal y por medio de una curva de adiciones patrón se calcula la concentración de cafeína en cada extracción. De esta manera se obtiene una concentración total de cafeína de 0.23 % m/m para la muestra de cacao.

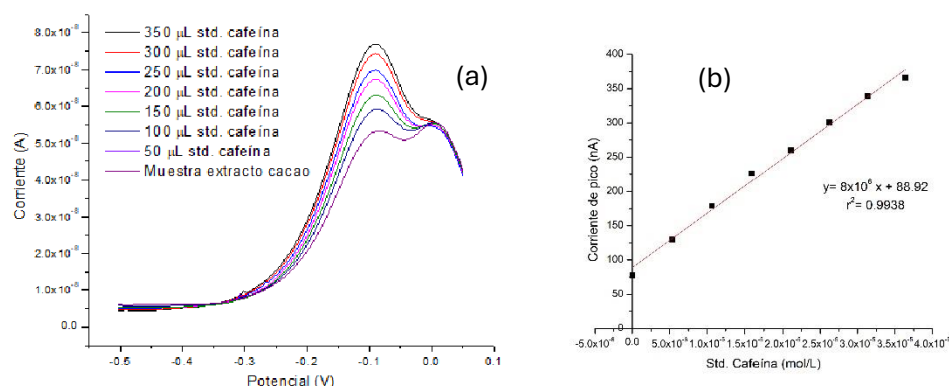


Figura 2. (a) Polarograma diferencial de impulsos para la determinación de cafeína en extracto de cacao utilizando como electrolito soporte KH_2PO_4 (0.5 mol L^{-1}) y adicionando estándar de cafeína ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Programa empleado: potencial de inicio: 0.0499 V, potencial final: -0.5 V, amplitud de pulso: -0.05 V, tiempo de pulso: 1 s, velocidad de barrido: 5 mV/s. (b) Curva de calibración por adiciones de estándar de cafeína $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Análisis fundamental de la teobromina

La siguiente tabla muestra las características de interés de cada electrolito soporte donde se estudia la teobromina.

Tabla 2. Potenciales de barreras anódicas y catódicas de electrolitos soporte determinados por polarografía clásica, potencial de pico de la teobromina y tipo de reacción electroquímica observada en polarografía clásica.

Electrolito soporte	E Barrera catódica	E Barrera anódica	E Señal teobromina	Reacción observada
Buffer acetatos $C_0=0.5 \text{ mol L}^{-1}$ pH=3.37	-1440 mV	330 mV	-158 mV	Oxidación
Buffer boratos $C_0=0.02 \text{ mol L}^{-1}$ pH=9.97	-1850 mV	170 mV	6 mV	Oxidación
Buffer fosfatos $C_0=0.5 \text{ mol L}^{-1}$ pH=2.31	-1450 mV	272 mV	-119 mV	Reducción
Buffer amonio/amoniaco $C_0=0.5 \text{ mol L}^{-1}$ pH=9.9	-1860 mV	45 mV	-71 mV	Oxidación

Como puede observarse en la tabla 2, los medios de análisis de la teobromina son medios con pH tanto básico como ácido, con el fin de que la corriente de pico de las señales de la teobromina dependa linealmente de su concentración. Sin embargo, solo en medios de buffer de acetatos y fosfatos se observa este tipo de comportamiento, atribuyéndose esto a una mayor solubilidad de la teobromina en medios ácidos. En la figura 3 se muestra el polarograma representativo para teobromina a diferentes concentraciones obtenidos por polarografía diferencial de impulsos en un medio amortiguado de acetatos a pH= 3.37 con la respectiva curva de calibración de las corrientes pico en función de la concentración de la teobromina añadida.

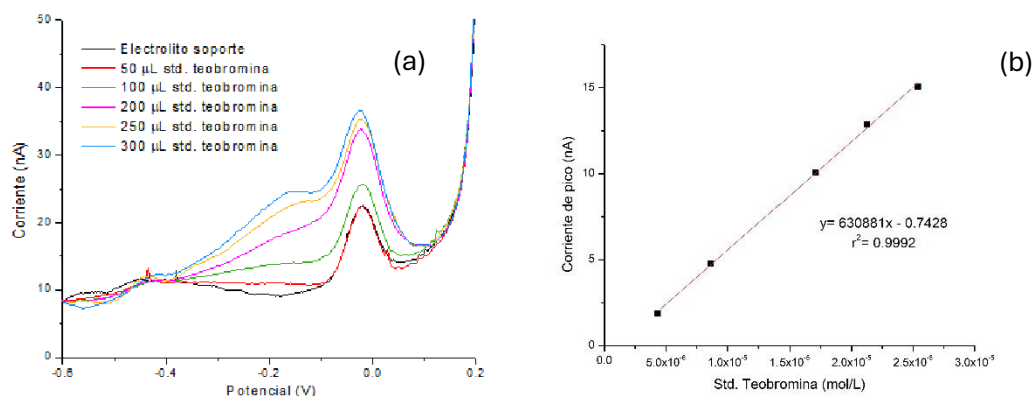


Figura 3. (a) Polarograma diferencial de impulsos de estándar de teobromina ($8.72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) en buffer de acetatos (0.5 mol L^{-1} y $\text{pH}=3.37$); (b) Curva de calibración del estándar de teobromina $8.72 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Programa empleado: (a) potencial de inicio: 0.2 V , potencial final: -0.6 V , amplitud de pulso: -0.05 V , tiempo de pulso: 1 s , velocidad de barrido: 5 mV/s .

Una de las dificultades de cuantificar la teobromina junto a la cafeína por métodos electroquímicos es que las señales redox de ambas moléculas tienen valores muy cercanos; sin embargo, como la solubilidad de estas dos sustancias en agua y en algunos disolventes orgánicos son muy diferentes, se puede aprovechar esta propiedad para diseñar una metodología que permita cuantificar ambas especies; también es posible considerar la formación de complejos con estas moléculas como ligantes para que sus señales se puedan separar y resolver.

Conclusiones

Los resultados obtenidos de los parámetros de calidad analizados para la muestra de cacao proveniente del Estado de Tabasco se encuentran en la tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de calidad obtenidos para una muestra de cacao del Estado de Tabasco.

Parámetro	Resultado (% m/m)	Intervalos permitidos	Referencia
Humedad ($107.0 \text{ }^{\circ}\text{C}$)	3.97	Máx. 7.5%	NOM-186-SSAI/SCFI-2013
Manteca de cacao	50.2	Mín. 20% m/m	Codex Stan 105-1981
Azúcares reductores	4.3	0.19-1.32% m/m	C. Romero (2012).
Cafeína	0.23	0.1-0.7%	H. Egan (1988).

Como se observa en la tabla anterior, los resultados de humedad, manteca de cacao y cafeína se encuentran dentro de los datos de referencia.

Sin embargo, el resultado obtenido en la cuantificación de azúcares reductores muestra un mayor porcentaje que el estimado en la bibliografía; esto indica que debe profundizarse tanto en la revisión bibliográfica como en la revisión de las metodologías empleadas para aclarar las discrepancias entre lo reportado en la literatura y lo encontrado en nuestro propio trabajo.

En el caso de la determinación de teobromina, se obtuvieron resultados prometedores que muy probablemente permitirán desarrollar una metodología que permita cuantificar teobromina sin interferencia de la cafeína.

Referencias

- [1] A. Attolini-Lecón. Cuentas, dares y tomares del cacao: delicia, convite, rito mesoamericano. Aspectos antropológicos. Revista digital universitaria, volumen 12 número 4. ISSN: 1067-6079 (2011).
- [2] C.H. Avendaño-Arrazate. La producción del cacao en México, Seminario: El Cacao, Historia y Relevancia para América Latina y el Caribe, INIFAP. 1-30 (2021).
- [3] SAGARPA. Cacao Mexicano. Revista Planeación Agrícola Nacional Subsecretaría de Agricultura, 1-16. (2017).
- [4] E. Cienfuegos-Jovellanos. Estudio del contenido de compuestos bioactivos del cacao y su aplicación en la obtención de un ingrediente rico en (poli)fenoles para el diseño de un chocolate enriquecido. Universidad de Murcia, 24-31 (2016).
- [5] H. SuJung, K. Byung-Yong, B. Moo-Yeol. Physicochemical Properties and Antioxidant Capacity of Raw, Roasted and Puffed Cacao Beans. Food Chem, 194, 1089–1094. (2016)
- [6] A. Álvarez-Romero. Estudio analítico de la calidad de cacao con base en sus propiedades químico-analíticas; (Tesis de Licenciatura); Universidad Nacional Autónoma de México. México, Ciudad Universitaria, (2021).
- [7] C. Romero y A. Zambrano. Análisis de azúcares en pulpa de cacao por colorimetría y electroforesis capilar. Revista Científica UDO Agrícola 12 (4): 906-913 (2012).
- [8] H. Egan, R. Sawyer y R. S.-Kirk. Análisis químico de alimentos de Pearson. México, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., 308-321 (1988).
- [9] J. Preza de la Vega. Estudio electroquímico aplicado a la cuantificación de azúcares en mieles (tesis de Licenciatura); Universidad Nacional Autónoma de México, México, Ciudad Universitaria, (2007).

REMOCIÓN DE METALES PESADOS PRESENTES EN AGUAS NATURALES UTILIZANDO CATÁFILAS DE *Allium sativum* L COMO ADSORBENTE

Alejandra Maritza Lara Sánchez^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^a, Mara Sarahí Florencio Martínez^{a*}

^aUniversidad 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, México. mara_florencio@uadec.edu.mx

Introducción

Saltillo es la capital del Estado de Coahuila, este municipio tiene un área superficial de 6,837 km² y se localiza a 1560 metros sobre el nivel del mar, debido a su ubicación en el desierto de Coahuila, este municipio se convierte en un área altamente vulnerable a la sequía; sus principales actividades económicas se centran en la industria manufacturera (metalmecánica, cerámica, aeroespacial, alimenticia, farmacéutica, etc.) [1]. La ciudad de Saltillo se abastece principalmente de agua subterránea que se obtienen a través de pozos profundos, los cuales pueden llegar a tener profundidades de 8 a 500 m, esto dependiendo de la zona topográfica (desde el centro de los valles hacia las estribaciones de las sierras que delimitan la ciudad), el agua extraída del acuífero se puede clasificar como agua dulce a salobre, ya que presentan conductividades eléctricas entre los 560 a 3130 μS [2,3]. El agua subterránea es un recurso hídrico importante el cual se utiliza directamente o tras un previo tratamiento, para el desarrollo de diferentes actividades, estas aguas pueden presentar diversos componentes como microorganismos, compuestos orgánicos y metales pesados, los cuales pueden ser de origen geogénico o por percolación de los vertidos de aguas contaminadas de diversas actividades antropogénicas ya que en los últimos años se ha visto un crecimiento industrial, poblacional y de urbanización en Saltillo [4,5]. Los metales pesados presentes en las aguas subterráneas se pueden encontrar en la corteza terrestre y se pueden solubilizar en al agua a través de procesos naturales o por cambios de pH en el suelo, las aguas subterráneas también se pueden contaminar mediante los lixiviados de los vertederos, relaves minerales o por filtración de desechos industriales o derrames [6]. En este trabajo nos enfocaremos en los metales pesados estos son elementos que presentan una densidad que ronda entre 4 g/cm³ y 7 g/cm³, en la tabla periódica se encuentran dentro del grupo de los metales de transición, semimetales y en la familia de lantánidos y actínidos, son altamente tóxicos que al ser ingeridos se llegan a bioacumular en los órganos blandos trayendo consecuencias negativas para la salud de la población [7]. Existen diferentes metodologías para la remoción de estos metales, como la adsorción el cual es un método sustentable que permite la remoción del analito mediante un fenómeno fisicoquímico [8], dentro de este método se encuentra un proceso llamado bioadsorción el cual consta de utilizar materiales porosos naturales para la remoción de los analitos, estos materiales se pueden obtener a partir de residuos agroindustriales los cuales tienen una fácil degradación, son abundantes y accesibles [9]. Dentro de los materiales porosos que se han utilizado se encuentran la cascarilla de los granos como la soja y el trigo, la

corteza que recubre a los cocos, la cáscara de naranja y las catáfilas del *Allium sativum* L., este último desecho agroindustrial está compuesto principalmente de compuestos organoazufrados como: S-alil-cisteína sulfóxido, 1,2-vinilditina, alixina, S-alil-cisteína y otros subproductos como dialil-sulfuros, metil alil-sulfuros y dipropil mono-sulfuros, di-sulfuros, tri-sulfuros, y tetra-sulfuros que son el resultado de la descomposición de los tiosulfatos siendo estos los que permiten que se lleve a cabo el fenómeno de bioadsorción [10]. Debido a esto el objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones óptimas para remover la mayor concentración de Cd, Ni y Pb presente en aguas naturales utilizando las catáfilas del *Allium sativum* L. como adsorbente

Parte Experimental

Las catáfilas del *Allium sativum* L. fueron recolectadas en un restaurante de la localidad. Las muestras de agua natural se obtuvieron del pozo de la preparatoria Ateneo, pozo Jurisprudencia y de la cisterna de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, a estas muestras se les determinó la concentración de Cd, Ni y Pb mediante un Espectrofotómetro de Absorción Atómica por Flama (EAAF, Varian 240FS).

Pretratamiento del adsorbente:

Las catáfilas se trituraron en un procesador de alimentos, después se tamizaron en un separador vibratorio marca (W.S Tyler modelo RX-29) utilizando un tamiz de malla 100 (149 μm). Se pesó 1.2 g del material particulado en un vaso de precipitado de capacidad de 100 ml, se añadieron 60 ml de agua desionizada y se agitaron hasta observar que las catáfilas se hidrataran completamente, para eliminar el exceso de humedad; en cada lavado se utilizó un trozo de manta (13x13cm) donde fueron estrujadas, después las catáfilas se volvieron a colocar en el vaso de precipitado para el siguiente lavado, finalmente para el tercer lavado las catáfilas se filtraron utilizando un sistema de filtración por vacío (kitasato, embudo Buchner y papel filtro Whatman #41), las catáfilas lavadas se llevaron a un vaso de precipitado y se llevaron a sequedad utilizando una estufa a 80°C durante 24 horas, finalmente se utilizó un mortero de porcelana para eliminar los grumos formados.

Diseño experimental:

Se realizó un diseño experimental 2^3 utilizando el software Statagrophic Plus 5, las variables estudiadas fueron: g de adsorbente (0.025 y 0.05), caudal (1ml/min y 2ml/min) y concentración de multiestándares de Pb, Cd y Ni (0.5 mg/L y 1mg/L).

Empaque de catáfilas en reactor:

Para empacar las catáfilas se utilizó un reactor de vidrio ajustable de diámetro interno (D.I) de 10mm. Las catáfilas previamente tratadas se pesaron en un vaso de precipitado

con capacidad de 10 ml, después se transfirieron al reactor de vidrio ajustándolo hasta empacar las catáfilas.

Sistema FIA:

El sistema FIA está constituido por una bomba peristáltica de cuatro canales con un control de caudal, tubos de taygón, tubería de teflón de 0.8 mm de D.I.

Procedimiento general:

Una vez que las catáfilas fueron empacadas en el reactor ajustable de acuerdo con los g de adsorbente de cada tratamiento, este fue acoplado al sistema FIA donde se ajustó el caudal correspondiente da cada tratamiento y se hizo pasar 10 mL de la disolución de concentración de acuerdo con lo establecido en el tratamiento. Una vez que se obtuvieron las ocho disoluciones se procedió a determinar la concentración de de Cd, Ni y Pb utilizando un EAAF.

Con los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de remoción de cada metal y estos porcentajes se utilizaron para realizar el ANOVA y así poder encontrar los valores óptimos de las variables estudiadas.

Resultados y Discusión

De las tres muestras analizadas (MA: muestra Ateneo; MJ: muestra Jurisprudencia y MQ: muestra Facultad de Ciencias Químicas), solo se detectó Pb en la MA (0.0280 mg/L), mientras que las concentraciones de Cd y Ni que se obtuvieron es encontraban por debajo de los límites de detección de estos.

En la tabla 1 se presentan los tratamientos con los valores aleatorios de las variables estudiadas del diseño factorial 2³.

Tabla 1. Tratamientos obtenidos del diseño factorial 2³.

Tratamientos	g adsorbente	caudal (ml/min)	[Cd, Ni y Pb] (mg/L)
1	-1	-1	1
2	-1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	-1	1
5	1	1	-1
6	1	1	1
7	1	-1	-1
8	-1	1	1

En la tabla 2 se presentan los parámetros instrumentales utilizados para la cuantificación de Cd, Ni y Pb.

Tabla 2. Parámetros Instrumentales utilizados en la cuantificación de los metales estudiados.

Metal	Slit (nm)	λ (nm)	Flujo aire/acetileno (L/min)	Corriente de lámpara
Cd	0.5	228.8	13.88/2.29	4
Ni	0.2	232	14.03/2.25	5
Pb	1	217	13.75/2.14	11

Previo a la cuantificación de los metales de estudio se realizaron las curvas de calibrado para cada uno de los metales de estudio, en la tabla 3 se presentan los parámetros analíticos que se obtuvieron de cada metal.

Tabla 3. Parámetros analíticos.

Metal	Intervalo de trabajo	Ecuación	R ²	LD
Cd	0.2 a 1 mg/L	0.3195x - 0.0014	0.9982	0.0014
Ni	0.3 a 1.5 mg/L	0.0696 - 0.0015	0.9997	0.0009
Pb	0.5 a 2.5 mg/L	0.0337x - 0.0022	0.9993	0.0087

Una vez que se obtuvieron las concentraciones de los metales presentes en las disoluciones, se determinó el porcentaje de remoción de cada metal.

En la figura 1 se presentan los porcentajes de remoción de los metales de los tratamientos del diseño Factorial estudio utilizando las catáfilas como adsorbente.

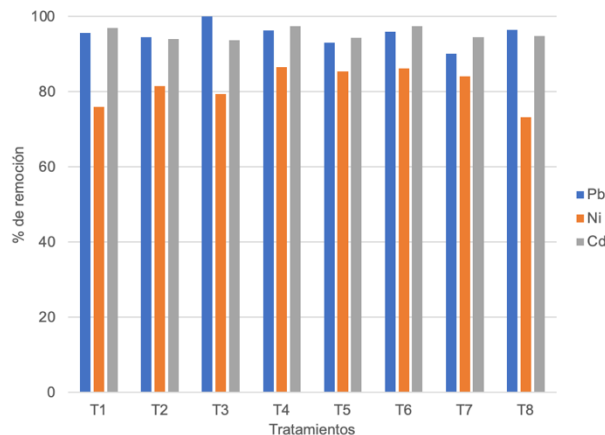


Figura 1. Porcentajes de remoción de Cd, Ni y Pb utilizando catáfilas como adsorbente.

Con los porcentajes de recuperación que se obtuvieron de los ocho tratamientos se realizó el ANOVA. En la figura 2 se presentan los diagramas de Pareto de los tres metales de estudio.

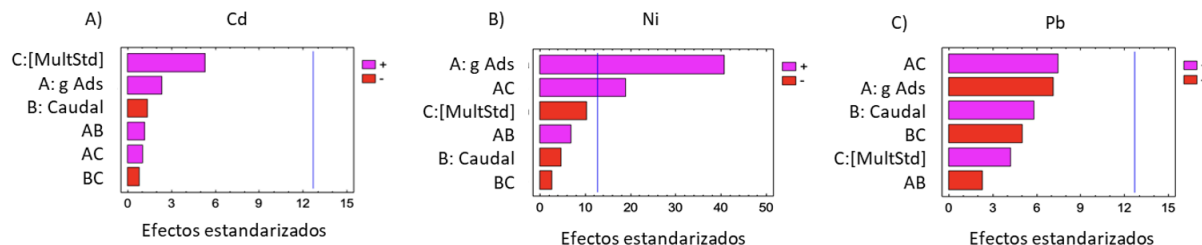


Figura 2. Diagramas estandarizados de Pareto para a) cadmio, b) níquel y c) plomo.

En la figura 2a se observa que los efectos estandarizados de las tres variables de estudio están por debajo del margen de error, esto nos indica que no presentan significancia entre los valores alto y bajo, sin embargo, el color de la barra nos indica con cual nivel de la variable remueve la máxima concentración de Cd, por lo tanto, los valores de las variables óptimas son: 0.05 g de adsorbentes, utilizando un caudal de 1 ml/min, con una disolución que contenga 1 mg/L de Cd. En la figura 2b se presenta el diagrama de Pareto para Ni, donde se observa que solo 2 de las variables presentan efectos estandarizados por debajo del margen de error y con barras de color rojo esto nos indicó que estas variables no presentan diferencias significativas entre los valores estudiados de estas dos variables, por lo que, se tomaron como valores óptimos para remover el máximo de Ni, caudal de 1 ml/min, con una disolución que contenga 0.5 mg/L de Ni, aunque, los g de adsorbente se observa que el efecto estandarizado de esta variable sobrepasa el

margen de error y el color de la barra es fucsia, indicando que se debe seguir estudiando a una mayor cantidad de adsorbente, sin embargo se tomó la decisión de seguir utilizando como valor óptimo 0.05 g de adsorbente. Y en la figura 2c se observan los efectos estandarizados de las variables de estudio para Pb, donde se observa que al igual que el Cd todos los efectos de las variables de estudio se encuentran por debajo del margen de error, por lo tanto las variables óptimas seleccionadas para Pb fue de 0.025 g de adsorbentes, utilizando un caudal de 2 ml/min, con una disolución que contenga 1 mg/L de Pb. En este trabajo solo se presenta la repetibilidad con tres tratamientos utilizando las condiciones óptimas de Pb de las tres muestras recolectadas y fortificadas con 1 mg/L del multiestándar (Cd, Ni y Pb). En la figura 3 se presentan los porcentajes de remoción de Cd, Ni y Pb de las muestras fortificadas.

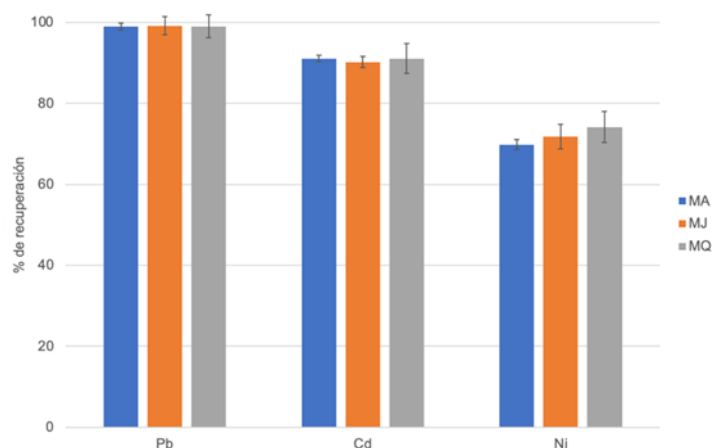


Figura 3. Porcentajes de remoción de Cd, Ni y Pb de las muestras naturales fortificadas

Los resultados obtenidos nos indican que se alcanzó a remover el 100% de Pb presente en las tres muestras, aunque no se utilizaron las condiciones óptimas para Cd y Ni, los porcentajes de remoción para Cd alcanzaron a remover más del 90% en las tres muestras, sin embargo, para Ni el porcentaje de remoción solo alcanzó a remover el 70% en la MA, 72% MJ y hasta un 74% en la muestra MQ, esto lo atribuimos a la presencia de otros iones que pueden interactuar con los sitios activos de las catáfilas.

Conclusiones

Podemos concluir que al utilizar las catáfilas de *Allium sativum L.* nos permiten remover hasta 411.2 mg/Kg de Pb presente en muestras de agua naturales, las muestras naturales a pesar de contar con una matriz que contiene una mayor cantidad de iones mayoritarios, se obtuvieron excelentes porcentajes de remoción para Pb, probablemente debido a la afinidad de los grupos azufrados por los metales pesados. Sin embargo, se espera que los porcentajes de remoción para Cd y Ni aumenten al utilizar las condiciones óptimas de cada uno de ellos.

Agradecimientos

A la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesarios para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] Instituto Municipal de Planeación de Saltillo. (2019). Plan Municipal de Desarrollo Urbano Saltillo 2019-2021. Saltillo, Gobierno Municipal.
- [2] Comisión Nacional del Agua. (2020). Actualización De La Disponibilidad Media Anual De Agua En El Acuífero Saltillo- Ramos Arizpe (0510), Estado De Coahuila. Subdirección General Técnica, Gerencia de Aguas Subterráneas.
- [3] Instituto Municipal de Planeación de Saltillo. (2021). Fulltechnical report City Profile Saltillo within the Morgenstadt Global Initiative. University of Stuttgart.
- [4] M.Bai, C. Zhang, Y.Bai, T. Wang, S.Qu, H.Qi, M. Zhang, C.Tan. Occurrence and Health Risks of Heavy Metals in Drinking Water of Self-Supplied Wells in Northern China. **19**.1-17.(2022).
- [5] P.Li, D. Karunanidhi, T. Subramani, K. Srinivasamoorthy. Sources and Consequences of Groundwater Contamination. **80**.1-10. (2021).
- [6] M.Hashim, S. Mukhopadhyay, J. Narayan, B. Sengupta. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **92**. 2355-2388. (2011).
- [7] O.Sadak.(2023). Chemical sensing of heavy metals in water en A.Barhoum, Z. Altintas Advanced Sensor Technology Biomedical, Environmental, and Construction Applications (1 ed, pp.565-591).Elsevier.
- [8] I. Tubert, V. Talanquer. Sobre adsorción. Educación Química. **8**.186-190.(2018)
- [9] M. Pinzon-Bedoya, A. Cardona-Tamayo. Caracterización de la cáscara de naranja para su uso como material bioadsorbente. Revista Bistua. **6**.1-23.(2008)
- [10] H. Ramírez-Concepción, L. Castro-Velasco, E. Martínez-Santiago. Efectos Terapéuticos del Ajo (Allium Sativum). Salud y Administración. **3**.39-47.(2016).

DETERMINACIÓN DE GLICEROL EN BIODIESEL MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR.

Carlos Eduardo Lozano Olvera^a, María Elena Páez Hernández, Israel Samuel Ibarra, José Antonio Rodríguez*

^aUniversidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Ciudad Universitaria. Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C. P. 42184, Tel: (771) 7172000 ext 2202, e-mail: josear@uaeh.edu.mx

Introducción

El biodiesel está compuesto de ésteres monoalquílicos de cadena larga de ácidos grasos (C₁₄-C₂₂) obtenidos a partir de un proceso de transesterificación de materias primas como lo son: grasas animales o aceites vegetales. La elaboración de este biocombustible requiere el uso de productos con un alto contenido de triglicéridos, es por esto que el biodiesel puede elaborarse a partir de aceites vegetales, grasas animales y aceite de cocina usado. El biodiesel es un combustible renovable y sustentable que ofrece un amplio rango de beneficios sobre el diesel a base de petróleo, las ventajas principales de este son: reducción de emisión de gases de efecto invernadero, mejora en el funcionamiento de motores, reducción de gases nocivos a la salud y presenta una estabilidad y almacenamiento prolongado [1].

El biodiesel es usualmente producido a partir de un proceso de transesterificación el cual involucra el aceite crudo con un alcohol como solvente (comúnmente metanol o etanol) en presencia de un catalizador (hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico o lipasa) [2]. El proceso convierte los triglicéridos del aceite o grasa en ésteres metílicos (componentes principales del biodiesel) y glicerol como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Reacción global de transesterificación

En todos los casos la formación de subproductos de reacción afecta la calidad del producto final. Si el glicerol no es completamente removido del biodiesel, puede ocasionar problemas severos como bloqueo en filtros de combustible debido a la formación de emulsiones glicerol/agua dañando el funcionamiento de los motores. Debido a la importancia de la calidad del biodiesel, existen diversas normativas que establecen los parámetros que deben ser cumplidos para su uso como combustible. En la calidad pueden influir diversos factores, los criterios sobre la calidad de biodiesel están en constante cambio y varían dependiendo la región. Las normas EN 14214 y ASTM D6751, establecen un límite permisible de glicerol % m/m de 0.24 y 0.25 %, respectivamente [3]. La determinación de glicerol en biodiesel es esencial durante su producción, puede realizarse mediante diferentes métodos. Las normas ASTM D6584 y EN 14105

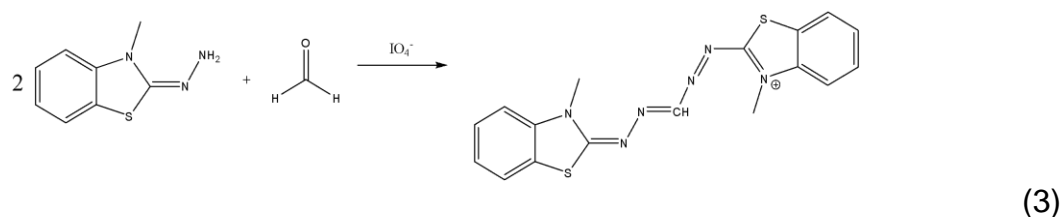
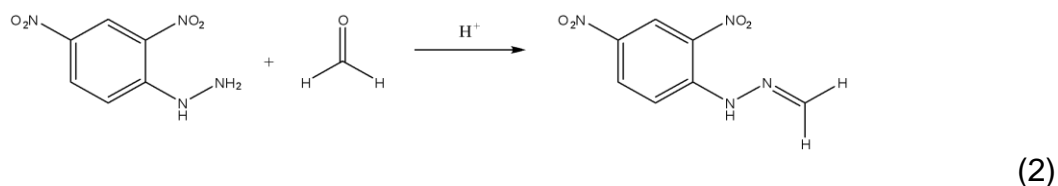
establecen procedimientos para la determinación de este: La norma ASTM D6584 y EN 14105 involucran el uso de cromatografía de gases (GC) para separar los componentes de la muestra, seguido de una detección por ionización de llama (FID) que determina la concentración de glicerol en la muestra. Existen metodologías que involucran técnicas volumétricas para la determinación de glicerol, sin embargo, estas carecen de precisión y exactitud, además dependen de una cantidad considerable de glicerol dentro de la muestra lo que las hace inadecuadas [5]. Métodos espectroscópicos como RMN y espectroscopía IR vuelven la determinación complicada debido a la naturaleza de la muestra y el solapamiento posible que los interferentes pueden causar y las técnicas electroquímicas suelen ser demasiado costosas y de difícil aplicación [6, 7]. Es por esto que el presente trabajo propone diseñar una metodología simple y menos costosa para la determinación de glicerol en biodiesel empleando electroforesis capilar.

Parte Experimental

A partir de la reacción de oxidación del glicerol con peryodato (Ec. 1) se propuso la determinación indirecta del glicerol mediante el análisis del formaldehído obtenido.



En un primer acercamiento se propuso la determinación de glicerol en biodiesel indirectamente mediante la derivatización del formaldehído obtenido, con 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) y 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) como agentes derivatizantes (Ec. 2 y 3).



De acuerdo a las características de los productos formados en las Ecuaciones 2 y 3, se propone realizar la separación mediante Cromatografía Micelar Electrocinética (MEKC). Con la finalidad de optimizar la composición del electrolito de trabajo, se evaluó la separación utilizando soluciones estándar de (25.0 mg L⁻¹) agregando 5.0 mL de 2,4-DNPH (500.0 mg L⁻¹), 125 µL de una solución estándar de pentanal (1000.0 mg L⁻¹),

aforando la mezcla a 10.0 mL. Como factor de optimización se utilizó la resolución entre las señales del formaldehído y el estándar interno. La composición del electrolito de trabajo fue obtenida empleando un diseño de parámetros de Taguchi (L_93)³, evaluando las concentraciones de: dodecilsulfato de sodio (20.0 – 60.0 mM), tetraborato de sodio (15.0 – 25.0 mM) y pH (8.5 – 9.5). Los análisis se realizaron en un equipo Beckman Coulter PA 800 plus con un detector de arreglo de diodos. Los datos fueron recolectados y analizados en un software Beckman PA sistema 10.1 versión 32 karat. La separación se realizó en un capilar de sílice fundida (21.5 cm x 75 μ m I.D), empleando un voltaje de separación de 14 kV, registrando la señal obtenida a una longitud de onda de detección de 230 nm y realizando la separación en polaridad normal.

Las muestras de biodiesel fueron obtenidas de aceite vegetal de canola proporcionadas por el laboratorio de catálisis. 250 μ L de biodiesel se pesaron en un tubo de centrifuga de 15.0 mL, se adicionaron 800 μ L de agua desionizada y 200 μ L de diclorometano. La mezcla se centrifugó por 5 minutos a 2,000 rpm, se separa la fase acuosa y se mide una alícuota de 300 μ L que se adiciona en un matraz volumétrico de 10.0 mL que contenían previamente 300 μ L de NaIO_4 (2,000.0 mg L^{-1}), 1.0 mL de MBTH (1,000.0 mg L^{-1}), y 150 μ L de tartrazina (1,000.0 mg L^{-1}). La reacción se dejó durante 30 minutos y las muestras se analizaron por triplicado utilizando un voltaje de separación de 14 kV y una longitud de onda de detección de 230 nm.

Los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos empleando un método de referencia basado en espectroscopía UV/Vis. Para ello, se pesan 250 μ L de muestra de biodiesel en un tubo de centrifuga de 15.0 mL, se agregaron 800 μ L de agua desionizada y 200 μ L de diclorometano. Se llevó a centrifugación durante 5 minutos a 2,000 rpm. Se extrajeron alícuotas de 300 μ L de fase acuosa y a estas se le agregaron 300 μ L de NaIO_4 (2,000.0 mg L^{-1}) y 1.0 mL de MBTH (1,000.0 mg L^{-1}). La mezcla se deja reaccionar durante 30 minutos, registrando la señal obtenida a una longitud de onda de 630 nm [4].

Resultados y Discusión

La composición del electrolito de trabajo resulta crítica en separaciones mediante cromatografía micelar electrocinética, por lo que se utilizó un diseño de experimentos de Taguchi (L_93)³ de acuerdo a los parámetros mostrados en la Tabla 1. Se realizó la derivatización del formaldehído utilizando 2,4-DNPH (250.0 mg L^{-1}) preparando soluciones estándares de formaldehído y pentanal (12.5 mg L^{-1}), las cuales fueron separadas con éxito mediante la metodología propuesta.

Tabla 1. Matriz de experimentos de tipo Taguchi (L_93)³.

Experimento	SDS (mM)	Na ₂ B ₄ O ₇ (mM)	pH	Resolución
1	20.0	15.0	8.5	1.9
2	20.0	20.0	9.0	3.4
3	20.0	25.0	9.5	8.9
4	40.0	15.0	9.0	0.9
5	40.0	20.0	9.5	0.7
6	40.0	25.0	8.5	1.3
7	60.0	15.0	9.5	1.4
8	60.0	20.0	8.5	0.8
9	60.0	25.0	9.0	1.2

La composición óptima del electrolito de trabajo, que permite una separación eficiente de los analitos se alcanzó con una concentración de SDS de 20.0 mM, tetraborato de sodio de 25.0 mM y un pH de 9.5. Sin embargo, al aplicarse a muestras estándar de glicerol con la finalidad de emular las condiciones de reacción no se observa separación entre los analitos de interés, la presencia de oxidantes como el IO_3^- y IO_4^- promueve la degradación del 2,4-DNPH y con ello la formación de subproductos, afectando el perfil electroforético en las muestras reales. (Figura 2.A y 2.B).

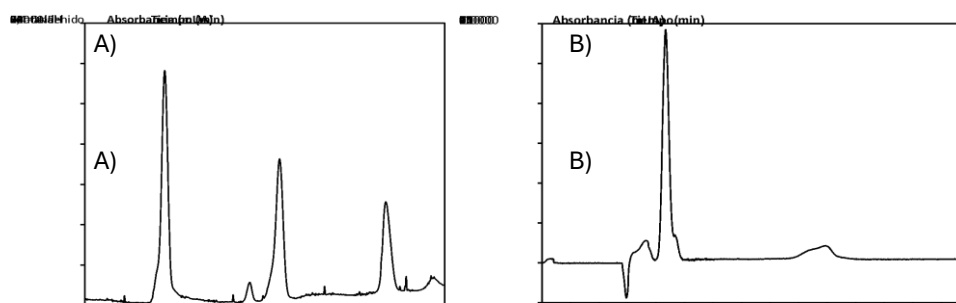


Figura 2. A) Electroferograma, determinación de solución estándar 2,4-DNPH, pentanal y formaldehído. B) Electroferograma, determinación de solución estándar de 2,4-DNPH, pentanal y glicerol. Ambas utilizando electrolito óptimo de trabajo, 14 kV a 360 nm.

Respecto a la metodología que emplea MBTH, se evaluó la separación de las especies, utilizando concentraciones de glicerol de 5.0 y 25.0 mg L⁻¹. La Figura 3.A y 3.B. muestra los electroferogramas obtenidos. El orden de migración se atribuye a la polaridad de los analitos, el derivatizante libre (MBTH, $t_{\text{migración}} = 7.8$ min) tiene mayor polaridad que el formaldehído (obtenido de la primera reacción) derivatizado (Glicerol, $t_{\text{migración}} = 9.9$ min), por lo que su tiempo de migración es mayor.

Adicionalmente se corrobora que al incrementar la concentración de glicerol se observa una disminución en la señal de MBTH y un incremento en la señal asociada al glicerol. Con la finalidad de evaluar la aplicación al análisis de muestras de biodiesel derivado de

aceite vegetal de canola, se evaluaron las condiciones de reacción-derivatización-separación obteniéndose el electroferograma presentado en Figura 3.C. Al requerir la reacción un agente oxidante, (IO_4^- y IO_3^-) se observa que la metodología propuesta permite el análisis de glicerol en las muestras, sin embargo, un exceso de oxidante ($>100 \text{ mg L}^{-1}$) promueve la formación de subproductos de reacción.

La Tabla 2 presenta un resumen de los datos de linealidad, sensibilidad y precisión obtenidos por el método propuesto. Los valores fueron obtenidos del análisis de estándares de glicerol usando tartrazina como estándar interno y validados mediante protocolo IUPAC [8].

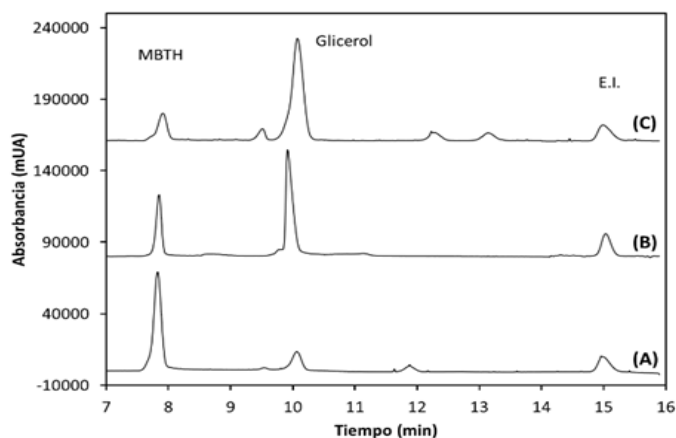


Figura 3. Electroferograma; determinación de una solución estándar de MBTH, formaldehído y tartrazina. Utilizando electrolito de trabajo óptimo, 14 kV, a 230 nm. A) Concentración de glicerol 5.0 mg L^{-1} . B) Concentración de glicerol 25 mg L^{-1} . C) Muestra real de biodiesel a partir de aceite de canola.

Tabla 2. Validación de los parámetros analíticos.

Parámetro	Valor
Intervalo lineal (mg L^{-1})	5.00 – 25.00
Sensibilidad analítica	5.337 ± 0.049
Ordenada al origen	0.034 ± 1.650
Coefficiente de determinación (R^2)	0.997
Límite de detección LOD (mg L^{-1})	1.65 ± 0.77
Límite de cuantificación LOQ (mg L^{-1})	4.96 ± 1.54
Repetitividad (%RSD), n=3	
8 mg L^{-1}	3.72
16 mg L^{-1}	0.54
24 mg L^{-1}	1.05
Reproducibilidad (%RSD), n=3	
8 mg L^{-1}	5.48
16 mg L^{-1}	2.67
24 mg L^{-1}	3.69

Los resultados de precisión (%RSD) expresados como repetitividad y reproducibilidad fueron menores al 6.00%. A pesar de la complejidad de la matriz de las muestras, el pretratamiento y la necesidad de aplicar una metodología de análisis indirecta que requiere de una derivatización, los valores de %RSD son adecuados para la determinación de glicerol en muestras de biodiesel. La exactitud del método fue evaluada mediante la comparación en la cuantificación de glicerol en muestras de biodiesel obtenidas a partir de aceite vegetal de canola utilizando la metodología de referencia (espectroscopía UV/Vis). Los resultados obtenidos del análisis de 5 muestras por ambas metodologías se presentan en la Tabla 3.

Se puede observar que la metodología por cromatografía micelar electrocinética es exacta en la determinación de glicerol para muestras de biodiesel a base de aceite vegetal de canola, ya que en todos los casos los valores de t_{exp} son menores a los valores de t_{crit} al 95% de confianza, lo que se traduce en que los porcentajes en peso de glicerol contenido en las muestras no presentan diferencias significativas con los obtenidos por la metodología de referencia. La metodología basada en el uso de MBTH es eficiente para la determinación de glicerol en biodiesel ya que permite cuantificar una concentración mínima glicerol de 0.06 %m/m, permitiendo analizar los valores establecidos por las normas ASTM D6751 y EN14214.

Tabla 3. Contenido de glicerol en biodiesel (%m/m, %RSD, n=3) por la metodología propuesta (MEKC) y UV/Vis

Muestra	Glicerol (%m/m) UV/Vis	Glicerol (%m/m) MEKC	t_{exp}
1 ^{a)}	0.19(0.42)	0.18(1.33)	1.05
2 ^{a)}	0.18(0.14)	0.18(0.57)	1.30
3 ^{b)}	0.19(0.83)	0.19(0.57)	1.24
4 ^{b)}	0.19(0.73)	0.19(0.36)	1.59
5 ^{b)}	0.19(0.14)	0.19(0.66)	0.38

a) Asumiendo varianzas desiguales $t_{crit} = 4.30$ (g.l. = 2, $\alpha = 0.05$), b) Asumiendo varianzas iguales $t_{crit} = 2.78$ (g.l. = 4, $\alpha = 0.05$)

Conclusiones

Se ha desarrollado y aplicado una metodología por cromatografía micelar electrocinética para la determinación indirecta de glicerol en biodiesel basada en la derivatización de formaldehído utilizando la 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona como agente derivatizante. La metodología es eficiente para la separación y determinación de glicerol con tiempos de análisis menores a 20 minutos permitiendo una tasa de muestreo de 3 pruebas por hora, en comparación con las metodologías oficiales por GC (cerca de 2 análisis por hora). El método proporcionó una buena precisión instrumental con valores de %RSD menores al 6.00%, adecuados para la aplicación de la metodología. Comparada con las metodologías oficiales, el enfoque de la metodología propuesta es más simple, rentable y conveniente ya que requiere un pretratamiento de la muestra y un uso de reactivos mínimo durante el procedimiento, con costos moderados y una

sensibilidad aplicable a muestras de biodiesel esta metodología puede ser potencialmente utilizada como una alternativa para el análisis de glicerol en biodiesel.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por darme los recursos necesarios en mis estudios de la licenciatura en química.

Referencias

- [1] A. Demirbas. *Energy Policy*. **35**, 4661-4670 (2007).
- [2] J.M. Marchetti, A.F. Errazu. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **11**, 1300-1311 (2007).
- [3] ASTM International D6584-21 Standard Test Method for Determination of Total Monoglycerides, Total Diglycerides, Total Triglycerides, and Free and Total Glycerin in B-100 Biodiesel Methyl Esters by Gas Chromatography (2014).
- [4] G. Durand, M. Feger, M. Pays. *Analytical Biochemistry*. **61**, 232-236 (1974).
- [5] ASTM International D-7637 Standard Test Method for Determination of Glycerin Assay by Titration. (2015).
- [6] J. Lu, P. Wang, Q. Wang, Y. Wang, M. Jiang. *Molecules*. **23**, 1117-1123 (2018).
- [7] M. Gojum, D. Valinger, A. Salic, B. Zelic. *Micromachines*. **13**, 1590-1611.
- [8] M. Thompson, S. L. Ellison, R. Wood. *Pure and Applied Chemistry*. **74**, 835-855 (2002).

PROCESOS QUÍMICO ANALÍTICOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE HIDROMIEL

Diana Marcela Pérez Castillo^a, Eugenio Octavio Reyes Salas*, Ulrich Briones Guerash
Silva^a, Edgar Islas Ortiz, Gerardo Reyes García^a

^aUniversidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Ciudad Universitaria. Alcaldía Coyoacán. 04510 Ciudad de México. México
+525554210938 Email: oresal@quimica.unam.mx

Introducción

El hidromiel es una bebida fermentada elaborada a base de miel y agua. Junto con el vino, se trata de una de las bebidas alcohólicas más antiguas. Para la producción de un hidromiel de alta calidad es necesario llevar a cabo un buen control del proceso y tener especial cuidado sobre el tipo de miel y levadura utilizadas, la temperatura de fermentación, la acidez del medio y, principalmente, un estricto monitoreo del consumo de azúcares reductores.

Por otro lado, la “NORMA Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017[1], Bebidas alcohólicas- Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba” cuenta con un apartado de bebidas alcohólicas fermentadas en donde no se menciona al hidromiel y tampoco se indican criterios de calidad para la misma; así pues, este proyecto se presenta como una revisión exhaustiva sobre dichos parámetros por medio de métodos químico analíticos, que será de utilidad ya que servirá como punto de partida para conocer el impacto que tienen las variables antes mencionadas durante la producción de hidromiel, logrando de este modo establecer condiciones óptimas para la elaboración de un producto de alto valor.

Parte Experimental

Miel

La elaboración de hidromiel se realizó a partir de 2 tipos de mostos, en un caso miel fresca y en la otra miel envejecida, ambas provenientes de *Apis mellifera*.

Preparación del mosto de miel

En primer lugar, se prepararon disoluciones acuosas con aproximadamente 250 g de miel fresca o miel envejecida por cada litro de agua; posteriormente, las disoluciones de miel se calentaron a 50°C durante 5 minutos. Después, estas disoluciones fueron sometidas a enfriamiento con un baño de hielo y cuando alcanzaron una temperatura de 38°C; después de esto, fueron inoculados con la levadura (*Saccharomyces bayanus*), obteniendo así los mostos e iniciando el proceso de fermentación. Finalmente, los mostos de cada tipo de miel se depositaron en 2 tipos de frascos de vidrio a modo de fermentadores: frasco ámbar y frasco translúcido, con el fin de estudiar el efecto de la luz. Todos los utensilios, frascos y envases, fueron lavados con agua y jabón y pasterizados con agua hirviendo, antes de ser utilizados.

Fermentación

Una vez inoculados los mostos, estos se incubaron a temperatura ambiente durante 19 días. En este tiempo se tomaron alícuotas de las disoluciones contenidas en cada fermentador a diferentes intervalos de tiempo, de tal modo que se realizó el monitoreo de diferentes parámetros fisicoquímicos (azúcares reductores totales, acidez libre, pH, cenizas y HMF) con el fin de verificar el curso de la fermentación.

Los parámetros fisicoquímicos se determinaron de la siguiente manera:

Azúcares reductores totales

La determinación de azúcares reductores totales en los mostos se realizó mediante una titulación redox potenciométrica directa. Para esto, se mezclan 5.0 mL del Reactivo de Fehling A (sulfato de cobre (II) pentahidratado de concentración $0.2499 \text{ mol L}^{-1}$) y 5.0 mL del Reactivo de Fehling B (tartrato de sodio y potasio tetrahidratado 1.2 mol L^{-1} en NaOH 2.098 mol L^{-1}) con un poco de agua y la mezcla se lleva a ebullición. Como titulante se utilizó una disolución de la muestra a analizar, que para los mostos iniciales fue una dilución 3:25. Como electrodo de trabajo se utilizó un alambre grueso de cobre y como electrodo de referencia se empleó Ag/AgCl en KCl 3 mol L^{-1} . Las muestras obtenidas a partir de los 10 días de iniciado el proceso de fermentación, la determinación de los azúcares reductores totales se realizó mediante una titulación potenciométrica por retroceso, utilizando para ello una disolución de glucosa de concentración $0.0133 \text{ mol L}^{-1}$ como titulante.

Contenido alcohólico:

El contenido alcohólico fue determinado por dos técnicas diferentes: medición de la densidad y por destilación.

Las determinaciones de densidad se realizaron con un densímetro utilizando la siguiente ecuación (indicada por el fabricante del densímetro):

(densidad inicial-densidad final) $\times 131 = \text{Grado alcohólico obtenido por densímetro}$, donde la densidad inicial fue determinada en los mostos iniciales y al término de la fermentación (a los 28 días).

En las muestras finales la determinación del contenido alcohólico fue por destilación simple a 78°C por aproximadamente 30 minutos. Una vez obtenido el producto destilado, se cuantificó el volumen el cual se corrigió con la densidad del etanol 0.789 g/cm^3 (25°C).

Acidez libre:

Se realizó mediante titulación potenciométrica directa de una disolución con aproximadamente 0.24 g de miel/mL, utilizando para tal fin un electrodo de vidrio combinado y como titulante se emplearon disoluciones de NaOH estandarizadas con una concentración del orden de 0.01 mol L^{-1} . La acidez libre se calcula a partir del primer punto de equivalencia de la curva de titulación.

Porcentaje de cenizas:

Se determinó únicamente para las muestras de miel empleadas para la preparación de los mostos. El porcentaje de cenizas se obtiene con ayuda de la ecuación propuesta por Piazza [4] a partir de la conductancia de una disolución con aproximadamente 0.1 g de miel/mL [3],[6]. Para esta determinación se utilizó un conductímetro analógico (Metrohm- 644) con un electrodo de 2 placas de platino.

pH:

Las lecturas de pH se realizaron a partir de las mismas disoluciones utilizadas en la determinación de acidez.

Hidroximetilfurfural (HMF):

Para la determinación de HMF se empleó la técnica de polarografía diferencial de impulsos (potencial de inicio: -0.8 V, potencial final: -1.6 V, amplitud de pulso: -0.050 V, tiempo de pulso: 0.040 s, velocidad de barrido: 0.004 mV/s.) y el método de adiciones patrón. El equipo utilizado fue un polarógrafo modelo 797 VA de Metrohm. Para los experimentos se utilizó un buffer de boratos de pH=10 y una disolución patrón de HMF de concentración 0.0086 mol L⁻¹.

Porcentaje de humedad:

El contenido de humedad se determinó a partir de la medición de los °Brix con ayuda de un refractómetro de campo (modelo Atago N-3E), colocando 3 gotas de miel que cubrieron la lente del equipo y registrando la lectura correspondiente.

Resultados y Discusión

Como se mencionó anteriormente, para producir un hidromiel de calidad es importante partir de materias primas que también lo sean, razón por la cual esta investigación partió del análisis de las mieles utilizadas en la elaboración del hidromiel, considerando los principales parámetros de calidad especificados en Norma Oficial Mexicana NOM-004- SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones [2].

Tabla 1. Parámetros de calidad de las mieles utilizadas como materia prima para la preparación de hidromiel.

Muestra	Azúcares reductores (%)	HMF (mg/K g)	pH	Acidez total (meq/kg)	Humedad (%p/p)	Cenizas (%)
Miel envejecida	68.7	240.8	3.88	37.06	17.2 2	0.19
Miel fresca	73.7	11.1	4.03	37.00	20.2 2	0.30
Parámetros NOM-004-SAG/GAN-2018	Mín 60	Máx 40.00	N.E.	Máx 50	Máx 20%	<0.6

La miel fresca es de gran calidad pues pasa todos los parámetros fundamentales indicados en la norma, mientras que la miel envejecida no puede ya ser comercializada para su consumo directo pues, aunque tiene un alto contenido de azúcares reductores, el contenido de HMF rebasa por mucho el límite permitido por la norma y muy probablemente ha sido calentada.

Elaboración de hidromiel:

Efecto de la calidad de la miel y efecto de la luz

Azúcares reductores

En la figura 1 se muestran a modo de ejemplo las curvas correspondientes a la titulación potenciométrica, $E=f(V)$, del mosto inicial y de las muestras obtenidas a los 10 y 19 días de fermentación de miel fresca en frasco translúcido. Ya sea que la titulación se haya realizado de manera directa o por retroceso, de acuerdo con la estequiometría de la reacción de Fehling el punto de equivalencia para cada curva se ubica a una distancia aproximada de 5/6 del salto de potencial desde el potencial inicial [5].

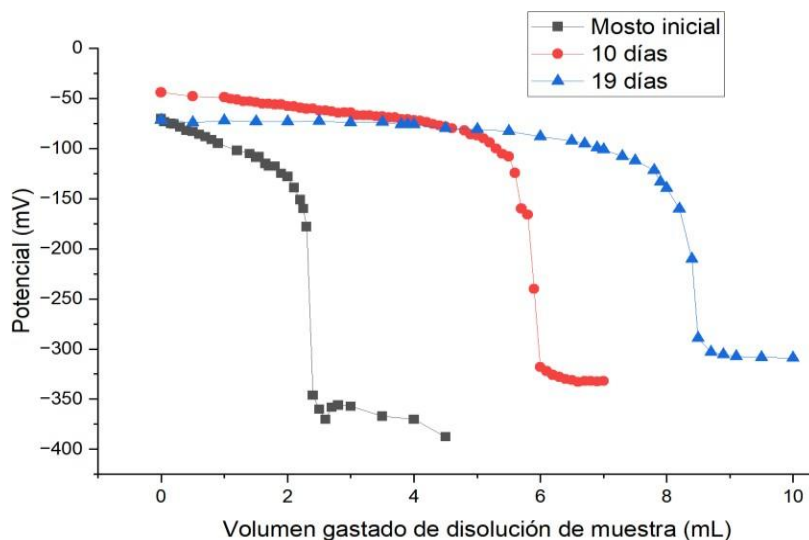


Figura 1. Titulación potenciométrica de 10.0 mL del reactivo de Fehling (1.2495 mmol de Cu^{2+} presentes) con las muestras del fermentador translúcido con miel fresca en ebullición. Electrodo de trabajo de Cu^0 y electrodo de referencia de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ 3 mol L^{-1} .

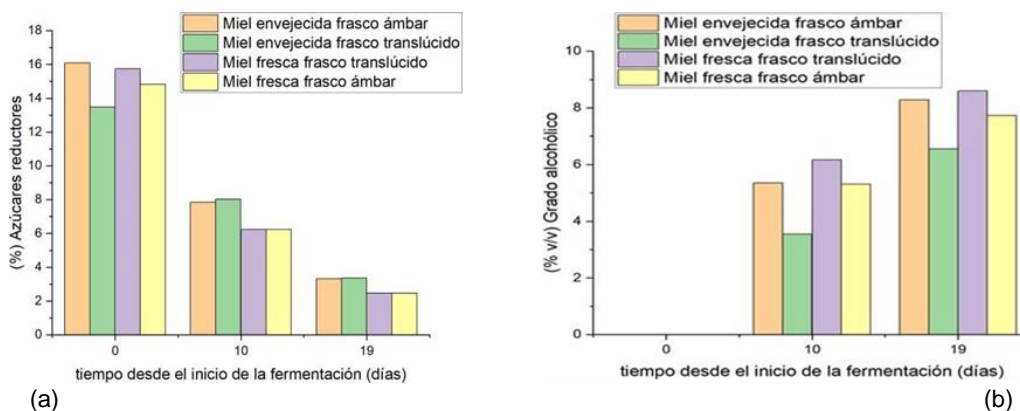


Figura 2. (a) Porcentaje de azúcares reductores totales en muestras obtenidas durante la fermentación de hidromiel. Nota: El porcentaje de azúcares reductores representado es el %m/v del fermentador (gramos de azúcares reductores por 100.0 mL de disolución en el fermentador). (b) Grado alcohólico en muestras obtenidas durante la fermentación de hidromiel.

Los resultados de la figura 2 (a) indican que, a medida que la fermentación va avanzando, el volumen de titulante gastado al punto de equivalencia (muestra del fermentador para las titulaciones directas o glucosa estandarizada para las titulaciones por retroceso) es cada vez mayor, indicando así la presencia de una cantidad cada vez menor de azúcares reductores en el fermentador. En la figura 2 (b) se puede apreciar claramente esta tendencia para las muestras tomadas de todos los fermentadores, es decir, independientemente del tipo de frasco y miel utilizados. También, se puede afirmar que la fermentación ocurre más rápidamente cuando se utiliza miel fresca como materia prima y la levadura Red Star Premier Blanc, de tal modo que, independientemente del tipo de frasco utilizado, después de 19 días hay una reducción de la concentración de azúcares reductores totales hasta una sexta parte de la concentración inicial. Por otra parte, los resultados de la figura 3 demuestran que la disminución en el contenido de azúcares reductores está acompañada de un incremento en el grado alcohólico o contenido de etanol, como resultado del proceso de glucólisis realizado por la levadura.

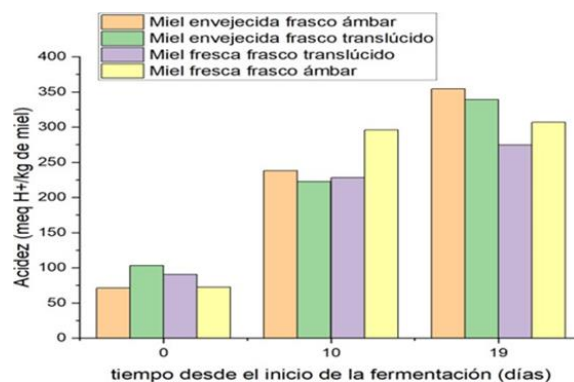


Figura 3. Acidez (meq H⁺/kg de miel) en muestras obtenidas durante la fermentación de hidromiel.

En la figura 3 se observa que, a medida que la fermentación va avanzando, también incrementa de manera importante la acidez libre en los fermentadores. El aumento más significativo ocurre en el fermentador ámbar con miel fresca y es también este fermentador el primero en el que la acidez libre se estabiliza hasta alcanzar un valor constante. De acuerdo con la literatura, este cambio en la composición de los fermentadores es de esperarse, pues durante la fermentación alcohólica por levaduras hay un aumento en la acidez total debido a un incremento en la concentración de ácidos orgánicos constituyentes del medio fermentado. La formación de ácido acético, denominada también como acidez volátil, se reconoce generalmente como un subproducto normal de la fermentación alcohólica [7]. Después de 28 días se detuvo el proceso de fermentación y, de acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 3, mediante dos técnicas distintas se determinó un contenido similar de 9 ° de alcohol aproximadamente igual para todos los fermentadores.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de los mostos a los 28 días.

Tipo de miel Fermentador	Miel envejecida		Miel fresca	
	Ámbar	Translúcido	Translúcido	Ámbar
Densidad inicial (g/L)	1.072	1.064	1.07	1.07
Densidad final	1.006	1.006	0.998	0.998
°Alcohol obtenidos por densímetro	8.64	7.598	9.432	9.432
°Alcohol obtenidos por destilación	9	8	9	9

Nota: °Alcohol es el % de contenido alcohólico (por ciento de etanol en cada 100 mL de bebida)

Conclusiones

Se determinaron los principales parámetros de calidad especificados en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018 en dos tipos diferentes de miel utilizadas como materia prima para la elaboración de hidromiel, así pues, se encontró que la miel fresca cumple con las especificaciones, mientras que la miel envejecida tiene un alto contenido de HMF, siendo este, uno de los parámetros más importantes por lo que se considera de baja calidad. Una miel con ese contenido de HMF no puede ser comercializada para consumo humano directo; sin embargo, es posible emplearla en la producción de hidromiel.

La titulación potenciométrica de la reacción de Fehling demostró ser un método de gran utilidad para el monitoreo del contenido de azúcares reductores en función del tiempo durante el proceso de fermentación de hidromiel. En los fermentadores de ambas series se observó un incremento de la acidez libre en función del tiempo, indicando así la producción de ácidos orgánicos como subproducto. La rapidez del proceso de fermentación es mayor cuando se utiliza miel fresca como materia prima.

Agradecimientos

A la Facultad de Química de la UNAM.

Referencias

- [1] Diario oficial de la Federación. *Norma oficial mexicana. NOM-199-SCFI-2017*, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- [2] Diario oficial de la Federación. NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones.
- [3] Martínez-López, J. Determinación por métodos analíticos de la calidad de la miel de abejas nativas sin aguijón (Apidae: Meliponini) en la cuenca de Balsas Michoacán, México (2016).
- [4] M. Piazza, M. Accorti, L. Oddo. Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura* 7 (1991).
- [5] Preza de la Vega, J. Estudio electroquímico aplicado a la cuantificación de azúcares en mieles (2007).
- [6] Sánchez-Díaz, E. Estudio comparativo de mieles mexicanas y extranjeras a través de métodos electroquímicos y la reacción de Fehling (2019).
- [7] Thoukis, G. The Formation of Succinic Acid during Alcoholic Fermentation. **16**, 1-8. (1965).

DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD EN MUESTRAS DE MIELES MEXICANAS Y SU RELACIÓN CON EL PORCENTAJE DE CENIZAS

Paola Belen Sánchez Sánchez^a, Luis Ángel Martínez Morales^a, Ulrich Briones Guerash^a, Edgar Islas Ortiz^a, Gerardo Reyes García^a, E. Octavio Reyes Salas^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Ciudad Universitaria. Alcaldía Coyoacán. 04510 Ciudad de México. México +525554210938 E-mail: oresal@quimica.unam.mx

Introducción

La conductividad específica (χ_i) de una disolución cualquiera es una medida de la facilidad con la que la corriente eléctrica alterna fluye a través de dicho sistema. Este parámetro depende de la concentración de cada especie conductora, es decir la cantidad total de iones en la solución, y de la temperatura.

La conductividad eléctrica de la miel está dada por la concentración de iones presentes en la muestra, donde la mayoría de estos provienen de sustancias minerales [1]. Su determinación se lleva a cabo utilizando un conductímetro, el cual es un dispositivo que mide la conductancia (L). La conductancia se transforma en conductividad específica de manera sencilla, pues solamente se multiplica la conductancia medida por el valor de la constante de celda del aparato (K_c).

$$L = \frac{x_i}{K_c} \quad \text{despejando} \quad x_i = L \times K_c \quad (1)$$

La conductividad de la miel está relacionada con el porcentaje de cenizas de la muestra [2]. Se puede establecer esta relación debido a que las cenizas (sustancias minerales) en medio acuoso se transforman en iones capaces de conducir la electricidad.

La conductividad eléctrica de la miel está definida como aquella obtenida de la medición en una disolución de 20 g de miel en 100 mL de agua desionizada a 20°C [3].

Estudios previos han propuesto una ecuación matemática que relaciona directamente estos 2 parámetros [4][5]:

$$X_m = 1.74A + 0.14 \quad (2)$$

donde:

X_m : Conductividad específica de la miel expresada en mS cm⁻¹.

A: Porcentaje de cenizas de la miel.

Al despejar el porcentaje de cenizas de la miel se obtiene:

$$A = \frac{X_m - 0.14}{1.74} \times 100\% \quad (3)$$

De acuerdo con lo anterior, para la determinación del porcentaje de cenizas, se mide la conductancia a temperatura ambiente de la disolución preparada. Para obtener el valor de conductancia correspondiente a la miel, es necesario restar el valor de la conductancia del agua desionizada utilizada. Luego, el valor de conductancia de la miel (L) se convierte a conductividad específica (χ_m) utilizando la ecuación 1. Finalmente, se sustituye el valor de χ_m en la ecuación 3 para obtener el porcentaje de cenizas.

Esta metodología para determinar el porcentaje de cenizas en la miel con base en las mediciones conductimétricas, ha sido adoptada por México en su norma de calidad de la miel [3]; sin embargo, desde el punto de vista químico analítico presenta dos importantes deficiencias:

- (1) Existen pocos trabajos que confirmen las ecuaciones propuestas por Piazza et al.
- (2) La conductividad específica de una disolución involucra todos los iones presentes y, aunque la mayoría pueda provenir de sales minerales, existen en la miel compuestos orgánicos que se disocian, principalmente ácidos orgánicos. Por esta razón resulta indispensable realizar un estudio químico analítico que considere la determinación de la acidez total de la miel, para así poder relacionar de manera más fiel y confiable la medida de conductividad específica de la miel con su -contenido de cenizas.

Por lo mencionado anteriormente, en este trabajo se pretende diseñar una metodología donde se utilicen mayores cantidades de muestra de miel, ya que de acuerdo con los estudios previos revisados y la NOM-004-SAG/GAN-2018 se indican valores de porcentaje de cenizas para muestras de miel entre 0.1% y 1.0%, entonces a mayor cantidad de muestra, menor será el error asociado a la medición brindando una mayor confiabilidad en los resultados obtenidos.

Parte Experimental

Determinación de la acidez libre

La determinación de acidez se realizó titulando una alícuota de 20.0. mL de una disolución con aproximadamente 10 g de miel en 50.0 mL de agua desionizada usando disoluciones de NaOH de concentración $(0.0452 \pm 1.8 \times 10^{-5}) \text{ mol L}^{-1}$, estas titulaciones se monitorearon simultáneamente por potenciometría con un electrodo de vidrio sensible a H^+ combinado con una referencia de Ag/AgCl y por conductimetría con una celda de constante igual a $K_c=0.76 \text{ cm}^{-1}$.

La acidez libre se reporta como meq H^+ / kg miel considerando el primer punto de equivalencia de la curva de titulación, $\text{pH}=f(V_{\text{NaOH}})$ y el segundo punto de equivalencia, cuando se presenta, corresponde a la acidez láctica, también en meq H^+ / kg miel.

Finalmente se determina la acidez total como la suma de la acidez libre más la acidez láctica, también reportada en meq H^+ / kg miel [6].

Determinación del porcentaje de cenizas

Determinación por conductividad

Se prepararon disoluciones de miel de 40 g en 50.0 mL de agua desionizada para determinar la conductancia de cada muestra con ayuda de un conductímetro. Se determinó también el valor de la conductancia del agua desionizada utilizada y este valor se restó a cada una de las lecturas de las disoluciones de muestras de miel.

Con los resultados de conductancia y las ecuaciones 1 – 3 se obtuvo el porcentaje de cenizas en cada muestra de miel.

Determinación por método gravimétrico

Con ayuda de una balanza analítica y de un crisol de acero inoxidable de 7.5 cm de alto previamente pesado, se pesaron con exactitud masas de entre 90 - 100 g de cada muestra de miel. Cada muestra de miel dentro del crisol se sometió a un pretratamiento de secado que consistió en calentamiento a fuego directo durante alrededor de 5 minutos. Este pretratamiento se realizó con ayuda de un soplete hasta carbonizar la miel en el interior del crisol. Una vez hecho esto, el crisol se colocó en un horno eléctrico a 230°C aproximadamente durante 4 horas para asegurar la pérdida total de humedad. Finalmente, la muestra se llevó a calcinación en una mufla a 600 °C por 3 periodos de 6 horas cada uno. Por diferencia de masas fue posible calcular el porcentaje de cenizas contenido en cada muestra de miel.

Resultados y discusión

A continuación, se enlistan cada una de las muestras analizadas con la nomenclatura empleada y las especificaciones correspondientes.

Tabla 1. Información de las distintas muestras de miel analizadas.

Muestra de miel	Especificaciones
MACam	Muestra de miel fresca de Campeche 2023
MAPue	Muestra de miel de nuez de Macadamia y flores silvestres Puebla 2022
MAPue1	Muestra de miel de nuez de macadamia 1 ^a cosecha Puebla. Abril 2023
MAPue2	Muestra de miel de nuez de macadamia 2 ^a cosecha Puebla. Abril 2023
MAJal	Muestra de miel de Jalisco 2023

Determinación de la acidez libre

En la Figura 1 se muestran los resultados para la determinación conductimétrica de la acidez libre para una muestra de miel de Jalisco. Con base en el punto de equivalencia observado, se obtiene una acidez de 6.96 meq H⁺/kg de miel. A continuación, se muestra un ejemplo del cálculo realizado.

Una vez que se determinó que el volumen al punto de equivalencia corresponde a 2.47 mL de NaOH 0.0452 mol L⁻¹, se realizó el tratamiento correspondiente de los datos para obtener los meq H⁺/kg de miel:

$$Eq\ H^+\ \text{alícuota de miel} = \text{mmol de NaOH gastado}$$

$$Eq\ H^+\ \text{alícuota de miel} = [NaOH] \times Vol.\ NaOH\ \text{gastado} \quad (4)$$

$$Eq\ H^+\ \text{alícuota de miel} = 0.0452\ \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 2.47\ \text{mL NaOH} = 0.111644\ \text{meq H}^+$$

$$\text{masa}_{\text{miel}}(\text{kg}) = [\text{Disolución madre de miel}] \times \text{Vol. de alícuota (mL)} \quad (5)$$

$$\text{masa}_{\text{miel}}(\text{kg}) = \left(\frac{0.04011\ \text{kg}}{50.0\ \text{mL}} \right) \times 20.0\ \text{mL} = 0.016044\ \text{kg de miel}$$

$$\frac{\text{meq H}^+}{\text{kg de miel}} = \frac{0.111644\ \text{meq H}^+}{0.016044\ \text{kg miel}} = 6.9586\ \frac{\text{meq H}^+}{\text{kg miel}}$$

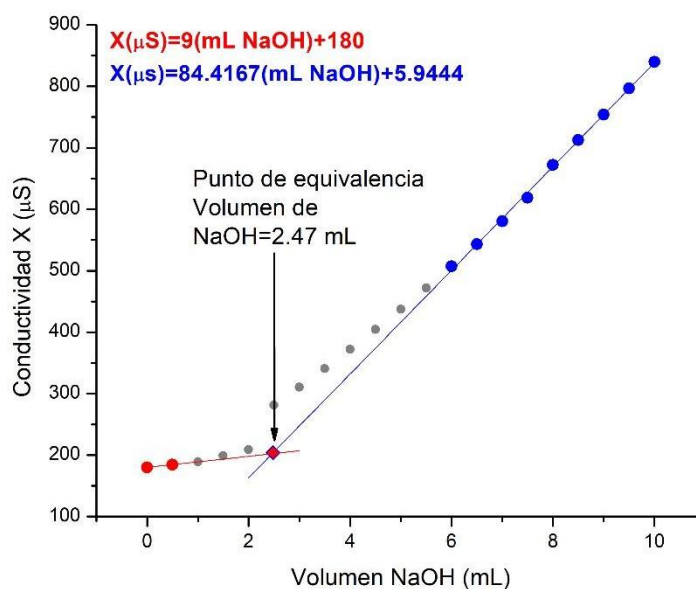


Figura 1. Valoración ácido-base de 20.0 mL de una disolución de muestra de miel de Jalisco (40.1142 g en 50.0 mL de agua desionizada) con NaOH (0.0452 ± 1.8×10⁻⁵) molL⁻¹ monitoreada por conductimetría y corregida por dilución.

Tabla 2. Valores obtenidos de acidez libre, láctica y total para cada una de las muestras reportados en meqH⁺/kg_{miel}, así como las medidas directas de pH para cada una.

Muestra	Acidez libre (meqH ⁺ /kg _{miel})	Acidez láctica (meqH ⁺ /kg _{miel})	Acidez total (meqH ⁺ /kg _{miel})	pH
MACam	37.0	-	37.0	3.81
MAPue	15.0	15.0	30.0	3.67
MAPue1	19.4	-	19.4	3.49
MAPue2	20.86	-	20.86	3.73
MAJal	6.95	-	6.95	3.21

De acuerdo con la NOM-004-SAG/GAN-2018, el valor máximo permitido de acidez libre es de 50.00 meqH⁺/kg_{miel}, lo que nos permite verificar que las muestras analizadas se encuentran apegadas a lo establecido por la norma.

Determinación del porcentaje de cenizas

Determinación por conductividad

Siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.1 de la Parte Experimental para el análisis del porcentaje de cenizas de las muestras de miel de la tabla 1, se obtuvieron los siguientes resultados, que nos indican que todas las mieles se encuentran en valores aceptados por la NOM-004-SAG/GAN-2018 que indica una conductividad eléctrica (X_m) máxima de 0.8 mS cm⁻¹.

Tabla 3. Porcentaje de cenizas determinado por conductividad para cada una de las muestras analizadas.

Muestra	Masa miel (g)	Vol. de aforo (mL)	X_{Miel} (μS)	X_m (mS cm ⁻¹)	A (% Cenizas)
MACam	10.1763	50.0	950	0.7184	0.33
MAPue	10.1175		480	0.3612	0.13
MAPue1	10.5056		300	0.2244	0.05
MAPue2	10.3644		490	0.3688	0.13

Determinación por método gravimétrico

En este trabajo, se presenta una propuesta de modificación al método gravimétrico para la determinación del porcentaje de cenizas en miel descrito por la AOAC [7] a fin de trabajar con cantidades de muestra mayores y disminuir así la incertidumbre relativa asociada, de tal modo que la comparación con el método conductimétrico corregido por la acidez libre resulte estadísticamente más confiable. Es importante tener en cuenta que dicha propuesta involucra el pretratamiento de la muestra para eliminar la humedad y

evitar pérdidas durante la etapa de calcinación. Para tal fin, se ensayaron 2 metodologías diferentes para lograr secar y carbonizar la miel, las cuales consistieron en un pretratamiento en horno eléctrico y la aplicación directa de fuego con ayuda de un soplete. Para el primer caso, la principal desventaja que se presentó consistió en la formación intensa de espuma en la superficie de la muestra de miel, que cada vez tenía una consistencia más viscosa que dificultaba la continua evaporación del agua contenida en ella. Por otra parte, la rapidez de formación de la espuma era muy difícil de controlar, generando en ocasiones pérdida de la muestra.

A pesar de que se ajustaron diferentes parámetros del pretratamiento con el horno eléctrico como la temperatura, el tiempo de calentamiento, los intervalos de exposición a temperaturas más elevadas, la forma de contenedores con mayor capacidad, entre otros, se obtuvieron en todos los casos resultados igualmente problemáticos para la recuperación de la miel carbonizada.

En vista de los resultados anteriores, se propuso un pretratamiento en el que el secado de la muestra de miel se realizó bajo calentamiento a fuego directo sobre un crisol de cerámica, aplicado con ayuda de un soplete de la marca Truper®. Estas pruebas arrojaron mejores resultados, sin embargo, el crisol de cerámica comenzó a mostrar fisuras que aparecían, por lo que fue reemplazado por uno de acero inoxidable de 6.5 cm de altura por 6.0 cm de diámetro interno. Una vez colocada la muestra de miel en el crisol, se aplica calor directamente sobre el recipiente con 2 sopletes mientras este se sujeta con una pinza resistente a altas temperaturas por aproximadamente 5 minutos, hasta observar la pérdida de humedad y posterior carbonización de la miel.

Posteriormente, la muestra carbonizada se colocó por 4 horas más en el horno eléctrico a 230 °C y finalmente se llevó a la mufla a 600°C durante 3 periodos de 6 horas cada uno. En las figuras 1 – 4 se puede observar el aspecto de la muestra luego de cada una de las etapas del método gravimétrico empleando el pretratamiento bajo calentamiento a fuego directo. Esta metodología permitió llevar a sequedad, carbonizar y posteriormente calcinar y llevar a peso constante las diferentes muestras de miel. Los resultados para el porcentaje de cenizas se indican en la tabla 4.

Tabla 4. Porcentaje de cenizas determinado por el método gravimétrico modificado para cada una de las muestras analizadas comparado con el porcentaje de cenizas obtenido por conductimetría y su acidez total.

Muestra	Masa miel inicial (g)	Masa cenizas (g)	A (%) Gravimetría	A (%) Conductimetría	Acidez total (meqH ⁺ /kgmiel)
MACam	97.5420	80.3143	0.36	0.33	37.0
MAPue	109.6879	81.2892	0.15	0.13	30.0
MAPue1	102.9141	124.6315	0.12	0.05	19.4
MAPue2	102.0834	ND	ND	0.13	20.86

ND: No determinado por desperfectos en el material del crisol empleado.

Tales resultados nos permiten verificar que los valores obtenidos por conductimetría y por gravimetría son muy cercanos entre sí y además se encuentran directamente relacionados con la acidez total, a medida que esta aumenta, podemos observar también mayores valores del porcentaje de cenizas.



Figura 2. Crisol de acero inoxidable



Figura 3. Muestra de miel durante el pretratamiento en horno eléctrico.



Figura 4. Miel carbonizada después de haber sido sometida al pretratamiento con soplete.



Figura 5. Cenizas obtenidas después de haber tratado la muestra en la mufla a 600°C

Conclusiones

En este trabajo se logró modificar exitosamente el método gravimétrico oficial para la determinación del porcentaje de cenizas en miel.

Si bien aún es necesario realizar un estudio más a fondo para considerar la aportación de la acidez libre a la conductividad de la miel y corregir el cálculo posterior del porcentaje de cenizas, los resultados preliminares aquí mostrados representan un avance importante al respecto.

Referencias

- [1] N. Gazcón. Aplicación de la electroquímica analítica al control de la calidad de productos apícolas. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional a Distancia. Madrid, España. (2012).
- [2] J. D. Martínez. Determinación por métodos analíticos de la calidad de la miel de abejas nativas sin aguijón (Apidae: Meliponini) en la cuenca del Balsas, Michoacán México. Posgrado Facultad de Química. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. (2016).
- [3] NOM-004-SAG/GAN-2018
- [4] G. Vorwohl. Die Beziehung zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft. *Ann de Abeille*, 7, 51-63. (1964).
- [5] M. Piazza, M. Accorti, L. Oddo. Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura* 7. (1991).
- [6] S. Sanz, M. M. Sanz. Valores de acidez (Libre, lactónica y total) y pH de las mieles de la Rioja. *Zubía #12*. Logroño, España. (1994).
- [7] AOAC. Official Methods of Analysis. 14th. Ed., Association of Official Analytical Chemists. Virginia, USA (1962).

ACIDEZ TITULABLE EN JUGO DE GUAYABA Y NARANJA

Brenda Lizeth Silva Porras, Oscar Pérez Tejada González, Leslie Said Ibarra Saucedo,
Gloria Menchaca Espinoza, Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo*

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Calzada Universidad
No.14418 Parque Industrial Internacional C.P 22390, Tijuana B.C. México. Tel. (664) 9797500 ext. 54351. E-mail:
gaby@uabc.edu.mx

Introducción

La acidez titulable es un indicador que expresa el contenido total de los ácidos libres presentes en una matriz, el cual se expresa como el porcentaje del ácido predominante de esta. En el caso de los frutos se utiliza ácido cítrico y en manzanas el ácido málico. El método consiste en determinar la acidez por medio de una titulación ácido-base con una solución de álcali estandarizada, expresando los resultados de la acidez titulable por 100 g ó 100 mL, como equivalente en masa de ácido cítrico, málico u otro según corresponda [1]. El método de titulación con monitoreo potenciométrico en valoraciones ácido-base proporciona datos más precisos que los que se obtienen con la técnica de monitoreo visual [2]. El ácido cítrico es un ácido débil que se encuentra en el jugo de guayaba y naranja, y se puede determinar su acidez mediante una titulación ácido débil –base fuerte con una disolución de NaOH [3]. El objetivo de este trabajo es determinar la acidez total en jugo de guayaba y naranja utilizando la titulación potenciométrica, mediante el uso de la primera derivada, segunda derivada y el método de Gran, determinaremos el punto de equivalencia.

Parte Experimental

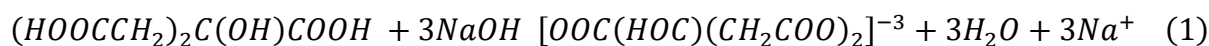
Estandarización de NaOH, se siguió el método de la NMX-AA-036-SCFI-2001 [4]. Se pesó 0.102 g de biftalato de potasio previamente seco a 105°C, se añadió 25 mL de agua y unas gotas de la disolución de fenolftaleína, se procedió a titular con la disolución de hidróxido de sodio hasta el vire del indicador (de incoloro a rosa).

Este procedimiento se realizó por triplicado: se pesó 0.765 g de ácido cítrico y se llevó al aforo a 100 mL con agua desionizada, se colocó una alícuota de 10 mL en un matraz erlenmeyer, se agregaron 40 mL de agua desionizada y se procedió a titular con NaOH 0.0675 M. Se midió el potencial en mV y el pH después de cada adición. Para el duplicado se pesó 0.738 y para el triplicado 0.742 g de ácido cítrico realizando el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Para procesar las muestras de jugo de guayaba y de naranja se colocó alícuotas de 10 mL y se procedió a realizar el mismo procedimiento que al ácido cítrico puro. Para determinar los volúmenes apropiados en la curva primeramente se realizó una titulación rápida utilizando indicadores visuales ácido-base.

Resultados y Discusión

De acuerdo con Avila-Montiel et al., (2019) [3] la reacción ácido-base (ver ecuación 1) entre el ácido cítrico y el NaOH es la siguiente:



En la figura 1 se muestra la curva sigmoidea para el ácido cítrico, jugo de naranja y jugo de guayaba cuando se realizó la determinación de acidez total.

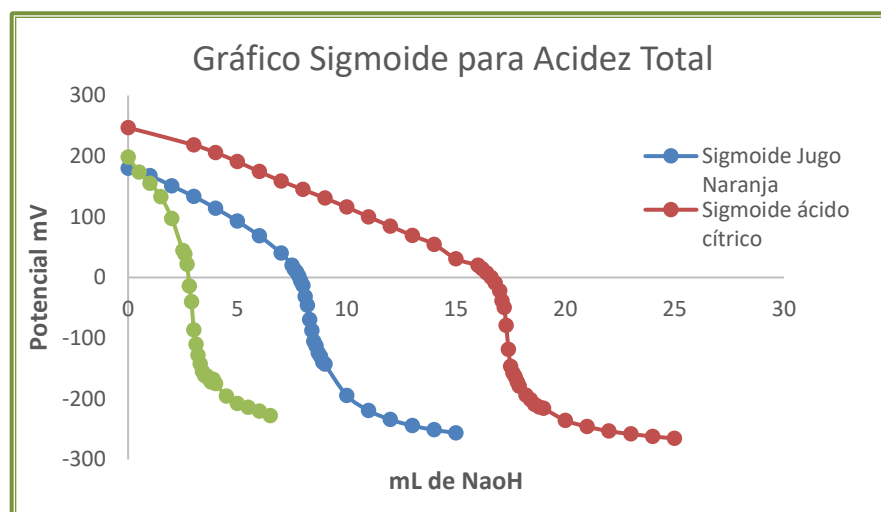


Figura 1. Gráfico sigmoide para acidez total

Los resultados de la primera derivada de acuerdo con Ortiz y Martínez (2003) [5]: implica calcular el cambio de potencial por unidad de volumen de titulante ($\Delta E/\Delta V$). El gráfico de estos datos en función del volumen promedio produce una curva con un máximo que corresponde al punto de inflexión. Si la curva es simétrica, el punto máximo de la pendiente coincide con el punto de equivalencia. Las curvas asimétricas dan un pequeño error de titulación si el punto máximo se toma como el final. Estas curvas son comunes cuando el número de electrones transferidos es diferente en las semireacciones del analito y titulante. En la figura 2 se muestran los resultados para el ácido cítrico.

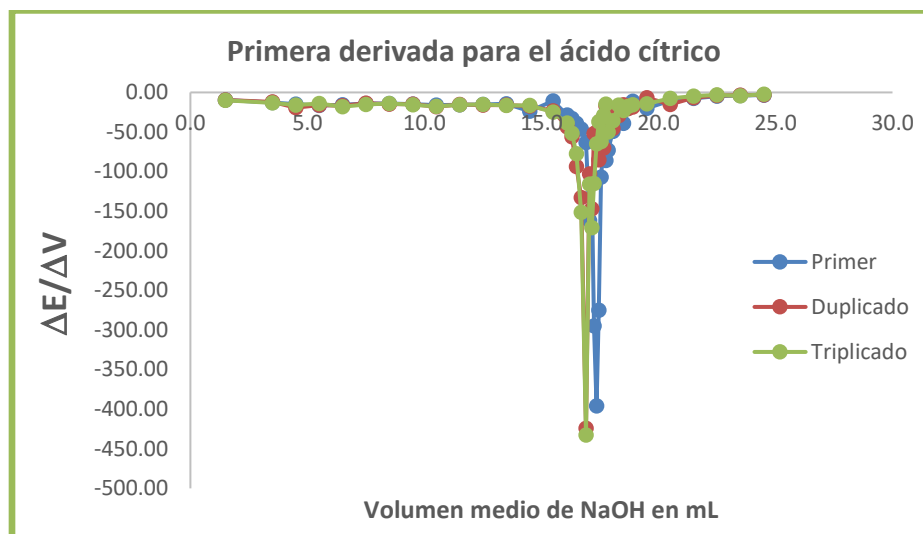


Figura 2. Primera derivada para el ácido cítrico.

Los resultados de la **segunda derivada** de acuerdo con Ortiz y Martínez (2003) [5] En este caso se grafica $\Delta^2 E/\Delta^2 V$ de la figura puede verse que la segunda derivada de los datos cambia de signo en el punto de inflexión. Este cambio de signo es tomado en algunos casos como punto final. El punto final de la titulación se toma en el punto de intersección de la segunda derivada con cero. Este punto puede ser ubicado con mucha precisión. En la figura 3 se muestran los resultados obtenidos para el ácido cítrico.

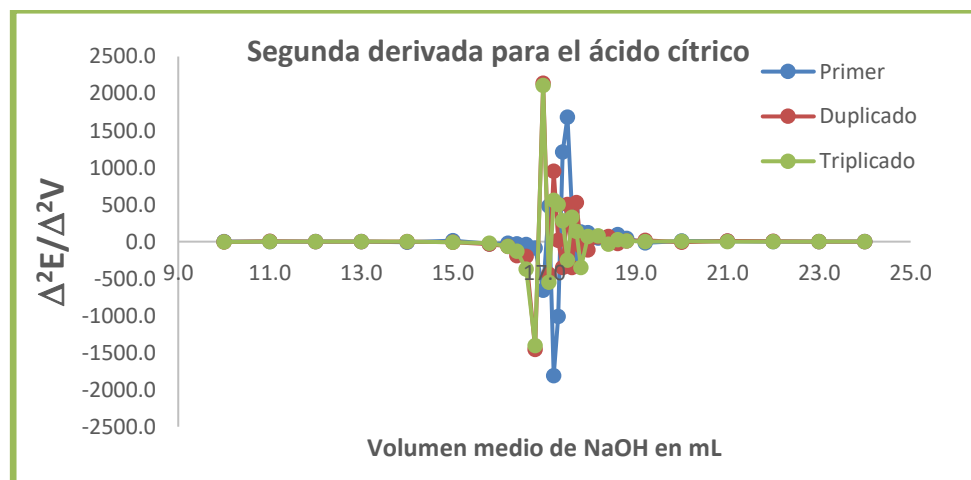


Figura 3. Segunda derivada para el ácido cítrico.

Por otro lado, el método de Gran de acuerdo con Ortiz y Martínez (2003) [5]: Consiste en graficar $\Delta V/\Delta E$ en función del volumen promedio de titulante. Antes y después del punto de equivalencia $\Delta V/\Delta E$ varía linealmente con el volumen, las dos líneas se interceptan y el punto de equivalencia es el punto de intersección. Este método no requiere datos muy cercanos al punto de equivalencia es muy preciso. Este procedimiento alternativo es más preciso con la ventaja de requerir menos puntos experimentales que un gráfico convencional, y proporcionan puntos finales más precisos en aquellos casos que la variación del potencial medido sea pequeña en la región del punto equivalente. En la figura 4 se muestran los resultados del método de Gran para el ácido cítrico.

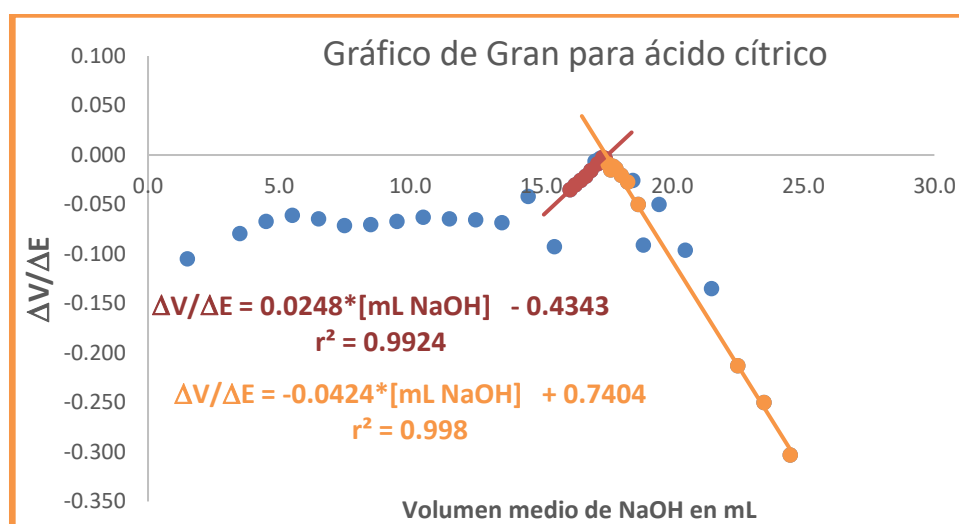


Figura 4. Gráfico de Gran para el ácido cítrico

En la tabla 1 se resume el contenido de ácido cítrico cuantificado utilizando el método potenciométrico de la reacción ácido-base.

Tabla 1. Contenido de ácido cítrico

Método de determinación	mL NaOH en el punto de equivalencia	g / 100 mL de ácido cítrico	g /100 mL de ácido cítrico adicionado	% Recuperado
Primera derivada	17.4	0.752	0.765	98.3
Segunda derivada	16.9	0.731	0.738	99.0
Método de Gran	17.5	0.756	0.752	100.6

Los gráficos de Gran para los jugos comerciales analizados se muestran en la figura 5 y 6.

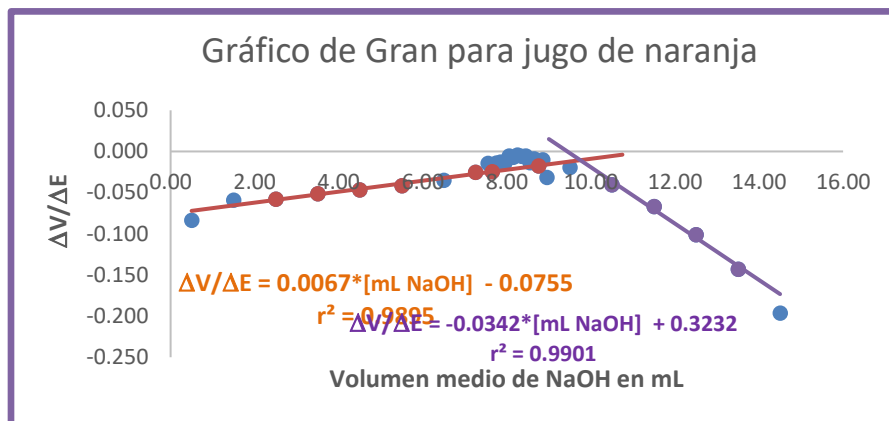


Figura 5. Gráfico de Gran para jugo de naranja

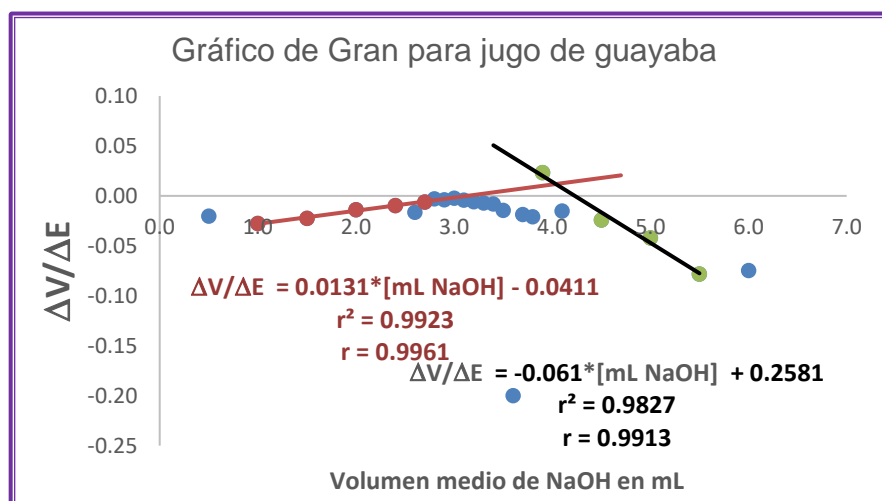


Figura 6. Gráfico de Gran para jugo de guayaba

La determinación de acidez total expresada en gramos de ácido cítrico en jugo comercial por cada 100 mL realizada por tres estudiantes aplicando el método potenciométrico, se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Acidez total expresada en g de ácido cítrico por cada 100 mL de jugo comercial

Analista	g de ácido cítrico / 100 mL de jugo guayaba	g de ácido cítrico / 100 mL de jugo naranja
Estudiante 1	0.25 ± 0.05	0.42 ± 0.05
Estudiante 2	0.26 ± 0.04	0.36 ± 0.06
Estudiante 3	0.24 ± 0.06	0.38 ± 0.03

Conclusiones

El método potenciométrico ácido-base aplicado a muestras que tienen color nos da valores más precisos y exactos que el monitoreo visual utilizando indicadores ácido-base. El contenido de ácido cítrico en jugo comercial de naranja de acuerdo con Lodoño et al. (2015) [6] es de 0.48 ± 0.2 g /100 mL, nuestros resultados están por debajo de este valor. Para el caso de jugo de guayaba la NOM-F-78-S-1980 [7] establece que el valor máximo acidez titulable expresada en ácido cítrico anhidro en g / 100 mL es de 0.45, nuestros jugos analizados contienen cantidades menores al valor de la norma.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Baja California (<https://ror.org/05xwqc167>).

Referencias

- [1] ME-711.02-211 Determinación de acidez total en productos de frutas método potenciométrico, Instituto de Salud Pública de Chile, Sección Química de Alimentos y Nutrición 1-7 (2016).
- [2] M.G. Cañez-Carrasco, A.M. García-Alegría, A.T. Bernal-Mercado, R.A. Federico-Pérez, J.D. Wicochea-Rodríguez. Conductimetría y titulaciones, ¿cuándo, por qué y para qué? *Edu. quim.* **22**, [2] 166-169 (2011).
- [3] M. C. Ávila-Montiel, Q. Y. Martínez-Mateo, M. A. García-Ortiz, R. Pérez-Pérez, L. A. Gamero-Muñoz. Estudio de la variación de pka del jugo de limón respecto al tiempo de maduración del fruto UNO Sapiens *Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 1. Publicación semestral No. 3* 39-41 (2019) .
- [4] NMX-AA-036-SCFI-2001. Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas (2001).
- [5] R. Ortiz, Y. Martínez. Laboratorio de Análisis Instrumental. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Química 1-48 (2003).
- [6] M. Lodoño Castaño, J. Lucas Aguirre, V. Quintero Castaño. Estudio de la viabilidad del *Lactobacillus casei* en jugo de naranja (*Citrus sinensis*) adicionado con vitamina C, Calcio y oligofruktosa1. *Entre Ciencia e Ingeniería* **9** [18] 31-38 (2015).
<https://revistas.ucp.edu.co/index.php/entrecienciaeingenieria/article/view/547>
- [7] NOM-F-78-S-1980, Néctar de guayaba. Norma Oficial Mexicana que establece las especies de un solo tipo con un solo grado de calidad, designándose como néctar de guayaba (1980).

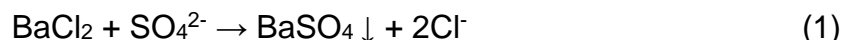
COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SULFATOS EN MUESTRAS DE AGUA NATURALES

Andrea Rodríguez Arriazola^a, Mara Sarahí Florencio Martínez^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{a*}

^a Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica.; Blvd. Venustiano Carranza y Cárdenas Valdez S/N. Col. Republica Oriente, Saltillo, Coahuila. C.P. 25280, México.; e-mail: ilianagarza@uadec.edu.mx

Introducción

El agua es un nutriente esencial para los seres vivos, por lo que el crecimiento poblacional actual, el progreso económico y social han ocasionado una gran demanda de agua potable, esta se obtiene de aguas naturales subterráneas y superficiales que presentan una composición iónica variada debido a su interacción con las sales presentes en el suelo [1]. Los tipos de suelo que se encuentra en el municipio de Saltillo son calcisoles, litosoles, y xerosoles, en estos se pueden encontrar altas concentraciones de sales de sulfatos, por lo que es común encontrar altas concentraciones de estas sales en los mantos acuíferos de Saltillo [2], los sulfatos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, sin embargo, las descargas de aguas industriales (automotriz, agricultura, farmacéutica, etc.) que se vierten a los afluentes naturales pueden alcanzar los mantos acuíferos subterráneos contribuyen al aumento de las concentraciones de sulfatos en el agua. Las normas mexicanas establecen el límite permisible de sulfatos (SO_4^{2-}) presente en aguas de uso y consumo humano en un valor de 400 mg/L [3], el consumo de altas concentraciones de SO_4^{2-} puede ocasionar un efecto laxante [4]. Una práctica común al perforar un pozo de agua que presente altas concentraciones de sulfatos, es descartarlo para su uso en consumo en humanos, sin embargo, se puede utilizar en la ganadería, pero se debe contar con un monitoreo constante del agua, ya que si el ganado bovino llega a consumir agua con altas concentraciones de SO_4^{2-} puede provocar en el animal la sulfahemoglobina, la cual puede generar efectos negativos en el sabor y aspecto en la carne de consumo, concentraciones mayores a 2000 mg/L puede reducir el cobre sérico de estas [5]. En la industria, si se utilizara agua con altas concentraciones de SO_4^{2-} en los procesos de enfriamiento, se favorece la corrosión de metales (concentraciones mayores de 200 mg/L), dejando como efecto un poder incrustante muy fuerte en las tuberías, ocasionando elevados costos de operación [6]. Debido a esto, es importante realizar constantemente el monitoreo de sulfatos. En la actualidad se cuenta con métodos analíticos muy sensibles como la cromatografía iónica para determinar la concentración de sulfatos presentes en agua, sin embargo, son equipos difíciles de adquirir. Uno de los métodos más comúnmente utilizados y de fácil operación para la determinación de sulfatos en agua son los métodos volumétricos, estos consisten en una titulación con una solución estándar de BaCl_2 . En este método, se agrega gradualmente la solución de cloruro de bario al analito, hasta que se produce la formación de un precipitado de BaSO_4 , dando paso a la reacción química:



La titulación es llevada a cabo hasta que se alcanza el punto de equivalencia, que se determina mediante el indicador THQ que reacciona con el Ba^{2+} , el cual produce un cambio de color de amarillo a rosa, provocando algunas dificultades para detectar el vire, hasta que se adquiriera la experiencia para su detección. La cantidad de sulfatos en la muestra se calcula a partir del volumen de solución de cloruro de bario gastado, y la concentración de la solución estandar de cloruro de bario. Una de las grandes ventajas de este método es su aplicabilidad, ya que es aplicable a diferentes tipos de matrices de agua, naturales, aguas residuales y muestras industriales, permitiendo su uso en una amplia gama de aplicaciones, desde el control de calidad de aguas, estudios ambientales y tratamientos de aguas [7]. Otro método ampliamente utilizado en los laboratorios de análisis fisicoquímicos para la determinación de sulfatos es el método turbidimétrico, este se basa en la medición de la intensidad de la luz transmitida para determinar la cantidad de la luz absorbida por la materia en suspensión. Es particularmente útil para la determinación de concentraciones elevadas en el rango de 1 a 40 mg/L [8]. Además, tiene la ventaja de poder trabajar con muestras gaseosas, líquidas e incluso sólidos transparentes. Este método es especialmente adecuado para muestras que contienen precipitados difíciles de filtrar, como los de naturaleza gelatinosa o con partículas de pequeño tamaño. Las principales aplicaciones de este método se encuentran en el estudio del agua, se utiliza para determinar la transparencia de suspensiones densas, controlar el tratamiento de aguas naturales y residuales, entre otros usos relacionados [9]. Este método es altamente sensible, lo que permite la detección de bajas concentraciones de sulfatos en las muestras, convirtiéndolo en un método eficiente para la detección y cuantificación precisa de sulfatos, siendo rápido y sencillo de llevar a cabo. La adición de cloruro de bario en medio ácido permite la formación rápida de un precipitado de sulfato de bario y con el uso del espectrofotómetro UV/Vis como detector se proporciona una medición precisa y cuantitativa de la cantidad de precipitado formado, lo cual permite una mayor confiabilidad en la determinación de sulfatos en las muestras. Los mayores interferentes en este método son la sílice (en una concentración mayor de 500 mg/L) y la materia orgánica en alto contenido, dificultando la precipitación del sulfato de bario [10].

El objetivo de este trabajo fue utilizar ambos métodos (volumétrico y turbimétrico) para adquirir las destrezas y habilidades requeridas para determinar la concentración de sulfatos en agua naturales y realizar el comparativo de los métodos utilizando las pruebas estadísticas t-student y F-Fisher.

Parte Experimental

Recolección de muestras

Se recolectaron tres muestras: (1) pozo del Ateneo (PA); (2) pozo de la Facultad de Jurisprudencia (PJ) y (3) aljibe de la Facultad de Ciencias Químicas (AFCQ). Las

muestras fueron recolectadas en recipientes de PET (Tereftalato de polietileno) y se almacenaron en refrigeración a 4°C hasta su análisis.

Procedimiento general del método volumetrico

En un matraz Erlenmeyer de 125 mL se colocan 10 ml de muestra después se adicionan 10 mL de etanol, 0.002g de indicador THQ (sal disódica de tetrahidroxiquinona), finalmente se titula con BaCl₂ 0.104N hasta el vire de color de amarillo paja a rosa salmón. Cada muestra se realizó por triplicado.

Para la cuantificación de sulfatos en las muestras de agua, se utilizó la siguiente formula:

$$ppm = \frac{a \cdot N \cdot b \cdot 10^6}{mL \text{ muestra}} \quad (2)$$

Donde:

a= volumen de BaCl₂ gastado

N= Normalidad de BaCl₂

b= miliequivalentes de SO₄²⁻

Procedimiento general turbidimetría

En un tubo de ensayo de vidrio (16x150 cm) se añade una alícuota de muestra o estándar y se completa a 10 mL con agua desionizada. Después se agregaron 2 mL de buffer (CH₃COOH/CH₃COO⁻ con un pH de 4) y los tubos se llevan a una parrilla de agitación magnética (CIMAREC Bransted/Thermolyne) a 1200 rpm durante 1 minuto. Posteriormente, se añaden 0.2 g de BaCl₂.2H₂O y se continua con la agitación durante 1 minuto. Y se llevan al espectrofotómetro UV/Vis (Varian 50 Biocary) para su lectura a una longitud de onda de 420 nm. Cada muestra se analizó por triplicado.

Curva de calibrado del método turbidimetrico

Previo a la cuantificación de las muestras se realizó una serie de siete estándares (5 a 60 mg/L.) que se obtienen a partir de una disolución patrón de 100 mg/L de sulfatos (Na₂SO₄).

Comparativo de métodos

Para realizar el comparativo de los métodos se utilizaron las concentraciones de sulfatos de los triplicados de las muestras de agua naturales y se analizaron los datos utilizando el programa estadístico de excel.

Resultados y Discusión

Para obtener la concentración de sulfatos mediante el método turbidimetrico de las muestras, primero se realizó la curva de calibrado y a partir de la ecuación de la recta

($y=(0.0148\pm 0.0001)x-(0.0456\pm 0.0052)$; $R^2=0.9990\pm 0.0005$) se calcularon las concentraciones de las mismas, en la Figura 1 se presenta un ejemplo de una de las curvas de calibrado obtenidas.

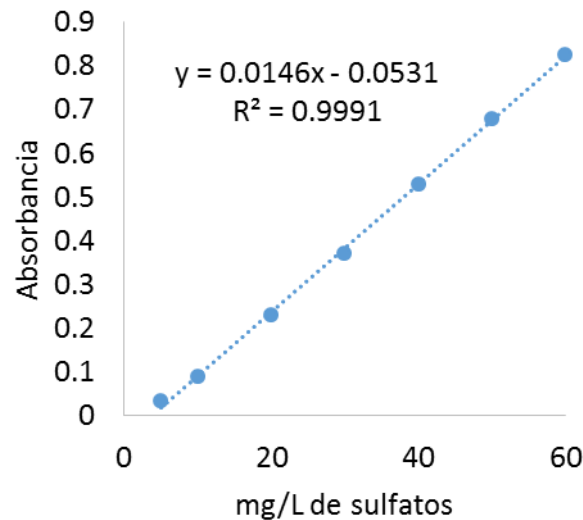


Figura 1. Ejemplo de curva de calibrado que se obtuvo para la cuantificación de sulfatos mediante el método de turbidimetría.

En la Figura 2 se presentan las concentraciones de sulfatos obtenida con ambos métodos de estudio.

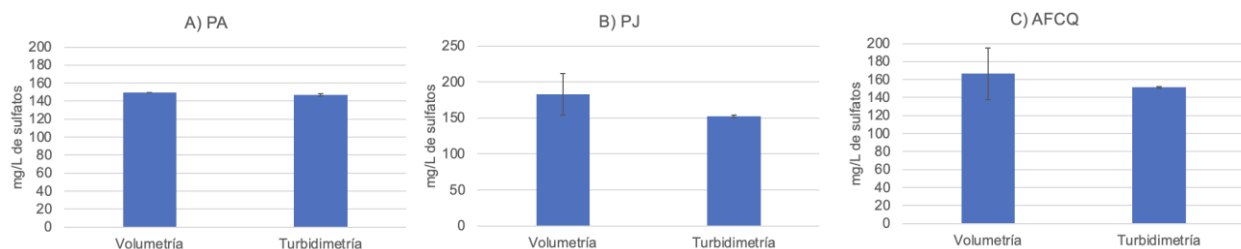


Figura 2. Concentraciones de sulfatos obtenidas por volumetría y turbidimetría de las muestras de agua natural del a) PA, b) PJ y c) AFCQ.

Como se puede ver en la Figura 2 las concentraciones de sulfatos presentes en las aguas naturales analizadas están por debajo de los límites permisibles de 400 mg/L.

Para comparar los resultados de ambos métodos se realizaron las pruebas estadísticas t-student y F-Fisher los parámetros estadísticos se pueden ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros estadísticos de la pruebas estadísticas t-student y F-Fisher

parámetro estadístico	PA	PJ	AFCQ
tcal	3.85	1.85	0.92
tteo	4.3	4.3	4.3
	tcal < tteo	No hay diferencias significativas entre los promedios	
<i>P-valor</i>	0	0.004	0.002
α	0.05	0.05	0.05
	<i>P-valor</i> < α	hay diferencias significativas entre varianzas	

Con los resultados de la Tabla 1 podemos decir que al utilizar cualquiera de los dos métodos para determinar la concentración de sulfatos de muestras de agua naturales obtendremos las mismas concentraciones, ya que no se presentaron diferencias significativas entre los promedios obtenidos; sin embargo, la precisión se ve afectada ya que al comparar los *P-valores* obtenidos de la prueba F con la significancia (α), se observan que son menores, por lo tanto, podemos decir que se presentan diferencias significativas en la precisión de ambos métodos. Eso lo podemos atribuir que se debe obtener una mejor percepción en el cambio de vire en el método volumétrico. Además de que se adquirió la habilidad y destreza en el manejo de ambos métodos.

Conclusiones

Al momento de estudiar y poner en práctica los métodos volumétrico y turbidimétrico, se puede decir que ambos métodos son efectivos para la determinación de sulfatos en aguas, pues el método volumétrico al ser una técnica más específica permite cuantificar la cantidad de sulfatos presentes en la muestra a analizar, por otro lado el método turbidimétrico permite hacer mediciones rápidas en tiempo real de las partículas en suspensión, siendo muy útil para aquellas muestras que contienen partículas difíciles de filtrar. Ambos métodos tienen aplicaciones específicas y ofrecen distintas ventajas en precisión, rapidez y manejo de las muestras. Sin embargo, la elección del método depende de la naturaleza de la muestra y los objetivos de análisis.

Referencias

- [1] C.A Severiche, H. González. Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. Ing.USBMed, Vol. 3, No.2. (2012)
- [2] (Plan Municipal de Desarrollo Urbano Saltillo [PMDU] 2019 p.10,11).

- [3] NOM-127-SSA1-2021 “Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua.”
- [4] A. Bolaños, J.D. Cordero Castro, G Segura Araya. Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). Tecnología en marcha. Vol. 30. (2017).
- [5] G. H. Loneragan, J.J. Wagner, D.H. Gloud, F.B. Garry, M.A. Thorens. Effects of drinking water sulfate concentrations on feed and water intake, growth, and serum mineral concentrations in growing beef heifers. American Society of Animal Science. Vol. 36. (2020).
- [6] E.L. Kohan. Principios operativos de mantenimiento, construcción, instalación, reparación, seguridad, requerimientos y normativas. 4a. ed. Madrid, Buenos Aires, Caracas, McGraw Hill (2000).
- [7] D. A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch. Fundamentos de Química Analítica Capítulo 5. Pag. 96-97. Novena edición. Editorial Cengage Learning. (2014)
- [8] W.F. Pickering. Química Analítica moderna. Segunda edición. Editorial Reverté. (1976).
- [9] Eugene D. O. Métodos ópticos de análisis. Editorial Reverté, S.A. (2016).
- [10] C. A. Severiche Sierra, M.E Castillo Bertel, R.L Acevedo Barrios. Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en aguas. Fundación Universitaria Andaluza Inca Garcilaso (edumet.net.) Colombia. (2013).

CURVA TEÓRICA DE VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DEL CITRATO DE OXOLAMINA EN SOLUCIÓN ACUOSA MEDIANTE UN MÉTODO ROBUSTO DE CÁLCULO PARA AJUSTAR LA CURVA EXPERIMENTAL

Diana Zeltzin Alonso-Rojas^a, Rubén Guerra-Flores^a, Dafne Sarahia Guzmán-Hernández^b, Alberto Rojas Hernández^{a*}, María Teresa Ramírez Silva^a, Jorge Juárez Gómez^a

^a Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1era Secc. Alcaldía Iztapalapa, 09310 CDMX, México.

^b CONAHCYT-Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1era Secc. Alcaldía Iztapalapa, 09310 CDMX, México.

*e-mail: suemi918@xanum.uam.mx

Introducción

El citrato de oxolamina (Sal de citrato de 5-(2-[dietilamino]etil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol) (Figura 1), es un principio activo de muchos fármacos antitusivos y antiinflamatorios para el tratamiento de faringitis, bronquitis y tos. Se ha determinado en fármacos simultáneamente con otras moléculas como maleato de clorfeniramina, paracetamol y clorhidrato de pseudoefedrina por cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-PDA, por sus siglas en inglés) [1]. El citrato de oxolamina también se ha determinado mediante espectrofotometría UV-VIS en formulaciones farmacéuticas [2]. Debido a que en la literatura hay pocos reportes de valoraciones ácido-base en solución acuosa para el estudio del citrato de oxolamina [3], en este trabajo se lleva a cabo el análisis de esta sal en solución acuosa mediante una valoración potenciométrica utilizando como valorante hidróxido de sodio. Asimismo, se desarrolla la teoría que explica las reacciones de valoración entre el citrato de oxolamina y el valorante, además de que se presenta un método robusto para predecir y ajustar la curva teórica de valoración a la curva experimental [4].

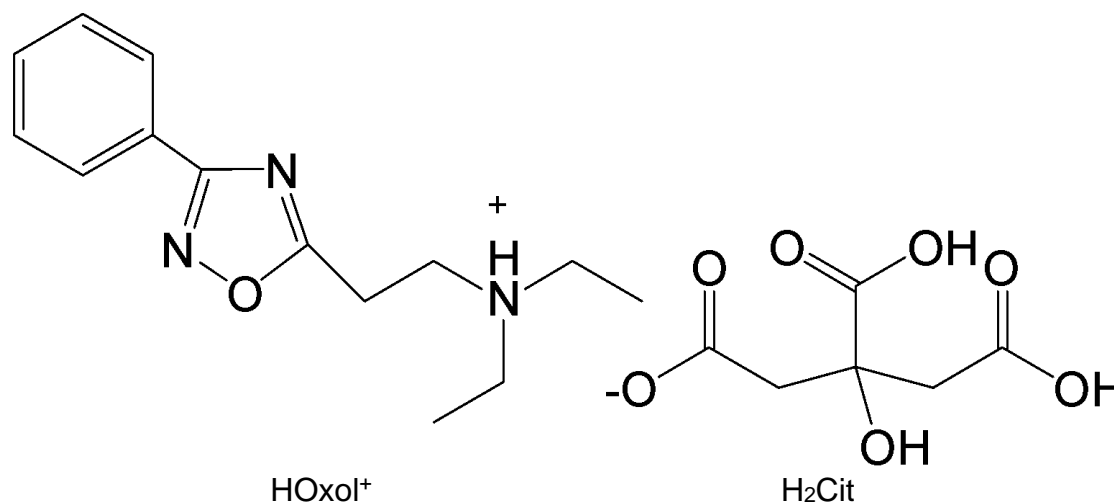


Figura 1. Citrato de oxolamina, compuesto de fórmula condensada C₂₀H₂₇N₃O₈

Parte Experimental

Materiales y reactivos

Todos los reactivos son de grado analítico: biftalato ácido de potasio (Sigma Aldrich) 100.5% pureza, citrato de oxolamina (Sigma Aldrich) e hidróxido de sodio (SV) 1 N (Meyer). Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada con resistividad de 18.0 - 18.2 MΩ⁺cm y pH de 7.00, la cual fue obtenida de un desionizador Milli-Q Millipore Gradient QGard.

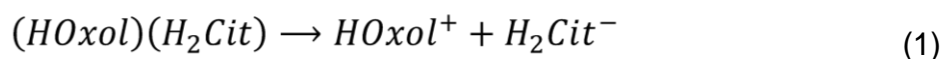
Equipos

Las valoraciones potenciométricas, tanto del citrato de oxolamina y de hidróxido de sodio, se llevaron a cabo con un titulador automático 905 Titrande de la marca Metrohm. Se tituló una disolución de 100 mL de citrato de oxolamina 0.001 M con hidróxido de sodio (0.09936 ± 0.00082) M utilizando una unidad de dosificación de 20 mL con una mínima adición de 2 μL y un electrodo combinado de vidrio para mediciones de pH de la misma marca que el titulador automático.

Resultados y Discusión

Para conocer el comportamiento de las especies involucradas en la valoración de citrato de oxolamina se construyó el resumen de Escalas de Predicción de Reacciones (EPRx) (Figura 2) y el esquema reaccional (Tabla 1) de acuerdo con el convenio de Charlot, descrito por Botello y colaboradores [6].

En la Figura 2 se muestran las tres reacciones de valoración. Con círculos azules se marcan las especies presentes al inicio, sin haber agregado el valorante, como es el caso de las especies HOxol⁺ y H₂Cit⁻ las cuales provienen de la disociación del citrato diácido de oxolamina (como se muestra en la Figura 1), debido a que es considerado un electrolito fuerte, que se disocia en sus iones, de acuerdo con la Ecuación 1.



El ion correspondiente al valorante está identificado con un triángulo rojo invertido. Los rectángulos verdes, los rombos morados y los pentágonos amarillos, representan las especies formadas en el primer, segundo y tercer puntos de equivalencia, respectivamente (PE1, PE2 y PE3) y las flechas rojas representan las tres reacciones de valoración.

A partir de las especies mostradas en la Figura 2, se construye el esquema reaccional que se presenta en la Tabla 1. En la columna central, se muestran los equilibrios de las reacciones de valoración y en la columna de la derecha se observan los equilibrios representativos. En esta valoración hay tres volúmenes de punto de equivalencia; sin embargo, para el caso del primer punto de equivalencia, la constante de dismutación es muy grande, lo que hace que la primera reacción de valoración sea poco cuantitativa, ya que el anfolito dismuta mucho y, por lo tanto, no será muy perceptible.

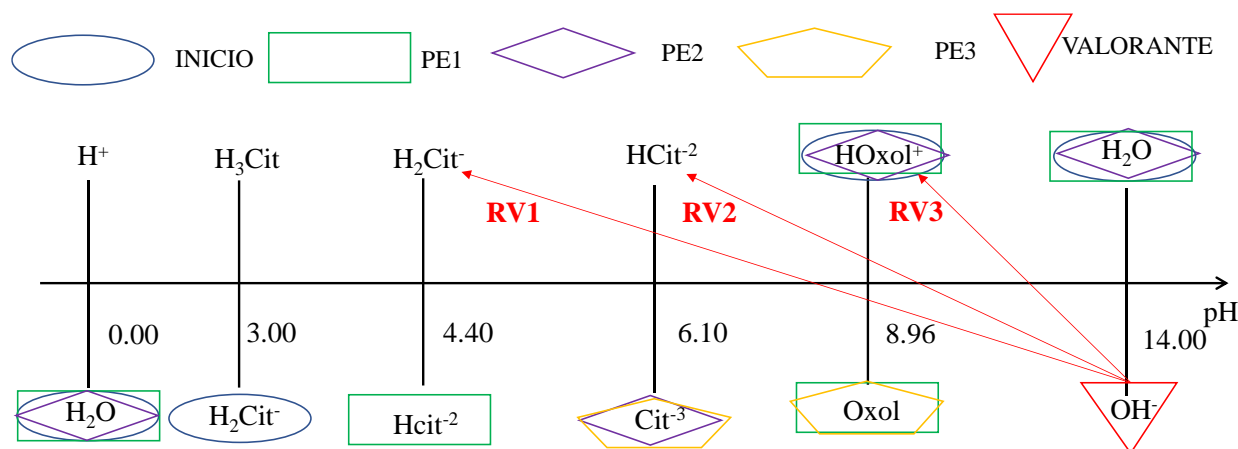


Figura 2. Resumen de las EPRx de la valoración de un volumen de solución de citrato de oxolamina con hidróxido de sodio.

Tabla 1. Esquema reaccional de la valoración de citrato de oxolamina con hidróxido de sodio.

mmol	Reacciones de valoración	Equilibrios Representativos en puntos relevantes
Inicio		$2\text{H}_2\text{Cit} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{Cit} + \text{HCit}^{-2} \quad *K_{\text{dism1}} = 10^{-1.4}$ V_0C_0
RV1	$\text{H}_2\text{Cit} + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{HCit}^{-2} + \text{H}_2\text{O} \quad **K_{\text{RV1}} = 10^{9.6}$ $V_0C_0 \quad V_{\text{PE1}}$	
PE1 $\frac{1}{1} = \frac{V_0C_0}{V_{\text{PE1}}C}$		$2 \text{HCit}^{-2} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{Cit} + \text{Cit}^{-3} \quad *K_{\text{dism2}} = 10^{-1.7}$ V_0C_0
RV2 $V' \equiv V - V_{\text{PE1}}$	$\text{HCit}^{-2} + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{Cit}^{-3} + \text{H}_2\text{O} \quad **K_{\text{RV2}} = 10^{7.9}$ $V_0C_0 \quad V_{\text{PE1}}$	
PE2 $\frac{1}{1} = \frac{V_0C_0}{V'_{\text{PE2}}C}$		$\text{Cit}^{-3} + \text{HOxol}^+ \rightleftharpoons \text{HCit}^{-2} + \text{Oxol} \quad ***K_{\text{PE2}} = 10^{-2.86}$ $V_0C_0 \quad V_0C_0$
RV3 $V \equiv V - V_{\text{PE2}}$	$\text{HOxol}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{Oxol} + \text{H}_2\text{O} \quad **K_{\text{RV3}} = 10^{5.04}$ $V_0C_0 \quad V''_{\text{PE3}}C$	
PE3 $\frac{1}{1} = \frac{V_0C_0}{V_{\text{PE2}}C}$		$\text{Oxol} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HOxol}^+ + \text{OH}^- \quad ***K_{\text{PE3}} = 10^{-5.04}$ V_0C_0

RV1, RV2 y RV3: Reacción de valoración uno, dos y tres respectivamente.

PE1, PE2 y PE3: Puntos de equivalencia uno, dos y tres respectivamente.

V_0 : Volumen inicial de citrato de oxolamina.

C_0 : Concentración inicial de citrato de oxolamina.

C : Concentración del hidróxido de sodio.

V_{PE1} , V_{PE2} : Volumen de punto de equivalencia uno y dos, respectivamente.

$*K_{\text{dism1}}$ y $*K_{\text{dism2}}$: constantes de dismutación de los anfóteros del citrato diácido y citrato monoácido respectivamente.

$**K_{\text{RV1}}$, $**K_{\text{RV2}}$, $**K_{\text{RV3}}$: constantes de equilibrio de las reacciones de valoración.

$***K_{\text{PE2}}$, $***K_{\text{PE3}}$: constantes de equilibrio representativo en PE2 y PE3.

Una vez conocidas todas las reacciones de valoración y equilibrios representativos, es posible construir la curva de valoración teórica a partir del modelo robusto. El modelo robusto se basa en considerar las concentraciones de todos los iones involucrados en la valoración, mediante la ecuación de electroneutralidad (Ecuación 2).

$$\sum_{i=1}^{n_{cat}} z_i [cat_i^{z_i}] = \sum_{j=1}^{n_{ani}} z_j [ani_j^{z_j}] \quad (2)$$

Donde n_{cat} y n_{ani} es el número de cationes y aniones en el sistema, respectivamente; en tanto que $[cat_i^{z_i}]$ representa la molaridad del catión i -ésimo y $[ani_j^{z_j}]$ representa la molaridad del anión j -ésimo; finalmente, z_i y z_j representan las cargas del catión i -ésimo y del anión j -ésimo, respectivamente.

En el modelo robusto, dependiendo de la especie, se podrá expresar las concentraciones de los iones en función de sus fracciones molares y del efecto de dilución en la valoración. En las Ecuaciones 3 y 4, se expresa la ecuación de electroneutralidad con la sustitución de las concentraciones de los iones por las variables y parámetros adecuados, y se observa que el analito sí depende de sus respectivas fracciones molares y del efecto de dilución, por otro lado, el valorante sólo depende del efecto de dilución.

$$[Na^+] + [H^+] + [HOxol^+] [OH^-] + [H_2Cit^-] + 2[HCit^{-2}] + 3[Cit^{-3}] \quad (3)$$

$$\left[\frac{VC}{V_0+V} \right] + [H^+] + \left[\frac{V_0C_0}{V_0+V} f_{HOxol^+} \right] [OH^-] + \left[\frac{V_0C_0}{V_0+V} f_{H_2Cit^-} \right] + 2 \left[\frac{V_0C_0}{V_0+V} f_{HCit^{-2}} \right] + 3 \left[\frac{V_0C_0}{V_0+V} f_{Cit^{-3}} \right] \quad (4)$$

En las Ecuación 4, V representa el volumen de alícuota, C está definida por el valor de la concentración del valorante, V_0 representa el volumen inicial del analito, C_0 concentración inicial del analito, f_{HOxol^+} , representan las fracciones molares de los iones oxolamónio (del sistema monodonador de la oxolamina), $f_{H_2Cit^-}$, $f_{HCit^{-2}}$, $f_{Cit^{-3}}$ representan las fracciones molares del citrato diácido, citrato monoácido y citrato (del sistema tridonador del ácido cítrico).

Se despeja la variable V de la Ecuación 4 y se obtiene la Ecuación 5:

$$V = \frac{\left(\left(\frac{k_w}{10^{-pH}} - 10^{-pH} \right) V_0 - (f_{H_2Cit^-} + 2f_{HCit^{-2}} + 3f_{Cit^{-3}}) V_0 C_0 - V_0 C_0 f_{HOxol^+} \right)}{C + 10^{-pH} - \frac{k_w}{10^{-pH}}} \quad (5)$$

En la Figura 3a se presenta en línea continua roja la gráfica de $pH = f(V)$ de citrato de oxolamina obtenida mediante el modelo robusto y en marcadores la curva de valoración experimental. En ésta es posible apreciar que el ajuste del modelo no es muy bueno al inicio, pero sobre todo al final de la curva de valoración pH-métrica. Esto puede atribuirse

a posibles factores que no permiten tener una buena aproximación con la Ecuación 5, por lo que se considera que el valorante, al ser una base fuerte, puede reaccionar con el dióxido de carbono (CO_2) del aire del ambiente, que es el principal inconveniente de los tituladores alcalinos. El CO_2 disuelto en el agua genera carbonatos (CO_3^{2-}) [7]. Las consecuencias son la precipitación de carbonato y la disminución de la concentración del valorante, por lo que se propone incluir la participación de la carbonatación en el modelo robusto, llegando a la Ecuación 6, en la cual se resalta en color rojo dicha aportación.

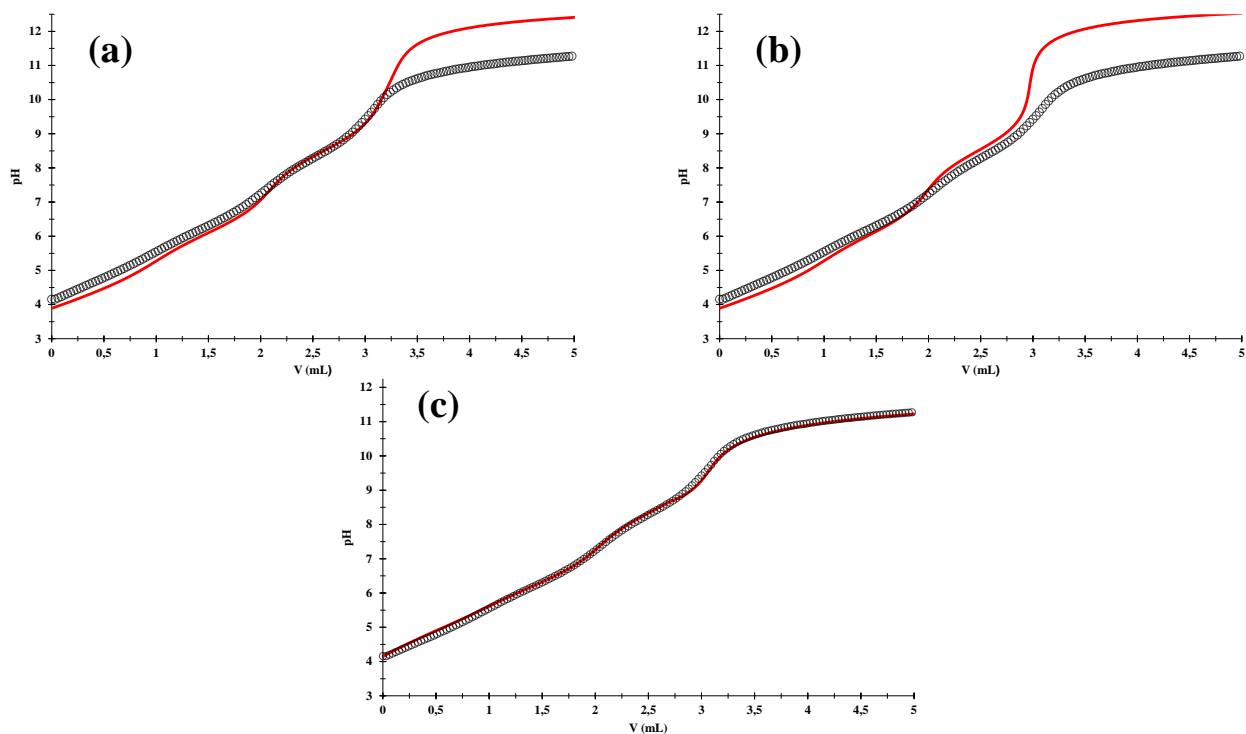


Figura 3. Gráfico de $\text{pH} = f(V)$ para la valoración de 100 mL de disolución de citrato de oxolamina 0.001M usando hidróxido de sodio (0.09936 ± 0.00082) M como valorante, se presenta en línea continua roja la curva teórica y en marcadores la curva experimental. a) Ajuste sin la aportación de la carbonatación y solubilidad de oxolamina en el modelo robusto. b) Ajuste sin la aportación de la solubilidad de oxolamina en el método robusto. c) Ajuste con la aportación de la carbonatación y solubilidad de oxolamina en el método robusto.

En la Ecuación 6, P_c representa la fracción de carbonatación del valorante. En la Figura 3, se observa que, al considerar la carbonatación del hidróxido de sodio, se obtiene un ajuste de la curva teórica más cercano en el segundo punto de equivalencia; sin embargo, sigue sin ajustar el tercer punto de equivalencia. Es posible justificar esta falta de ajuste al tercer punto de equivalencia debido a que, al finalizar el experimento, se formó una película en la superficie de la disolución que se debe a una sustancia que no se disuelve,

lo cual llevó a considerar la participación de la solubilidad de la oxolamina en el modelo, (Ecuación 7), ya que al convertirse en oxolamina, simultáneamente se forma la fase poco soluble en agua.

$$V = \frac{\left(\left(\frac{k_w}{10^{-pH}} - 10^{-pH} \right) V_O - (f_{H_2Cit^-} + 2f_{HCit^{-2}} + 3f_{Cit^{-3}}) V_{OC_O} - V_{OC_O} f_{HOxol^+} \right)}{C + 10^{-pH} - \frac{k_w}{10^{-pH}} - P_c C (f_{HCO_3^-} + 2f_{CO_3^{2-}})} \quad (6)$$

$$V = \frac{\left(\left(\frac{k_w}{10^{-pH}} - 10^{-pH} - f_{HOxol^+} * S_{Oxol} \right) V_O - (f_{H_2Cit^-} + 2f_{HCit^{-2}} + 3f_{Cit^{-3}}) V_{OC_O} - V_{OC_O} f_{HOxol^+} \right)}{C + 10^{-pH} - \frac{k_w}{10^{-pH}} + f_{HOxol^+} * S_{Oxol} - P_c C (f_{HCO_3^-} + 2f_{CO_3^{2-}})} \quad (7)$$

Como se puede observar en la Ecuación 7, aparece en color azul tanto en el numerador como en el denominador la aportación de la solubilidad de la oxolamina, al mismo tiempo que se considera la carbonatación.

Inicialmente se utilizaron los valores de las constantes de acidez reportados en la literatura, que se muestran en la Tabla 2, sin embargo, las constantes utilizadas se modificaron en el método robusto para lograr el mejor ajuste de la valoración teórica obtenida a la valoración experimental, como se muestra en la Figura 3c y en la Tabla 2.

Tabla 2. Comparación de constantes de acidez y solubilidad reportadas en la literatura con las constantes aproximadas con el método robusto.

Especie	Ácido cítrico.			Oxolamina.		Carbonatos.	
	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃	pKa ₁	pS	pKa ₁	pKa ₂
Datos literatura	3.00	4.40	6.10	8.96	3.00	6.37	10.32
Datos obtenidos en este trabajo	3.10	4.90	6.30	8.40	3.20	6.40	10.30

Conclusiones

Es importante resaltar que el modelo robusto demostró que factores como la carbonatación del valorante y la solubilidad de la oxolamina, afectan considerablemente la forma de la curva de valoración experimental, sin embargo, hay que tener en mente que el método robusto por sí solo no es capaz de explicar las interacciones de las especies involucradas en la reacción de valoración, las cuales pueden modificar significativamente la forma de una curva. Tampoco explica los equilibrios representativos en cada fase de la valoración ni predice la cantidad de puntos de equivalencia. Es por ello que se debe tener presente, al aplicar el método robusto, el desarrollo del análisis de la valoración de acuerdo con el convenio de Charlot. Finalmente, cabe mencionar que

para el desarrollo del método robusto no se requieren programas o equipos sofisticados, si se cuenta con una hoja de cálculo.

Agradecimientos

DZAR y RGF agradecen el apoyo otorgado por el área de Química Analítica de la UAM-I. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159. También, JJG, ARH, DSGH y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático concedido.

Referencias

- [1] A. Kul. Determinación simultánea de maleato de clorfeniramina, clorhidrato de pseudoefedrina, citrato de oxolamina y paracetamol por HPLC-PDA en fármacos. **16:2**, 102-110 (2022).
- [2] V. Rele, A. Sawant. Método espectrofotométrico UV-Vis para la estimación de citrato de oxolamina a granel y en formulaciones farmacéuticas. **4**, 2389-2392 (2012).
- [3] N. Rodríguez-Laguna, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M. A. Romero-Romo. Capítulo 1. En V.D. Hoang, Ed. Advances in Titration Techniques. InTech. Reino Unido. (2017).
- [4] E. Reséndiz Vong. Estudios de la influencia que ejerce el calcio (II) sobre las propiedades ácido-base del citrato de piperazina y citrato de oxolamina. Tesis de licenciatura en QFB. FES-Cuautitlán, UNAM. México. (1996).
- [5] Drug bank. Recuperado el 26 de junio del 2023 de: <https://go.drugbank.com/salts/DBSALT003005>.
- [6] J.C. Botello, M. Moya, J.C. Rueda, A. Rojas-Hernández, F. Aguilar, Y.A. Jiménez. Equilibrio químico en sistemas de dos componentes. UNAM FES-Cuautitlán. México. (2022).
- [7] METLER TOLEDO. Validación de Métodos de titulación. Una guía para el usuario. (2015).
- [8] A. Ringbom. Formación de complejos en química analítica. Alhambra, Madrid (1979).

PREDICCIÓN Y AJUSTE DE LA CURVA DE VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE PIPERAZINA EN SOLUCIÓN ACUOSA MEDIANTE UN MÉTODO ROBUSTO DE CÁLCULO

Rubén Guerra-Flores^a, Diana Zeltzin Alonso-Rojas^a,
Dafne Sarahia Guzmán-Hernández^b, Alberto Rojas-Hernández^{a*},
Jorge Juárez-Gómez^a, María Teresa Ramírez-Silva^a

^a Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1era Secc. Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09310 CDMX, México.

^b CONAHCYT-Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1era Secc. Iztapalapa, C.P. 09310 CDMX, México.

*e-mail: suemi918@xanum.uam.mx

Introducción

La piperazina (1,4-diazaciclohexano) (ver Figura 1) es un agente antinematodo eficaz contra los nematodos intestinales [1]. Es posible encontrar la piperazina en medicamentos bien establecidos y disponibles comercialmente; además es uno de los heterociclos más buscados para el desarrollo de nuevos fármacos [2], sumado a que es utilizado en filtros para la captura de CO₂ y ha sido comparado con la monoetenolamina porque presenta altos índices de captura de CO₂ debido a su alta capacidad higroscópica [3]. Sin embargo, existen pocos trabajos experimentales en donde se lleve a cabo el estudio de la piperazina mediante valoraciones en medio acuoso, por lo que en este trabajo se desarrolla el ajuste teórico mediante un método robusto de cálculo de la valoración potenciométrica de la piperazina valorada con ácido clorhídrico en medio acuoso.

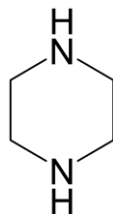


Figura 1. Fórmula desarrollada de la piperazina (Pip).

Parte Experimental

Materiales y reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico: Ácido clorhídrico (SV) 1N (Fermont), Biftalato ácido de potasio (Sigma Aldrich) 100.5% de pureza, Hidróxido de sodio (SV) 1 N (Meyer) y Piperazina (Sigma Aldrich) 99% de pureza. Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada, con los siguientes parámetros: resistividad (18.0-18.2 MΩ⊕cm) y pH de 6.998 y se obtuvo de un desionizador Milli-Q Millipore Gradient QGard. Las valoraciones de la piperazina se llevaron a cabo protegidas de la luz [4].

Equipos

Las valoraciones potenciométricas de la piperazina, así como las valoraciones para estandarizar el valorante (ácido clorhídrico), se llevaron a cabo con un titulador automático de la marca Metrohm 905 Titrand. Se valoran 100 mL de una disolución de piperazina 0.005 M, agregando alícuotas de 50 μL a partir de una solución valorada de ácido clorhídrico (0.1047 ± 0.0012) M utilizando una bureta automática de 20 mL con una mínima adición de 2 μL y un electrodo combinado de vidrio para mediciones de pH en medio acuoso.

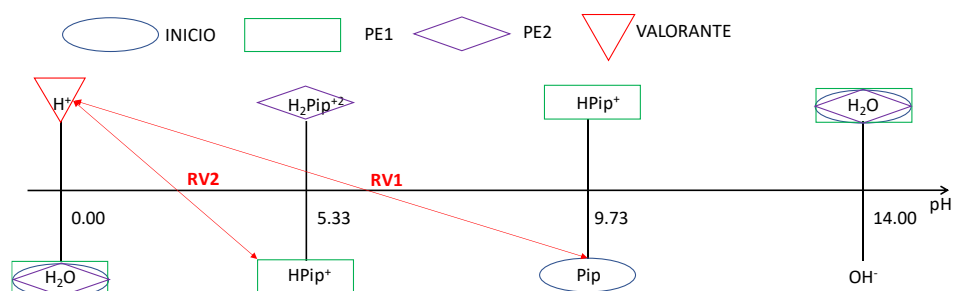


Figura 2. Resumen de las EPRx de la valoración de piperazina con ácido clorhídrico.

Tabla 1. Esquema reaccional de la valoración de piperazina con ácido clorhídrico.

mmol	Reacciones de valoración	Equilibrios Representativos
Inicio		$\text{Pip} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HPip}^+ + \text{OH}^-$ $*K_b = 10^{-4.27}$ V_0C_0
RV1	$\text{H}^+ + \text{Pip} \rightleftharpoons \text{HPip}^+$ $**K_{RV1} = 10^{9.73}$ $V_{PEC} \quad V_0C_0$	
PE1 $\frac{1}{1} = \frac{V_0C_0}{V_{PE1}C}$		$2 \text{HPip}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{Pip}^{+2} + \text{Pip}$ $*K_{dism} = 10^{-4.4}$ V_0C_0
RV2 $V'_{PE2} \equiv V_{PE2} - V_{PE1}$	$\text{HPip}^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{Pip}^{+2}$ $**K_{RV2} = 10^{5.33}$ $V_0C_0 \quad V'_{PEC}$	
PE2 $\frac{1}{1} = \frac{V_0C_0}{V'_{PE2}C}$		$\text{H}_2\text{Pip}^{+2} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HPip}^+$ $***K_a = 10^{-5.33}$ V_0C_0

* K_b y * K_{dism} : constantes de formación básica y de dismutación de la piperazina acida;

** K_{RV1} y ** K_{RV2} : constantes de reacción de valoración

*** K_a : constante de disociación ácida de la piperazina diácida.

V_0 : volumen inicial de piperazina

C_0 : concentración inicial de piperazina

C: concentración del valorante
RV1 y RV2: primera y segunda reacción de valoración
VPE1 y V'PE2: primer y segundo volumen de punto de equivalencia

Resultados y Discusión

Se construye tanto la Escala de Predicción de Reacciones (EPRx), ver Figura 2, como el esquema reaccional (Tabla 1) de acuerdo con el convenio de Charlot descrito por Botello y colaboradores [5] para conocer el comportamiento de la piperazina valorada con ácido clorhídrico.

En la Figura 2 se muestran las reacciones de valoración. Con círculos azules se señalan las especies presentes antes de haber iniciado la valoración. El valorante se identifica con un triángulo rojo invertido y los rectángulos verdes y los rombos morados representan las especies formadas en el primer y segundo punto de equivalencia respectivamente (PE1 y PE2).

A partir de las reacciones mostradas en la Figura 2 con flechas rojas, se construye el esquema reaccional que se presenta en la Tabla 1. La columna de la izquierda describe cada punto relevante de la valoración, en la columna central se presentan las reacciones de valoración y en la columna de la derecha los equilibrios representativos en los puntos relevantes.

Durante la valoración se observan dos puntos de equivalencia. El primero es correspondiente a una reacción cuantitativa, al menos al 95%, debido a que la $K_{dism} = \frac{\gamma^2}{(1-2\gamma)^2}$ (siendo 2© la fracción que dismuta del anfolito) es menor a $10^{-3.2}$, lo que indica que el anfolito es intrínsecamente estable, y es por ello que en la curva de valoración de pH como función del volumen de titulante agregado puede verse ese punto de equivalencia. En el segundo punto de equivalencia la reacción de valoración es menos cuantitativa porque el ácido formado está casi en la frontera de fuerza entre ácido débil y de fuerza media.

Una vez analizado el comportamiento de la reacción de valoración en cada punto relevante, se construye la curva de valoración teórica (CVT) a partir de un método robusto. El método robusto se basa en predecir el comportamiento de la curva de valoración de la piperazina a partir de la ecuación de electroneutralidad (Ecuación 1), donde se igualan las sumas de las cantidades de carga eléctrica de cationes y aniones, en valor absoluto, de todos los iones presentes durante la valoración.

$$\sum_{i=1}^{n_{cat}} z_i [cat_i^{z_i}] = \sum_{j=1}^{n_{ani}} z_j [ani_j^{z_j}] \quad (1)$$

Donde n_{cat} y n_{ani} es el número de cationes y aniones en el sistema, respectivamente; en tanto que $[cat_i^{z_i}]$ representa la molaridad del catión i -ésimo y $[ani_j^{z_j}]$ representa la

molaridad del anión j-ésimo; finalmente, z_i y z_j representan las cargas del catión i-ésimo y del anión j-ésimo, respectivamente.

Las concentraciones para las especies del analito dependen de su fracción molar y del efecto de dilución, mientras que las concentraciones de las especies provenientes del valorante, para este caso particular, únicamente dependen del efecto de dilución. Por lo tanto, se obtienen las fracciones molares de las concentraciones de las especies del analito.

Para la valoración de la piperazina con ácido clorhídrico se escribe la ecuación de electroneutralidad colocando las concentraciones de los iones involucrados (Ecuación 2). Al sustituir las concentraciones de los iones participantes con su respectiva fracción molar durante la valoración se obtiene la Ecuación 3, parametrizando cada término en las condiciones de la valoración y $[H^+]$. Finalmente se despeja la variable del volumen (V) como función de la molaridad del ion hidronio, obteniendo la Ecuación 4 y con esta última ecuación se construye la CVT.

$$[HPip^+] + [H_2Pip^{+2}] + [H^+] = [OH^-] + [Cl^-] \quad (2)$$

$$\left[\frac{V_0 C_0}{V_0 + V} f_{HPip^+} \right] + 2 \left[\frac{V_0 C_0}{V_0 + V} f_{H_2Pip^{+2}} \right] + [H^+] = [OH^-] + \left[\frac{VC}{V_0 + V} \right] \quad (3)$$

$$V = \frac{\left(\left(\frac{k_w}{10^{-pH}} - 10^{-pH} \right) V_0 - (f_{HPip^+} + 2f_{H_2Pip^{+2}}) V_0 C_0 \right)}{C + 10^{-pH} - \frac{k_w}{10^{-pH}}} \quad (4)$$

Como es posible observar en la Figura 3, donde se presenta la gráfica de pH en función de volumen, la CVT representada por la línea continua roja, ajusta adecuadamente sobre la curva de valoración experimental (CVE) representada con marcadores y, como se describió en el esquema reaccional (Tabla 1), sólo se observan dos puntos de equivalencia y es posible apreciar que el segundo punto de equivalencia es menos cuantitativo con respecto al primero.

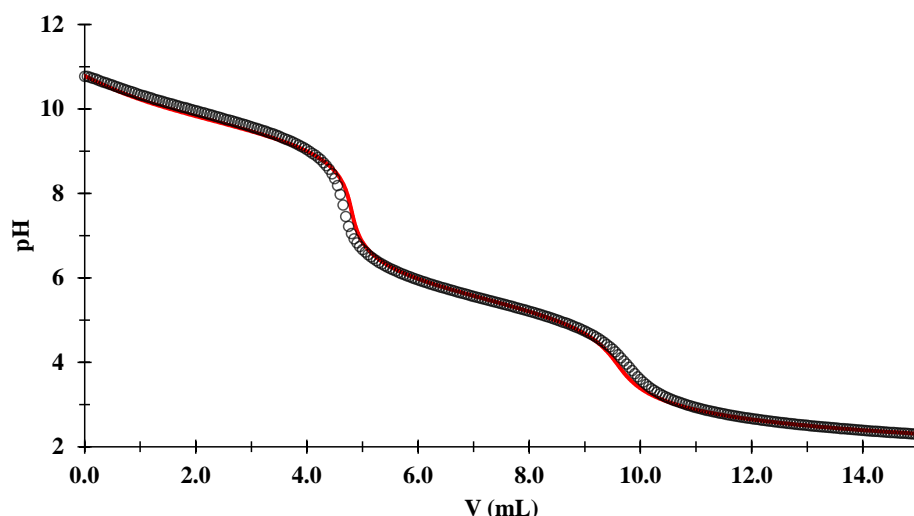


Figura 3. Gráfico de $\text{pH} = f(V)$ para la valoración de piperazina 0.005 M con ácido clorhídrico (0.1047 ± 0.0012) M. Ajuste de la curva de valoración teórica (línea continua roja) a la curva de valoración experimental (marcadores).

Cabe resaltar que uno de los parámetros para ajustar la CVT es mediante las constantes de acidez (pK_a). Para el ajuste se utilizaron los reportados por Pubchem que son $\text{pK}_{a1} = 5.33$ y $\text{pK}_{a2} = 9.73$ [4] y se observó que la CVT ajusta mejor sobre la CVE cuando se minimiza la suma de residuos de pH al cuadrado.

En la Tabla 2 se observa que para el pK_{a1} hay una diferencia de 0.17 unidades entre lo reportado con lo obtenido mediante el ajuste de la CVE y el pK_{a2} la diferencia es mínima y el valor es muy semejante a lo reportado en la literatura. Por lo que también el método robusto puede servir para determinar los valores de los pK_a para la piperazina

Tabla 2. Constantes de acidez por Pubchem y experimentales obtenidas en este trabajo.

	Pubchem [4]	Experimentales
pK_{a1}	5.33	5.50
pK_{a2}	9.73	9.70

Conclusiones

Como se pudo observar la CVT generada con el método de cálculo robusto y a partir de minimizar el cuadrado de la suma de residuos de pH se logra el ajuste sobre la CVE, lo que demuestra que este método es una herramienta que se puede utilizar para la

predicción de valoraciones potenciométricas, además de que no requiere el uso de programas muy sofisticados ya que con el acceso a una hoja de cálculo se puede emplear este método.

Es importante mencionar que el método robusto a pesar de predecir la forma de la curva experimental no explica lo sucedido durante la valoración, como la cantidad exacta de puntos de equivalencia, los equilibrios representativos y las reacciones que suceden en cada punto, lo que hace indispensable llevar a cabo el desarrollo del análisis de la valoración mediante el convenio de Charlot para así comprender lo sucedido durante la valoración.

Agradecimientos

RGF y DZAR agradecen el apoyo otorgado por el área de Química Analítica de la UAM-I. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159. También, JJG, ARH, DSGH y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático concedido.

Referencias

- [1] Vademecum. (01 de enero de 2015). Piperazina. Recuperado el 21 de junio de 2023 de <https://www.vademecum.es/principios-activos-piperazina-P02CB01-mx>
- [2] M. Shaquiquzzaman, G. Verma, A. Marella, M. Akhter, W. Akhta, M. M Alam. Piperazine scaffold: A remarkable tool in generation of diverse pharmacological agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **102**, 487-529 (2015)
- [3] G. Rochelle, E. Chen, S. Freeman, D. Wagener, Q. Xu, A. Voice. Aqueous piperazine as the new standard for CO₂ capture technology. *Chemical Engineering Journal*. **171**, 725-733 (2011).
- [4] Pubchem. (S.F.) Piperazine (Compound). Recuperado el 12 de junio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Piperazine#section=Reactivity-Profile>.
- [5] J.C. Botello, M. Moya, J.C. Rueda, A Rojas-Hernández, F. Aguilar, Y.A. Jiménez. Equilibrio químico en sistemas de dos componentes. UNAM FES-Cuautitlán. México. (2022).

DETERMINACIÓN DE LOS CONTAMINANTES PRESENTES EN LOS RCD ARRASTRADOS POR EL AGUA DE LLUVIA QUE ALTERAN LA COMPOSICIÓN NATURAL DEL AGUA.

Myriam Damarys Arauz Solís^a, Griselda Salas Alemán^b, Mara Sarahí Florencio
Martínez^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{a*}

^a Departamento de Química Analítica Ambiental, Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. Venustiano Carranza S/N, 25280 Saltillo, Coahuila México. e-mail: ilianagarza@uadec.edu.mx

^b Departamento de Arquitectura y Urbanismo, Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Arquitectura, Blvd. Fundadores Km. 13, Ciudad Universitaria, Arteaga, Coahuila, México. C.P. 25350. e-mail: jusalasa@uadec.edu.mx

Introducción

La construcción ha estado presente desde el principio de las civilizaciones, siendo una de las industrias de mayor importancia a lo largo del tiempo, surgiendo de la necesidad humana de refugiarse, evolucionando con el paso del tiempo hasta convertirse incluso en una expresión artística en la creación de monumentos históricos [1]. En la actualidad, el crecimiento poblacional y urbanización han incrementado las necesidades de construcción e infraestructura civil [2] y consigo los residuos generados durante los procesos de construcción y/o demolición, también llamados RCD [3]. Los RCD pueden ser clasificados en dos tipos de grupos: de acuerdo con su origen y de acuerdo con su naturaleza. La clasificación de los RCD de acuerdo con su origen se subdivide en tres categorías: residuos procedentes de puntos de extracción de tierras, residuos procedentes de obras de construcción y residuos procedentes de obras de demolición, mientras que la clasificación de RCD según su naturaleza se divide en: residuos inertes (aquellos que no experimentan transformaciones físicas, químicas o biológicas), residuos no peligrosos (aquellas sustancias que no presentan toxicidad pero pueden sufrir o producir modificaciones físicas, químicas o biológicas), residuos tóxicos y peligrosos (aquellas sustancias tóxicas para el ser humano y/o contaminantes para el medio ambiente) [4]. Entre los residuos de construcción y demolición que podemos encontrar comúnmente en una obra civil está el cemento Portland, el material de acero de refuerzo, materiales cerámicos, materiales arcillosos, poliméricos, papel, cartón, y basura general [5]. Cada uno de los materiales desechados durante las labores de construcción tiene un aporte diferente al medio con el que está en contacto, alterando las condiciones fisicoquímicas naturales del agua, suelo, biota y aire [6]. Por mencionar algunos ejemplos, el cemento portland y derivados hechos de este mismo material, afectan el pH del agua y del suelo alcalinizándolo, aumentan la cantidad de sólidos disueltos en el agua al igual que la turbidez y la conductividad [7]. Por otro lado, el aporte de contaminantes de las varillas estructurales son principalmente metales, los cuales se bioacumulan en los seres vivos causando diversas afecciones. Además, también aportan fósforo, el cual es responsable de la eutrofización en cuerpos de agua [8]. La madera aumenta la carga microbiológica al almacenar hongos y microorganismos, además del aporte de sustancias orgánicas insolubles en agua [9]. Lamentablemente durante años, la disposición final de RCD en México se da en espacios naturales como arroyos y terrenos baldíos usados

como vertederos debido a la falta de normativa generando grandes problemáticas ambientales, económicas y de infraestructura [10]. El objetivo de este estudio fue determinar la composición de los contaminantes presentes en los RCD y materiales nuevos de construcción que son arrastrados por el agua de lluvia y que pueden llegar a las corrientes de los afluentes naturales alterando la composición natural del agua.

Parte Experimental

Preparación de muestras:

Se instalaron dos contenedores de polietileno (PE) de capacidad de 1000L con válvula para desagüe en el Centro de Educación Ambiental de la UAdeC, en el primer contenedor se colocó 1m³ de RCD de una obra civil, en el segundo contenedor se colocó 1m³ de una muestra compuesta con materiales nuevos de construcción. Posteriormente se hicieron pasar 15 L de agua de captación de lluvia recolectada en el tanque de emergencia del mismo Centro a cada uno de los contenedores, una vez que el agua percoló por los RCD se recolectaron los lixiviados de cada contenedor en recipientes de polipropileno (PP) con capacidad de 1L, las muestras de lixiviados se trasladaron al laboratorio y se almacenaron en refrigeración de 4°C hasta su análisis. Además se analizó el agua de lluvia recolectada para su comparación con los lixiviados.

Métodos de análisis:

Los métodos empleados para la determinación de los diferentes parámetros fisicoquímicos en las muestras de agua, se realizaron de acuerdo con las Normas Oficiales Mexicanas establecidas en el Diario Oficial de la Federación (ver tabla 1).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos realizados de acuerdo a los métodos establecidos en las normas Mexicanas

Parámetros	Materiales y Equipo	Norma Mexicana
pH	Potenciómetro HI 255, HANNA Instruments.	NMX-AA-008-SCFI-2016.
Conductividad	Conductímetro AB30 Fisher Scientific.	NMX-AA-093- SCFI-2000.
Sólidos Totales Disueltos (TDS)	Conductímetro AB30 Fisher Scientific.	NMX-AA-093- SCFI-2000.
Sólidos Totales (ST)	Capsula de porcelana, Balanza Analítica (Ohaus Analytical Plus)	NMX-AA-034- SCFI-2015.
Dureza Temporal	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-072- SCFI-2001.
Dureza Permanente	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-072- SCFI-2001.
Dureza Total	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-072- SCFI-2001.
Alcalinidad	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-036-SCFI-2001.
Acidez	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-036-SCFI-2001.
Sulfatos	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-074-SCFI-2014.
Cloruros	Matraz Erlenmeyer, Bureta	NMX-AA-073-SCFI-2014.
Cu, Cd, K, Na y Pb	Espectrofotómetro de absorción atómica con flama (EAAF) AA240FS, Varian	NMX-AA-051-SCFI-2001.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se presentan los resultados de veinte parámetros fisicoquímicos analizados en los dos lixiviados y la muestra de agua de lluvia.

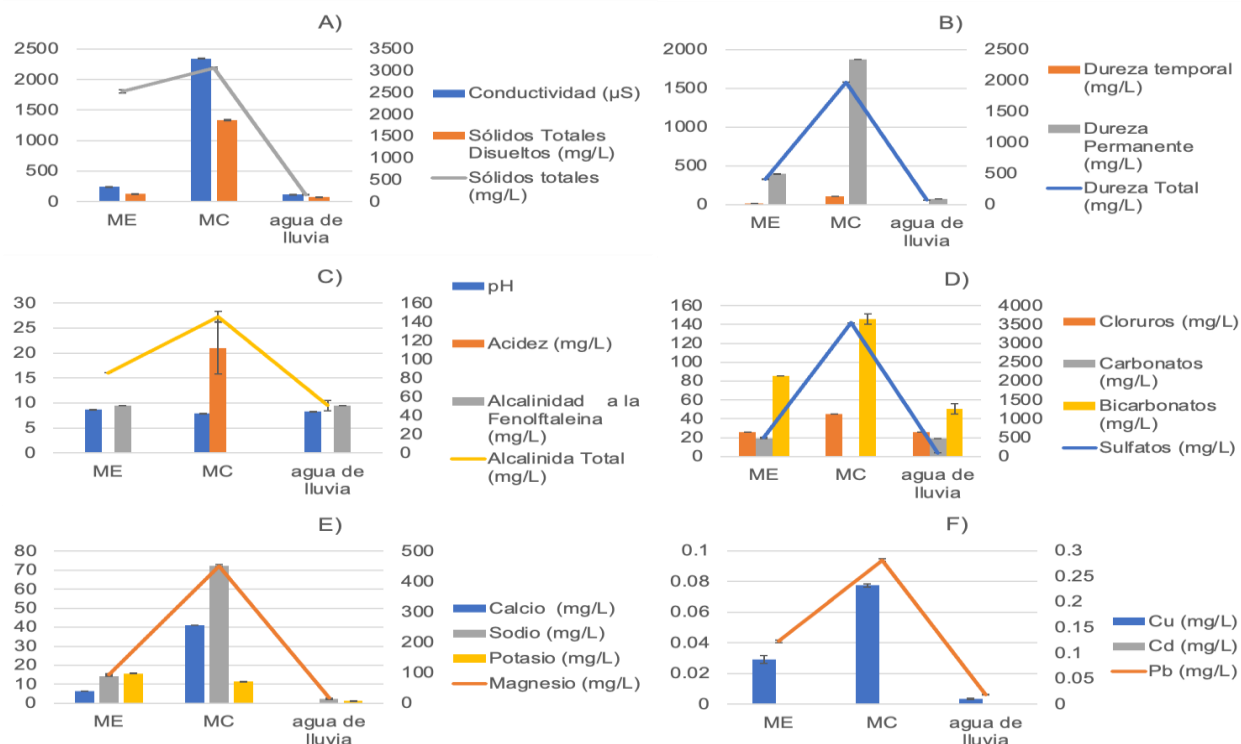


Figura 1. Resultados de los siguientes parámetros fisicoquímicos obtenidos de la muestra de escombro (ME), muestra compuesta (MC) y agua de lluvia donde se presentan a) conductividad, sólidos totales disueltos (TDS), sólidos totales (TS); b) Durezas (total, temporal y permanente); c) pH, acidez y alcalinidad; d) sulfatos, cloruros, carbonatos y bicarbonatos; e) calcio, magnesio, sodio y potasio y f) cobre, plomo y cadmio.

Al observar los resultados de la muestra de agua de lluvia de la figura 1 se aprecia que en su composición presenta las concentraciones más bajas de cada uno de los parámetros analizados, la presencia de bicarbonatos se atribuye a la acumulación del polvo del suelo que es arrastrado por el viento y es depositado en la superficie del techo, el cual se utilizó para la recolección del agua de lluvia. Al conocer la composición del agua de lluvia y compararla con la composición de los lixiviados se visualiza la aportación de los RCD y los materiales nuevos de construcción a las corrientes de agua de los afluentes.

Al analizar los resultados del lixiviado de los RCD podemos ver una diferencia marcada entre la conductividad y los sólidos totales (ver figura 1a), sin embargo, esto no es extraño ya que dentro de estos RCD se encuentran las envolturas de los materiales de construcción (cartón, papel, plástico, etc.), lo que permite la presencia de sólidos

suspendidos en el lixiviado que no conducen la electricidad, en la figura 1b se observa que aportan un poco más de 350 mg/L de sales de magnesio, esto significa que los RCD aporta 5 veces más estas sales de las que contiene el agua de lluvia, el pH obtenido en este lixiviado es alcalino (pH=9) (ver figura 1c), la alcalinidad está relacionada con la presencia de sustancias hidrolizables en agua como bases débiles, fuertes y/o hidróxidos metálicos y que como producto de dicha hidrólisis se genera aniones básicos como el ion hidroxilo (OH-) [11], resultando tóxico para algunos organismos acuáticos, las sales que aportan los RCD son bicarbonatadas y en su mayoría sulfatadas (figura 1d) lo que es de gran preocupación ya que las concentraciones de 505 mg/L están por arriba de los límites permisibles, mientras que las sales cloradas y carbonatadas provienen del agua de lluvia. El catión mayoritario es el Mg esto confirma que la dureza se atribuye a las sales de magnesio, sin embargo, los RCD también aportan Ca, Na y K (figura 1e), de los metales pesados más tóxicos que pueden ocasionar daño en los ecosistemas encontramos al Pb en concentraciones de 12 veces más que el límite permisible (0.01 mg/L) (figura 1f), esto se puede atribuir a los materiales de construcción que pueden estar reforzados con este metal, como aceros, alambres, varillas, concretos, o incluso al plomo presente en pinturas y arcillas de colores rojos, naranjas y/o amarillos [11]. Todos los compuestos antes mencionados que aportan los RCD a través de los lixiviados que se forman al llover, puede ser arrastrado a las corrientes de los afluentes provocando una eutrofización en el cuerpo de agua. Al comparar los resultados del lixiviado de RCD (ME) frente al lixiviado con los materiales nuevos de construcción (MC) se ve una diferencia muy marcada, la alta conductividad que se determinó nos indica que los compuestos de los materiales nuevos son muy solubles en agua y son fáciles de ser arrastrados aportando elevadas cantidades de sólidos disueltos y en suspensión (figura 1a), la mayoría de los sólidos disueltos están compuestos por sales de Mg (figura 1b y 1e), estos materiales además de aportar especies ácidas, también aportan especies alcalinas que al entrar en contacto entre ellas el pH disminuye (figura 1c), sin embargo, el pH del agua sigue considerándose alcalino y con altas concentraciones de sulfatos (>3500 mg/L), estas concentraciones están ocho veces más arriba de lo permisible (400 mg/L de sulfatos)(figura 1d), además, se arrastran minerales solubles que contienen Pb (figura 1f) ya que se determinó una concentración de 0.2819 mg/L (límite permisible 0.01 mg/L) siendo una concentración preocupante debido a la toxicidad del Pb y sus efectos negativos en los seres vivos. Todos los compuestos que aportan los RCD como los materiales nuevos alterando la tensión superficial del agua y esto provoca efectos negativos en el ecosistema.

Conclusiones

Podemos decir que los residuos de construcción y demolición afectan la composición del agua, modificando su pH, alcalinidad, dureza, sólidos totales y por lo tanto la conductividad, por lo que no se recomienda que la disposición final de este tipo de residuos se de en cuerpos de agua y/o en zonas aledañas a cuerpos de agua que puedan estar en contacto con biota y población.

Agradecimientos

A la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesario para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] S. Huerta. Historia de la construcción: la fundación de una disciplina. Sexto Congreso Nacional de Historia de la Construcción. **1**, 15-19, (2009).
- [2] C.E Arcudia Abad, J. Pech Pérez, S.O Álvarez Romero. La empresa constructora y sus operaciones bajo un enfoque de sistemas. Arcudia et al. / Ingeniería. **9**. 25-36. (2005).
- [3] J. López. Caracterización de los residuos de la construcción de la vivienda en México. Un modelo teórico. Depósito de Investigación. Universidad de Sevilla. España. (2019).
- [4] D. de Santos, B. Monercillo, A. García. Gestión de residuos en las obras de construcción y demolición. Tornapunta Ediciones. S.L.U. España. (2011).
- [5] C. Páez-Jiménez, C. Pacheco-Bustos. Guía para el manejo integral de los Residuos de Construcción y Demolición en la ciudad de Barranquilla. Editorial Universidad del Norte. Colombia. (2019).
- [6] I. Puerta-Ortiz. Impacto ambiental en las escombreras. Universidad del Rosario. Colombia. (2019).
- [7] K. Elert, G. Cultrone, C. Rodriguez-Navarro, E. Sebastián-Pardo. Durability of Bricks Used in the Conservation of Historic Buildings Influence of Composition and Microstructure. Journal of Cultural Heritage. **4**, 91-99, (2003).
- [8] N.CMT-2-03-001/04. Acero y Productos de Acero. CMT características de los materiales. **001**. (2004).
- [9] S. Hernández-Moreno. Degradación y durabilidad de materiales y componentes constructivos. Universidad Nacional Autónoma de México. México. (2019).
- [10] G. Carmona-Ochoa. Urbanismo y Arquitectura 11 Aproximaciones. Universidad Autónoma de Coahuila. México. (2022).
- [11] P. Silva, S. L. Roncancio, J. Casasbuenas. Plomo en pinturas a base de solventes para uso doméstico en Colombia. Colnodo / Red de Desarrollo Sostenible. Colombia. (2016).

CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN DE UV-VIS DE DIMETRIDAZOL EN MEDIO ACUOSO

Angel Omar Gómez Dávila^a, Dafne Sarahia Guzmán Hernández^b,
María Teresa Ramírez Silva^{a*}, Jorge Juárez Gómez^a, Alberto Rojas Hernández^a

^a Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc, Iztapalapa, Ciudad de México., C.P. 09340

^b CONAHCYT-Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, Ciudad de México., C.P. 09340

*e-mail: mtrs218@xanum.uam.mx

Introducción

Los nitroimidazoles son fármacos, clasificados como antibióticos, utilizados para la prevención y tratamiento de infecciones causadas por bacterias anaeróbicas y protozoarias. Algunos derivados del nitroimidazol incluyen al dimetridazol, metronidazol, ronidazol, ipronidazol, secnidazol, tinidazol, etc. [1]. Los nitroimidazoles de manera general tienen una estructura química similar, la cual se caracteriza por contener un heterociclo aromático de cinco miembros con un grupo nitrito ubicado en la posición cinco del anillo. [2]

El dimetridazol (DMZ) (1,2-dimetil-5-nitroimidazol) [3], ver figura 1, es un potencial agente antimicrobiano utilizado en varios estudios con la finalidad de desarrollar tratamientos en contra de organismos anaeróbicos, protozoos y bacterias, como los realizados por Lindmark en el desarrollo de *antitritrichomonas* contra el protozoo *Tritrichomonas foetus* [4], además tiene una fuerte aplicación en la producción de aves de corral, como gallinas y pavos, para la infección por el protozoo, *Histomonas meleagridis*, causante del deceso de este tipo de aves [5].

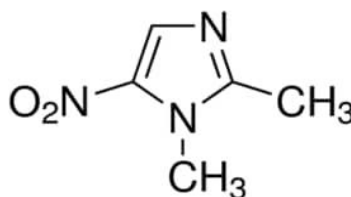


Figura 1. Estructura química del dimetridazol

Actualmente en la literatura se encuentra reportado que el DMZ presenta mutagenicidad, genotoxicidad y carcinogenicidad, la cual si bien es mínima, no debe pasar desapercibida [6]. Por lo que el uso del DMZ se ha prohibido en animales de alimentación en algunos países y han ponderado los límites máximos de residuos de DMZ en carne comestible, despojos de porcino y aves de corral [7-9]. Dada la importancia del DMZ, varios investigadores han empezado a desarrollar procedimientos analíticos para la detección de DMZ [10-13], sin embargo, estudios sobre su especiación y/o caracterización en medio acuoso son muy escasos, siendo en su mayoría estudios teóricos [14], por lo que en este

trabajo se presenta la caracterización de la molécula de DMZ mediante espectrofotometría de UV-Vis en medio acuoso.

Parte Experimental

Todos los reactivos son de grado analítico: NaCl (J. T. Baker), HCl (J. T. Baker), NaOH (Myer), Dimetridazol (Sigma-Aldrich). Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada de Milli-pore Milli-Q (18.2 MΩcm) y se mantuvieron en atmósfera inerte de N₂ para desplazar oxígeno disuelto de las soluciones.

Los experimentos de espectrofotometría de UV-Vis se llevaron a cabo en un espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 950 UV/Vis en un intervalo de longitudes de onda (λ) de 200 a 400 nm. Celdas de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico Perkin-Elmer. Para las lecturas de pH se utilizó un potenciómetro Hach Session+ pH31 con electrodo de vidrio combinado para lecturas de pH 0-14 y un baño recirculador refrigerado Lauda eco re1050s para mantener una temperatura constante de 25 °C.

Resultados y Discusión

Estudio de estabilidad.

La molécula de DMZ tiene reportado un valor teórico de pK_a de 2.81 [14] por lo que el DMZ presentaría dos especies en la solución, tal como se muestra en el diagrama de zonas de predominio lineal en función de pH [15], ver figura 2.

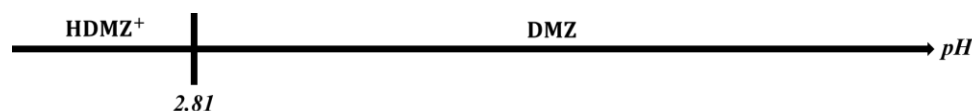


Figura 2. Diagrama de zonas de predominio lineal en función del pH para la molécula de DMZ.

En la figura 3a se presenta la familia de espectros de absorción de UV-Vis para DMZ 90 μM a pH 1.501 donde se observa un máximo de absorbancia (A) en 280 nm se mantiene constante durante 60 minutos. En la figura 3b se presenta el gráfico de $A^{280nm} = f(t)$ y es posible observar un comportamiento lineal constante, lo que indica que la molécula es estable en solución por lo menos en un intervalo de tiempo de 60 minutos.

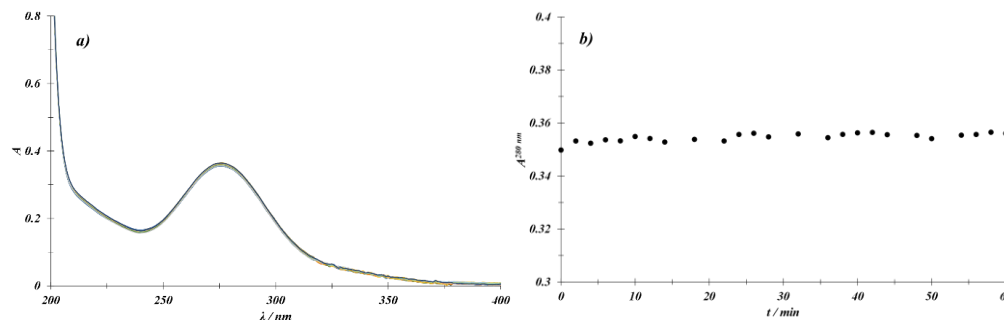


Figura 3. a) Familia de espectros de absorción de UV-Vis de la molécula de DMZ 90 μM a pH 1.501. b) Gráfico de $A^{280nm} = f(t)$.

En la figura 4a se presenta la familia de espectros de absorción de UV-Vis de DMZ 90 μM a pH 7.100 donde se observan dos máximos de absorbancia en 322 nm y 232 nm, ambas bandas se mantienen constantes durante 60 minutos. En la figura 4b se presenta el gráfico de $A^{322\text{nm}} = f(t)$ y es posible observar una tendencia lineal constante, lo que indica que la molécula es estable en solución por lo menos en un intervalo de tiempo de 60 minutos.

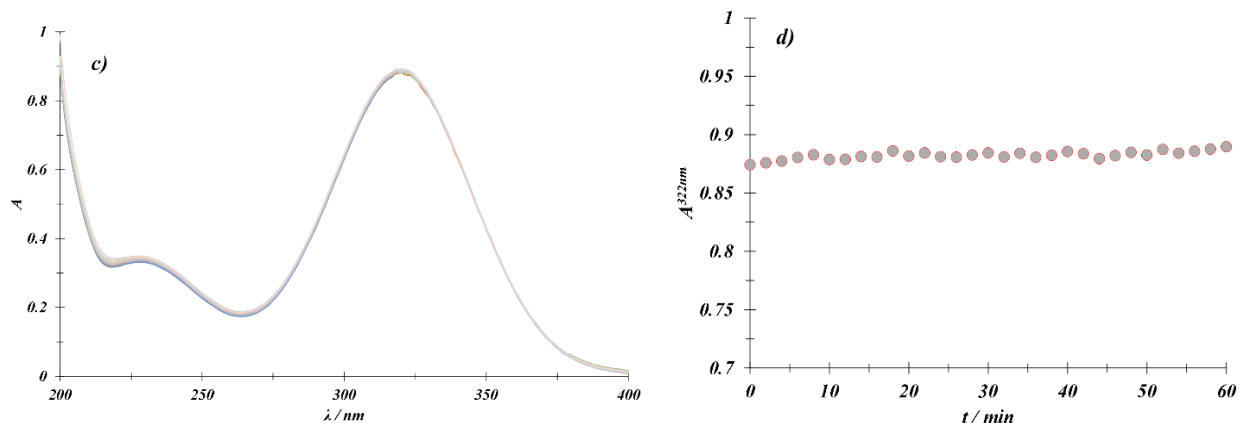


Figura 4. c) Familia de espectros de absorción de UV-Vis de la molécula de DMZ 90 μM a pH 7.100. d) Gráfico de $A^{322\text{nm}} = f(t)$.

Estudio a diferentes valores de pH.

Una vez que se aseguró la estabilidad de la molécula de DMZ para las dos especies que predominarían en solución (ver figura 2), se lleva a cabo el estudio de espectroscopía de absorción UV-Vis para la caracterización de la molécula de DMZ a diferentes valores de pH. En la figura 5 se presenta la familia de espectros de absorción UV-Vis de DMZ 90 μM para diferentes valores de pH. Los valores de pH se variaron de pH 1 aumentando en 0.2 unidades hasta pH 13. Es posible observar en la figura 5 que a pH 1 se presenta una banda de absorción máxima en 280 nm y al incrementar el pH esta banda presenta un efecto batocrómico hasta dejar desaparecer y dar lugar a la formación de las bandas en 322 nm y 232 nm.

En la figura 5 es posible observar un punto isobéptico en 277 nm, lo que indica que por lo menos se presentan una reacción de disociación. En la figura 6 se presenta el gráfico de absorbancia a 277 nm y 322 nm en función del pH, para ambas longitudes de onda se presenta la forma de una sigmoide con un punto de inflexión, el cual cruza alrededor de pH 2.79, por lo que siguiendo la ecuación de Henderson-Hasselbalch [16] es posible determinar el valor pK_a es de 2.8. Cabe resaltar que la molécula de DMZ tiene reportado un valor determinado teóricamente de pK_a de 2.81 el cual es consistente con lo obtenido en la figura 6. [14]

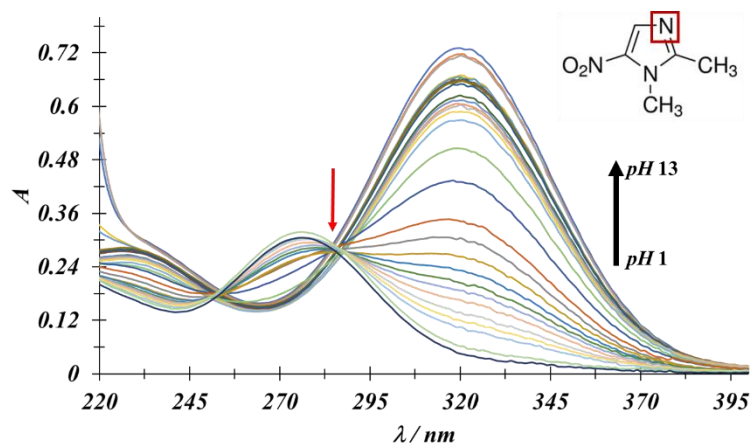


Figura 5. Familia de espectros de absorción de UV-Vis DMZ 90 μM a diferentes valores de pH mostrados en la figura. En el inserto se muestra la molécula de DMZ señalando el nitrógeno que se protonaría en la reacción ácido-base. La flecha de color rojo señala el punto isobéptico.

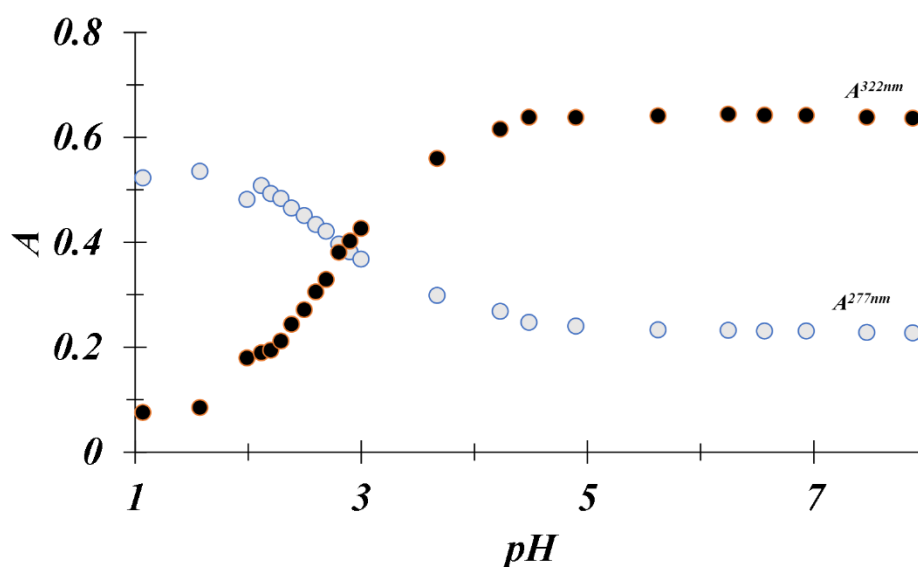


Figura 6. Gráfico de $A_{m\acute{a}x}=f(pH)$ para dos longitudes de onda a 322 nm y 277 nm mostradas en la figura.

Conclusiones

Se caracteriza la molécula de dimetridazol mediante espectrofotometría de UV-Vis en medio acuoso y se determina el valor de constante de acidez experimental $pK_a = 2.8$ para la molécula de dimetridazol el cual es consistente por el reportado teóricamente.

Agradecimientos

AOGD agradece el apoyo otorgado por el área de Química Analítica de la UAM-I. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159. También, JJG, ARH, DSGH y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático concedido.

Referencias

- [1] W. Luo, L. Deng, J. Hu, B. Xu, C. Tan. Efficient degradation of dimetridazole during the UV/chlorine process: Kinetics, pathways, and halonitromethanes formation. *Separation and Purification Technology*. **290**, 120792 (2022).
- [2] R. Ocampo-Pérez, F. Orellana-García, M. Sánchez-Polo, J. Rivera-Utrilla, I. Velo-Gala, M.V. López-Ramón, M.A. Álvarez-Merino. Nitroimidazoles adsorption on activated carbon cloth from aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*. **401**, 116-124 (2013).
- [3] C. Hu, J. Deng, Y. Zhao, L. Xia, K. Huang, S. Ju, N. Xiao. A novel core-shell magnetic nano-sorbent with surface molecularly imprinted polymer coating for the selective solid phase extraction of dimetridazole. *Food Chemistry*. **158**, 366-373 (2014).
- [4] D.G. Lindmark, M. Müller. Antitrichomonad Action, Mutagenicity, and Reduction of Metronidazole and Other Nitroimidazoles. *Journal Article*. **10**, 476-482 (1976).
- [5] M.P. Callait, C. Granier, C. Chauve, L. Zenner. In vitro activity of therapeutic drugs against *Histomonas meleagridis* (Smith, 1895). *Poultry Science*. **81**, 1122-1127 (2002).
- [6] A. B. A. Boxall, L. Fogg, P. A. Blackwell, P. Kay, E. J. Pemberton. Review of Veterinary Medicines in the Environment. R&D Technical Report P6-012/8/TR. 20-262 (2002).
- [7] C. Ho, D.W.M. Sin, K.M. Wong, H.P.O. Tang. Determination of dimetridazole and metronidazole in poultry and porcine tissues by gas chromatography electron capture negative ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. **530**, 1, 23-31 (2005).
- [8] Harmful Substances in Food (Amendment) Regulation of the Public Health and Municipal Services Ordinance. Hong Kong Special Administrative Region. **132** (2001).
- [9] Public Health (Animals and Birds) (Chemical Residues) Regulation of the Public Health (Animals and Birds) Ordinance. Hong Kong Special Administrative Region. **139** (2001).
- [10] D.-W. Yang, F.-C. Gong, Z. Cao. Amperometric dimetridazole sensor using glycosylated metalloporphyrin as a recognition element. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **114**, 1, 152-157 (2006).
- [11] X. Huang, J. Lin, D. Yuan. Simple and sensitive determination of nitroimidazole residues in honey using stir bar sorptive extraction with mixed mode monolith followed by liquid chromatography. *Journal Separation Science*. **34**, 2138-2144 (2011).
- [12] H.-W. Sun, F.-C. Wang, L.-F. Ai. Simultaneous determination of seven nitroimidazole residues in meat by using HPLC-UV detection with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B*. **857**, 296-300 (2007).

- [13] C.S. Thompson, I.M. Traynor, T.L. Fodey, S.R. Crooks. Improved screening method for the detection of a range of nitroimidazoles in various matrices by optical biosensor. *Analytica Chimica Acta*. **637**, 259–264 (2009).
- [14] J.V. Flores-Cano, M. Sánchez-Polo, J. Messoud, R. Velo Gala, J. Rivera-Utrilla. Overall adsorption rate of metronidazole, dimetridazole and diatrizoate on activated carbons prepared from coffee residues and almond shells. *Journal of Environmental Management*. **169**, 116-125 (2016).
- [15] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez. Relationship of multidimensional predominance-zone diagrams with multiconditional constants for complexation equilibria. *Anal Chim Acta*. **246**, 435–442 (1991).
- [16] D. C. Harris, *Análisis químico cuantitativo*, Reverte, 190-192, (2007).

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO SOBRE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ÁCIDO CARMÍNICO CON COBRE (II)

Aranza Roldán González^a, Gerardo Reyes García^a, Edgar Islas-Ortíz^a,
Ulrich Briones Guerash Silva^a, Octavio Reyes Salas^{a*}.

^aUniversidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Química Analítica. Ciudad Universitaria. Alcaldía Coyoacán. 04510 Ciudad de México. México
+525554210938 E-mail: oresal@quimica.unam.mx

Introducción

La grana cochinilla (*Dactylopius coccus*) es un insecto parásito de los cladodios y frutos de la tuna *Opuntia ficus-indica* [6], del cual se extrae un pigmento de color rojo denominado ácido carmínico (que puede constituir entre el 10% y 19.5% aproximadamente del peso del animal seco, lo que permite considerar de primera calidad si tiene alto contenido de carmínico o de segunda calidad si tiene menos) [4]). Este pigmento es un c-glucósido que, de acuerdo con la acidez del medio, puede presentar tonalidades naranjas a pH bajo, rojo intenso a pH ligeramente ácido y neutro, y violetas en pH alcalino [2]. Históricamente, este colorante se ha utilizado en México en la industria textil, el arte y la gastronomía [8].

El ácido carmínico (AC) posee la capacidad de formar quelatos con diferentes iones metálicos [2]. Dependiendo de la identidad y concentración del ion metálico, así como de la composición del medio, se pueden obtener complejos de ácido carmínico con aluminio, calcio, estaño, hierro o bario con una coloración y estabilidad muy variada. Los complejos antes mencionados han encontrado una vasta aplicación en la industria textil y el arte [7]. En este sentido, el estudio de la formación de complejos de ácido carmínico con cobre (II) representa una ventana de oportunidad para su aplicación en distintos productos finales [5].

La estequiometría de los complejos formados entre ácido carmínico y Cu (II), así como sus correspondientes constantes de formación, se pueden determinar mediante el uso de técnicas electroquímicas como la potenciometría y la polarografía.

La potenciometría es una técnica que se basa en la medida de la diferencia de potencial entre electrodos sumergidos en una disolución, siendo el potencial de uno de ellos, denominado electrodo indicador, una función de la concentración de determinados iones presentes en el medio, de tal forma que la medida de los potenciales de electrodo puede permitir obtener de forma directa la concentración de una sustancia en condiciones de baja concentración de otros iones y con potenciales separados entre sí, y su evolución en el transcurso de una reacción química [3].

De igual forma, la polarografía es una técnica electroquímica en la que el electrodo de trabajo consiste en un electrodo de gota de mercurio al que se le impone un determinado programa de potencial en función del tiempo, a la vez que se monitorea la corriente que fluye a través del circuito. La polarografía diferencial de impulsos es una variante de

polarografía que se caracteriza por permitir obtener una mayor sensibilidad que la polarografía clásica [1].

En este trabajo se presentan resultados experimentales sobre la determinación de la estequiometría de los complejos de ácido carmínico con cobre (II), obtenidas mediante las técnicas de potenciometría y polarografía, permitiendo así comparar los resultados de ambas técnicas.

Parte experimental

Se realizó una titulación complejométrica de una disolución de ácido carmínico $0.0159 \text{ mol L}^{-1}$ con una disolución de Cu (II) $0.0187 \pm 0.0015 \text{ mol L}^{-1}$. El monitoreo de la reacción se realizó por medio de potenciometría y polarografía diferencial de impulsos. Las disoluciones de ácido carmínico y Cu (II) empleadas se valoraron previamente por medio de volumetrías ácido-base y de complejos, respectivamente.

Para la titulación potenciométrica se utilizó un electrodo de referencia de Ag/AgCl (3 mol L^{-1}) y un alambre de cobre como electrodo de trabajo. El potencial se midió con ayuda de un milivoltímetro.

Para el monitoreo por polarografía diferencial de impulsos, se utilizó como electrolito soporte una disolución amortiguadora de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 0.2 mol L^{-1} a $\text{pH}=10$. Durante la titulación, la concentración inicial de ácido carmínico fue de $1.5743 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ y se realizaron adiciones de $20 \mu\text{L}$ de la disolución de Cu (II). Se utilizaron los siguientes parámetros: velocidad de barrido de 5 mV s^{-1} , amplitud de impulso de 50 mV , tiempo de pulso 40 ms , potencial de inicio 0 mV y potencial final -1700 mV . Se partió de una concentración en celda para ácido carmínico de $1.5743 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, en medio básico $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ $\text{pH } 10$, realizando adiciones de $20 \mu\text{L}$ de Cu (II) $0.0187 \pm 0.0015 \text{ mol L}^{-1}$.

Resultados y discusión

Potenciometría

A partir de la titulación potenciométrica se observan 2 puntos de equivalencia indicados en la figura 1, el primero en 39 mV a una fracción molar de 0.609 , indicando una estequiometría probable de cobre (II):ácido carmínico $1:2$ (que podría representarse como CuAC_2^{4-} , aun cuando no se conozca su forma exacta). Un segundo punto de equivalencia aparece en 47 mV a una fracción molar de 0.994 , indicando una probable estequiometría $1:1$ (que podría representarse como CuAC^{1-}).

POTENCIOMETRÍA ÁC. CARMÍNICO - COBRE (II)

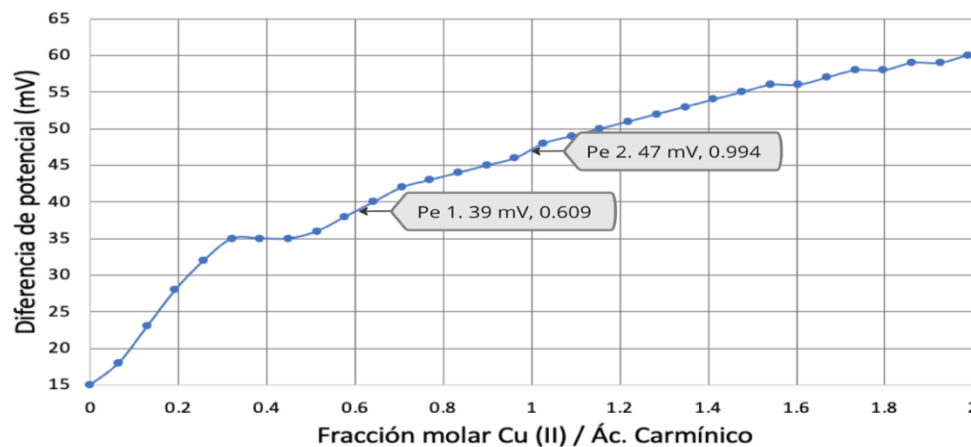


Figura 1. Titulación potenciométrica de ácido carmínico con cobre (II). Pe: punto de equivalencia. CuSO_4 $0.0187 \pm 0.0015 \text{ mol L}^{-1}$. Ácido carmínico $0.0146 \text{ mol L}^{-1}$, alícuota 10 mL.

Polarografía

Las señales obtenidas por polarografía diferencial de impulsos para diferentes concentraciones de Cu (II) en ácido carmínico graficadas en la Figura 2. muestran las variaciones de intensidad de la corriente de pico respecto a la diferencia de potencial, destacando las señales en -287 mV y -246 mV de las cuales se elaboró el gráfico presentado en la Figura 3., que relaciona la curva de intensidad de corriente de pico vs la relación molar $\text{Cu}^{2+} / \text{Ác. Carmínico}$.

POLAROGRAMA DIFERENCIAL DE IMPULSOS

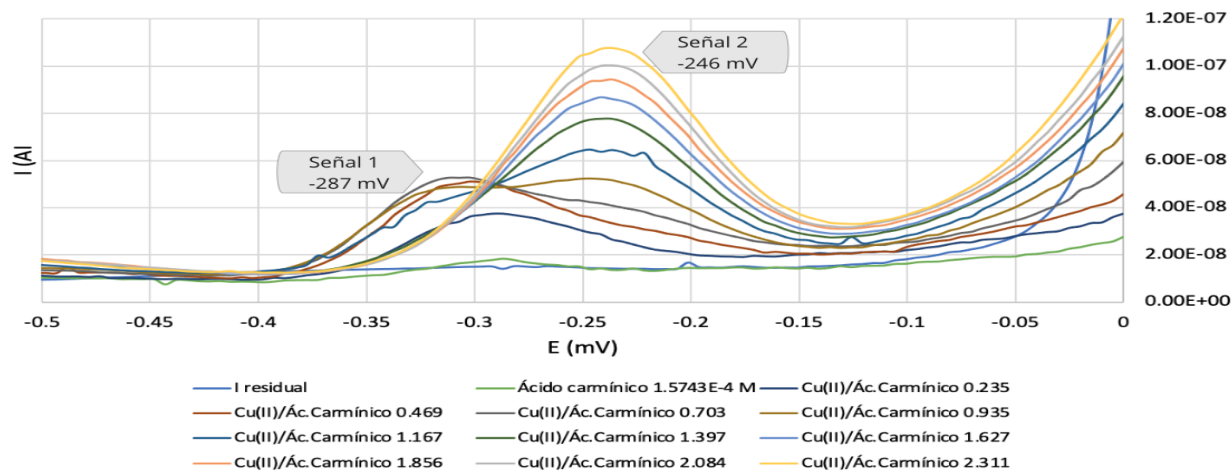


Figura 2. Polarograma diferencial de impulsos de ácido carmínico $1.5743 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ con diferentes concentraciones de Cu (II) y residual (blanco). Condiciones de trabajo: potencial de inicio 0 V, potencial final: -1.7 V , velocidad de barrido: 0.005 V s^{-1} , amplitud de impulso: 0.050 V y tiempo de impulso: 0.040 s . Medio: $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 0.2 mol L^{-1} a $\text{pH}=10$.

A partir de la Figura 3, donde para la señal en -287 mV se observa un cambio de pendiente cercano a 0.5, se confirma la estequiometría cobre (II) - ácido carmínico 1:2 (CuAC_2^{4-}) y ésta misma señal se intersecta con la señal 2 en -246 mV en un valor cercano a 1, confirmando así la estequiometría cobre (II) - ácido carmínico 1:1 (CuAC^{1-})

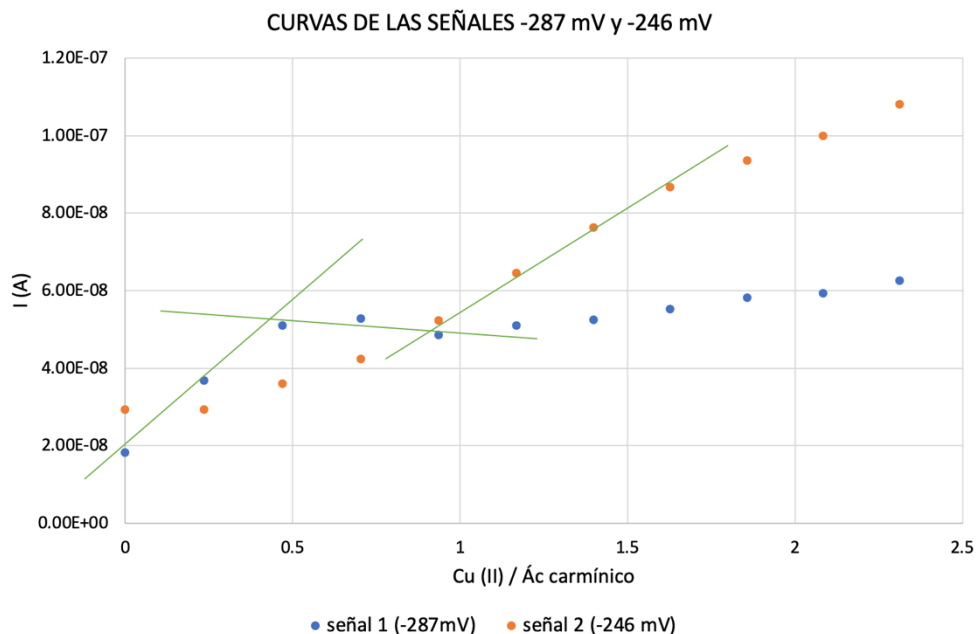


Figura 3. Curvas de intensidad de corriente de pico vs fracción molar Cu (II) / ácido carmínico, para las señales a -287 mV y -246 mV

Conclusiones

Mediante una titulación potenciométrica se identificaron la formación de los complejos cobre (II) – ácido carmínico con una estequiometría 1:1 (CuACH), 1:2 (CuAC_2H_4). Utilizando la técnica de polarografía diferencial de impulsos también se confirmó la formación de los complejos de estequiometría 1:1 (CuAC^{1-}), y 1:2 (CuAC_2^{4-}) en medio $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 0.2 mol L^{-1} a $\text{pH}=10$ (desde luego, la escritura de los complejos es aún provisional pues no se conoce la forma exacta en que se encuentran en disolución). La determinación polarográfica muestra con mayor claridad los puntos de equivalencia.

Referencias

- [1] A. Castro. Manejo de sensores potencioestáticos mediante patrones de potencial. Universidad Autónoma de Madrid, España. (2017). https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/681204/Castro_Beltran_Alejandro_tfm.pdf?sequence=1#:~:text=La%20polarograf%C3%ADa%20es%20una%20subclase,de%20la%20muestra%20%5B9%5D.

- [2] A. Mortensen. "Carotenoids and other pigments as natural colorants" *Pure and Applied Chemistry*, **78**, no. 8, 1477-1491 (2006). <https://doi.org/10.1351/pac200678081477>
- [3] A. Trujillo, P. Vega, y L. Barajas. (2014). Potenciometría: Usos y Aplicaciones. *CienciaCierta* #38, México (2014). <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2014/06/05/potenciometria-usos-y-aplicaciones/>
- [4] C. Aldama-Aguilera, C. Llanderal-Cázares. Producción de grana-cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en plantas de nopal a la intemperie y en microtúneles. *Agrociencia*. 37, 11-19. 4
- [5] E. Islas-Ortíz. Aporte analítico al estudio de colorantes naturales. Tesis maestría UNAM (2016)
- [6] L. Rodríguez, E. Faúndez, et all. (2005). Factores Bióticos y Concentración de Ácido Carmínico en la Cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). *Agric. Téc.* **65** n.3, 323-329, Chile (2005).
- [7] R. Dapson. "La historia, la química y los modos de acción del carmín y colorantes relacionados." *Biotécnica e histoquímica*, **82**, 4-5, 173 – 187 (2007). págs. <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/10520290701704188?src=getftr>
- [8] Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales. Tintes naturales de México, rica gama de colores que admira el mundo. Gobierno de México. (2021). <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/tintes-naturales-de-mexico-rica-gama-de-colores-que-admira-el-mundo-276972?idiom=es>

EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE CANNABIDIOL EN MUESTRAS COMERCIALES DE SNACKS PARA MASCOTAS MEDIANTE DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS Y CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Javier Iván García Mendoza^a, Yuliana Guadalupe López Tafoya^a, Irán Ocaña Ríos^b, Araceli Peña Álvarez^b, José de Jesús Olmos Espejel^{a*}

^aLaboratorio de Análisis Instrumental y Química Analítica Verde, Sección de Química Analítica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 55 54 62 34 51. email: jjolmos@cuautitlan.unam.mx

^bDepartamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM. Av. Universidad 3000, CU, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Introducción

El cannabidiol (CBD) es uno de los principios activos más abundantes en las plantas de cannabis, seguido del delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), compuestos que han sido destacados por sus potenciales terapéuticos [1]. Sin embargo, una de las grandes diferencias es que el CBD no posee efectos psicoactivos, teniendo así una gran ventaja para aprovechar sus propiedades. En la actualidad el estudio del CBD ha favorecido tanto humanos como animales con el objetivo de prevenir la ansiedad y estrés desencadenado por diferentes factores. Por lo cual, la acción medicinal del CBD también está enfocada en reducir problemas articulares, convulsiones epilépticas, y se investiga su uso para contrarrestar enfermedades autoinmunes, neurodegenerativas, fobias, pérdida de apetito, entre otras [2].

Se han encontrado estudios en los que el uso de cannabis medicinal puede disminuir los efectos ansiolíticos en mascotas aplicando dosis de 1.4 mg de CBD/kg de peso corporal por día. Sin embargo, Gamble, en el 2018; aseguró que la dosis adecuada es de 2 mg de CBD/kg peso corporal por día. Además, existen varios productos en el mercado en los cuales la dosis efectiva recomendada para disminuir la ansiedad en mascotas es de 2 mg/kg de peso por día [2]. A partir de este análisis, surge la pregunta de si se tienen efectos secundarios en las mascotas por una sobredosis de CBD. Los problemas más comunes reportados por veterinarios son el letargo y la somnolencia. Algunos efectos secundarios extremos reportados incluyen vómito y picazón, pero estos casos son extremadamente raros. Estos efectos pueden durar desde varias horas hasta un par de días, dependiendo de la cantidad ingerida, es por esta razón que se debe indicar la cantidad de producto que se debe de dar por kg de peso [3]. En este trabajo, para el análisis del cannabidiol se plantea el desarrollo de un método de extracción sólido-líquido con disolventes eutécticos profundos naturales (NADES, por sus siglas en inglés). La innovación de esta técnica se basa precisamente en cambiar los disolventes orgánicos comunes que se utilizan, y que suelen ser peligrosos para el medio ambiente y la salud humana, por NADES. Estos se crean a partir de una mezcla adecuada de aceptores de puentes de hidrogeno (HBA) y donadores de puentes de hidrogeno (HBD) que pueden auto-asociarse a través de interacciones de puentes de hidrogeno. Sus principales características son poseer un punto de fusión inferior al de los componentes puros, una muy baja volatilidad, baja toxicidad y ser biocompatibles, entre otras [4].

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios han utilizado NADES con características hidrofílicas, lo que reduce el rango de compuestos extraíbles para extender su uso en la extracción de compuestos no polares. En este trabajo se evaluará un NADES hidrofóbico basado en mentol (HBA) y ácido acético glacial (HBD).

El objetivo de esta investigación es el desarrollo y validación de un método analítico para la cuantificación de CBD en snacks para mascotas, mediante una técnica de extracción sólido-líquido implementando disolventes eutécticos profundos seguida del análisis por HPLC, que permita evaluar el contenido de los productos comerciales disponibles actualmente.

Parte experimental

Condiciones del análisis cromatográfico

Todos los análisis fueron realizados en un HPLC modelo 1100 Series (Agilent Technologies). Se utilizó una columna Symmetry® C18, de 75 mm de largo por 4.6 mm de diámetro interno y un diámetro de partícula de 3.5 μ m. Como fase móvil se utilizó A) Acetonitrilo y B) Agua + H₃PO₄ 0.02%. El modo de elución fue en gradiente iniciando con 70 % A manteniéndose durante 6 minutos, después cambiando a 90 % A a los 9 min y manteniéndose hasta los 11 minutos. El tiempo de equilibrio fue de 5 min y el flujo fue de 0.8 mL/min. Se estableció una temperatura de 40°C para la columna y la longitud de onda de análisis fue de 240 nm.

Preparación de NADES

Se pesaron las cantidades correspondientes de los reactivos mentol y ácido acético glacial en una relación molar 1:1. Con ayuda de agitación magnética se mezclaron manteniendo una temperatura de 40°C y almacenándolo en un desecador.

Muestras de snacks para mascotas

Para la optimización del método se utilizaron muestras comerciales de snacks para mascotas, las cuales en su marbete indican el contenido de CBD. Los snacks se homogenizaron con un mortero de ágata y se almacenaron en bolsas de plástico a temperatura ambiente hasta su uso.

Técnica de extracción sólido-líquido con NADES

Se utilizaron 40 mg de snack para mascotas y se colocó en un tubo Ependorf de 2 mL, añadiendo 800 μ L de NADES. Se agitó durante 15 s con ayuda de un vórtex y posteriormente se pasó a un baño ultrasónico durante 10 min regulando la temperatura a 30°C. El extracto obtenido se centrifugó a 4000 rpm durante 10 min. Después, el sobrenadante se pasó por un cartucho de extracción en fase sólida Captiva EMR-Lipid de 3 mL con 300 mg de fase para la eliminación de grasa e impurezas. Finalmente, se aplicó una mezcla de 80% ACN/20% H₂O y se recuperó el primer mililitro.

Validación del método

Para evaluar la linealidad del método se fortificaron diferentes muestras de snacks sin CBD en el intervalo de concentraciones de 125 a 750 $\mu\text{g/g}$. La linealidad se evaluó con el coeficiente de determinación (r^2) de la curva obtenida al graficar la respuesta en función de la concentración agregada. El recobro se evaluó multiplicando por 100 el valor de la pendiente de la curva obtenida al graficar la cantidad recuperada = $f(\text{cantidad agregada})$. Se evaluó la repetibilidad interdía analizando muestras fortificadas a dos diferentes concentraciones, 125 $\mu\text{g/g}$ y 375 $\mu\text{g/g}$.

Análisis de las muestras de snacks para mascotas con CBD

Se analizó por triplicado una muestra de galletas para perro que contiene CBD, aplicando las condiciones de extracción y análisis optimizadas. Se determinó la cantidad de analito por galleta y se comparó con lo indicado en la etiqueta.

Resultados y discusión

Condiciones del análisis cromatográfico

Las condiciones de análisis permitieron separar adecuadamente el CBD. En la Figura 1 se muestra la comparación de los cromatogramas de un estándar de CBD a 5 $\mu\text{g/mL}$, con un blanco de NADES y una muestra fortificada a 125 $\mu\text{g/g}$.

Comparación con distintas mezclas de NADES

Se utilizaron distintos NADES para la extracción de CBD, los cuales fueron ácido decanoico:mentol, ácido octanoico:mentol y ácido acético:mentol. Todos a una proporción molar 1:1. Como se muestra en la Figura 2, el NADES que logró extraer el CBD fue el de mentol:ácido acético.

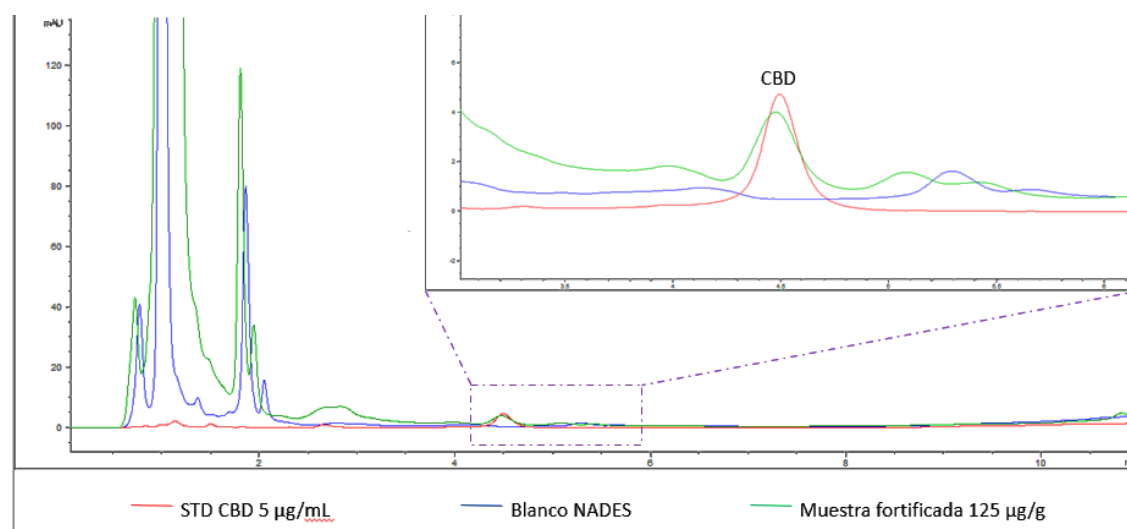


Figura 1. Cromatograma obtenido con las condiciones de separación optimizadas para CBD.

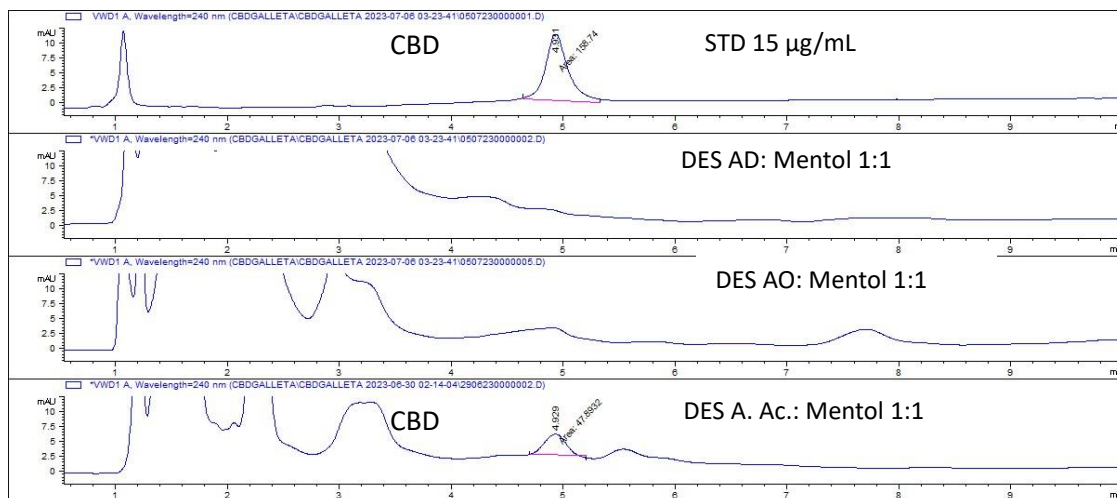


Figura 2. Comparación de diferentes NADES. AD = Ácido decanóico, AO = Ácido octanóico, A. Ac. = Ácido acético.

Optimización del método de extracción sólido-líquido con NADES

Se probaron distintos tiempos de agitación con vórtex y ultrasonido para obtener las condiciones óptimas de extracción del CBD, teniendo así un mejor resultado con un tiempo de agitación con vórtex de 15 s y un tiempo de ultrasonido de 10 min, ya que permiten obtener una mayor respuesta como se observa en la Figura 3.

Optimización de la proporción muestra-NADES

Se probaron distintas proporciones tanto de la muestra de snack como del NADES. Se realizó una tabla ANOVA de una vía y no hubo diferencia significativa. Se eligieron las condiciones de 40 mg de galleta y 800 µL de NADES ya que proporcionaron una mayor respuesta promedio y una desviación estándar intermedia.

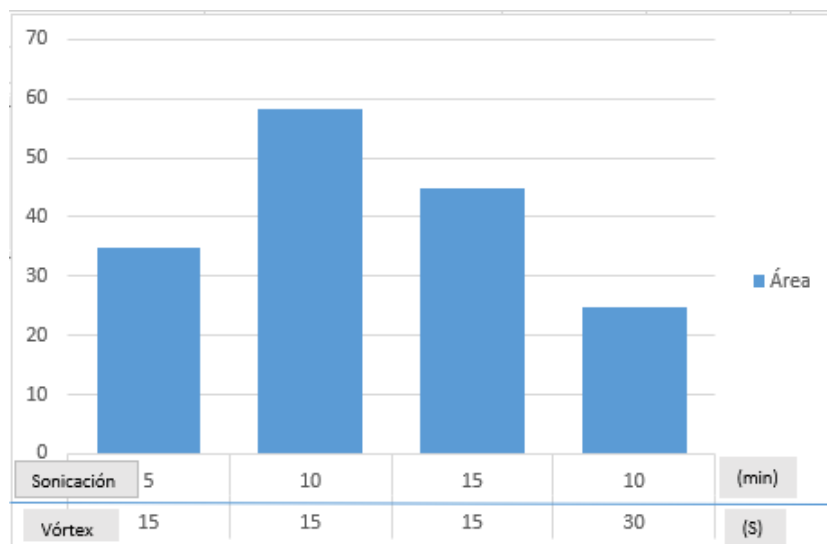


Figura 3. Optimización de la metodología en el extracto de CBD.

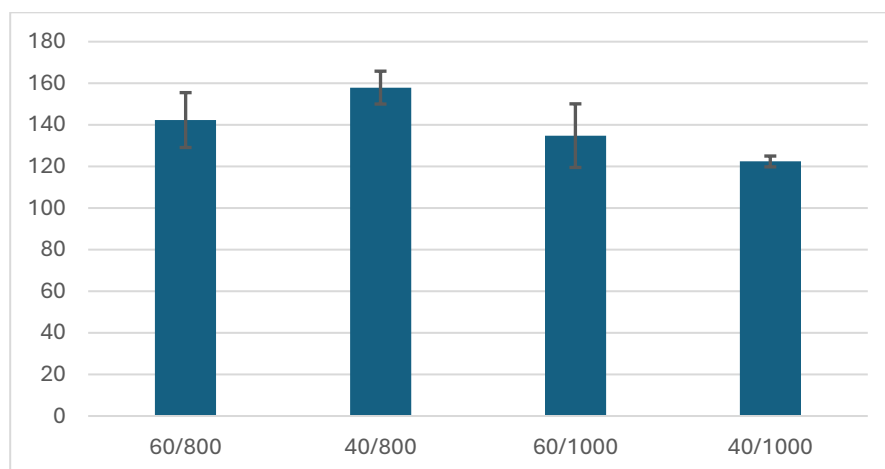


Figura 4. Optimización de la proporción muestra (mg)/DES (μL) para la extracción de CBD.

Validación del método de extracción sólido-líquido con NADES

En la Tabla 1 se resumen los resultados obtenidos para la validación del método desarrollado. Se obtuvo una buena linealidad con $r^2=0.9861$ y un recobro promedio de 83.8%. La repetibilidad fue aceptable para concentración de 125 $\mu\text{g/g}$ según los criterios reportados por Horwitz [5] con $\text{CV \%}<12.48$ y para la concentración de 375 $\mu\text{g/g}$ con $\text{CV \%}<10.58$ es alto. Los límites de aceptación del efecto matriz son $120\%<\text{EM}\%<80\%$ de acuerdo con los resultados de la Tabla 1, no hay efecto matriz para ambas concentraciones. Los límites de detección y cuantificación se encontraron entre 35 y 115 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

Tabla 1. Resultados de la validación del método de extracción sólido-líquido con NADES

Analito	CBD	
Ecuación	$\text{Área} = -4.8(\pm 11.2) + 0.418(\pm 0.023) * [\text{CBD}]$	
r^2	0.9861	
% de recobro promedio	83.8	
Repetibilidad	125 $\mu\text{g/g}$	6.1
C.V.% (n=3)	375 $\mu\text{g/g}$	10.7
Efecto Matriz (EM) %	125 $\mu\text{g/g}$	93.8
	375 $\mu\text{g/g}$	89
L.D.	35 $\mu\text{g/g}$	
L.C.	115 $\mu\text{g/g}$	

Aplicación del método a muestras de snacks para mascotas con CBD

De la muestra analizada de snack para mascota con CBD de la marca Waggy, el contenido de CBD reportado es de 1.5 mg/galleta y se obtuvo un valor promedio (n=3) de 0.62 mg/galleta, es decir, 41.33% del reportado. El método se continúa aplicando a otras muestras.

Conclusiones

El método analítico propuesto permite la cuantificación de CBD en snacks para mascotas, sin utilizar disolventes orgánicos comunes los cuales son altamente tóxicos. La técnica de extracción sólido-líquido con NADES presentó buenos parámetros de validación. La muestra analizada no contiene el nivel de CBD indicado en la etiqueta.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los proyectos CONACYT 321878 y DGAPA-PAPIIT IN227323 por el apoyo financiero.

Referencias

- [1] B. Polloni Bórquez. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile **5**, 1-16 (2021).
- [2] D.O. Ramírez Sánchez. Universidad de las Américas. México. (2022).
- [3] S. McGrath, L. Bartner, S. Rao, R.A. Packer, D.L. Small Animals, Exotic, & Avian **254**, 1301-1308 (2019).
- [4] T. Křížek, M. Bursová, R. Horsley, M. Kuchař, P. Tůma, R. Čabala, T. Hložek. Journal of Cleaner Production. **193**, 391-396 (2018).
- [5] W. Horwitz, R. Albert. Journal of AOAC International. **89**, 1095-1109 (2006).

DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS COMO UNA OPCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA VERDE PARA LA EXTRACCIÓN DE BISFENOLES EN TÉ Y SU ANÁLISIS POR CROMATOGRFÍA DE LÍQUIDOS.

Abigail Medina Miranda^a, Irán Ocaña Ríos^b, Araceli Peña Álvarez^b, José de Jesús Olmos Espejel^{a*}

^a Laboratorio de Análisis Instrumental y Química Analítica Verde, Sección de Química Analítica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 55 54 62 34 51. email: jjolmos@cuautitlan.unam.mx

^b Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM. Av. Universidad 3000, CU, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Introducción

Los bisfenoles son un grupo de compuestos químicos que contienen dos anillos fenilo conectados por un pequeño grupo de enlace. Son producidos en grandes cantidades para su uso en la fabricación de plásticos de policarbonato, por lo que se encuentran en productos como botellas de agua y resinas epóxicas que recubren latas de alimentos, tapas de botellas y diversos empaques de alimentos [1].

En este sentido, se puede esperar que los alimentos y bebidas que están en contacto con este tipo de materiales contengan trazas de bisfenoles debido a la migración de los materiales de empaque. Esto constituye un tema de preocupación considerando que, desde hace algunos años, se ha descubierto que pueden actuar como disruptores endócrinos provocando graves alteraciones a la salud tales como cáncer, diabetes, obesidad e incluso problemas de fertilidad [1,2].

Particularmente, la exposición al bisfenol A ha alarmado a muchos países y ha sido el ímpetu de las regulaciones que restringen e incluso prohíben su producción y uso en países como EE. UU., la Unión Europea, Canadá, entre otros [2].

Entre los métodos de extracción aplicados a estos analitos, se encuentra la extracción líquido-líquido que utiliza disolventes orgánicos tóxicos como disolvente extractante. Una alternativa más ecológica para la extracción de estos contaminantes en matrices acuosas son los Disolventes Eutécticos Profundos (Deep Eutectic Solvents, DES). Estos disolventes son el resultado de la mezcla de dos o más compuestos, un aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA) y un donante de enlaces de hidrógeno (HBD), con la capacidad de relacionarse entre sí mediante interacciones de enlaces de hidrógeno. De esta forma, la entidad química obtenida tiene un punto de fusión inferior al de los compuestos iniciales formando mezclas en estado de agregación líquido [3,4].

Se han utilizado como donantes de hidrógeno al ácido octanoico (AOc), ácido decanoico (AD), ácido láurico (AL) y ácido oleico (AOI); y como aceptores de hidrógeno al cloruro de tetrabutilamonio (TBAC), prolina y L-mentol, por mencionar algunos [5,6].

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un método de microextracción líquido-líquido de seis bisfenoles utilizando disolventes eutécticos seguido de análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución para monitorear la presencia y/o niveles de estos contaminantes en muestras de agua y té.

Parte Experimental

Análisis por HPLC-UV

Se utilizó un equipo de HPLC de la marca Agilent modelo 1100 con detector UV. En la Tabla 1 se resumen las condiciones de análisis óptimas.

Tabla 1. Condiciones cromatográficas

Parámetro	Condiciones	
Columna	Poroshell 120 EC-C18 3 x 100 mm, 2.7 μ m	
Fase móvil	Inicio	t=0 min ACN:Agua (40:60 %v/v)
	Fin	t=10 min ACN:Agua (90:10 %v/v)
Tiempo de equilibrio	5 min	
Flujo	0.6 mL/min	
Volumen de inyección	5 μ L	
Temperatura de la columna	30 °C	
Longitud de onda	235 nm	

Preparación del Disolvente Eutéctico Profundo (DES)

Se prepararon dos disolventes eutécticos en relación molar 2:1, los cuales fueron AD-TBAC y AD-Mentol, respectivamente. Para la preparación del DES formado por AD-TBAC, se pesaron cuidadosamente 755 mg de AD y 600 mg de TBAC por separado y se mezclaron en un vial transparente a temperatura ambiente con ayuda de una barra y un agitador magnéticos durante 15 minutos. Por su parte, el DES formado por AD-Mentol se preparó mezclando en un vial transparente 700 mg de AD y 316 mg de Mentol, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos utilizando una barra y un agitador magnéticos.

Extracción de los analitos en agua por microextracción líquido-líquido (LLME) utilizando Disolventes Eutécticos Profundos (DES)

Para la microextracción se colocaron 8 mL de agua en un tubo de centrifuga y se agregaron 300 μ L del DES. Para la extracción se utilizó una jeringa de vidrio, el proceso consistió en extraer y liberar rápidamente una pequeña cantidad de la disolución, con lo cual se formó un estado difuso y múltiples gotas que facilitan la extracción de los analitos. Este paso se repitió ocho veces.

Posteriormente, se centrifugó la disolución a 4000 rpm por 6 minutos. Para separar la fase que contiene el DES y los analitos, se colocó el tubo de centrifuga invertido en un congelador y tras 12 minutos se separó la fase acuosa aún líquida. La fase que contiene el DES se recuperó de las paredes del tubo con 500 μ L de acetonitrilo y se aforó a 1 mL con el mismo disolvente. El extracto obtenido fue analizado por cromatografía de líquidos. Este procedimiento se probó utilizando 300 y 500 microlitros del disolvente eutéctico para evaluar el efecto del volumen de DES sobre la extracción de los bisfenoles.

Validación del método por LLME-DES seguido de análisis por HPLC-UV para muestras de agua.

Se utilizaron muestras de agua fortificadas con los bisfenoles en el intervalo de 395 a 6275 ng mL⁻¹. Con estos se llevaron a cabo microextracciones por triplicado utilizando 300 µL del DES formado con AD:Mentol (2:1).

La linealidad se evaluó con el coeficiente de determinación (r^2) de la curva de calibración del método. La reproducibilidad en función de la repetibilidad interdía se obtuvo mediante el %DER a una concentración de 1560 ng mL⁻¹. Los límites de detección y cuantificación se determinaron como la concentración que produce una señal que tiene una relación señal/ruido (S/N) igual a 3 y a 10, respectivamente.

Evaluación del efecto matriz en muestras de té

Para verificar si existe una variación en la respuesta instrumental debida a la utilización de té como muestra, se prepararon por triplicado extractos de té fortificados a 780 y 5100 ng mL⁻¹. Estos se compararon con la señal promedio de un estándar de la misma concentración y se obtuvo la relación en porcentaje de la señal del extracto respecto al estándar de cada analito.

Resultados y Discusión

Condiciones del Análisis Cromatográfico

Las condiciones cromatográficas resumidas en la Tabla 1 permitieron una adecuada separación tanto de los analitos en un estándar como en extractos de muestras de agua fortificadas, obtenidos utilizando los dos diferentes disolventes eutécticos, tal como se aprecia en la Figura 1. Cabe señalar que ninguno de los dos disolventes permitió la correcta separación del bisfenol A diglicidil éter (BADGE). Por esta razón, dicho bisfenol no se contempla en el análisis de resultados.

Efecto del tipo de DES sobre la extracción de los bisfenoles

Como se aprecia en la Figura 2, el DES que mostró una mejor extracción de los bisfenoles fue el formado por AD-Mentol (2:1), lo cual se refleja en las áreas obtenidas en los extractos para los analitos, comparadas con las áreas respectivas de un estándar utilizado como control.

Efecto del volumen de DES sobre la extracción de los bisfenoles

El volumen de DES que extrajo de mejor forma a los analitos fueron 300 µL, como se puede observar en la Figura 3. En este se aprecia que las áreas obtenidas para un extracto fortificado son mayores cuando se utilizan 300 µL del DES, comparadas con las áreas respectivas al utilizar 500 µL.

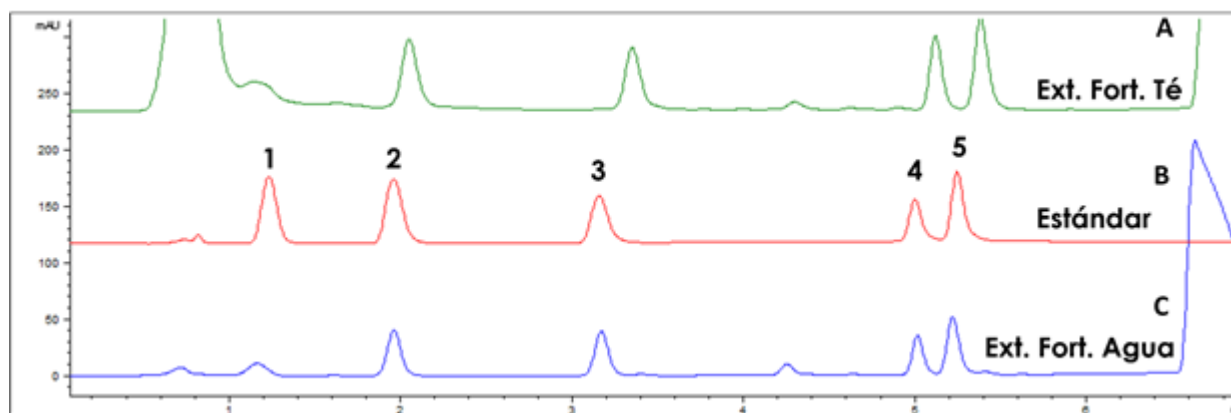


Figura 1. Cromatograma A) extracto de té fortificado con 3120 ng/mL de los bisfenoles B) estándar con los cinco bisfenoles de concentración 12.5 µg/mL (donde: 1= bisfenol-S, 2=bisfenol-F, 3=bisfenol-A, 4=bisfenol-AF y 5=bisfenol-Z) y C) extracto de agua fortificado con 3120 ng/mL de los bisfenoles. Todos obtenidos con las condiciones mostradas en la Tabla 1 y utilizando el disolvente eutéctico ácido decanoico-mentol (2:1) como extractante.

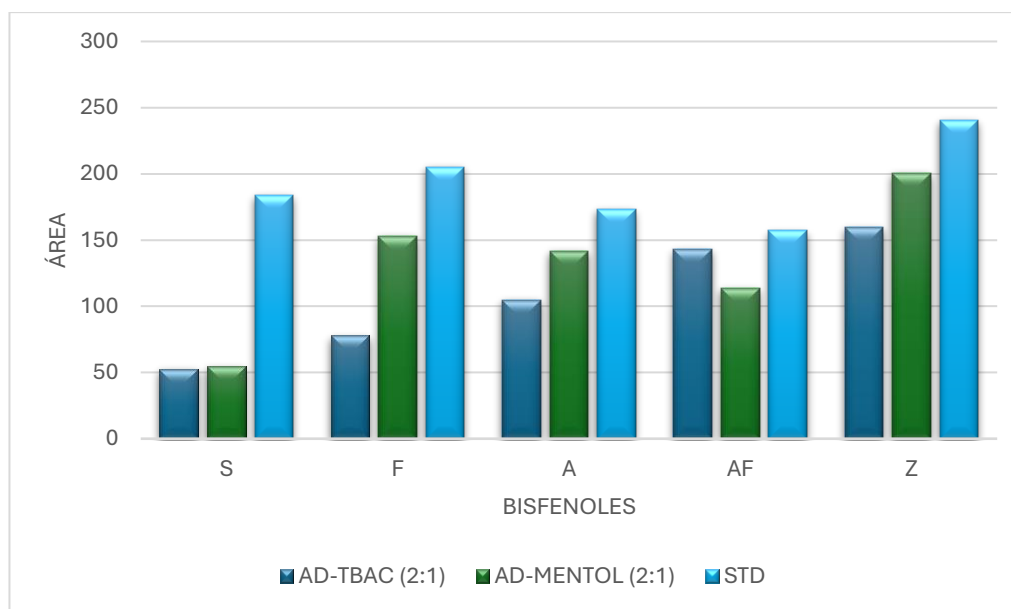


Figura 2. Comparación de la extracción de los analitos utilizando dos diferentes DES.

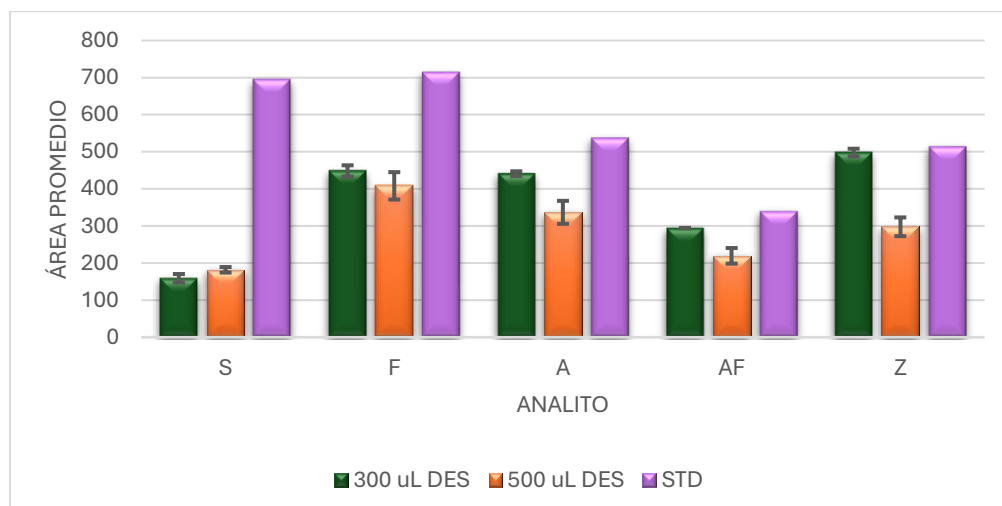


Figura 3. Comparación de la extracción utilizando 300 y 500 µL del DES AD-Mentol (2:1)

Validación del método

Con base en los valores de r^2 obtenidos, se pudo corroborar la linealidad del método en el intervalo de concentraciones analizado ya que se obtuvieron valores mayores a 0.99 para los analitos, excepto el bisfenol Z ($r^2 = 0.9741$).

Asimismo, se obtuvo un valor aceptable de coeficiente de variación ya que fue menor a 7% para todos los analitos. Los límites de cuantificación ($S/N = 10$) están en el rango de 24 a 159 ng mL^{-1} , mientras que los límites de detección ($S/N = 3$) están en el rango de 8 a 53 ng mL^{-1} .

Tabla 2. Parámetros de validación

Bisfenol	r^2	Ecuación de la recta $y=mx+b$	Repetibilidad d 1560 ng mL^{-1} (CV% n=6)	LD (ng mL^{-1})	LC (ng mL^{-1})
S	0.9970	$y=0.046 (\pm 0.002) \text{ mL ng}^{-1} [\text{BPS}] + 5 (\pm 6)$	5	49	147
F	0.9903	$y=0.118 (\pm 0.006) \text{ mL ng}^{-1} [\text{BPF}] + 35 (\pm 21)$	3	53	159
A	0.9916	$y=0.124 (\pm 0.006) \text{ mL ng}^{-1} [\text{BPA}] + 23 (\pm 21)$	4	11	33
AF	0.9954	$y=0.087 (\pm 0.003) \text{ mL ng}^{-1} [\text{BAF}] + 11 (\pm 11)$	8	13	39
Z	0.9741	$y=0.144 (\pm 0.012) \text{ mL ng}^{-1} [\text{BPZ}] + 15 (\pm 42)$	7	8	24

Efecto matriz para la extracción en muestras de té

Como se aprecia en la Tabla 3, los resultados indican que existe una variación en la respuesta instrumental debida a la presencia de otros componentes en el té, dado que

hay una variación mayor al $\pm 20\%$ del área relativa al área de un estándar. Es por ello por lo que para aplicar el método a muestras de té se analizaron blancos fortificados para poder cuantificar a los bisfenoles utilizando una curva de calibración en matriz.

Tabla 3. Resultados de la evaluación del efecto matriz (EM) en el análisis de bisfenoles en té.

ANALITO	780 ng mL ⁻¹				5100 ng mL ⁻¹			
	ÁREA PROM. STD n=3	ÁREA PROM. EXTRACTO FORTIFICADO n=3	EM PROMEDIO	DESV. EST.	ÁREA PROM. STD n=3	ÁREA PROM. EXTRACTO FORTIFICADO n=3	EM PROMEDIO	DESV. EST.
F	41	53	127	8	156	280	179	10
A	34	25	74	15	121	181	149	6
AF	28	12	44	4	92	88	96	16
Z	44	14	32	1	138	95	69	5

Conclusiones

Se desarrolló y validó un método de microextracción líquido-líquido utilizando disolventes eutécticos profundos que permite cuantificar cinco bisfenoles en niveles de ppb en muestras de agua. Sin embargo, el método no permite la cuantificación del bisfenol A diglicidil éter. El efecto matriz continuará siendo evaluado para poder aplicar el método a muestras de té comerciales.

Agradecimientos

A la DGAPA-UNAM por el proyecto PAPPIT IN227323, al CONACyT por el proyecto 321878 y a la FES Cuautitlán por las Cátedras de Investigación CI2263.

Referencias

- [1] A. S. Alnaimat, M. C. Barciela-Alonso, P. Bermejo-Barrera. *Microchemical Journal*. **147**, 598-604 (2019)
- [2] P. Loganathan, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, T. V. Nguyen, A. Katarzyna Cuprys, H. Ratnaweera. *Chemosphere*. **328**, 138560 (2023).
- [3] J. Płotka-Wasyłka, M. Rutkowska, M. de la Guardia. *Journal of Chromatography A*. **1639**, 461918 (2021)
- [4] Santana-Mayor, R. Rodríguez-Ramos, A. V. Herrera-Herrera, B. Socas-Rodríguez, M. A. Rodríguez-Delgado. *Trends in Analytical Chemistry*. **134**, 116108 (2021)
- [5] T. El Achkar, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin. *Environ Chem Lett*. **19**, 3397–3408 (2021).
- [6] K. Zhang, Y. Wang, S. Li, G. Zhu. *Food Chemistry*. **348**, 129106 (2021)

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE UN REMEDIO HERBOLARIO PARA LA DIABETES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Graciela Martínez Mendoza, Juan Saulo González González ^a, Ma. Del Carmen Hernández Galindo ^a, Rocio Rosas López ^a, Margarita Bernabé Pineda ^{a*}

Calle Benito Juárez, S/N, 3ra sección, San Miguel Tlacotepec, Oax. México, C.P. 69730. Teléfono: 9531616638. e-mail: if_graciela@unca.edu.mx

^a Universidad de la Cañada. Instituto de Farmacología, Carretera Teotitlán - San Antonio Nanahuatipán Km 1.7 s/n. Paraje Titlacuatitla. Teotitlán de Flores Magón, Oax. México, C.P. 68540. Teléfono: (236) 372 07 15, Ext.: 300. e-mail: tlaneci21@unca.edu.mx

Introducción

La diabetes es una de las enfermedades tratadas por la medicina tradicional, en México se cuentan con alrededor de 4000 especies con propiedades curativas, de las cuales solo un 5% cuentan con estudios experimentales, y de acuerdo a estudios etnofarmacológicos 300 de estas tienen propiedad hipoglucemiante [1].

Desafortunadamente en la mayoría de los casos se recurre a la utilización de la herbolaria hasta que la enfermedad ya se ha manifestado y muy raramente se utiliza en casos preventivos, por ello se menosprecia su contribución al bienestar y atención de salud [2]. Dentro de los principios activos de las plantas que se utilizan para tratar la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se han encontrado algunos compuestos como los flavonoides, alcaloides, índoles, compuestos fenólicos y terpenos que les brindan propiedades antioxidantes y podrían estar relacionados a la mejora del metabolismo de carbohidratos, lo cual es de utilidad para tratar la DM2 [3].

Los productos provenientes de fuentes naturales, regularmente son aceptados en el mercado ya que se considera que no tienen efectos adversos a la salud y se piensa que son seguros e inocuos; aunque esto no siempre sea el caso, pueden tener efectos opuestos debido a factores externos tales como: una identificación errónea, contaminación de la planta, etiquetado incorrecto o un consumo excesivo, entre otros, además hay que considerar que el crecimiento, producción de metabolitos primarios y secundarios en las especies vegetales va de la mano con el tipo de sustrato y factores externos. La preparación de los remedios herbolarios es importante considerando que la estabilidad de sus componentes debe mantenerse constante, se debe considerar el tiempo de colecta. La estabilidad hace referencia a la conservación de las características fisicoquímicas y concentración de analitos de una muestra o solución, después de almacenarse durante un periodo de tiempo determinado bajo ciertas condiciones [4].

Existen diversas técnicas analíticas que han sido utilizadas en la estandarización y control de calidad de las plantas y sus productos, algunas de ellas son la cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida, espectrometría infrarroja, espectrometría en el ultravioleta visible o la combinación de estas técnicas. Los estudios espectroscópicos son de utilidad para medir algunas variaciones que puedan existir de acuerdo a las condiciones de almacenamiento del producto de igual forma podría servir para generar un perfil metabólico de las plantas utilizadas y quizá en algún futuro poder

desarrollar una huella dactilar metabólica de los remedios herbolarios teniendo en consideración que estos deben estudiarse por separado, para verificar la propiedad de cada uno de sus componentes.

Los médicos tradicionales de la Organización de Médicos Indígenas de la Cañada (OMIC) en Oaxaca utilizan ampliamente remedios herbolarios para tratar diversos padecimientos; una de las enfermedades más recurrentes es la DM2, para ello dan como tratamiento un remedio herbolario que denominan “fitopreparado para diabetes”. Dicho remedio está compuesto de entre 4 y 6 plantas medicinales con diferentes usos, algunas de ellas con acción hipoglucemiante y otras asociadas a las complicaciones en el organismo producidas por la enfermedad tales como afecciones renales, dolor y entumecimiento de las extremidades.

Por ello el presente trabajo busca evaluar la estabilidad de las especies vegetales empleadas en un remedio herbolario en diferentes tiempos de colecta por espectroscopia UV-VIS.

Parte experimental

Colecta del material vegetal empleado para formular el remedio herbolario

Se efectuaron 2 colectas en la comunidad de San Lorenzo Pápalo, Oaxaca de cada una de las plantas que integran al remedio herbolario de forma silvestre. Las plantas colectadas fueron pingüica, tronadora, guarumbo, palo azul, cola de caballo y doradilla de las cuales se tomaron únicamente las partes de interés. La primera colecta se realizó en el mes de agosto del 2022 (temporal húmedo), y la segunda en el mes de marzo de 2023 (temporal seco).

Secado y molienda

Una vez colectadas las plantas se sometieron a proceso de secado, en un deshidratador Weston 28-0501-W a una temperatura de 37.8 °C durante 36 h, pasado el tiempo se calculó el porcentaje de humedad mediante diferencia de pesos por la pérdida de agua, obtenido mediante la fórmula establecida por Martínez y Cortes [7]:

$$\%H = \frac{[mh - (ms - mR)]}{mh} * 100 \quad (1)$$

el cual debe ser menor al 10% de acuerdo a lo establecido en la farmacopea herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Las especies vegetales secas, se pulverizaron en un molino manual marca estrella para después depurar por un tamiz del número 40. Las muestras obtenidas se almacenaron a temperatura ambiente en frascos de vidrio con tapa y fueron colocados dentro de una gaveta para su posterior uso.

Preparación de la infusión y su caracterización por UV-VIS

El primer paso para la preparación de las infusiones fue estandarizar la medida que los médicos tradicionales utilizan como tratamiento. Se estableció el equivalente en gramos

de los “3 dedos” que utilizan del producto herbolario por litro de agua, obteniendo el peso promedio de 6 repeticiones. Posteriormente, se prepararon infusiones a un volumen de 100 mL, mediante el siguiente procedimiento: en un vaso de precipitado de 200 mL se colocaron 100 mL de agua destilada, se llevó a una parrilla de calentamiento IKA modelo C-MAGH510 hasta ebullición y se colocó un equivalente al 10% de muestra vegetal; se retiró del calor y se cubrió el vaso con un vidrio de reloj, dejándose reposar por 20 min, transcurrido el tiempo, se filtró utilizando un sistema de filtración por gravedad con un papel número 615 de filtración mediana de marca nacional y finalmente se leen en un espectrofotómetro UV-VIS marca Perkin Elmer en un intervalo de trabajo de 200 a 400 nm y una velocidad de 240 mn/min, utilizando una celda de cuarzo de 1cm. La preparación y lectura de infusiones se realizaron una vez por semana, en un total de 10 semanas.

Resultados y discusión

Identificación taxonómica

En la tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de cada una de las plantas que conforman al remedio herbolario que utilizan como tratamiento de la diabetes médicos tradicionales de la región Cañada, Oaxaca.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de las especies vegetales empleadas en el remedio herbolario empleado para el tratamiento de la DM2 por los médicos tradicionales de San Juan Bautista Cuicatlán, Oax.

Componentes vegetales del remedio herbolario para DM2				
Nombre común	Nombre científico	Genero	Familia	Clase
Cola de caballo	<i>Equisetum hyemale</i>	<i>Equisetum</i>	<i>Equisetaceae</i>	<i>Equisetopsida</i>
Guarumbo o Chancarro	<i>Cecropia peltata</i>	<i>Cecropia</i>	<i>Urticaceae</i>	<i>Magnoliopsida</i>
Tronadora	<i>Tecoma stans</i>		<i>Bignoniaceae</i>	<i>Magnoliopsida</i>
Palo azul	<i>Eysenhardtia pungens</i>	<i>Eysenhardtia</i>	<i>Fabaceae</i>	<i>Magnoliopsida</i>
Doradilla	<i>Selaginella lepidophylla</i>	<i>Sellaginella</i>	<i>Selaginellaceae</i>	<i>Lycopodiopsida</i>
Pingüica	<i>Arctostaphylos pungens</i>	<i>Artostaphylos</i>	<i>Ericaceae</i>	<i>Magnoliopsida</i>

Estandarización de dosis

Se obtuvo como dosis estándar 6 ± 0.78 gr de remedio herbolario por 1L de agua.

Caracterización de las infusiones

Las infusiones tienen un color ámbar, las muestras colectadas en el mes de marzo presentan mayor intensidad con respecto a las muestras colectadas en el mes de agosto. En la siguiente figura se muestran los espectros obtenidos de las infusiones de cada planta.

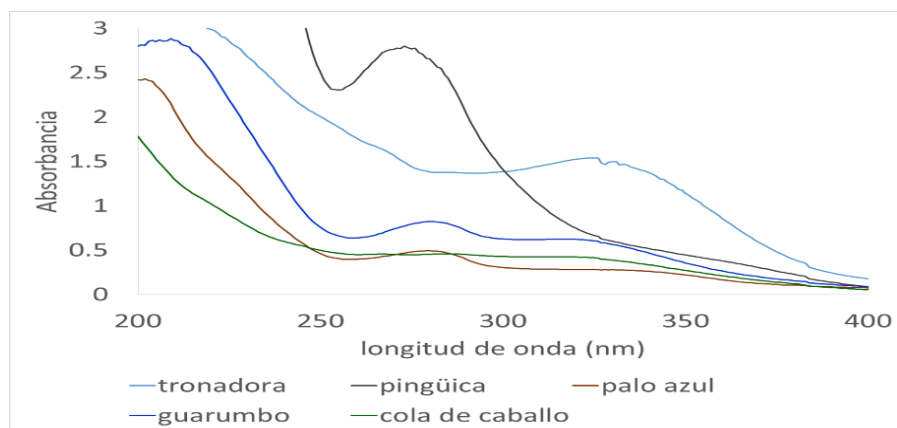


Figura 1. Espectros UV-VIS de las especies empleadas para el remedio herbolario empleado para el tratamiento de la DM2 por los médicos tradicionales de la OMIC.

Como se puede apreciar en la fig.1, la pingüica, doradilla, palo azul y guarumbo tienen un máximo de absorbancia en aproximadamente 280 nm, en tanto que la tronadora y cola de caballo su máximo está presente en aproximadamente 330 nm. Las señales localizadas en la zona 280 nm- 320 nm podrían asociarse a compuestos que se obtienen del metabolismo secundarios de las plantas principalmente compuestos fenólicos [6]. En la figura 2 se presenta el comportamiento de las infusiones del remedio herbolario conformado por las 6 plantas.

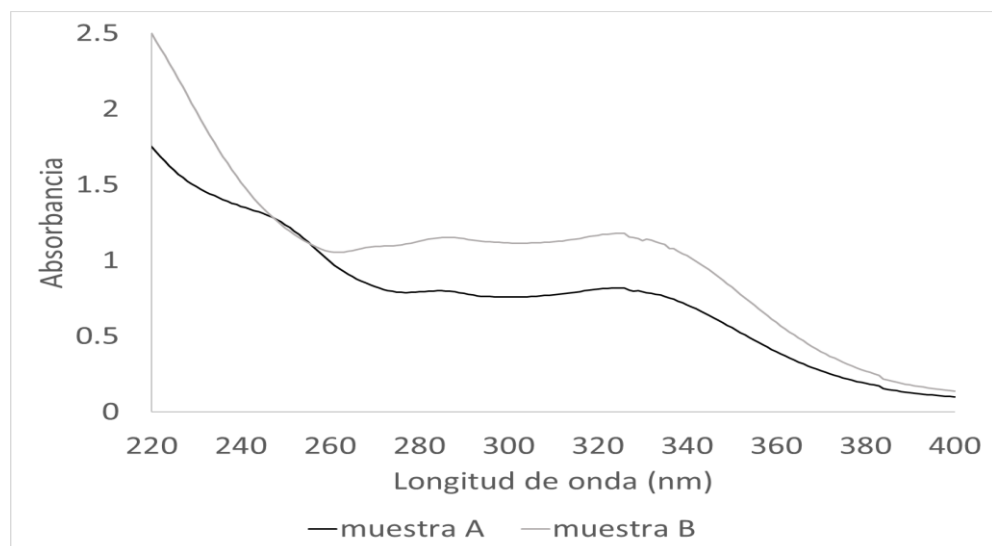


Figura 2. Espectros UV-VIS correspondientes a las infusiones del remedio herbolario empleado para el tratamiento de DM2 por de la OMIC. La muestra A corresponde a la colecta realizada en el mes de agosto de 2022. La muestra B corresponde a la colecta realizada en el mes de marzo de 2023.

En la tabla 2 se muestra la localización de los máximos.

Tabla 2. Comparación de los valores máximos de absorbancia entre las infusiones A y B.

Muestra	Longitud de onda (nm)	Absorbancia
A	328	0.83
	286	0.8
	249	1.3
B	327	1.2
	285	1.15

Los máximos de absorción localizados en los intervalos 228 - 286 nm, están asociados a transiciones de tipo $n \rightarrow \pi$ o $\pi \rightarrow \pi$, presentes en grupos con insaturaciones o sistemas aromáticos como por ejemplo la familia de los flavonoides los cuales presentan absorciones máximas alrededor de los 240 y 285 nm. En la tabla 2, se aprecian los espectros de las muestras A y B que presentan dos señales similares a diferentes absorbancias, sin embargo en la muestra A se observa un tercer máximo a 249 nm que no está presente en la muestra B. Esto podría indicar en el caso de la muestra B que debido a que en el temporal seco existe mayor estrés en las plantas, estas estarían produciendo cantidades distintas u otro tipo de compuestos.

En la figura 3 se presentan el comportamiento de los espectros de absorción durante 10 semanas de ambas colectas.

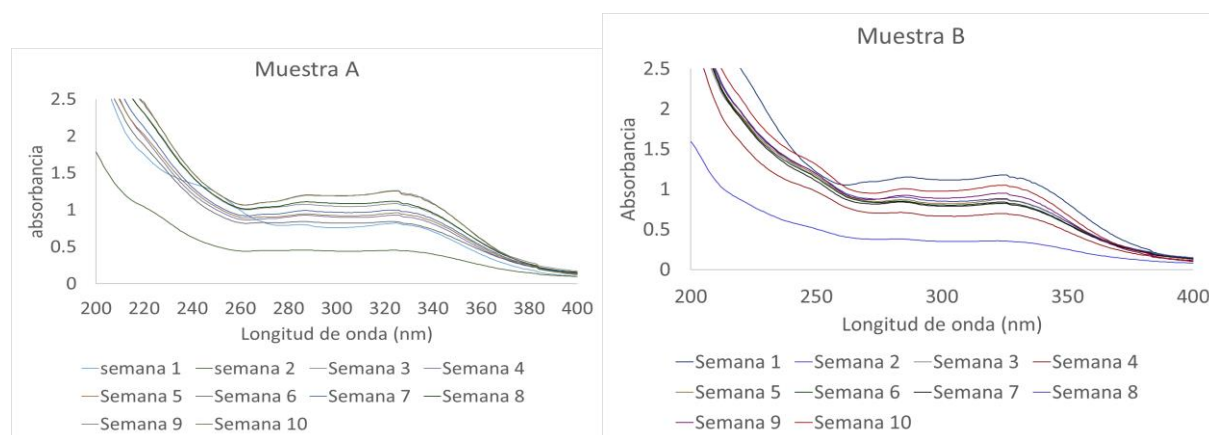


Figura 3. Registro de los Espectros UV-VIS durante 10 semanas correspondientes a las infusiones del remedio herbolario empleado para el tratamiento de DM2 por los médicos tradicionales de la OMIC, colectadas en las temporadas de lluvias (muestra A) y seca (muestra B).

En la figura 4 se muestran el comparativo de la primera semana con la semana 10.

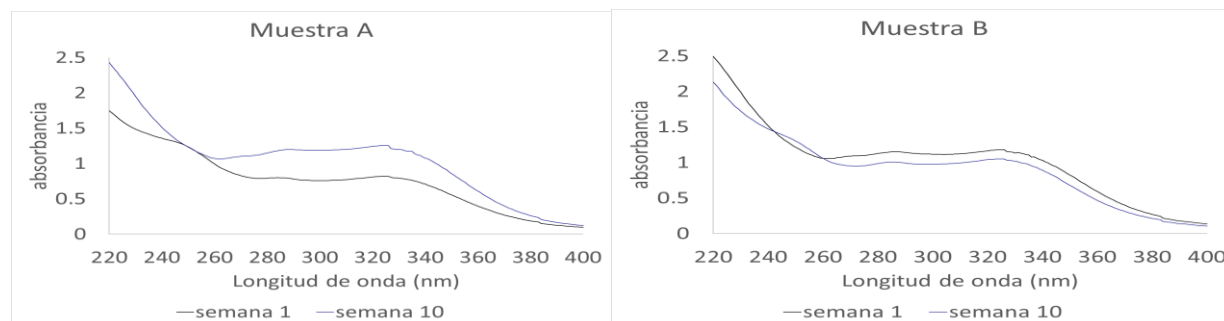


Figura 4. Comparativo de los espectros de la semana 1 y la semana 10 correspondientes a las infusiones del remedio herbolario empleado para el tratamiento de DM2 por los médicos tradicionales de la OMIC. La muestra A corresponde a la colecta realizada en el mes de agosto de 2022. La muestra B corresponde a la colecta realizada en el mes de marzo de 2023.

Las señales localizadas en la zona 280 nm- 320 nm podrían asociarse a compuestos que se obtienen del metabolismo secundarios de las plantas como son compuestos fenólicos o de la familia de los flavonoides [6]. Los espectros obtenidos no muestran diferencias relevantes, se observan ligeras variaciones asociadas a la intensidad de absorbancia, lo cual podría estar indicando una degradación durante el almacenamiento o procesamiento de las muestras.

Conclusiones

Los espectros de absorción son específicos para cada sistema de estudio, en el caso de las infusiones que se estuvieron trabajando se pudieron observar distintos valores de absorbancia en los principales máximos, los cuales podrían ser causados por el tiempo de almacenamiento o los temporales de colecta, afectando en la producción de metabolitos secundarios; por lo cual sería importante la realización de estudios de anaquel para garantizar la vida útil del remedio herbolario, así como diversas colectas en distintos meses para corroborar si estos factores impactan en la producción de metabolitos secundarios. Además es importante incluir estudios de identificación de metabolitos secundarios, para poder definir cuál de estos se le atribuye el efecto terapéutico de las infusiones herbales que manejan los médicos tradicionales.

Agradecimientos

Agradezco a la OMIC por compartir sus conocimientos sobre plantas medicinales y proporcionar el remedio herbolario que utilizan para tratar la diabetes mellitus tipo 2. En segundo lugar, agradezco la colaboración e interés en este trabajo a cada uno de los profesores-investigadores de la Universidad de la Cañada, que forman parte de la investigación

Referencias

- [1] Hernández, P.A., Campos, M. R. G., López, P.C.U., Juárez, M. A., Hernández, F.A.D. (2022). Plantas medicinales de la familia Asteraceae con actividad hipoglucemiante en México. Una revisión, 8 (16): 14-17. ISSN: 2448-5357.
- [2] Pérez, V. S. D.C. (2020). Desarrollo de Remedio Herbolario como Adyuvante en el Tratamiento y Prevención del Síndrome Metabólico. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. Obtenido de: <http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/2120/PEVJLF02T.pdf?sequence=1>
- [3] Aires, S. B., Ferreira. K., De Pula, C. A. S., Goncalves, C. T. (2021). The use of medicinal plants for treatment of type II Diabetes Mellitus- Literature review. DOI: 10.34119/bjhrv4n3-323.
- [4] Mamani, G. R. P. (2019). Desarrollo y valoración del método analítico indicador de estabilidad para fluconazol en tabletas recubiertas. [Tesis de maestría, Universidad Mayor de San Andrés]. Obtenido de: <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/25288>.
- [5] Velasquez, L.E.A. (2018). Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante de las hojas de Solanum hispidum Pers. (Hocicón). [Grado académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Universidad Católica los Ángeles de Chimbote]. Obtenido de: <https://hdl.handle.net/20.500.13032/29310>.
- [6] Palomino, L. G. (Diciembre de 2009). Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia. Scielo, 16, 3-4.
- [7] Martínez L, E., & Cortes L, L. (10 de octubre de 2014). Desarrollo de un sistema de secado al vacío para medición de contenido de humedad. Simposio de Metrología, págs. 577-583. doi:978-607-96162-9-8

DETERMINACIÓN DE CBD EN REFRESCOS MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA SEGUIDA DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

Julieta Arreola Delgado^a, José Juan Escobar Sánchez^a, José Ricardo Vital Arguëlles^a, Omar Rodrigo Guadarrama Escobar^a, José de Jesús Olmos Espejel^{a*}

^a Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Av 1° de mayo S/N, Santa María Guadalupe las Torres, Campo uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo Mex. Tel: +52 (55) 54 62 34 51, e-mail: jolmos@cuautitlan.unam.mx

Introducción

El cannabidiol (CBD) es un compuesto terpenofílico extraído de la planta *Cannabis Sativa* L, comúnmente conocida como cáñamo y es una fuente rica de cannabinoides con niveles bajos del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC). El cannabidiol posee propiedades farmacéuticas de interés ya que puede actuar como anti-inflamatorio, anticonvulsivo y para el tratamiento para la ansiedad [1,2]. Desde el año 2018 hasta el presente, la popularidad del cannabidiol se ha disparado a la progresiva de la eliminación del cáñamo de la Lista de Sustancias controladas en EEUU [3]. En consecuencia, en México, la Secretaría de Salud a través de la COFEPRIS autorizó a la empresa CBD Life para comercializar bebidas con hasta 3 mg por envase entre las que se encuentran: California Limonada, Rocket High y California Té Negro [4]. La mayoría de las veces es imposible saber la concentración exacta debido a la falta de regulación y aunado a que existe un marketing interesado en resaltar los beneficios de este compuesto, por lo cual es importante el desarrollo de métodos que permitan analizar la veracidad y el cumplimiento de estos productos de acuerdo con las normas de calidad establecidas. La extracción en fase sólida (EFS) es una técnica que se utiliza para extraer un compuesto de interés por retención mediante un adsorbente sólido, esta técnica consigue separar el analito de interés de los interferentes de la matriz [5]. De esta manera, el objetivo del presente trabajo es la determinación de CBD en refrescos de la marca CBD Life, mediante extracción en fase sólida seguida por cromatografía de líquidos de alta resolución para determinar si cumplen con el contenido reportado.

Parte Experimental

Condiciones del análisis cromatográfico

Las condiciones óptimas para su análisis fueron una fase móvil isocrática compuesta por 70% acetonitrilo y 30% de una mezcla de agua con 0.1% de H_3PO_4 a un flujo de 0.6 mL/min, un volumen de inyección de 5 μ L, una columna de la marca Waters modelo Cortecs C_{18} de 4.6 x 50 mm y 2.7 μ m de diámetros de partícula, temperatura de 40 °C y un tiempo de análisis de 6.5 min.

Condiciones de la extracción en fase sólida

La técnica de extracción en fase sólida se llevó a cabo en cinco etapas: (1) Activación. Para activar la sílice C_{18} se agregaron 3 mL de metanol, (2) Acondicionamiento. Se pasaron a través de la columna 3 mL de agua con 0.1 % H_3PO_4 , (3) Carga de la muestra.

Se introdujeron 10 mL de la muestra con 0.1 % H_3PO_4 , (4) Secado. Se dejó secar el cartucho con vacío durante 10 min, (5) Elución. Se utilizaron 2 mL de acetonitrilo como eluyente. En la Figura 1 se muestra un diagrama general con las condiciones de análisis.

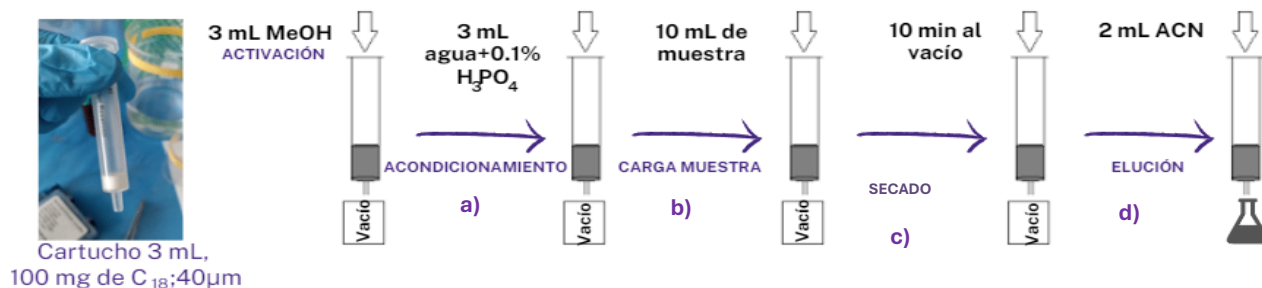


Figura 1. Condiciones para la extracción del cannabidiol en refrescos: a) activación, b) acondicionamiento, c) carga de la muestra, d) secado y e) elución.

Validación del método

Con el fin de evaluar la exactitud, se obtuvo el recobro del método por extracción en fase sólida (EFS), realizando extracciones de muestras de refresco fortificadas con CBD, por triplicado, a concentraciones de 0.2-6.0 mg/L. El recobro se calculó como la pendiente de la curva de concentración recuperada en función de la concentración agregada, multiplicada por 100. Del mismo modo, se prepararon muestras de refresco fortificadas con 0.4 y 4 mg/L, se inyectaron por sextuplicado para evaluar la precisión del método en función de la repetibilidad intermedia.

Análisis de las muestras de refresco

Se analizaron, por triplicado, refrescos de dos lotes diferentes de la marca CBD Life sabores California Limonada, California Té Negro y Rocket High. En la Figura 2 se presentan los refrescos que se analizaron para la determinación. Las muestras se analizaron con las condiciones óptimas para el método de EFS y se determinó la concentración promedio de CBD en cada muestra.



Figura 2. Refrescos con CBD de la marca CBD Life en el lado izquierdo se muestra la bebida de Limonada, en el centro se muestra la bebida de guaraná (Rocket High) y en el lado derecho se muestra la bebida de Té Negro.

Resultados y Discusión

Condiciones de la separación cromatográfica

En la Figura 3, se muestra un ejemplo de los cromatogramas obtenidos con las condiciones óptimas de separación.

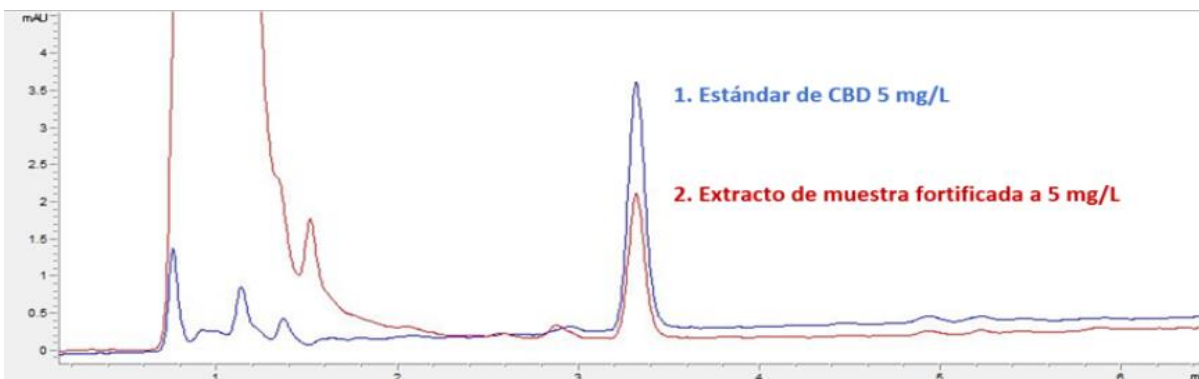


Figura 3. Comparación de los cromatogramas de una disolución estándar de CBD 5 mg/L con un extracto de una muestra blanco fortificada con CBD 5 mg/L.

Validación del método

Se llevó a cabo la validación del método obteniendo una buena linealidad, con valores de $r^2 = 0.9954$, entre las concentraciones de muestra de 0.2-6 mg/L, buena repetibilidad (CV = 5.9%), un recobro global del 87.0% y límites de detección y cuantificación de 0.25 y 1.00 mg/L, respectivamente. En la Figura 4 se muestra la curva para la evaluación de la exactitud y el recobro obtenido (pendiente*100).

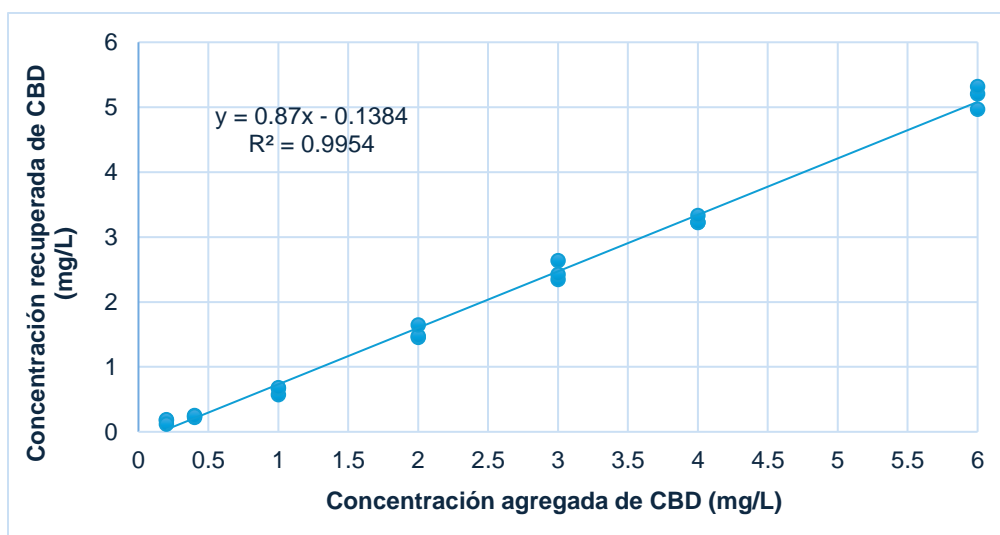


Figura 4. Análisis de recobro. Concentración agregada de CBD (mg/L de refresco) vs Concentración recuperada de CBD (mg/L de refresco).

Análisis de las muestras de refresco

Se llevó a cabo la determinación de las muestras a las condiciones descritas con anterioridad y se obtuvieron los resultados indicados en la Figura 5. Las concentraciones determinadas de CBD en cada muestra de refresco se dividieron entre el factor de recobro (87/100), para obtener la concentración real.

Como se puede observar en la Figura 5, los refrescos que reportaron mayor concentración de CBD son los de Té negro, la muestra 1 con una concentración de 1.88 mg/L, mientras que la muestra 2 reportó una concentración de hasta 5.23 mg/L. Por otra parte, las muestras de refresco de Limonada presentaron concentraciones muy bajas de CBD, de tal manera que la muestra 1 quedó por debajo del límite de detección y la muestra 2 reportó una concentración de 0.50 mg/L. Finalmente, las muestras de guaraná (Rocket High) reportaron concentraciones de 0.93 mg/L y 1.55 mg/L. De este modo, se observa que ninguno de los refrescos analizados cumple con la concentración indicada en la etiqueta de estos productos.

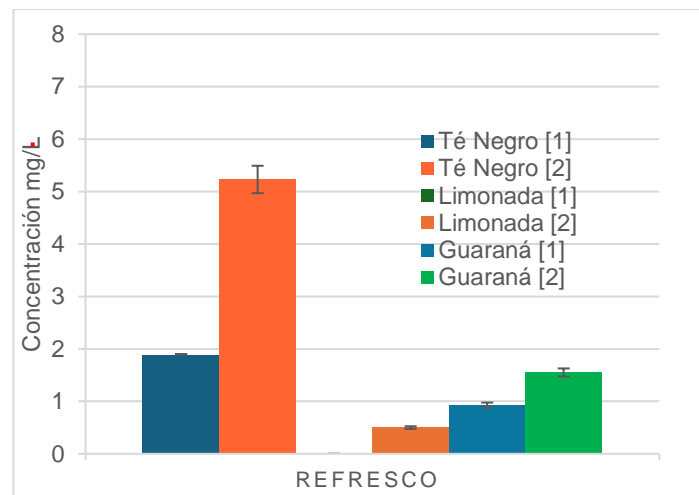


Figura 5. Concentraciones promedio (n=3) determinadas en las muestras de refresco con CBD de la marca CBD Life. La línea punteada indica la concentración reportada en la etiqueta del producto de 6.3 mg/L.

Conclusiones

Se obtuvieron buenos parámetros para la validación del método ya que se obtuvo un buen coeficiente de determinación y un buen porcentaje de recuperación para la determinación del CBD en este tipo de muestras. Por otra parte, respecto a los resultados de la determinación, la concentración reportada en la etiqueta de cada refresco no coincide con las concentraciones determinadas de las muestras, además de que tiene una elevada variación entre lotes. De esta forma, se requiere que haya una mayor regulación de los productos con CBD que garantice el cumplimiento de los estándares de control de calidad.

Agradecimientos

A la DGAPA UNAM por los proyectos PAPPIT IN227323 y 100220. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por los proyectos 321878 y CF 140617. A la FES Cuautitlán por las Cátedras de Investigación CI2263 y CI2206.

Referencias

- [1] R. Tokes. (2016). What is CBD. The Truth about Cannabidiol. Smashword Edition. <https://bit.ly/3CQ02nG>
- [2] V. Brighenti, M. Protti, L. Anceschi, C. Zanardi, L. Mercolini, F. Pellati. Journal of Pharmaceutic and Biomedical Analysis. **192**(20)1-77. (2021).
- [3] FDA Regulation of Cannabidiol. Congressional Research Service. (2020). <https://bit.ly/3CuWLCI>
- [4] Ley Federal para la Regulación del Cannabis. Senado de la República. (2020). <https://bit.ly/31B1ZyG>
- [5] L. A. Fuentes, S. I. Fernández, L. C. Fuentes. Preparación de muestra mediante la técnica de Extracción en Fase Sólida. Universitat Politècnica de València. <https://bit.ly/3pirwhL>

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE LA CONSTANTE DE FORMACIÓN DEL COMPLEJO GLIBENCLAMIDA CON HP β CICLODEXTRINA

Luis Alberto Jimenes Rivera^a, Adrián Ricardo Hipólito Nájera^{a*}, Rosario Moya Hernández^a, Rodolfo Gómez Balderas^a, Norma Rodríguez Laguna^a

^a Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Área de Físicoquímica Analítica Unidad de Investigación Multidisciplinaria en el laboratorio de Físicoquímica Analítica No. 10 ubicado en edificio de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria primer piso, Campo Cuatro. Km. 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, CP. 54714. Tel: (55) 5623 1999 Ext. 39420, e-mail: ricardohipolito@cuautitlan.unam.mx

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad que tiene como principales características: el ser incurable, crónica y progresiva con un tratamiento complejo. Existen 2 tipos de Diabetes: la Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) y la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). La DM2 produce ceguera, falla renal crónica y afecciones cardíacas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha considerado a las sulfonilureas (SU), como la glibenclamida (GBM), una excelente forma de tratamiento a la DM2 ya que son fármacos disponibles y de bajo costo. La GBM es una SU de 2^a generación, disponible desde 1966 y usada hasta la fecha.

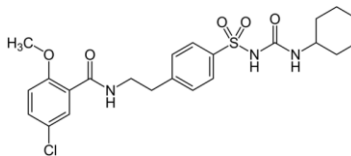


Figura 1. Estructura de la glibenclamida

Antoine Villiers descubrió que al fermentar butíricamente fuentes ricas en almidón, como las papas, se formaban polímeros de carbohidratos con fórmula estructural $[(C_6H_{10}O_5)_2 + 3H_2O]$ a las que llamó dextrinas.

Posteriormente, Franz Schardinger, haciendo uso de los rayos X, en los años cuarenta descubrió que estas dextrinas eran polisacáridos cíclicos, llamándoles por lo tanto, ciclodextrinas (CD). Además, aisló la enzima encargada de degradar al almidón en las CD que fue la glucosiltransferasa. Existen varios tipos de CD como se muestra en la figura 2.

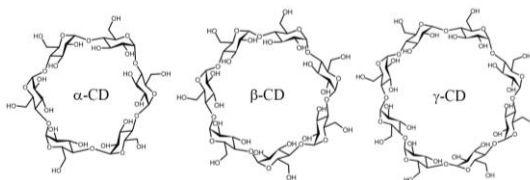


Figura 2. Diferentes tipos de ciclodextrinas.

Debido a estudios que han surgido en los últimos años, ha surgido la necesidad de estudiar una nueva forma de administrarla al ser humano buscando mejorar la absorción del cuerpo humano, por lo que en este proyecto se propone el formar un complejo GBM con HP- β -ciclodextrina (HP β CD) como una alternativa al vehículo actual de la GBM.

El objetivo es, por lo tanto, determinar la afinidad de la GBM con HP β CD en pH neutro, seguida espectrofotométricamente calculando la constante de formación ($\log\beta$) usando el programa SQUAD.

Parte experimental

Obtención de los espectros para la formación del complejo GBM-HP β CD

El NaOH fue estandarizado con biftalato de potasio (patrón primario), se pesó 0.7010 g de biftalato de potasio, el cual fue calentado a 120°C durante 30 minutos, enseguida se llevó al desecador por 20 minutos, posteriormente se llevó a un aforo de 50 mL con agua desionizada. Obteniéndose una solución con una concentración de 0.0686 M. Se pesó 0.4144 g de NaOH y se llevó a un aforo de 100 mL con agua desionizada, obteniéndose una concentración teórica de 0.1021 M.

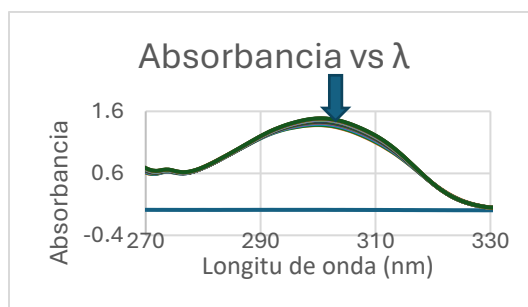
Se realizaron tres titulaciones usando la fenolftaleína como indicador a una alícuota de 3 mL de biftalato 0.07 M. Gastando un volumen de NaOH de: 11.3 mL, 11.2 mL, 11.6 mL. Obteniéndose un volumen promedio de 11.37 mL con lo que se calculó la concentración real del NaOH de 0.09 M.

El cálculo de la constante de inclusión se realizó después de la titulación de una solución de GBM 1×10^{-5} M. La cual se preparó con 5 mL de NaOH estandarizado aforado a 50 mL con una solución buffer de fosfatos 0.1 M a pH = 7.

Se tomó una alícuota de 10 mL de la solución de GBM 1×10^{-5} M y fue titulada con una solución de HP β CD 1×10^{-2} M, haciendo adiciones de 1 mL hasta alcanzar una relación molar de 38 (19 mL), esperando un lapso de dos minutos entre cada adición; cada adición fue seguida con el uso del espectrofotómetro. Esto se realizó por triplicado.

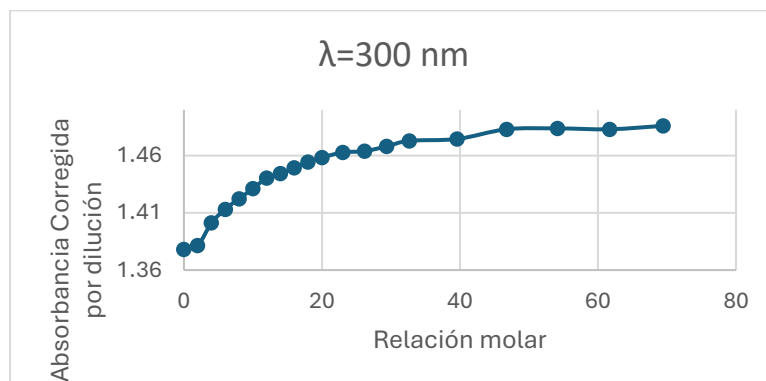
Resultados y Discusión

En la gráfica 1 se muestran los espectros obtenidos de la adición de HP β CD a glibenclamida a pH 7.



Gráfica 1. Espectros de absorción de GBM con la adición de HP β CD, el máximo a 300 nm disminuye al realizar las adiciones.

Como se puede observar en la gráfica 1 la señal de absorbancia a 300 nm de la glibenclamida cambia con la adición de HP β CD, lo que indicaría la formación de un complejo. En la gráficas 2 se puede observar que al aumentar la relación molar aumenta la absorbancia corregida por dilución, lo cual nos ayuda a confirmar que se forma el complejo GBM-HP β CD, sin embargo, la forma de la curva nos señala que es una interacción poco cuantitativa.



Gráfica 2. Absorbancia corregida por dilución al máximo de la gráfica 1 (300 nm) con respecto a la relación molar.

Por lo anterior, el modelo de enlace no fácilmente se conoce con estas gráficas.

Cálculo del $\log\beta$ del complejo GBM-HP β CD. Uso del programa SQUAD

En cada caso los datos obtenidos por el espectrofotómetro fueron tratados con Excel, seleccionando el intervalo de λ de 270 a 330, de 1 nm en 1nm para tener la cantidad adecuada de datos para colocarlos en el programa SQUAD. Ya que las longitudes de onda fueron seleccionadas, se arreglaron para tener un archivo de entrada que se muestra en la figura 3 para que el programa SQUAD funcione correctamente, posteriormente estas fueron puestas en el programa SQUAD a cada valor de pH.

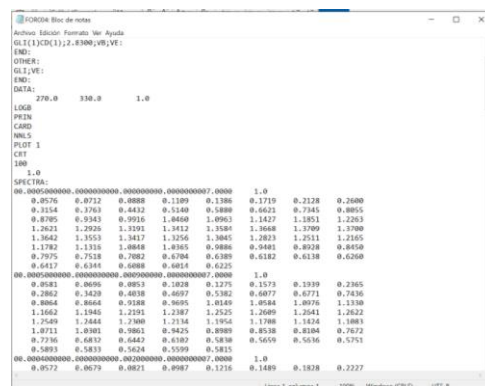


Figura 3. Ejemplo del archivo de entrada de SQUAD.

Tabla 1. Resultados del programa SQUAD promedio de 3 repeticiones.

Complejo(os)	$\log\beta$	Desviación estándar (σ)	Suma de cuadrados (U)
1:1	3.74 ± 0.10	2.77×10^{-2}	3.69×10^{-1}
1:2	6.55 ± 0.33	2.60×10^{-2}	3.17×10^{-1}
1:1	2.84 ± 2.12	2.30×10^{-2}	3.24×10^{-1}
1:2	7.74 ± 0.58		

Como se puede observar los resultados obtenidos en las constantes son aceptables debido a que los valores de la desviación estándar se encuentran en un rango $\approx 2.5 \times 10^{-2}$, por lo que el valor de $\log\beta$ del complejo 1:1 es de 3.74 ± 0.10 lo cual está un poco alejado de la literatura en cambio cuando se pone en el programa SQUAD junto al complejo 1:2 su valor 2.84 ± 2.12 se acerca más al reportado en la literatura 2.83 (González Barbosa, 2023).

De la misma manera el valor de $\log\beta$ para el complejo 1:2 se encuentra en un intervalo de 6.55 ± 0.33 a 7.74 ± 0.58 , ya que no se encontró un valor reportado en la literatura.

Conclusiones

Se logró determinar la afinidad de la GBM con HP β CD en pH neutro, seguida espectrofotométricamente calculando las constantes de formación ($\log\beta_1$ y $\log\beta_2$) usando el programa SQUAD. La formación de los complejos se evidenció por el cambio en los espectros de UV-Vis, al titular una solución de GBM al adicionar HP β CD. El estudiar estos espectros con SQUAD y se logró determinar que los complejos 1:1 (GBM(HP β CD)) y 1:2 (GBM(HP β CD) $_2$), presenta valores de $\log\beta_1 = 2.84 \pm 2.12$ y $\log\beta_2 = 7.74 \pm 0.58$, respectivamente. La primer constante de equilibrio indica un equilibrio poco desplazado hacia productos, indicios de poca formación de reactivos, que pueden observarse en los gráficos. El segundo equilibrio de formación indica que es más la producción de productos. Estas constantes indican que los complejos son estables y se forman espontáneamente. Es probable que la determinación de las constantes ayude a crear nuevas formulaciones farmacéuticas de CDs con GBM.

Agradecimientos

UNAM-PAPIIT IA208221, IN221621 and IA209123 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, proyecto PIAPI2035 y Programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FES-Cuautitlán, UNAM. UNAM-PAPIME PE209023. Proyecto PE213223, Proyecto PAPIITIA202122.

Referencias

- [1] D. Care and S. S. Suppl, "9. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of medical care in diabetes—2020," *Diabetes Care*, vol. 43, no. January, pp. S98–S110, 2020, doi: 10.2337/dc20-S009.
- [2] T. Scully, "Diabetes in numbers," *Nature*, vol. 485, no. 7398, pp. S2–S3, 2012, doi: 10.1038/485S2a.
- [3] P. A. Kuri Morales, "Diario Oficial de la Federación," *Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY- NOM-015-SSA2-2018, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus.*, p. DOF: 03/05/2018, 2018.
- [4] N. Rodríguez-Rivera, P. Cuautle-Rodríguez, and J. Molina-Guarneros, "Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México," *Rev Hosp Jua Mex*, vol. 84, no. 4, pp. 203–211, 2017, [Online]. Available: www.medigraphic.com/hospitaljuarezwww.medigraphic.org.
- [5] D. O. F. Diabetes, "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus," *Diabetes Care*, vol. 33, no. Supplement_1, pp. S62–S69, Jan. 2010, doi: 10.2337/dc10-S062.
- [6] J. C. Henquin, "The fiftieth anniversary of hypoglycaemic sulphonamides. How did the mother compound work?," *Diabetologia*, vol. 35, no. 10, pp. 907–912, 1992, doi: 10.1007/BF00401417.
- [7] Anthony C Moffat, *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: In Pharmaceutical, body fluids and postmortem material.*, 4th ed. Pharmaceutical Press, 2011.
- [8] J. M. Feldman, "Glyburide: A Second-generation Sulfonylurea Hypoglycemic Agent," *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.*, vol. 5, no. 2, pp. 43–62, Mar. 1985, doi: 10.1002/j.1875-9114.1985.tb03404.x.
- [9] M. Remko, "Theoretical study of molecular structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some hypoglycemic agents," *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, vol. 897, no. 1–3, pp. 73–82, 2009, doi: 10.1016/j.theochem.2008.11.021.
- [10] P. Chiesi, P. Ventura, M.D. Canale, "High solubility multicomponent inclusion complexes consisting of an acidic drug, a cyclodextrin and a base," 1995.
- [11] A. Albert and E. P. Serjeant, *The Determination of Ionization Constants*. 1984.
- [12] P. Hajdu, K. F. Kohler, F. H. Schmidt, and H. Spingler, "Quantitative determination of clobazam in serum and urine by gas chromatography, thin layer chromatography and fluorometry," *Arzneim-Forsch*, vol. 19, p. 1381, 1969.
- [13] J. González-Barbosa, A.R. Hipólito-Nájera, R. Gómez-Balderas, N. Rodríguez-Laguna, R. Moya-Hernandez. Metformin, Chlorpropamide, and Glibenclamide: Interactions with Metal Ions and Cyclodextrins. **20**,[40], 1-23 (2023)

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO SISTEMAS EMULSIONADOS Y EXTRACTOS DE CHAYA MAYA COMO AGENTE REDUCTORA

Frausto Gascón Juan Salvador^a, Hernández Muñoz Ximena Danae^a, Carrillo-Gaytán Rocío Paola^a, Razo-Lazcano Teresa Alejandra^a, González-Muñoz M. Pilar^{a*}

^a Departamento de Química, sede Pueblito de Rocha, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada s/N, C.P. 36040, Guanajuato, Guanajuato, México.
Teléfono: 473 732 6252. *correo: gomupi@ugto.mx.

Introducción

La nanotecnología se utiliza para describir el desarrollo y manipulación de materiales con características estructurales a escala nanométrica, donde sus propiedades físicas y químicas son diferentes y únicas [1]. Las nanopartículas metálicas, especialmente las de metales nobles como oro, plata o platino son de gran importancia en la química ya que tienen numerosas aplicaciones en diferentes áreas por su estabilidad y propiedades particulares. Las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico [2]. Las AuNPs son ampliamente aplicadas en múltiples campos, especialmente en biomédica y alimentos ya que la reducción del tamaño permite propiedades distintivas como el tamaño de las partículas y su morfología.

Existe una gran variedad de plantas que pueden ser utilizadas como agente reductor de iones metálicos, en este trabajo se utilizó el extracto acuoso de las hojas de *Cnidioscolus chayamansa*, popularmente conocida como Chaya maya. La chaya maya es una planta endémica de la península de Yucatán, México, cuyas hojas se consumen en platillos tradicionales del país y se usan también como tratamiento de enfermedades de origen inflamatorio [3]. La síntesis de nanopartículas metálicas coloidales con sistemas emulsionados (micro y nano) que están constituidos por aceite/surfactante/agua, utilizando tanto reductores químicos como extractos naturales ha demostrado ser un método adecuado para la obtención de nanopartículas de tamaño y morfologías definidas [4]. En este trabajo se presentan los resultados de la síntesis y caracterización de nanopartículas de oro utilizando como agente reductor extracto de hojas de chaya maya y un sistema emulsionado. Lomás amigable con el medio ambiente. Las técnicas que se utilizaron para la caracterización es la espectroscopía UV-Vis y la dispersión de luz dinámica (DLS).

Parte Experimental

Obtención del extracto de hojas de Chaya Maya

Se cortaron hojas frescas de chaya maya, se lavaron con agua desionizada para eliminar toda la suciedad. Posterior a esto las hojas se pesaron y se pusieron a secar en una estufa a 50°C - 55°C durante 72 horas. Ya secas se pesaron para obtener su peso en seco finalmente se trituraron en el mortero. Se pesaron x g de hojas secas de chaya maya y se añadieron a 50 mL de agua en ebullición por 5 minutos. Después de este tiempo la mezcla se dejó enfriar y posteriormente se filtró, primero con papel filtro 40 y luego con

una membrana de microfiltración con tamaño de poro de 0.22 μm . El extracto se guardó en un refrigerador hasta su uso.

Cuantificación de fenoles totales por el método de azul de Prussian

Este método se basa en una reacción de óxido-reducción donde los iones Fe^{3+} son reducidos a Fe^{2+} por los polifenoles naturales. La determinación hizo de la siguiente manera: el extracto de chaya maya se diluye con agua desionizada. En un matraz aforado se adicionan: 1 ml de extracto diluido, 1 ml de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.016 M y 1 ml de FeCl_3 0.02 M, la mezcla se agita utilizando un vórtex y se deja reposar 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se adiciona 1 mL de H_3PO_4 al 85% y se afora a 10 ml. Se agita nuevamente con vórtex y se lee en espectrofotómetro UV-Visible a 700nm. Como estándar se utilizó una solución de ácido gálico (AG). La curva de calibración se realizó en un rango de 10 a 50 ppm. El contenido de polifenoles totales se expresa como mg AG/g de extracto seco.

Síntesis de nanopartículas de oro en nanoemulsiones

Para la síntesis de AuNPs en los sistemas se pesaron las cantidades necesarias de cada componente de acuerdo con la formulación deseada, mezclándolos en el siguiente orden: surfactante, co-surfactante y aceite. Una vez homogeneizado, se adiciona el precursor de oro y, bajo agitación intensa constante, se complete la cantidad de fase acuosa con el ECM. El precursor y el ECM están relacionados con la cantidad de fase acuosa en el sistema, manteniendo siempre fija la concentración de oro en 150 ppm. Un cambio en la coloración del sistema indica que la reacción de reducción tuvo lugar. El sistema de reacción permanece en un baño a temperatura controlada (25 °C) [5]. Algunos sistemas se trabajaron con un pH de 1.5 en la solución del precursor (Au^{3+}). Posterior a este tiempo, las AuNps se separaron por centrifugación a 12000 rpm por 20 minutos lavando con dos ciclos de etanol y dos ciclos de acetona. Finalmente, las nanopartículas se resuspenden en agua desionizada para realizar su caracterización con UV-Vis, DLS y Potencial Z .

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se presentan los resultados del contenido de polifenoles (ppm AG/ gramo de chaya maya). Se puede observar que para cada arbusto el contenido de polifenoles es diferente, es importante mencionar que cada arbusto se encuentra en diferente zona de Guanajuato, sin embargo los valores encontrados son similares.

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales en hojas de chaya maya de diferentes arbustos.

Arbusto	1	2	3
mg de AG/g de chaya maya seca	1.01	1.61	0.910

Nanoemulsiones fase oleosa 10/surfactante-cosurfactante 70, 50, 30/20%, 40% y 60% de fase acuosa, extracto del arbusto 2 al 4% w/v y 250 ppm de estándar de Au^{3+} . Bajo estas condiciones, se obtuvieron emulsiones que iban desde el amarillo claro (20%), hasta rosado y melón (40% y 60%). Aproximadamente a las 2 horas de preparar cada solución, se podía observar claramente como el color se hacía más oscuro en cada una de ellas. Pasado 1 día, se observaba en el fondo del vial un precipitado color naranja-rojo, siendo mayor la cantidad conforme aumentaba el porcentaje de fase acuosa. Posteriormente, este precipitado se separó mediante centrifugado y lavó con EtOH y Acetona y se resuspendió en 3 mL de agua para su posterior caracterización mediante Uv-Vis y DLS (diámetro hidrodinámico y potencial Z). En la Figura 1 se presentan los espectros de las AUNPs obtenidas con estos sistemas. El comportamiento espectral observado para las AuNPs obtenidas en los tres diferentes sistemas es similar. Se observa un plasmón de superficie plasmónica con un máximo en 500 nm aproximadamente. Para los tres sistemas se observa un hombro entre 570 y 600 nm que puede indicar cierto grado de agregación entre las partículas de oro [6]. La banda de agregación puede deberse al acoplamiento de entre plasmones de superficie de partículas próximas entre sí [6].

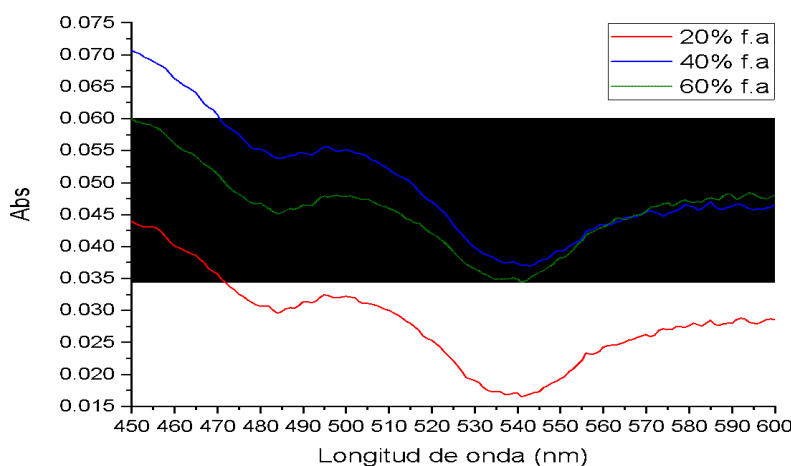


Figura 1. Espectros de las AUNPs obtenidas a distintos porcentajes de fase acuosa y sistemas emulsionados 30/70 (fase oleosa/surfactante-cosurfactante), $[\text{Au}^{3+}] = 150$ ppm

Cinéticas con nanoemulsiones 10/30/60 extracto al 5% del arbusto 2 y 250 ppm de estándar de Au^{3+} con $\text{pH}=1.5$.

Bajo estas condiciones, se hicieron 5 sistemas de emulsiones, las cuales se fueron deteniendo en diferente tiempo. C1 se finalizó transcurrido un día, la C2 transcurridos cuatro días, C3 a los cinco días, C4 a los seis y C5 a los siete días de haber comenzado la síntesis. Los sistemas emulsionados presentaban en un principio una coloración amarillo paja, la cual con el paso de los días se fue haciendo más intensa hasta llegar a un color verdoso. En cada una de las cinéticas se observaba en el fondo del vial un

precipitado color azul oscuro-negro, siendo mayor la cantidad conforme se incrementaron los días de síntesis. Posteriormente, el precipitado se separó mediante centrifugado y lavado con EtOH y Acetona y se re-suspendieron en agua para posterior caracterización mediante Uv-Vis y DLS (tamaño y potencial Z). Es importante mencionar que en los sistemas no se observaron cambios de coloración antes de las 24 h. En las Figuras 2 y 3 se presentan los espectros de las AuNPs obtenidas en los sistemas descritos anteriormente. La Figura 2 muestra los espectros de C1 y C2, mientras que C3, C4 y C5 se muestran en la Figura 3. El comportamiento espectral entre C1 y C2 es diferente en el caso de C1 se observa un banda de superficie plásmónica centrada en 600 nm, con un pequeño hombro alrededor de 750 nanómetros. Un mecanismo de reacción lento suele conducir a la obtención de nanopartículas de gran tamaño. Las soluciones coloidales a partir de C2 presentan una tonalidad azul, después de cuatro días el color azul en los sistemas se hace más visible, y se intensifica en el quinto día (Figura 3), la banda de superficie plasmónica de las AuNPs es una banda muy ancha que abarca desde los 500 nm hasta 700 nm y tiene una absorbancia mínima como se puede observar en la Figuras 3, para los tres diferentes días de síntesis. Se ha reportado que las nano-estrellas de oro presentan una banda de absorción muy ancha que se extiende desde la región visible hasta el infrarrojo cercano, de 600 a 900 nm, y una banda de absorción más débil por debajo de los 500 nm, la banda de absorción en la región del infrarrojo cercano depende del número de puntas ramificadas en el núcleo de oro [5].

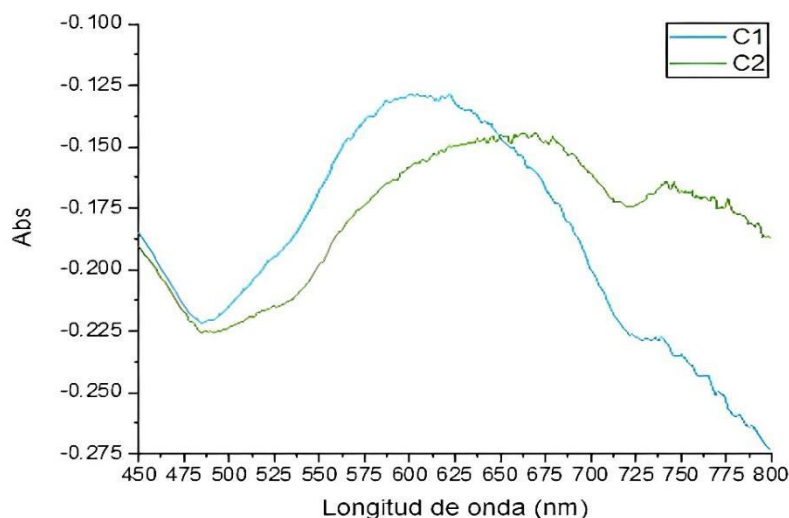


Figura 2. Espectros de las AuNPs de la C1 y C2 suspendidas en agua.

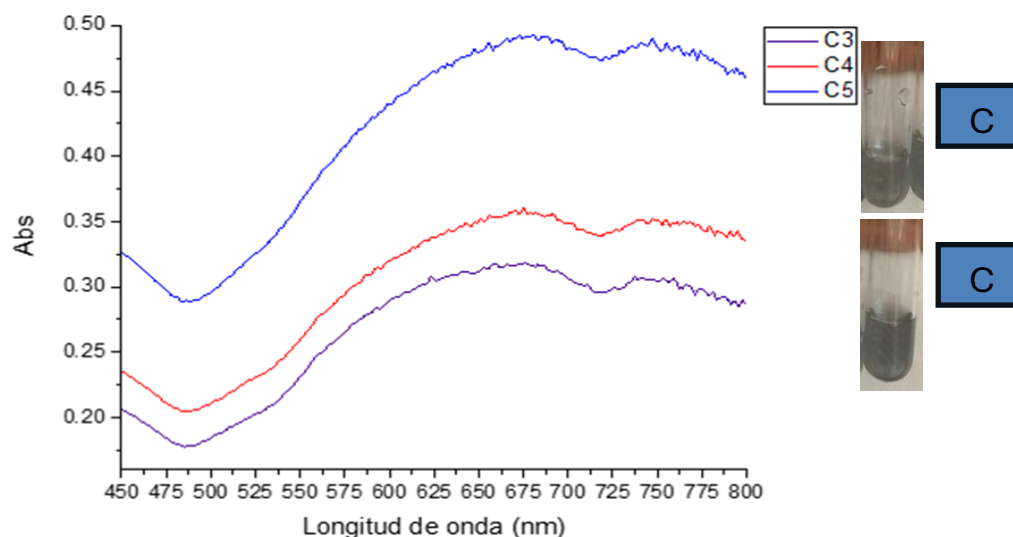


Figura 3. Espectros de las AuNPs de la C3, C4 y C5 suspendidas en agua.

Caracterizaciones por DLS y potencial Z

Mediante el uso de un equipo Malvern Zetasizer Nanozs90, se caracterizó el tamaño de las nanopartículas a partir del tamaño de diámetro hidrodinámico. El promedio Z es el tamaño hidrodinámico medio ponderado por intensidad del conjunto de partículas medido por dispersión dinámica de luz (DLS). En la Tabla 2 se presentan los resultados de la determinación del diámetro hidrodinámico y el potencial zeta de las AuNPs sintetizadas a partir de los sistemas nanoemulsionados. Como podemos ver en dicha tabla, se obtuvo un tamaño hidrodinámico de las nanopartículas menor en el caso de un porcentaje de 20% de fase acuosa, mientras que el tamaño máximo se obtuvo con un porcentaje de 40% y al 60% se observó una disminución en el tamaño de estas. Los resultados obtenidos sugieren que la cantidad de fase acuosa tiene un efecto en el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas de oro. El aumento en el tamaño de las AuNPs a un 40% de fase acuosa podría deberse a una combinación de una relación reactante-reductor óptima, mayor concentración de iones de oro y estabilidad mejorada de las nanoemulsiones, que favorecieron el crecimiento controlado de las AuNPs. Por otro lado, la disminución en el tamaño de las AuNPs a un 60% de fase acuosa podría ser atribuible a cambios en la cinética de reacción y otras condiciones de síntesis que influyeron en la formación y crecimiento de las nanopartículas de oro. El potencial Z fue muy similar en las AuNPs obtenidas con los tres sistemas utilizados, en los tres casos fue negativo, lo cual nos indica que la superficie de las nanopartículas obtenidas está cargada negativamente por grupos electrodonadores, pero que la carga no es lo suficientemente grande para impedir que se dé la aglomeración entre partículas.

Tabla 2. Diámetro hidrodinámico y potencial zeta de AuNPs obtenidas con diferentes sistemas de nanoemulsiones

Composición de la nano-emulsión	Tamaño (d.nm)	Zeta potencial (mV)
10/70/20	209.3	-28
10/50/40	449.7	-22.5
10/30/60	340.7	-29

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de tamaño de partícula y potencial zeta para diferente tiempo de síntesis con el sistema emulsionado 10/30/60. Como podemos observar existe una tendencia de disminución en el tamaño hidrodinámico, conforme aumentan los días de síntesis hasta el cuarto día. Luego se observa un incremento en el tamaño del cuarto al quinto día. La disminución en el tamaño de las nanopartículas de oro al aumentar los días de síntesis, puede atribuirse a una combinación de factores como la cinética de reducción, el agotamiento de reactivos y un ajuste de condiciones entre los reactivos y la velocidad de reacción. Sin embargo, el aumento en el tamaño observado en el último día de reacción puede ser indicativo de fenómenos de agregación o coalescencia de las partículas. Los resultados del potencial z indican que las AuNPs sintetizadas en las distintas cinéticas presentan una carga negativa en su superficie bastante parecida entre cada una, lo que contribuye a su estabilidad coloidal en la solución.

Tabla 3. Diámetro hidrodinámico y potencial de zeta de las AUNPs del estudio cinético del sistema emulsionado 10/30/60.

Composición de la nano-emulsión	Tiempo (días)	Tamaño (d.nm)	Zeta potencial (mV)
10/30/60 – C1	1	1300	-28
10/30/60 – C2	4	1280	-26.6
10/30/60 – C3	5	615	-29.9
10/30/60 – C4	6	265	-29.6
10/30/60 – C5	7	534	-35.1

Conclusiones

La síntesis de AuNPs mediante nano-emulsiones y extractos naturales como agentes reductores es factible y altamente influenciada por las condiciones de síntesis. Sin embargo es necesario realizar análisis por microscopía para saber si los tamaños medidos por DLS corresponden a aglomerados conformados por partículas de menor tamaño. Es importante optimizar las condiciones para mejorar el rendimiento y la estabilidad de las nanopartículas obtenidas. Estos resultados ofrecen un valioso aporte al desarrollo de tecnologías de síntesis de nanomateriales utilizando enfoques más sostenibles y naturales.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Guanajuato por la beca otorgada a través del programa del Verano de Investigación para la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] Díaz F. (2012). Introducción a los nanomateriales. Lecturas de Ingeniería 20. Facultad de estudios superiores de Cuautitlán (UNAM). Departamento de Ingeniería, Laboratorio de Tecnología de Materiales, Cuautitlán, Izcali.
- [2] Saleh, T. A. (2020). "Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities". *Environ. Technol. Innov.*, vol. **20**, p. 101067.
- [3] Medina, U; Millán Linares, M. C; Arana Argaes, V. E; Segura Campos, M. R. (2020). "Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos de chaya (*Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst)". Scielo. *Nutrición Hospitalaria*.
- [4] Stubenrauch C., Wielpütz T., Sottmann T., Roychowdhury C., DiSalvo F.J. (2008) "Microemulsions as templates for the synthesis of metallic nanoparticles," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. **317**, no. 1–3, pp. 328–338.
- [5] Carrillo-Gaytán, R. P. (2022). "Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro utilizando micro y nano-emulsiones: un enfoque sustentable". Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas.
- [6] Ipe, B.I., Yoosaf K, Thomas K.G. (2006). Functionalized Gold Nanoparticles as Phosphorescent Nanomaterials and Sensors, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 6, 1907–1913

DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE MELATONINA

Ana Claudia Warneros Vidal^a, Rocío Aguilar Sánchez^{a*}, Sandra Cabrera Hilerio^a, José Luis Gárate Morales^a

^a Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, C.U. San Manuel, C.P. 72570, Puebla, México. Tel: +52 (222) 29 55 00, ext 3775, e-mail: rocio.aguilar@correo.buap.mx

Introducción

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina; ME) es una hormona endógena que es secretada en el cerebro por la glándula pineal. Es bio-sintetizada por el triptófano vía la serotonina, siguiendo una trayectoria catalizada por las enzimas arilalquilamina-N-acetiltransferasa y la acetilserotonina-o-metiltransferasa. La producción y liberación de la ME depende de la luz solar. Su secreción se incrementa en la oscuridad y disminuye con la edad y en presencia de luz. La ME juega un papel esencial en la fisiología humana porque regula el ritmo circadiano, y la duración y calidad del sueño [1, 2]. Además, está relacionada con funciones inmunológicas, el desorden afectivo, la fisiología retinal y la maduración y reproducción sexual. Se ha demostrado que la ME es un agente neuro-protector contra la enfermedad de Parkinson y Alzheimer [3]. Por lo tanto, la detección y cuantificación de ME en fluidos biológicos y en suplementos alimenticios, necesita de métodos de análisis que jueguen un papel significativo en un diagnóstico y tratamiento temprano de enfermedades neurofisiológicas relacionadas con cambios en la concentración adecuada de melatonina. A este respecto, las técnicas electroquímicas son algunas de las más adecuadas debido a que la ME presenta reacciones de oxidoreducción.

Parte Experimental

La melatonina (powder >98% TLC) empleada se adquirió en la casa comercial Sigma-Aldrich y fue usada sin mayor purificación. Las tabletas de melatonina fueron adquiridas en comercios locales de la ciudad de Puebla. Todas las medidas electroquímicas se realizaron empleando un potenciostato-galvanostato Reference 3000 de la marca Gamry Instruments equipado con el software Gamry Framework para la adquisición de datos. La celda electroquímica consistió de tres electrodos; como electrodo de referencia se empleó Ag/AgCl saturado en KCl, como contraelectrodo se empleó un alambre de Pt de alta pureza y enrollado en una bobina y como electrodo de trabajo se usó un electrodo de carbón vítreo (glassy carbon, GC). Previo a los experimentos el electrodo GC fue pulido, empleando alúmina de 3 y 0.1 μm de diámetro sucesivamente. Posteriormente, se lavó con acetona y agua desionizada (Millipore, 18.2 M Ω) varias veces. Como electrolito se empleó una solución buffer pH 7.2, preparada a partir de fosfato ácido (Merck) y básico de sodio (Merck). Todas las disoluciones fueron preparadas con agua desionizada, justo previo a comenzar los experimentos. La concentración del estándar de melatonina utilizada fue de 5 mM, 1 mL fue colocado en la celda electroquímica que contenía 30 mL de electrolito. Las tabletas comerciales fueron disueltas en solución buffer pH 7.2 y se filtraron para eliminar el excipiente.

Resultados y Discusión

Las propiedades electroquímicas de la melatonina (ME) estándar, fueron estudiadas empleando voltamperometría cíclica usando un electrodo de carbón vítreo sin modificar en solución buffer pH 7.2, a una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1} . La figura 1a, muestra una serie de voltamperogramas cíclicos a diferentes concentraciones de ME estándar. Los voltamperogramas mostraron un único pico de oxidación irreversible en aproximadamente 0.7 V . Este comportamiento coincide con el de sustancias antioxidantes, como el ácido ascórbico y es similar al que se ha reportado con otros materiales de electrodo. La corriente de oxidación exhibió una buena dependencia lineal ($r^2 = 0.9980$) con el incremento en la concentración en un intervalo 0.03 a 1.0 mM , como se muestra en la figura 1b. Esta dependencia puede representarse con la siguiente ecuación (1) de calibración:

$$I_p = 20.2968(\pm 0.2562) [C] + 2.3499(\pm 0.1116) \quad (1)$$

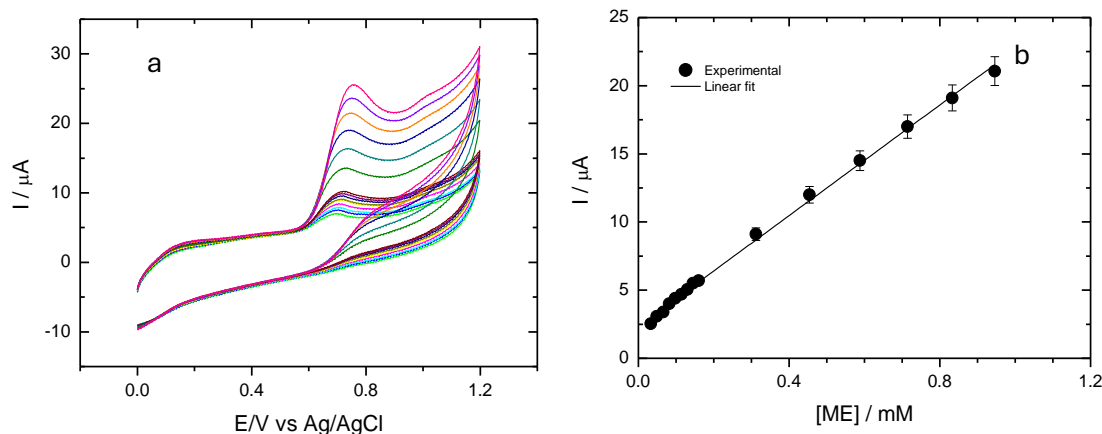


Fig. 1. a) Voltamperogramas cíclicos a diversas concentraciones de ME en solución buffer pH 7.2 sobre un electrodo GC. b) Curva de calibración correspondiente

Para analizar la naturaleza de la reacción de electrooxidación, se realizó un experimento variando la velocidad de barrido desde 20 hasta 300 mV s^{-1} . En la figura 2 se muestran los voltamperogramas cíclicos a diferentes velocidades de barrido, registrados a una concentración constante de melatonina estándar.

Se observó que la respuesta en corriente se incrementa con la velocidad de barrido, así como la capacitancia del electrodo. En el recuadro de la figura 3, se puede apreciar que la corriente de oxidación sigue una dependencia lineal con la velocidad de barrido, es decir el proceso electródico no se rige por la difusión del reactivo desde el seno de la solución hasta el electrodo, sino por adsorción [4]. Este comportamiento de la melatonina ya se ha reportado previamente [5]. Los gráficos lineales de I vs *velocidad de barrido* pueden describirse mediante la ecuación (2), con un coeficiente de correlación de 0.985 .

$$I = 52.2967v + 7.0601 \quad (2)$$

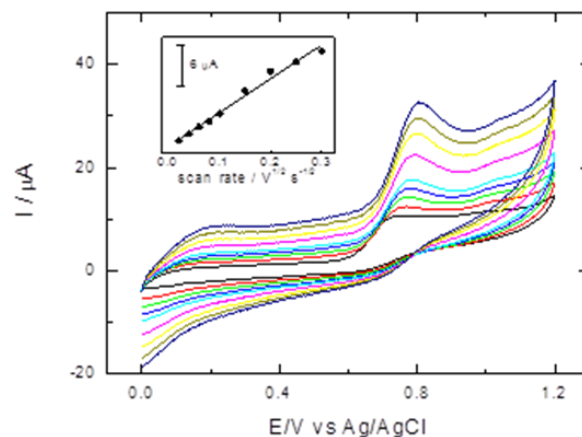


Fig. 2. Respuesta voltamperométrica a diferentes velocidades de barrido ($20 - 300 \text{ mV s}^{-1}$), en presencia de 1 mM ME en solución buffer pH 7.2, empleando un electrodo de carbón vítreo

Por otro lado, la determinación de melatonina se realizó empleando muestras farmacéuticas obtenidas en un comercio local, de marca denominada Sub-Z, que reporta 5 mg por tableta sublingual. La muestra se diluyó hasta alcanzar el intervalo de la curva de calibración. La figura 3 muestra la respuesta de la tableta (línea roja) diluida en la celda electroquímica. Cabe señalar que la respuesta obtenida arrojó una corriente pequeña pero perfectamente perceptible cuando se compara con el electrolito de fondo (recuadro Fig 3). A esta muestra se le adicionaron concentraciones conocidas de melatonina estándar y se registró la respuesta electroquímica. Se observó un incremento lineal de la corriente con la concentración y la señal se desplaza ligeramente hacia valores más positivos de potencial

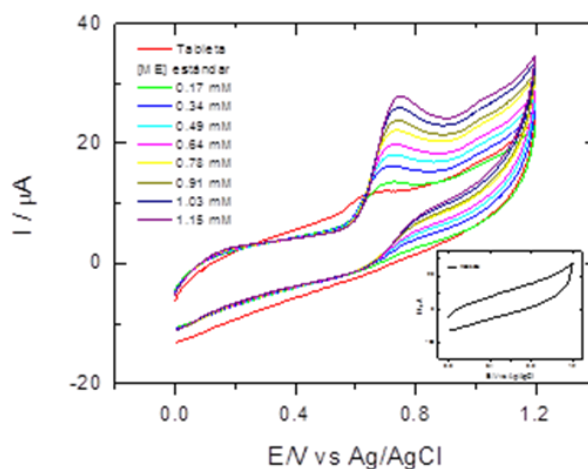


Figura 3. Respuesta electroquímica de varias concentraciones de ME estándar, en presencia de una muestra que contiene ME diluida en solución buffer. Electrodo GC, velocidad de barrido: 100 mV s^{-1}

Los resultados no mostraron una buena correlación entre la cantidad registrada en la muestra farmacéutica (5 mg) y la obtenida empleando el método aquí reportado. Por lo que actualmente estamos trabajando en mejorar el método de calibración y para ello estamos estudiando nuevos materiales de electrodo que aporten una respuesta confiable.

La selectividad de un sensor es siempre un problema clave por resolver en la determinación simultánea de dos o más analitos. Para investigar la especificidad del método, realizamos un estudio con interferencias adicionando 1 mM de dopamina (DA). La respuesta electroquímica se muestra en la figura 4. Se observan dos señales en aproximadamente 0.446 V y 0.767 V correspondientes a la oxidación de dopamina y melatonina respectivamente. Se demostró que el presente método puede ser selectivo para la determinación de melatonina en presencia de dopamina. A este respecto actualmente nos encontramos profundizando y mejorando el método de detección y cuantificación de la melatonina en presencia de sustancias interferentes.

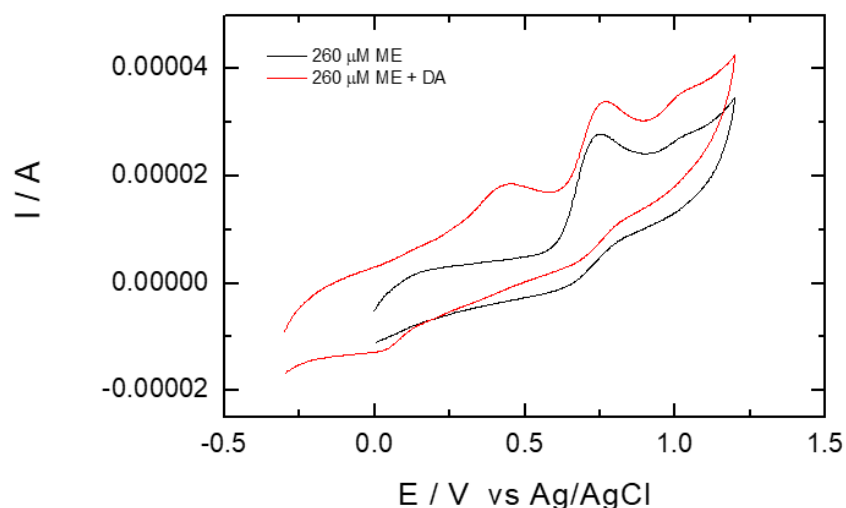


Fig. 4. Respuesta electroquímica de 1 mM de ME en presencia de 1 mM DA sobre un electrodo de GC, en solución buffer pH 7.2. Velocidad de barrido: 100 mV s⁻¹.

Conclusiones

Se presentó un método electroquímico simple de detección de melatonina. El presente método no mostró ser confiable para la cuantificación de la melatonina en muestras comerciales por lo que se profundiza en mejorar la confiabilidad del método, a través del uso de electrodos modificados con nanopartículas metálicas y materiales compuestos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la VIEP-BUAP por los recursos otorgados al proyecto 155 (2023). Ana Warneros agradece al programa “Haciendo Ciencia en la BUAP, Primavera XVI 2023” por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] D.P. Cardinali, V. Srinivasan, A. Brzezinski, G.M. Brown. *J. Pineal Res.* **52**, 365-375 (2012).
- [2] D.X. Tan, L.C. Manchester, M.P. Terron, L.J. Flores, R.J. Reiter. *J. Pineal Res.* **42**, 28-42 (2007).
- [3] V. Srinivasan, A. Brzezinski, S.R.P. Perumal, D.W. Spence, D.P. Cardinali, G.M. Brown. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **35**, 913-923 (2011).
- [4] A. J. Bard and L. R. Faulkner. *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*. 2nd Ed. 227-240 (2001)
- [5] N. Kumar, R. N. Goyal. *J. Electroanal. Chem.* **874**, 114458 (2020)

TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS CON HIERRO POR MEDIOS ELECTROQUÍMICOS

EQFB. Camaron Morales Néstor Joaquin^a, Dr. Esteban Sánchez Muñoz,^a Dra. Dolores Judith Caballero Jiménez.^{*a}

^a Facultad de Ciencias Químicas – Departamento de Química Analítica-BUAP
Senda Química, Cd Universitaria, Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Pue., Tel: 222 229 5500, email:
direccion.fcq@correo.buap.mx

Introducción

Los metales pesados son considerados según la tabla periódica como elementos químicos de alta densidad (mayor a 4 g/cm^3), masa y peso atómico por encima de 20 umas y son tóxicos inclusive en concentraciones bajas. El efecto que tienen estos metales pesados involucra a toda la cadena trófica, ya que el desecho continuo de estos metales termina con la afección de animales, cuerpos de agua, plantas y suelos, generando consecuencias negativas en estos sectores, las cuales se amplían al ámbito económico debido a los costes elevados para su tratamiento. El mayor inconveniente reside en que estos metales no pueden ser degradados (ni química, ni biológicamente) y, además, tienden a bioacumularse y a biomagnificarse, es decir, se acumulan en los organismos vivos alcanzando concentraciones mayores que las que alcanzan en los alimentos o medioambiente, y estas concentraciones aumentan a medida que ascendemos en la cadena trófica, provocando efectos tóxicos de muy diverso carácter. [1] Por otra parte, los métodos electroquímicos recientemente han demostrado ser útiles en el tratamiento de agua contaminada. Dentro de estos métodos se encuentra la electrocoagulación, la cual consiste en la eliminación de contaminantes en el agua que se encuentren suspendidos, disueltos o emulsificados. La técnica consiste en inducir corriente eléctrica en el agua residual a través de placas metálicas paralelas de diversos materiales, denominadas electrodos, comúnmente de hierro o aluminio. La corriente eléctrica proporciona la fuerza electromotriz (FEM) que provoca las reacciones químicas que desestabilizan las formas en las que los contaminantes se encuentran presentes. De esta manera, los contaminantes presentes en el medio acuoso forman agregados, produciendo partículas sólidas que sedimentan y pueden ser separadas. [2] En el presente proyecto se emplea un tratamiento electroquímico para la limpieza de agua de la laguna de CU-BUAP contaminada con sales de hierro. El método de electrocoagulación usado es la reacción de Fenton, la cual consiste en producir la oxidación de un ion metálico a través de la generación de radicales altamente reactivos, como los son los $\text{OH}\cdot$, usando una celda electrolítica en medio ácido con H_2O_2 .

Proceso experimental

Muestreo

Se llevó a cabo un muestreo simple en secciones distintas de la laguna para obtener una muestra compuesta con la que se realizó el análisis posterior.

Preparación de estándares y muestras problema

Se usó sulfato de hierro (III) anhidro (75 % pureza) como fuente del ion metálico. La contaminación de las muestras se realiza por medio de la adición de 50 mL de un estándar de 10.47 ppm de hierro en 500 mL de la muestra compuesta, obteniendo una muestra con 0.95 ppm de hierro en total. Posteriormente, la muestra contaminada fue tratada con una digestión ácida previa al tratamiento electroquímico usando ácido nítrico al 1%.

Tratamiento por medio de electrocoagulación

La celda se construyó usando 100 mL de la muestra compuesta previamente acidificada, electrodos de hierro a 3 cm de separación y se adicionó un electrolito de cloruro de sodio, así como peróxido de hidrógeno y se mantuvo la fuente de energía eléctrica constante con un voltaje en 10 ± 0.5 V, como se observa en la Figura 1. El tiempo de reacción se varió en 15, 30 y 45 min para cada experimento, obteniendo las muestras **MC15**, **MC30** y **MC45** respectivamente.



Figura 1. Celda electroquímica con muestra contaminada con hierro.

Caracterización

Tanto la muestra inicial, como las muestras tratadas denominadas **MC15**, **MC30** y **MC45** fueron caracterizadas mediante los siguientes parámetros y técnicas analíticas:

- Sólidos sedimentables: medidos en una probeta de 100 ml después de 30 min.
- Infrarrojo: los espectros de IR se obtuvieron por medio del equipo FT-IR DIGILAB modelo SCIMITAR junto con el software Digilab Merlin 3.3, tanto de los sólidos, como del clarificado, usando KBr como soporte de pastillas.
- UV-Vis: se realizó en el espectrofotómetro HACH modelo DR 5000, usando celdas de plástico con paso óptico de 1 cm y haciendo barridos en longitudes de onda de 400 - 800 nm.
- Turbidez: el clarificado se midió en un turbidímetro Vernier Turbidity, en Unidades Nefelométricas NFT.
- pH: se obtuvo del clarificado en un potenciómetro DAIGGER modelo 5500 pH Meter, calibrado con disoluciones buffer de pH = 7, 10 y 14.
- Dureza total: se determinó con una valoración usando una disolución de EDTA 0.01 N como titulante y negro de eriocromo T como indicador con un método

basado en la NMX-AA-SCFI-2001. La dureza expresada como CaCO_3 se obtuvo en mg/L.

- Absorción atómica: el contenido de hierro en el clarificado de todas las muestras fue cuantificado utilizando espectroscopia de absorción atómica con una lámpara de hierro en un equipo Agilent 55B AA. Se construyó una curva de calibración con estándares preparados entre 0.4 y 2 ppm. La ecuación de la línea recta obtenida fue $y=0.1336x-0.0022$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9774$.

Resultados y Discusión

Posterior al inicio del tratamiento electroquímico, se observó un cambio en el color en las muestras, pasando de una disolución cristalina a una disolución con sedimentos visibles de aspecto amarillo-rojizo y algunas secciones oscuras, como se muestra en la Figura 2. Los sólidos obtenidos fueron filtrados y caracterizados mediante IR, mientras que el clarificado fue caracterizado por las técnicas previamente descritas en la sección 3.

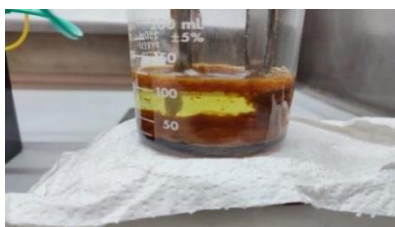


Figura 2. Muestra contaminada a los 30 minutos del tratamiento electroquímico.

Los resultados de la caracterización del clarificado se encuentran resumidas en la Tabla 1 mostrada a continuación:

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de la caracterización del tratamiento de la muestra con sulfato de hierro (III)

Parámetro de caracterización	Muestra sin contaminar	Muestra con hierro	MC15	MC30	MC45
pH	7.6	7.16	6.60	8.75	10.69
Turbidez (NTU)	27.9	36.0	27.9	17.0	16.8
Dureza total CaCO_3 (mg/L)	255	235	110	18	9
Sólidos sedimentables (mL/100 mL)	< 0.1	< 0.1	35	75	80
Hierro por absorción atómica (ppm).	0.23	1.27	0.40	0.05	0.07
UV-Vis (Absorbancia en 249 nm)	0.189	0.669	No se observa	No se observa	No se observa

Por otra parte, los espectros IR obtenidos de los sólidos sedimentables presentan un comportamiento similar para las muestras **MC15**, **MC30** y **MC45** (Figuras 3 a-c), indicando no se generan compuestos distintos entre los diferentes tiempos de tratamiento. De forma similar, los espectros IR de los clarificados (Figura 4) son similares para todas las muestras, por lo que solo se muestra el espectro del clarificado de la celda a 15 min.

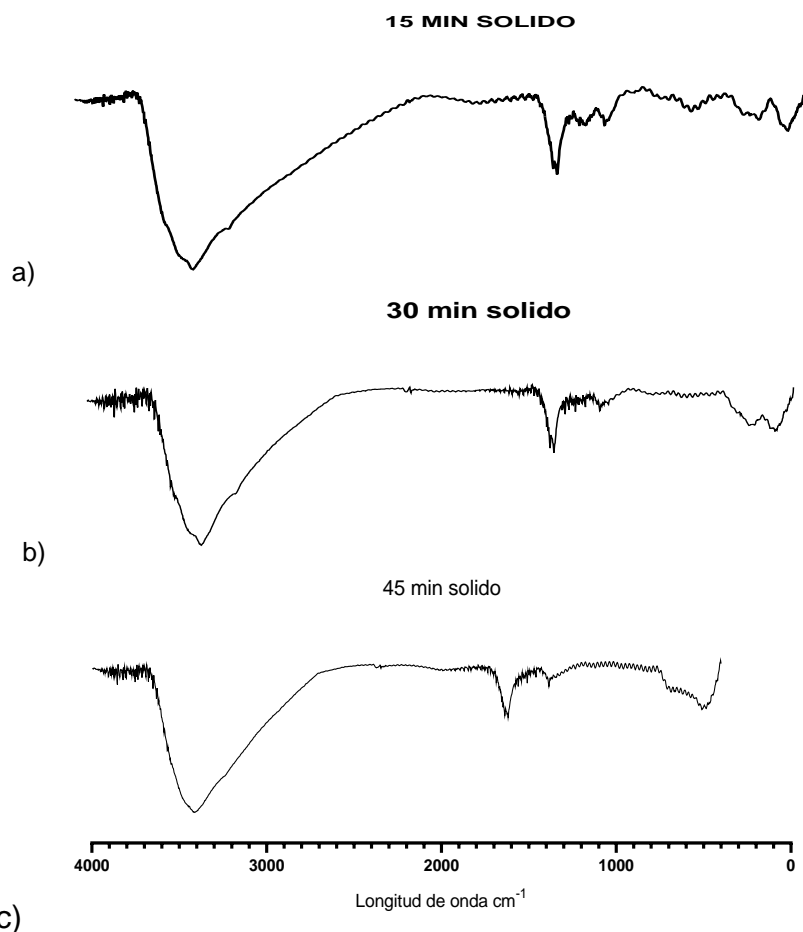


Figura 3. Espectro de IR del sólido obtenido luego de electrólisis de a) **MC15**, b) **MC30** y c) **MC45**.

En cuanto a los análisis por absorción atómica, en la Figura 5 se muestra la curva de calibración obtenida para determinar las concentraciones de hierro en todas las muestras, así como la ecuación de la línea recta obtenida por el método de mínimos cuadrados. Los resultados indican que las muestras tratadas que contenían inicialmente 0.95 ppm de hierro terminan con una concentración de 0.40, 0.05 y 0.07 ppm para las

celdas **MC15**, **MC30** y **MC45**, respectivamente, lo que significa una disminución de hierro del 57 %, 94 % y 92 %, respectivamente. [3]

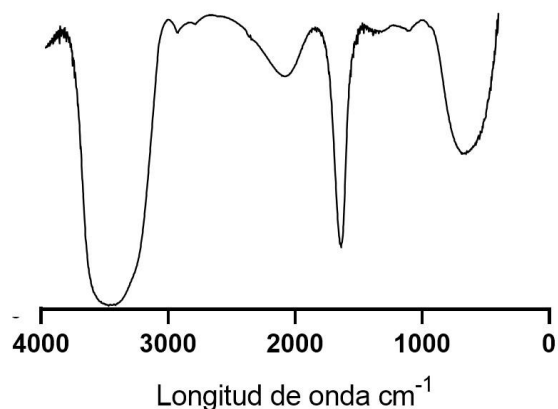


Figura 4. Espectro IR del clarificado a 15min.

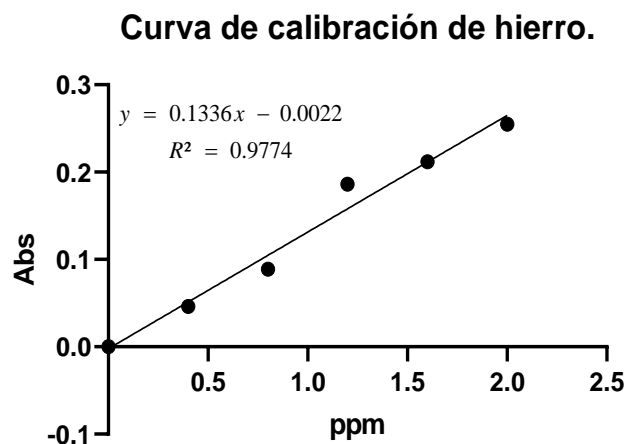
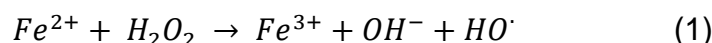


Figura 5. Curva de calibración del hierro obtenido por absorción atómica.

Conclusiones

Con base en la caracterización de las muestras **MC15**, **MC30** y **MC45**, se ha determinado que se presenta una mayor reducción de hierro a los 30 min de tratamiento. Los diversos parámetros analizados indican que este efecto es ocasionado por los propios electrodos de hierro usados, ya que se puede saturar el sistema con $\text{Fe}(\text{OH})_3$, el cual se genera por la presencia de los iones OH^- generados en la reacción. El tratamiento es óptimo hasta los 30 min; sin embargo, si se excede de este tiempo, se termina contaminando la muestra nuevamente, lo cual se refleja en la medición de pH

que llega a medio básico indicando un exceso de $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Los parámetros de sólidos sedimentables, dureza, absorbancia por UV-Vis y turbidez también indican que después de 30 min, no se obtiene una mejora considerable de estos parámetros. De esta manera, concluimos que el tiempo de reacción idóneo debe ser de 30 min. Se sugiere el uso de voltajes menores para tener un mejor control sobre la celda electrolítica, así como para disminuir la energía necesaria para tener un tratamiento eficiente. Cabe aclarar, que la reducción del metal contaminante, se da a través de la precipitación de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ como parte de la reacción de electro-Fenton, la cual comienza con la oxidación del electrodo de sacrificio a $\text{Fe}(\text{II})$ para después, en presencia de H_2O_2 , generar radicales $\text{OH}\cdot$, los cuales atacan la materia orgánica, así como iones $\text{HO}\cdot$, los cuales forman $\text{Fe}(\text{OH})_3$, como se muestra en la Ecuación (1) [4].



Tanto los compuestos orgánicos, como los hidróxidos generados sedimentan y pueden ser separados, por lo que el sistema es ideal para remover tanto contaminación por materia orgánica, como por metales pesados. Debido a la complejidad de la matriz orgánica que se puede obtener, actualmente no se sabe con certeza los compuestos que están presentes en los sólidos filtrados, y se está trabajando para lograr, la caracterización de estos compuestos, así como la variación de condiciones experimentales, (corriente, tiempos y electrodos). De esta manera, se comprueba la viabilidad del método electroquímico como una alternativa efectiva para el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados como el hierro.

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Química Analítica de la FCQ-BUAP por facilitar las instalaciones y uso de equipos para la realización del trabajo. Agradecemos a la VIEP-BUAP por la beca 401 en el programa Haciendo Ciencia en la BUAP Primavera XVI 2023

Referencias

- [1] Pabón Guerrero, S. E., Benítez Benítez, R., Sarria Villa, R. A., & Gallo Corredor, J. A. (2020). Contaminación del Agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una Revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, **14(27)**, 9–18. <https://doi.org/10.31908/19098367.1734>
- [2] Arango Ruiz, Á., (2005). La electrocoagulación: una alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de Investigación*, **2(1)**, 49-56. [fecha de Consulta 25 de Junio de 2023]. ISSN: 1794-4449. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69520109>

[3] Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. y Crouch, S. R. (2015). En Fundamentos de Química Analítica Novena Edición. CENGAGE Learning.

[4] Puthiya Veetil Nidheesh, Soliu O. Ganiyu, Carlos A. Martínez-Huitle, Emmanuel Mousset, Hugo Olvera-Vargas, Clément Trelu, Minghua Zhou & Mehmet A.

Oturan (2023) Recent advances in electro-Fenton process and its emerging applications, Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 53:8, 887-913, DOI: [10.1080/10643389.2022.2093074](https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2093074)

ESTRATEGIA DIDÁCTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COLORANTES GRADO ALIMENTICIO EN CARAMELOS

César Lezama Díaz^a, Ricardo Ruiz Coronado^a, Adriana Hernández Calva^{a*}

^a Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Área Química Analítica. Laboratorio de Química Analítica 201, Facultad de Ciencias Químicas, Senda Química, Cd. Universitaria, Jardines de San Manuel, C.P. 72570, Puebla, Pue. Tel: +52 222 229 5500, e-mail: adriana.hernandezcalva@correo.buap.mx.

Introducción

La luz es una forma de energía que se propaga en el espacio a través de ondas que viajan en línea recta en todas direcciones, cuando atraviesa medios de diferente densidad cambia de dirección. [1] Cuando la luz brilla sobre un cuerpo da lugar a una serie de fenómenos ópticos como: espectaculares atardeceres otoñales, la presencia del arcoíris en épocas de lluvia, en las zonas polares las famosas auroras boreales, etc. Adicionalmente, se sabe que la luz también puede comportarse como partícula dando lugar a procesos de absorción y transmisión de energía, [2] con base en lo anterior se infiere que la naturaleza dual de la luz permitió el desarrollo de los métodos espectroscópicos analíticos, que se basan en medir la cantidad de radiación absorbida por las especies moleculares o atómicas de interés, misma que se relaciona linealmente con la concentración, [3] brindando como resultado información sobre la identidad y cantidad de las mismas en una matriz.

Durante el proceso de absorción es posible elegir la longitud de onda selectivamente, y de acuerdo con la ley de Lambert-Beer (ecuación 1), en los sistemas transparentes la transmitancia es proporcional al inverso de la absorbancia. La absorbancia depende de la absorptividad, de la distancia recorrida del iluminante a través de la muestra y de la concentración del colorante en la muestra.[4]

$$\log \log \frac{1}{T} = A = \sum_i a_i b_i c_i \quad (1)$$

T=transmitancia, A=absorbancia, a=absortividad, b=distancia recorrida, c=concentración.

Con el objetivo de desarrollar habilidades en el manejo de la técnica UV-Vis, en este trabajo nos enfocamos en la cuantificación de colorantes comestibles en dulces en los cuales, su etiqueta indica el colorante pero no su cantidad. Iniciando con el análisis de los colorantes primarios: amarillo, azul y rojo, a través de curvas de calibrado. Después nos enfocamos en la determinación de los colorantes secundarios (llamados así por ser una mezcla binaria de colorantes primarios) a partir del principio de aditividad de las absorbancias, que establece que la absorbancia total de una mezcla A_{mezcla} es la suma de las absorbancias de los componentes en sus disoluciones individuales A en las mismas concentraciones presentes en la mezcla, expresada en la ecuación de Lambert-Beer (ecuación 2) [5]:

$$\begin{aligned} A_{mezcla \lambda_1} &= A_{componente 1 \lambda_1} + A_{componente 2 \lambda_1} \\ A_{mezcla \lambda_2} &= A_{componente 1 \lambda_2} + A_{componente 2 \lambda_2} \end{aligned} \quad (2)$$

Parte Experimental

Todo procedimiento experimental enfocado a cuantificación requiere el uso de estándares grado analítico, sin embargo, nuestro trabajo considera la parte didáctica, motivo por el cual, implementamos el uso de colorantes vegetales de la marca DEMIAN® para el análisis. Sus nombres, códigos y fórmula química se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Nombres de los colorantes vegetales implementados como estándares.

Nombre comercial	Código	Nombre Químico	Otros nombres	Fórmula
Rojo grosella	E-129	Rojo Allura	Rojo 40	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$
Azul	E-133	Azul brillante	Blue 1	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$
Amarillo huevo	E-102	Tartrazina	Amarillo 5	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

El desarrollo experimental se llevó a cabo en dos etapas, la primera enfocada a la cuantificación de los colorantes primarios: amarillo, azul y rojo verificando la longitud de onda de máxima absorción según el color y encontrando el intervalo de concentraciones adecuadas para la construcción de las curvas de calibración. La segunda etapa dirigida a la identificación y cuantificación de colorantes primarios en los colorantes verde y violeta que son considerados como una mezcla binaria y aditiva de los colorantes amarillo más azul, y rojo más azul, respectivamente. En este escrito nos referiremos a los reactivos por su nombre comercial. Las muestras analizadas corresponden a los caramelos “*agüita*”® de color rojo y “*Frutin – Modelo*”® de colores azul y amarillo.

Los instrumentos empleados durante el desarrollo experimental fueron:

- Balanza analítica SYMMETRY modelo PA220.
- Espectrofotómetro UV-Vis GLOBE modelo CS-200PC.
- Espectrofotómetro UV-Vis HACH modelo DR 5000.

Análisis de colorantes primarios

Se prepararon disoluciones para cada uno de los estándares indicados en la Tabla 1, en intervalos de concentración de 0.072 – 0.080 g/L. Se obtuvieron los respectivos espectros de absorción en la región del visible empleando el espectrofotómetro GLOBE modelo CS-200PC, identificando las λ_{max} de absorción para cada una de estas disoluciones coloridas. Una vez corroboradas las λ_{max} para cada colorante, se prepararon curvas de calibración para los colorantes primarios: amarillo huevo, azul y rojo grosella.

Análisis de mezclas binarias de colorantes primarios

Adicionalmente, se prepararon dos mezclas problema **A** y **B** con cantidades arbitrarias de dos colorantes primarios según lo indicado en la Tabla 2:

Tabla 2. Componentes de las mezclas binarias de colorantes primarios preparadas arbitrariamente.

Mezcla	Componente 1	Componente 2	Color de la mezcla	Composición
A	Rojo grosella	Azul	Verde limón	Arbitraria
B	Amarillo huevo	Azul	Violeta	Arbitraria

Obteniéndose los espectros correspondientes en el equipo GLOBE CS-200PC y los valores de absorbancia en la longitud de onda máxima de cada colorante primario para comprobar la ley de aditividad (ecuación 2).

Resultados preliminares y discusión

Cuantificación de colores primarios

En el caso de la cuantificación de los colorantes primarios amarillo huevo, azul y rojo grosella, los espectros de absorción, presentaron un único máximo de absorción en la región del visible como se observa en la Figura 1.

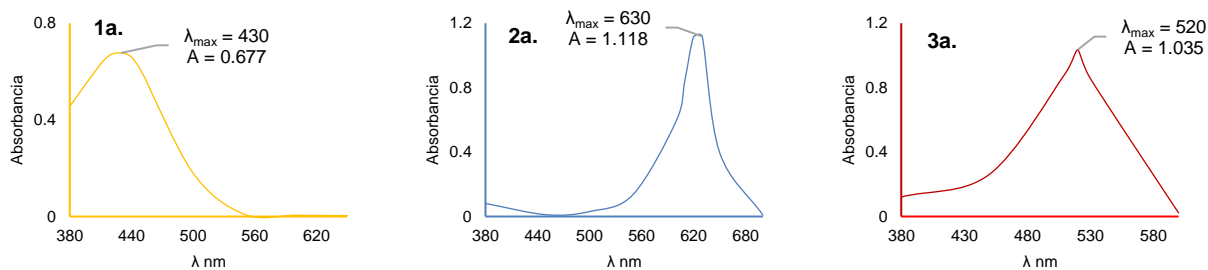


Figura 1. Espectros UV-Vis: **1a)** color vegetal amarillo huevo. **1b)** color vegetal azul. **1c)** color vegetal rojo grosella.

Los caramelos “*agüita*”® rojo, y “*Frutin – Modelo*”® de colores azul y amarillo, presentaron las mismas longitudes de máxima absorción que los colorantes amarillo huevo, azul y rojo grosella, implementados como estándar. Se procedió a realizar la curva de calibración (Figura 2). Los resultados de la cuantificación se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones de colorante para las muestras seleccionadas.

Caramelo	Colorante	mg de colorante por 100 g de caramelo
Rojo “ <i>agüita</i> ”®	Rojo grosella	4.96
Azul “ <i>Frutin – Modelo</i> ”®	Azul	21.2
Amarillo “ <i>Frutin – Modelo</i> ”®	Amarillo huevo	19.6

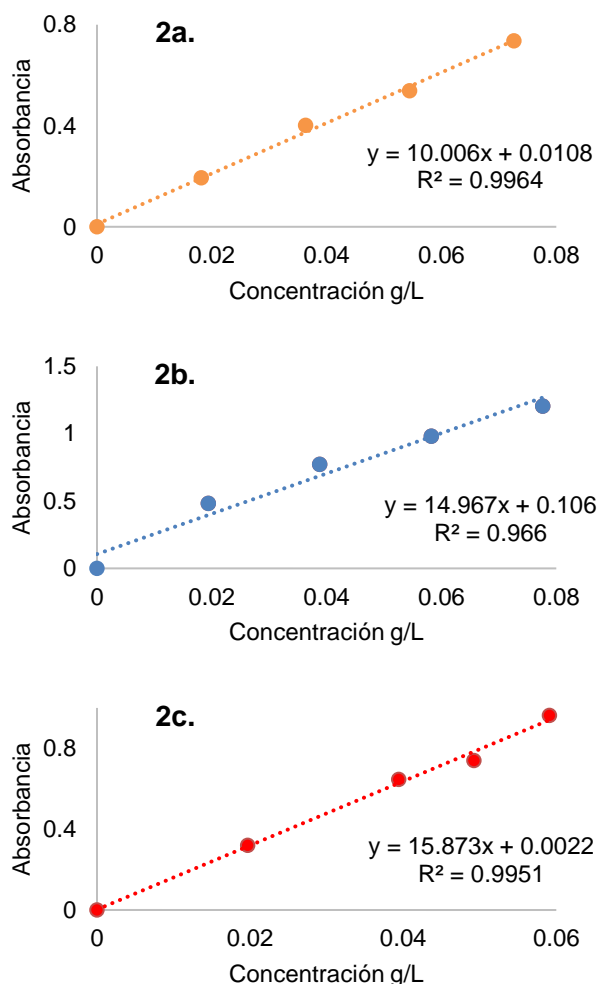


Figura 2. Curva de calibración para los colorantes: **2a)** amarillo huevo, **2b)** azul, **2c)** rojo grosella.

Cuantificación de mezclas binarias de colores primarios

Para la muestra problema violeta resultado de la combinación de rojo grosella con azul, se obtuvieron absorbancias de 0.540 en 520 nm y 0.568 en 630 nm, a partir de la ecuación 3, según el principio de aditividad:

$$\begin{aligned} A_{\text{mezcla}520\text{nm}} &= A_{\text{rojo}520\text{nm}} + A_{\text{azul}520\text{nm}} \\ A_{\text{mezcla}630\text{nm}} &= A_{\text{rojo}630\text{nm}} + A_{\text{azul}630\text{nm}} \end{aligned} \quad (3)$$

En conjunto con la ecuación 1, se obtiene el consecuente sistema de ecuaciones 4:

$$\begin{aligned} A_{\text{mezcla}520\text{nm}} &= a_{\text{rojo}520\text{nm}}bc_{\text{rojo}520\text{nm}} + a_{\text{azul}520\text{nm}}bc_{\text{azul}520\text{nm}} \\ A_{\text{mezcla}630\text{nm}} &= a_{\text{rojo}630\text{nm}}bc_{\text{rojo}630\text{nm}} + a_{\text{azul}630\text{nm}}bc_{\text{azul}630\text{nm}} \end{aligned} \quad (4)$$

La ecuación 4 representa un sistema de dos incógnitas: las concentraciones de rojo grosella (c_{rojo}) y azul (c_{azul}) presentes en la mezcla. La longitud de la celda b se mantiene constante y es igual a 1 cm. Los valores de las absorptividades experimentales se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Absorptividades experimentales de los colorantes de la mezcla violeta.

	Absorptividad $Lg^{-1}cm^{-1}$	
	520 nm	630 nm
Rojo grosella	13.1	0.381
Azul	0.747	14.4

Sustituyendo los valores de la ecuación 4 se resolvió el sistema de dos incógnitas con ayuda de la calculadora científica CASIO S-V.P.A.M. fx-991MS, obteniéndose las concentraciones de rojo grosella y azul en la mezcla de violeta: $c_{\text{rojo}} = 0.0389$ g/L y $c_{\text{azul}} = 0.0384$ g/L.

Para el caso de la mezcla binaria verde resultado de azul con amarillo huevo se obtuvieron absorbancias de 0.404 en 430 nm y 0.479 en 630 nm. Los valores de las absorptividades experimentales se presentan en la Tabla 5. A través del sistema de ecuaciones en 5:

$$\begin{aligned} A_{\text{mezcla}430\text{nm}} &= a_{\text{amarillo}430\text{nm}}bc_{\text{amarillo}430\text{nm}} + a_{\text{azul}430\text{nm}}bc_{\text{azul}430\text{nm}} \\ A_{\text{mezcla}630\text{nm}} &= a_{\text{amarillo}630\text{nm}}bc_{\text{amarillo}630\text{nm}} + a_{\text{azul}630\text{nm}}bc_{\text{azul}630\text{nm}} \end{aligned} \quad (5)$$

Tabla 5. Absorptividades experimentales de los colorantes de la mezcla verde.

	Absorptividad $Lg^{-1}cm^{-1}$	
	430 nm	630 nm
Amarillo huevo	9.32	0.0964
Azul	0.348	14.4

Sustituyendo los valores de la ecuación 5 resolvió nuevamente el sistema de dos incógnitas, obteniéndose las concentraciones de azul y amarillo huevo en la mezcla verde: $c_{\text{amarillo}} = 0.0421$ g/L y $c_{\text{azul}} = 0.0330$ g/L.

Evidenciando que el procedimiento es efectivo para conocer la concentración de cada componente en una mezcla binaria.

Conclusiones

Los colorantes amarillo huevo, azul y rojo grosella presentaron un solo pico de absorción a las longitudes de onda: 430 nm, 630 nm y 520 nm respectivamente, coincidentes con los valores reportados en la literatura para tartrazina, azul brillante y rojo allura. En el caso de las mezclas de los colorantes violeta y verde limón se comprobó la presencia de

dos componentes, para violeta fueron identificados como rojo allura y azul brillante; para verde limón como azul brillante y tartrazina, en concordancia con el espectro de absorción.

La cuantificación del colorante en los caramelos se llevó a cabo a través de curva de calibración, en el caso de los colorantes secundarios, como el violeta y verde limón, la concentración de cada componente se determinó a través del principio de aditividad de las absorbancias.

Las técnicas espectrofotométricas son una herramienta útil para conocer la identidad y la cantidad de un compuesto y son ampliamente utilizadas en la industria en pruebas de control de calidad desde fármacos hasta alimentos, motivo por el cual, es importante que como estudiante se familiarice con situaciones de análisis que lleven a comprobar y verificar analitos, asegurando que las materias primas y productos cumplan con lo que se especifica, permitiendo el desarrollo de habilidades.

Agradecimientos

Se agradece al departamento de Química Analítica por la disposición y el tiempo invertido en la realización de la parte experimental. En especial a la Dra. Adriana Hernández Calva, responsable y directora del presente trabajo, por brindarnos su paciencia y sus conocimientos para alcanzar el objetivo en la investigación. Sin la dedicación del equipo de trabajo, no sería posible llegar a los resultados esperados.

Referencias

- [1] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch. Fundamentos de química analítica. 9ª edición. México D.F.: Cengage Learning. (2015).
- [2] Flammer, J., Mozaffarieh, M., Bebie, H. (2013). The Interaction Between Light and Matter. In: Basic Sciences in Ophthalmology. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-32261-7_2
- [3] G.D. Christian. Química Analítica. 6ª edición. México, McGraw-Hill Interamericana. (2009).
- [4] D. Marcano. Introducción a la química de los colorantes. Colección Divulgación Científica y Tecnológica. Academia de Ciencias Físicas Matemáticas y Naturales, Caracas, Venezuela. (2018)
- [5] D. C. Harris. 8ª edición. Editorial Thomson. Madrid. (2005).

ELABORACIÓN, APLICACIÓN Y EVALUACIÓN DE MATERIAL DE APRENDIZAJE ACTIVO EN LA ENSEÑANZA EXPERIMENTAL DE TÉCNICAS INSTRUMENTALES

Roberto Brito Liévanos^a, Silvia Citlalli Gama González^{a*}, Norma Ruth López Santiago^b

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química, Edificio A, Anexo del laboratorio 3A, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. Tel: +52 55 5622 3754 ext 104, e-mail: silviacitlalli@quimica.unam.mx

^b Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. Tel: +52 55 5622 3754 ext 104, e-mail: nruthls@yahoo.com

Introducción

Una de las principales dificultades en la enseñanza de la química es el uso de modelos abstractos. El índice de deserción y de reprobación en la Facultad de Química de la UNAM es muy alto, por lo que es necesario plantear nuevas estrategias que permitan a los alumnos comprender mejor los modelos, su utilidad, sus limitaciones y su aplicación en el mundo real [1].

Se han propuesto cursos completos con estrategias alternativas para la enseñanza de la Química [1] propone una perspectiva constructivista que hace que el estudiante sea el protagonista y el responsable de su aprendizaje, mientras que el profesor adopta un rol de guía y colaborador del proceso.

Las metodologías activas se caracterizan por requerir de un compromiso mayor por parte de los estudiantes y del docente, por lo que es necesario mantener activa la motivación del estudiante para estudiar, comprender y aprender a partir del material proporcionado. Almendros et al (2021) aplicaron la estrategia de aula invertida y aprendizaje colaborativo, con resultados que sugieren que el aprendizaje de los alumnos puede mejorar con estas estrategias y proponen la elaboración de material audiovisual como soporte de estas estrategias [2].

El objetivo del trabajo es presentar estrategias didácticas con metodologías activas para abordar los fundamentos y aplicaciones de las técnicas espectroscópicas usadas comúnmente en la elucidación de estructuras de moléculas orgánicas y evaluar mediante una encuesta de opinión y los resultados de las evaluaciones, si estos materiales coadyuvan a que los alumnos mejoren su aprendizaje.

Parte experimental

Investigación del marco teórico. Antecedentes de alternativas a la enseñanza tradicional aplicadas a la enseñanza de las ciencias físicas y químicas.

Selección de las estrategias: Se eligió una estrategia de aula invertida y aprendizaje colaborativo para desarrollar las actividades, complementando con el uso de TICs para actividades complementarias.

Diseño de las actividades y materiales de apoyo.

Se desarrolló una estrategia de aprendizaje colaborativo, en la que los estudiantes estudiaban los fundamentos, usos y limitaciones de las técnicas espectroscópicas usadas en la elucidación de estructuras de moléculas orgánicas.

Sesión previa (media hora): El grupo, separado en equipos de 3 a 4 integrantes, investigó por equipo una técnica diferente del módulo. Las técnicas abordadas fueron: espectroscopía infrarroja, espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear y espectrofotometría UV-Visible.

Primera sesión (cuatro horas): Cada equipo elaboró un cartel donde se explicaron los fundamentos, usos y limitaciones, junto con un ejemplo de interpretación de espectros. A los alumnos se les proporcionó la rúbrica de evaluación (Figura 1) para que conocieran los criterios a utilizar para calificar la actividad. Simultáneamente se llevó a cabo el trabajo experimental con un equipo FTIR y otro de RMN para obtener los espectros de diferentes compuestos orgánicos, tanto sólidos como líquidos.

Asignatura: Analítica Experimental II (clave 1700)
Módulo: Espectroscópicos estructurales
Elaborado por M. en C. Silvia Citlalli Gama González y Q. Roberto Brito Liévanos
Rúbrica para evaluar la presentación de los carteles. **Pegar esta tabla en la bitácora**

Criterio	Excelente 3 puntos	Suficiente 2 puntos	Regular 1 punto	Insuficiente 0 puntos
Contenido	<ul style="list-style-type: none"> Presenta los fundamentos de la técnica. Presenta las características del trabajo experimental con la técnica y los problemas que se pueden presentar. Presenta cómo funciona el equipo. Presenta cómo tratar los resultados. Presenta el análisis de los resultados usando las tablas correspondientes. Presenta al menos un ejemplo de los resultados que se pueden obtener y cómo analizarlos. No presenta errores de contenido o interpretación. Incluye información de identificación y referencias. 	Presenta 6 de los aspectos considerados en Excelente	Presenta 5 de los aspectos considerados en Excelente	Tiene 4 o menos de los aspectos considerados en Excelente
Presentación visual	<ul style="list-style-type: none"> Tiene más de 2 colores que logran llamar la atención. Usa imágenes y formas para explicar conceptos o para abordar los temas. Está organizado en secciones de tal forma que facilita encontrar la información. Tiene al menos un elemento que genera empatía (imagen graciosa, comentario afable, etc). 	Presenta 3 de los aspectos considerados en Excelente	Presenta 2 de los aspectos considerados en Excelente	Presenta 1 o ninguno de los aspectos considerados en Excelente
Presentación oral	<ul style="list-style-type: none"> Explican el contenido del cartel con fluidez. Hacen uso de todo el cartel en su presentación. Participan todos los integrantes del equipo. Hacen uso de analogías o referencias para explicar los conceptos. Si se entiende el fenómeno, concepto o procedimiento. 	Se presentan 4 de los aspectos considerados en Excelente	Se presentan 3 de los aspectos considerados en Excelente	Se presentan 2 o menos de los aspectos considerados en Excelente

Figura 1. Criterios de evaluación contemplados en la rúbrica.

Segunda sesión (dos horas) Estos carteles se presentaron en una exposición tipo congreso. Los docentes estuvieron presentes durante esta actividad y ayudaban a

realizar preguntas y complementar la información expuesta por los alumnos. Se aplicó una evaluación entre pares utilizando la rúbrica previamente entregada.

Tercera sesión (cuatro horas): se realizó una actividad de elucidación de estructuras, en las que se formaron nuevos equipos con el objetivo de compartir los conocimientos adquiridos durante la elaboración del cartel. Se realizó un cuestionario interactivo en la plataforma Genially. Este cuestionario se aplicó en una sesión grupal, permitiendo que los alumnos discutieran antes de dar una respuesta grupal al cuestionario. Se les indicó que anotaran la respuesta en sus bitácoras.

Para la evaluación llenar en la bitácora la siguiente tabla.
Subir al CLASSROOM una fotografía de la tabla.

Criterio	Equipo IR	Equipo UV	Equipo RMN	Equipo Masas
Contenido				
Presentación visual				
Presentación oral				



a) Tabla para la evaluación entre pares utilizando la rúbrica entregada anteriormente. b) Fotografía de la presentación de los carteles.

Analítica Experimental II
Espectroscopía Estructural

En esta técnica, es necesario moler la muestra e introducirla en una matriz de KBr para poder obtener el espectro. ¿De qué técnica se trata?

Espectrometría de masas Resonancia Magnética Nuclear de ^1H Espectroscopía Infrarrojo

¡Incorrecto!
Recuerda los fundamentos de cada técnica. ¿Cómo se obtienen los espectros de masas? ¿Los de IR? ¿Los de RMN?

Lee el primer párrafo de introducción del siguiente artículo:
<https://www.elsevier.com/locate/chemom>
RecV20183.pdf
y responde: ¿La muestra para espectrometría de masas debe ser líquida, sólida o gaseosa?

Sólido Líquido Gaseoso

Figura 3. Carátula, ejemplo de pregunta del cuestionario interactivo y diapositiva de error en el cuestionario. Cada respuesta incorrecta cuenta con material y explicaciones adicionales que permiten que el alumno pueda contestar correctamente la pregunta antes de regresar a la pantalla de la pregunta original.

Para evaluar el material, se diseñó una encuesta de opinión en Google Forms con una escala tipo Likert. La encuesta no recolectó nombre ni correo de los alumnos, con la intención de que fuera anónima y evitar sesgos.

Sección 1 de 8

Encuesta de opinión para las actividades del módulo de métodos espectroscópicos estructurales.

Esta es una encuesta de opinión para evaluar las actividades y los materiales proporcionados durante el desarrollo del módulo de MEE en la asignatura. La encuesta es anónima, por lo que puedes responder con libertad y sinceridad. ¡Muchas gracias por tu participación!

Figura 4. Carátula del cuestionario aplicado en Google Forms.

Aplicación del material en grupos piloto.

La primera aplicación de este material fue durante el semestre 2023-1, en el grupo 5 de Analítica Experimental II impartido por la profesora Silvia Citlalli Gama González. De acuerdo con los comentarios recibidos y las observaciones realizadas, se cambiaron algunos aspectos del material generado y el material se aplicó nuevamente durante el semestre 2023-2.

Resultados y Discusión

La respuesta de los alumnos a estos materiales fue en general favorable. Durante la sesión de elaboración del cartel se podía escuchar a los alumnos intercambiando información, generando un ambiente muy diferente respecto a lo que normalmente se tiene en un salón de clases tradicional. El 91.7% de los alumnos que contestaron tuvo una opinión favorable respecto a la propuesta de realizar el cartel.

La propuesta de desarrollar un cartel de divulgación científica con los temas de espectroscopía estructural te parece:

24 respuestas

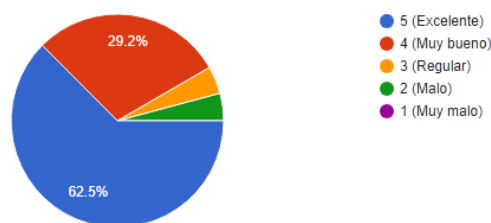


Figura 5. Gráfico de pastel de la percepción de desarrollar y exponer un cartel.

Durante la actividad de elucidación de estructuras es donde se presentaron más dudas entre los alumnos. Los comentarios realizados se orientaron a la calidad de la imagen de los espectros usados y a la diferencia de dificultad entre los espectros a analizar.

5 respuestas

Me parece que esta fue la parte con más fallas en la parte de espectroscopía. La mayoría de compañeros estaban perdidos (incluyéndome) porque no sabemos cómo leer los espectros ni sabemos qué partes son las de más interés a la hora de interpretar. Se da un curso entero en la facultad para poder llegar a tener una idea de cómo interpretar espectros y en la clase nunca se explicó cómo leerlo. Leer una parte en un libro sobre su interpretación y luego ayudarnos entre nosotros no va a generar una diferencia ni va a brindar nada como una explicación o al menos un ejemplo.

No se alcanzaban a leer bien algunos números

nop

Dar ejemplos resueltos, muchos ejemplos, antes de esa actividad

Al principio creí que era una actividad muy pesada, pero hacerla en grupo ayudó mucho. Tal vez sería bueno poner también en el documento la fórmula mínima, eso ayudaría un poco creo yo. También la idea de equipos heterogéneos fue buena.

Figura 6. Comentarios adicionales realizados por los alumnos respecto a la actividad de elucidación de estructuras.

El desarrollo de este tipo de cuestionarios en Genially te pareció:

24 respuestas

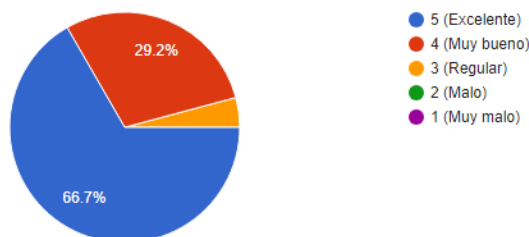


Figura 7. Gráfico de pastel sobre la opinión del material de Genially aplicado.

Al 95.9% de los alumnos que contestaron le agradó la propuesta de los cuestionarios interactivos en Genially. Como observación adicional, esta actividad en Genially es formativa. No tiene una calificación numérica, más bien se toma en cuenta que el alumno haya participado en la discusión grupal y que haya realizado la actividad. Esto fomenta la discusión grupal y reduce el estrés respecto a una evaluación tradicional.

La incorporación de actividades grupales facilitó la comprensión de los fundamentos, aplicaciones y limitaciones de las técnicas abordadas

24 respuestas

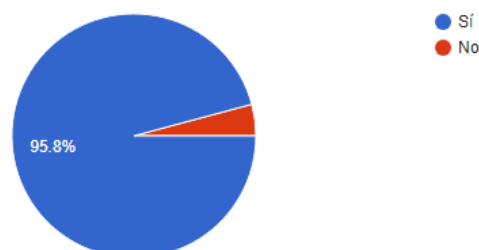


Figura 8. Gráfico de pastel sobre la percepción de la utilidad del material y actividades aplicadas.

El 95.8% de los alumnos que contestaron consideran que estas estrategias grupales permiten mejorar y profundizar en el aprendizaje de las técnicas abordadas.

Conclusiones

Las estrategias aplicadas lograron que los alumnos se interesen más por la asignatura y ayudaron a que se pudiera profundizar de manera más amena en los fundamentos, aplicaciones y limitaciones de las técnicas abordadas. La estrategia de aula invertida permitió que los estudiantes pudieran intercambiar y complementar los conocimientos adquiridos, colaborando entre ellos para obtener un aprendizaje más completo. También es necesario elaborar, aplicar y evaluar más material de este estilo, para cubrir más técnicas de análisis instrumental y que tanto profesores como alumnos cuenten con una alternativa viable a la forma tradicional de impartir el curso.

Agradecimientos

A las profesoras Silvia Citlalli Gama González y Norma Ruth López Santiago, que me guiaron durante el proceso y me proporcionaron un espacio para desarrollar el proyecto. A la Universidad Nacional Autónoma de México, que me dotó de los conocimientos para poder elaborar estas propuestas.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el apoyo otorgado a través del proyecto PE201022 Propuestas didácticas basadas en metodologías activas para la enseñanza-aprendizaje de la Química Analítica.

Referencias

[1] F. Barraqué, S. Sampaolesi, L. E. Briand, V. Vetere, (2021). La enseñanza de la química durante el primer año de la universidad: el estudiante como protagonista de un aprendizaje significativo. *Educación Química*, **32**(1), 58. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.1.75760>

[2] P. Almendros, M. B. Montoya e I. Pablo-Lerchundi,(2021). Aula invertida y trabajo colaborativo en química. Educación Química, **32**(5), 142. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.5.78412>

[3] T. Wenzel, (2020). Collaborative Group Learning in Remotely Taught Analytical Chemistry Courses. Journal of Chemical Education, **97**(9), 2715-2718. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00520>

[4] C. V. Balverdi, M. Del Pilar Balverdi, P. Marchisio, & A. S. Sales. (2020). El modelo "Clase invertida" en química analítica. Educación Química, **32**(5). 15-26. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2020.3.70250>

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NITRATOS EN AGUA DE POZO

Clarissa Michelle Quijas Mateos^a, Mara Sarahi Florencio Martínez^a, Miguel Velazquez Manzanares^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{a*}

^a 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, México. ilianagarza@uadec.edu.mx

Introducción

Tener acceso al agua potable es un derecho humano que todo país debe de cumplir, ya que el agua contaminada y el deficiente saneamiento se relacionan con la transmisión de diversas enfermedades [1]. En muchas partes del mundo el agua subterránea extraída de pozos profundos es la principal fuente de abastecimiento de agua potable, su calidad se puede ver afectada debido a las características hidrogeológicas, transporte subterráneo, prácticas de uso de suelo, ubicaciones geográficas, y por fuentes antropogénicas como el aumento de población, aplicación de pesticidas, vertido de desechos y el aumento de la industrialización [2]. La ciudad de Saltillo se abastece principalmente de agua subterránea que se obtiene a través de pozos profundos, los cuales pueden llegar a tener profundidades de 8 a 500 m, esto dependiendo de la zona topográfica [3]. El ion nitrato (NO_3^-) se encuentra naturalmente en el medio ambiente ya que forma parte del ciclo del nitrógeno y es un nutriente importante para las plantas, además es la forma del nitrógeno más oxidada y no reacciona químicamente en soluciones acuosas diluidas, generalmente se encuentra a nivel trazas en el agua superficial, pero en aguas subterráneas pueden alcanzar niveles elevados, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud el nivel máximo de nitratos en agua es de 50 mg/L [4 y 5]. Una de las características tóxicas del nitrato es que puede permanecer en el agua durante muchos años aumentando su concentración; El agua potable que contiene altas concentraciones de nitratos provoca daños adversos sobre la salud del ser humano como la disfunción de la tiroides en niños y mujeres embarazadas, por otro lado cuando los nitratos son ingeridos estos se reducen a nitrito formando N-nitrosaminas cancerígenas que llevan a la generación de metahemoglobinemia o síndrome del bebé azul (incapacidad de los glóbulos rojos para transportar oxígeno), además la descarga de aguas subterráneas contaminadas con nitratos en aguas superficiales pueden provocar la eutrofización del medio ambiente [6 y 7]. Debido a las consecuencias negativas que genera los nitratos presentes en el agua, es necesario su detección esto para determinar la concentración y así generar información que ayude a las autoridades correspondientes a la toma de decisiones, por lo cual existen diferentes métodos analíticos para su análisis como: cromatográficos, electroquímicos, espectrofotometría, entre otros., estos métodos presentan diferentes características y sensibilidades [8]. Los métodos espectrofotométricos presentan una gran ventaja, ya que la mayoría de los laboratorios de análisis pueden adquirir un espectrofotómetro, sin embargo, la desventaja principal radica en la composición de la muestra (agua superficial, agua subterránea,

agua residual, etc.) ya que puede perder sensibilidad al determinar NO_3^- debido a los interferentes de las muestras como altas concentraciones de materia orgánica. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración de NO_3^- presente en agua natural del pozo mediante el método espectrométrico ultravioleta selectivo.

Parte Experimental

La muestra de agua se recolectó del pozo de la Escuela de Bachilleres Ateneo Fuente

Pre-tratamiento de muestra:

A 50 mL de muestra previamente filtrada (sistema de filtración por gravedad y papel Whatman #41) se les añadió 1 mL de HCl 1M

Previo a la lectura de la muestra se realizó una serie de siete estándares en un intervalo de trabajo de 1 a 7 mg/L a partir de un estándar certificado de NO_3^- de 1000 mg/L (Accustandard), con 1 mL HCl, para su detección se utilizó un espectrofotómetro UV/Vis (Varian Cary 50 Bio) y se realizó la lectura a 220 y 275 nm para obtener la lectura de NO_3^- y determinar si se puede tener alguna interferencia debida a la materia orgánica presente.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se presenta un ejemplo de una de las curvas de calibrado que se obtuvieron

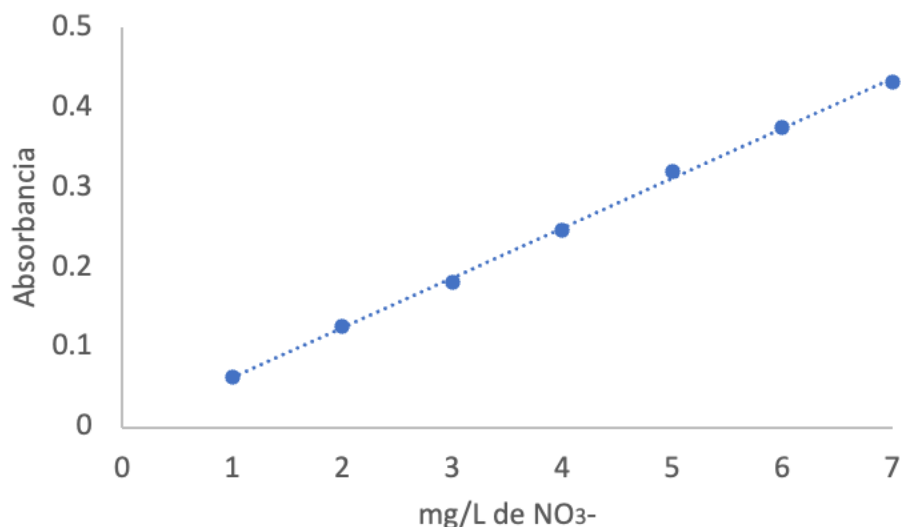


Figura 1. Curva de calibrado de nitratos con absorbancias corregidas mediante el método espectrométrico ultravioleta selectivo .

La ecuación que se utilizó para determinar la concentración de la muestra fue:
 $y=0.0623\pm 0.0001x+0.0008\pm 0.0002$ $R^2=0.9973\pm 0.0022$

Finamente se determinó la concentración de la muestra a partir de la absorbancia corregida ($Abs_c = Abs_{220} - 2Abs_{275}$) [9]. Si el valor de la lectura a 275 nm es mayor de 10% del valor de la lectura a 220 nm, este método no es aplicable, al obtener el porcentaje de la Abs_{275} solo se alcanzó el 5.5 respecto a la Abs_{220} , esto nos indica que no se presenta interferencia por la materia orgánica presente en las muestras, por lo tanto, se utilizó la ecuación anterior obteniendo 39.80 ± 4.22 mg/L de NO_3^- .

Conclusiones

El método utilizado para determinar la concentración de los NO_3^- presentes en la muestra de agua del pozo estudiado fue adecuado y además se encuentra por debajo del límite permisible que la OMS establece (50 mg/L), no presenta riesgo para la población que consume el agua del pozo de la Escuela de Bachilleres Ateneo Fuente. Sin embargo, este estudio es el inicio de un proyecto mayor donde se determinarán los NO_3^- utilizando otros métodos para adquirir el conocimiento adecuado para aplicar estas metodologías a diferentes matrices.

Agradecimientos

A la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesarios para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] P. Li, J. Wu. Drinking Water Quality and Public Health. Exposure and Health. **11**. 73-79 (2019).
- [2] S. Kurwadkar, S. Kanel, A. Nakarmi. Groundwater pollution: Occurrence, detection, and remediation of organic and inorganic pollutants. Water Environment Research. **92**, 1659-1668 (2020).
- [3] Instituto Municipal de Planeación de Saltillo. (2021). Fulltechnical report City Profile Saltillo within the Morgenstadt Global Initiative. University of Stuttgart.
- [4] M. Shrimali, K. Singh. New methods of nitrate removal from water. Environmental Pollution. **112**, 351-359 (2001).
- [5] World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. (2017).
- [6] A. Richa, S. Touil, M. Fizir. Recent advances in the source identification and remediation techniques of nitrate contaminated groundwater: A review. Journal of Environmental Management. **316**, 1-23 (2022).
- [7] M. Iftakharul, M. Mohammad, S. Tareq, M. Mostafizur. Nitrate Pollution in the Groundwater of Bangladesh: An Emerging Threat. Sustainability. **15**, 1-19 (2023).
- [8] M. Eshrat, S. Chandra. Detection methods of nitrate in water: A review. Sensors and Actuators. **280**, 210-221 (2018).
- [9] Norma Oficial Mexicana NOM-AA-82-1986. Contaminación del agua- Determinación de nitrógeno de nitrato - método espectrofotométrico ultravioleta.

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE FLORES COMO INDICADORES ÁCIDO-BASE

Carlos Gustavo López González, Alejandro Gutiérrez Sánchez, Minerva Monroy Barreto*

Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM.CP 04510, Ciudad de México. México. e-mail: mmonroyb@quimica.unam.mx, alj.gtz@gmail.com

Introducción

La contaminación ambiental por sustancias químicas es un problema actual que preocupa debido a su impacto en la salud. Es necesario encontrar alternativas amigables con el medio ambiente para reemplazar las sustancias químicas sintéticas. Una opción prometedora son los extractos vegetales.

Las titulaciones son una técnica común y económica en el análisis cuantitativo. En las titulaciones ácido-base con monitoreo colorimétrico, se emplean indicadores orgánicos que cambian de color de acuerdo con el pH del medio. Generalmente, estos indicadores presentan la característica de que el ojo humano puede apreciar claramente la diferencia entre dos colores generado por el indicador cuando la concentración de una de sus formas químicas con diferente estado de protonación es de 10 a 100 veces mayor que la otra. El cambio de color ocurre gradualmente en un intervalo de aproximadamente una a dos unidades de pH, conocido como el intervalo de viraje.

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que dan color a flores, frutas y verduras. Son sensibles al pH, volviéndose rojas en medio ácido, azul oscuro en medio básico y violetas durante la transición (Figura 1). Diversos extractos vegetales contienen antocianinas, generando cambios de color específicos de acuerdo con el pH.

En este trabajo, se presentan los resultados de la evaluación como indicadores ácido-base de los extractos de cuatro tipos de flores: jamaica, nochebuena, dalia roja y dalia morada; las cuales contienen antocianinas. De estos extractos se analizaron las gamas de colores que presentaron en función del pH, así mismo se emplearon como indicadores ácido-base en la determinación de la concentración de disoluciones de ácido clorhídrico, acético, bicarbonato de sodio y fosfato de sodio; además de dos muestras complejas, una de vino blanco y otra de tabletas de carbonato. Finalmente se adquirieron los espectros de absorción en el espectro visible, en un intervalo de pH de 1 a 12.

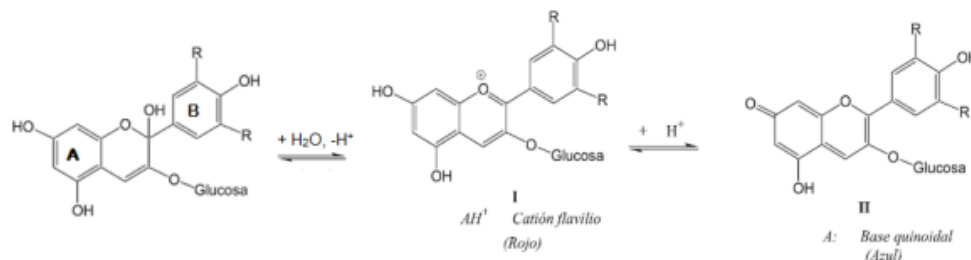


Figura 1. Cambios estructurales de las antocianinas con respecto al pH. (Figura obtenida de [2]).

Parte Experimental

Los pétalos fueron retirados de las flores (flor de jamaica, nochebuena, dalia morada y dalia roja), enjuagados con agua y colocados en papel absorbente para retirar el exceso de la misma. Los pétalos se secaron a temperatura ambiente durante 1 semana y se seleccionaron los pétalos inmarcesibles y que no se hayan decolorado durante el periodo de secado.

Se pulverizaron usando un molino de aspas (KRUPS F203) y se almacenaron en frascos color ámbar.

Se evaluaron diferentes disolventes de extracción empleando agua a 60°C, etanol a temperatura ambiente (t_{amb}) y agua-etanol (80:20) a t_{amb} y 60 °C.

Cada uno de los extractos obtenidos se colocó en una serie de disoluciones amortiguadoras en el intervalo de pH de 1 a 12, para evaluar la gama de colores generados por estos.

Se realizaron una serie de titulaciones ácido-base (Tabla 1) empleando reactivos y 2 muestras comerciales (vino blanco y tabletas antiácido) con monitoreo potenciométrico utilizando un equipo HANNA instruments. Adicionalmente, como referencia, se monitorearon colorimétricamente con indicadores sintéticos de fenolftaleína y anaranjado de metilo. Estas titulaciones se realizaron por duplicado.

Tabla 1. Combinaciones realizadas en las volumetrías ácido-base.

Titulante	Analito
NaOH	HCl
	CH ₃ COOH
	<i>Titulación por retroceso</i> Tabletas de antiácido con 500 mg de CaCO ₃ , marca conocida.
	Acidez tituable calculado como ácido tartárico (C ₄ H ₆ O ₆)
HCl	NaHCO ₃
	Na ₃ PO ₄

Se realizaron las titulaciones del punto e) utilizando como indicadores los extractos vegetales, se calcularon las concentraciones de cada analito y se compararon con los resultados de referencia.

Se adquirieron los espectros de absorción con un espectrofotómetro Evolution 201 UV-Visible de la marca Thermo Scientific® de cada extracto vegetal a diferentes valores de pH, en el intervalo de 1-12.

Resultados y Discusión

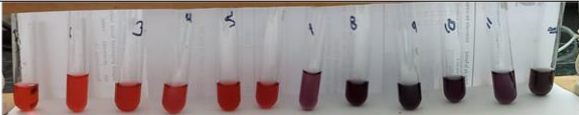
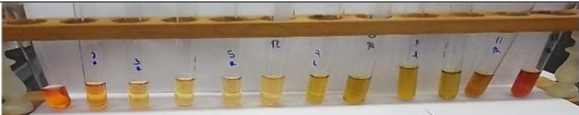
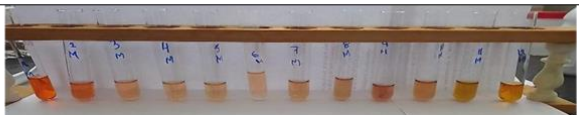

La flor de jamaica se empleó como modelo para observar el comportamiento de los tres disolventes de extracción propuestos en la parte experimental, los extractos obtenidos se colocaron en disoluciones amortiguadoras de pH= 1, 2, 7, 9 y 12 y se apreció que el extracto obtenido en la mezcla de agua-etanol 80:20 presentó colores intensos, en los

extractos acuosos se presentaba descomposición temprana del indicador; en etanol los colores que se observaron eran muy tenues, por esta razón el disolvente seleccionado fue la mezcla de agua-etanol 80:20.

Una vez seleccionado el disolvente de extracción, se construyó una escala de pH (1-12) con disoluciones amortiguadoras de fosfatos, los resultados obtenidos para los 4 extractos de flores se presentan en la Tabla 2.

Se prepararon los extractos vegetales para utilizarlos como indicadores a una concentración de 0.1 mg mL^{-1} , en titulaciones ácido-base, las cuales se realizaron por duplicado. Se determinaron las concentraciones de los analitos seleccionados utilizando como referencia el método potenciométrico y los indicadores fenolftaleína y anaranjado de metilo. En las figuras 1a y 1b se pueden observar la curva de titulación potenciométrica de HCl con NaOH, y la primera derivada de esta, respectivamente.

Tabla 2. Gama de colores observados de las cuatro flores evaluadas, en función del pH.

Flor evaluada	Colores observados e intervalo de viraje de pH	Imágenes de los colores observados
Jamaica	Rojo, morado y azul. pH= 6-8	
Dalia Roja	Rojo, naranja y amarillo. pH= 5-8.	
Dalia Morada	Rojo, morado y café tenue. pH= 6-9.	
Noche Buena	Rojo, morado y café. pH= 5-8.	

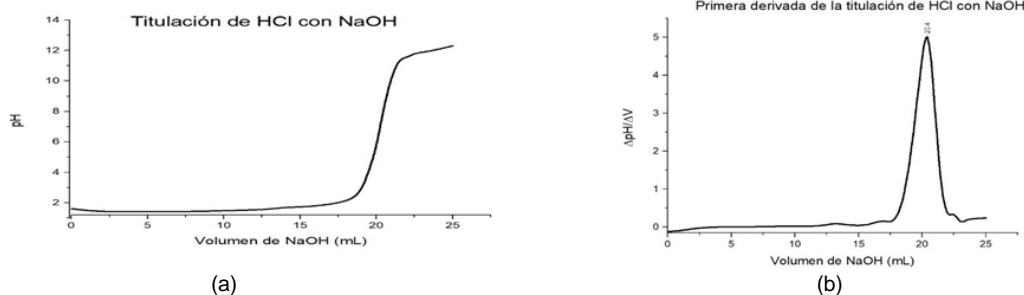


Figura 2. Gráficos obtenidos en la titulación de HCl con NaOH por potencimetría. a) Curva pH-métrica: $\text{pH} = f(V)$. b) Curva de la primera derivada del pH con respecto al volumen.

En las siguientes tablas se muestran las combinaciones realizadas y las concentraciones obtenidas de cada muestra.

Tabla 3. Concentraciones experimentales obtenidas de analitos ácidos por potenciometría y colorimetría usando indicadores sintéticos y de origen vegetal. DE: Desviación Estándar, CV: Coeficiente de Variación, DRPV: Diferencia con Respecto al Valor Potenciométrico.

Titulante NaOH [0.083 M]						
Analito HCl						
	Potenciometría	Fenolftaleína	Jamaica	Nochebuena	Dalia Morada	Dalia Roja
Concentración (mol/L)	0.090	0.092	0.092	0.088	0.089	0.086
DE (mol/L)	0.0015	7.63×10^{-4}	1.46×10^{-3}	1.46×10^{-3}	6.60×10^{-4}	9.21×10^{-4}
CV (%)	1.70	0.83	1.59	1.66	0.74	1.07
DRVP	-	0.0014	0.0017	0.0024	0.0011	0.0039
Analito CH₃COOH						
Concentración (mol/L)	0.135	0.133	0.134	0.115	0.143	0.129
DE (mol/L)	0.0022	8.97×10^{-4}	7.82×10^{-4}	1.47×10^{-3}	1.38×10^{-3}	1.57×10^{-3}
CV (%)	1.66	0.68	0.58	1.28	0.97	1.22
DRVP	-	0.0022	0.0010	0.020	0.0079	0.0061
Analito CaCO₃						
Concentración (%)	108.29	108.39	110.00			
DE (%)	0.9761	1.172	0.2614			
CV (%)	0.9014	1.08	0.24			
DRVP	-	0.1000	1.7219			
Analito acidez titulable (calculado como ácido tartárico).						
Concentración (g/L)	5.66	6.14	5.56			
DE (g/L)	0	0.0707	0.0695			
CV (%)	0	1.15	0.012			
DRVP	-	0.4844	0.0983			

Tabla 4. Concentraciones experimentales obtenidas de analitos básicos por potenciometría y colorimetría usando indicadores sintéticos y de origen vegetal. DE: Desviación Estándar, CV: Coeficiente de Variación, DRPV: Diferencia con Respecto al Valor Potenciométrico.

Titulante HCl [0.088 M]						
Analito NaHCO ₃						
	Potenciometría	Naranja de metilo	Jamaica	Nochebuena	Dalia Morada	Dalia Roja
Concentración (%)	90.23	91.63	91.70	91.77	91.20	93.89
DE (%)	1.27	0.36	1.60	1.12	0.65	0.80
CV (%)	1.40	0.40	1.75	1.23	0.71	0.85
DRVP	-	1.39	1.46	1.53	0.96	3.65
Analito Na ₃ PO ₄						
Concentración (%)	98.52	99.55	99.19			
DE (mol/L)	0.74	0.20	0.22			
CV (%)	0.75	0.20	0.23			
DRVP	-	1.03	0.67			

Se puede observar que las concentraciones obtenidas para las disoluciones de HCl y CH₃COOH (Tabla 3) empleando como titulante el NaOH presentan valores similares utilizando como indicadores los extractos vegetales y la titulación potenciométrica. Los resultados obtenidos para las muestras comerciales también se observan en la tabla 3, por el momento solo se tienen los resultados para el extracto de flor de jamaica como indicador. En el caso de la muestra de antiácido (CaCO₃) se realizó una ANOVA de un factor y no se encontró diferencia significativa entre las medias (P=0.05). Con base en la monografía de producto terminado de tabletas de CaCO₃ de la FEUM [6] nos indica que estas son aceptadas con un intervalo de pureza del 90%-110%, con lo cual podemos decir que en los tres análisis realizadas los resultados son aceptables, es importante señalar que los resultados obtenidos con la flor de jamaica presentaron menor variabilidad en comparación con los resultados obtenidos con fenolftaleína como indicador. Por otra parte, en el análisis del vino blanco se nota que la diferencia entre los resultados de la jamaica con el método potenciométrico es menor que con el indicador sintético, basándonos en la NOM-199-SCFI-2017 [5] que determina una concentración de ácido tartárico en vino de 3.5 g L⁻¹ a 8 g L⁻¹ los tres métodos arrojan un valor aceptable dentro de la norma, sin embargo, con la fenolftaleína se gasta más hidróxido de sodio debió a que la muestra de vino posee un color amarillo pálido, haciendo que la transición de color de la fenolftaleína (incolore a rosa) sea mucho más difícil de detectar. Para el caso del empleo de HCl como titulante en el análisis de NaHCO₃, (Tabla 4) se observa que las dalias moradas muestran la menor diferencia en las concentraciones obtenidas para este analito. En el caso del Na₃PO₄, se observa que el extracto de flor de jamaica presenta resultados consistentes con lo obtenido mediante titulación potenciométrica. Los extractos de flores empleadas en este trabajo están constituidos por más de una antocianina por ello se observan diversas gamas de colores. Esto sugiere la presencia

de diferentes formas protonadas de antocianina con distintos pKa's. Se realizaron mediciones espectrofotométricas en un intervalo de pH de 1 a 12 de los extractos de las flores, en la Figura 3 se presentan los espectros obtenidos para la flor de jamaica como ejemplo. Con la información obtenida mediante espectrofotometría se seleccionó de cada extracto el intervalo de pH a trabajar para poder determinar el pKa de cada sistema.

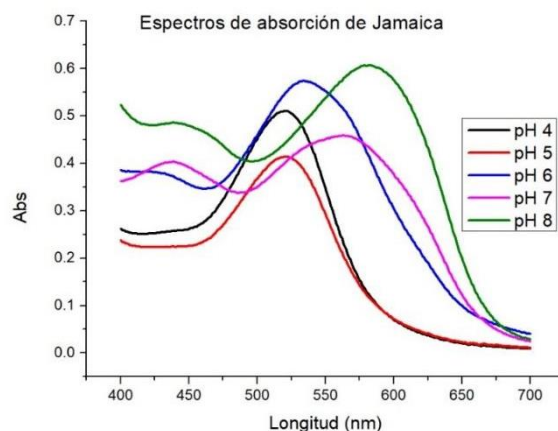


Figura 3. Adquisición de los espectros de absorción (400 a 700 nm) de los extractos de flor de jamaica, en el intervalo pH 4-8.

Conclusiones

Los extractos de las flores jamaica, nochebuena, dalia roja y morada presentan transiciones de color en un amplio intervalo de pH, lo que los convierte en herramientas valiosas en el campo del análisis químico.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran la capacidad de los extractos de flores como indicadores ácido-base.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del programa UNAM-DGAPA-PAPIME 205822, Química Analítica sustentable; desarrollo de protocolos de prácticas aplicando reactivos verdes y diseño de un prototipo fotométrico elaborado con materiales accesibles.

Se agradece a la Dra. Araceli Peña Álvarez, jefa del departamento de química Analítica, UNAM las facilidades para llevar a cabo el trabajo.

Referencias

- [1] Avalos, S. H. (2006). Experiencias sorprendentes de química con indicadores de pH caseros. Eureka, 15.
- [2] Ballesterosortich, I. P., & Díaz Barrios, A. P. (julio de 2017). La antocianina como sustituto de los indicadores de pH sintéticos: un paso hacia los productos verdes. Revista de Investigaciones, 45(2), 112-124

- [3] Harris, D. C. (2007). Análisis Químico Cuantitativo (3^a ed.). Barcelona, España: Editorial Reverté S.A.
- [4] Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión [Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds: A review]. Revista de Química, 65(2), 112-126.
- [5] Secretaria de gobernación (2012, 23 febrero). NORMA oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. Recuperado de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5502882&fecha=30/10/2017 el día 15 de junio del 2023
- [6] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2014). Undécima edición (Vol. II). Autores varios. México. 1611-1612.

PERFIL METABOLÓMICO DE *Lactarius indigo* USANDO RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Noemi Guillermina López Trejo^a Elvia Becerra Martínez^{b*},

César Omar Montoya García^c, Jesús Pérez Moreno^c, Magdalena Martínez Reyes^c

^a Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. Av. Luis Enrique Erro S/N, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México, 07738, México. nlopezt1902@alumno.ipn.mx

^b Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Av. Luis Luis Enrique Erro S/N, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México, 07738, México. elmartinezb@ipn.mx

^c Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5, Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, 56230, Estado de México, México. ing.montoya.cesar@gmail.com

Introducción

El género *Lactarius* pertenece al orden de Russulales y a la familia Russulaceae. Este género se caracteriza por la secreción de látex del cuerpo fructífero cuando es cortado y por su coloración que varía entre azul oscuro y azul pálido. Crecen en bosques templados y en diversas especies de este género se ha observado la asociación simbiótica a las raíces de los árboles [1]. Se reporta poca actividad de exportación a pesar de su amplia popularidad, tal vez por la diversidad de especies que ofrece [2]. Adicionalmente, estos hongos sirven de alimento a la fauna local, la cual a su vez contribuye a su dispersión y a la regeneración vegetal en zonas perturbadas, dado que las excretas son excelente fuente de inóculo micorrizógeno, favoreciendo así el equilibrio de los ciclos biogeoquímicos, fomentando la productividad y contribuyendo a la resiliencia de los bosques [6].

El *Lactarius indigo*, es una especie que puede presentar píleos, siendo esta la parte superior que cae sobre el hongo, es el encargado de sustentar una superficie que mantiene alojadas las esporas (himenio), estructuralmente es plana-convexa con una depresión central cuando son jóvenes y cóncavos cuando llegan a la madurez, sus dimensiones se encuentran entre 2 a 6 pulgadas de ancho, 0.79 a 3 pulgadas de largo y 0.04 a 0.98 pulgadas de espesor [5]. Tiene un tono azul índigo cuando está fresco y húmedo, se desvanece a grisáceo y luego con un brillo plateado, a menudo se mancha de color verde grisáceo al maltrato. Por otro lado, el estípite, es el pie que se encarga de sustentar el sombrero del hongo. Los tejidos de este pie están compuestos por tejido estéril hifal, el contexto es firme, al principio blanquecino, rápidamente cambia a azul índigo al corte, cambia a una tonalidad verdosa con el tiempo y la deshidratación. Viscoso cuando está húmedo. Olor fúngico fuerte y sabor dulce no acre. Esta seta forma micorrizas con pinos y robles, creciendo sobre todo durante el otoño [3].

Es una especie de amplia distribución geográfica ya que ha sido encontrado en Canadá, USA, Colombia, Costa Rica, Guatemala, Japón, China y México. Habita en bisques pino-encino, entre los 2300 a 3000 metros sobre el nivel del mar [5]. En México este hongo es una de las especies comestibles silvestres más consumida e importante en zonas templadas de México. En el Centro de México, Oaxaca y algunas zonas de Chiapas esta especie se distingue por ser de las especies comestibles más apreciadas por los

habitantes de las comunidades o con más alta demanda en los mercados o tianguis tradicionales.

El volumen de producción de hongos frescos en México se estima en 38,708 toneladas anuales, lo que representa alrededor del 59% del total de la producción en Latinoamérica, siendo este país el 18o productor a nivel mundial. Su exportación genera divisas por más de cuatro millones de dólares anuales. Las operaciones comerciales tienen un monto anual aproximado de 150,000,000 de dólares, generando alrededor de empleos directos e indirectos [1].

Los hongos *Lactarius indigo*, debido a su sabor, consistencia y color, tienen gran demanda y aceptabilidad en el mercado, aunque sólo hay oportunidad de consumirlos en la época de lluvias. [4]. En algunos mercados y tianguis, principalmente en el centro del país, es comercializado por su valor alimenticio y es apreciado por su buen sabor, se vende entre 40 a 60 pesos por kilogramo.

A pesar de que los hongos comestibles silvestres se han convertido en un recurso alimenticio en toda la República Mexicana, no se cuenta con estudios de resonancia magnética nuclear para la identificación de compuestos químicos de interés nutricional, por lo cual es importante implementar esta técnica para conocer y aprovechar los beneficios nutricionales que proporciona esta especie. El presente trabajo describe el perfil metabolómico de las partes que conforman al hongo *Lactarius Índigo*, el píleo y el estípite, identificando metabolitos de interés nutricional. Se realizó un protocolo de metabolómica basado en Resonancia Magnética Nuclear y Análisis Multivariable.

Parte Experimental

Se recolectaron 10 hongos en la localidad de Zacualpan, Estado de México. Se separaron las partes, estípite y píleo. Las partes fueron liofilizadas y después se realizaron extracciones. Los extractos polares se rehidrataron con 1000 μ l de tampón fosfato 100 mmol L⁻¹ en D₂O, pH 6.0, con 0.7 mmol L⁻¹ TMSP. Los experimentos de RMN de ¹H fueron realizados en un espectrómetro Bruker 750 MHz. Los compuestos fueron cuantificados por una integración de las señales del TSP en el espectro de RMN de ¹H. La detección de los metabolitos diferenciales se realizó con base en un análisis estadístico multivariado.

Resultados y Discusión

El espectro de RMN de ¹H a 750 MHz característico del hongo *Lactarius Índigo* se muestra en la Figura 1a. Los principales metabolitos identificados en el espectro se corroboraron con experimentos de RMN 1D y 2D como COSY, HSQC y HMBC. Los datos se compararon con los descritos en la literatura y la base de datos Human Metaboloma Data Base ([http:// www.hmdb.ca](http://www.hmdb.ca)). En el espectro se observa principalmente el manitol. Este compuesto fue identificado a simple vista debido a las señales de los átomos de hidrógeno en 3.66 (dd, $J = 11.8, 6.3$ Hz), 3.74 (m), 3.78 (d, $J = 8.2$), 3.85 (dd, $J = 2.7, 11.8$ Hz). También se observaron las señales características de la α -glucosa 5.23 (d, $J = 3.8$

Hz) y β -glucosa 4.64 (d, $J = 7.9$ Hz). El espectro se dividió en tres regiones. La primera región contenía aminoácidos y ácidos orgánicos. Dentro de esta región, se observó que el ácido cítrico era el metabolito más abundante identificado por el sistema AB en 2.80 (d, $J = 15,6$ Hz) y 2.94 (d, $J = 15,6$ Hz). Otros ácidos orgánicos como ácido acético, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico fueron identificados en concentraciones menores. Simultáneamente, se identificaron 17 aminoácidos en esta región; alanina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, triptófano, tirosina y valina (Figura 1b). La segunda región incluía manitol en concentración más abundantes, aunque también se identificaron trazas de otros monosacáridos como galactosa, glucosa, manosa, mio-inositol, trehalosa y UDP-glucose (Figura 1c). En la tercera región se identificaron aminoácidos aromáticos como histidina, fenilalanina, tirosina y triptófano. En esta región se observó los singuletes característicos de ácido fórmico (8.40 ppm) y ácido fumárico (6.54 ppm). Metabolitos característicos de los hongos como nicotinato, nicotinurato y 1-methylnicotinate, fueron identificados (Figura 1c).

Para determinar la diferencia entre el perfil metabolómico de las partes de los hongos, se realizó Análisis de Componentes Principales (PCA) y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (OPLS-DA). En modelo PCA con tres componentes justificaron aproximadamente el 86.6 % de la variabilidad total, el primer componente (PC1) representó el 82.3 % de la variabilidad y el segundo componente (PC2) representó el 4.3 % de la variabilidad. La grafica de puntos del modelo PCA mostro una buena separación de los dos grupos, esto indica que existen diferencias metabólicas entre las partes de los hongos. Esto se corrobora con el modelo OPLS-DA con dos componentes predictivos y tres componentes ortogonales que arrojó valores de R^2X (cum) = 0.711, R^2Y (cum) = 0.991 y Q^2 (cum) = 0.956 (Figura 2). Se realizó la validación del modelo OPLS-DA con una prueba de permutaciones, indicando que el modelo es válido.

Para identificar los metabolitos responsables de la separación de las partes del hongo, se realizó un gráfico de cargas del modelo OPLS-DA (Figura 3). Se utilizaron treinta y seis metabolitos para construir el modelo OPLS-DA y 14 metabolitos mostraron una variación significativa entre las dos partes de los hongos ($p < 0.05$). El estípote se caracterizó por un alto contenido histidina, glucosa y metionina, mientras que el píleo tenía altas concentraciones de UDP-glucosa, alanina, asparagina, glutamina, glicina y treonina, ácido fórmico, uridina, glicero-3-fosfocolina, 1-metilnicotinato y NAD.

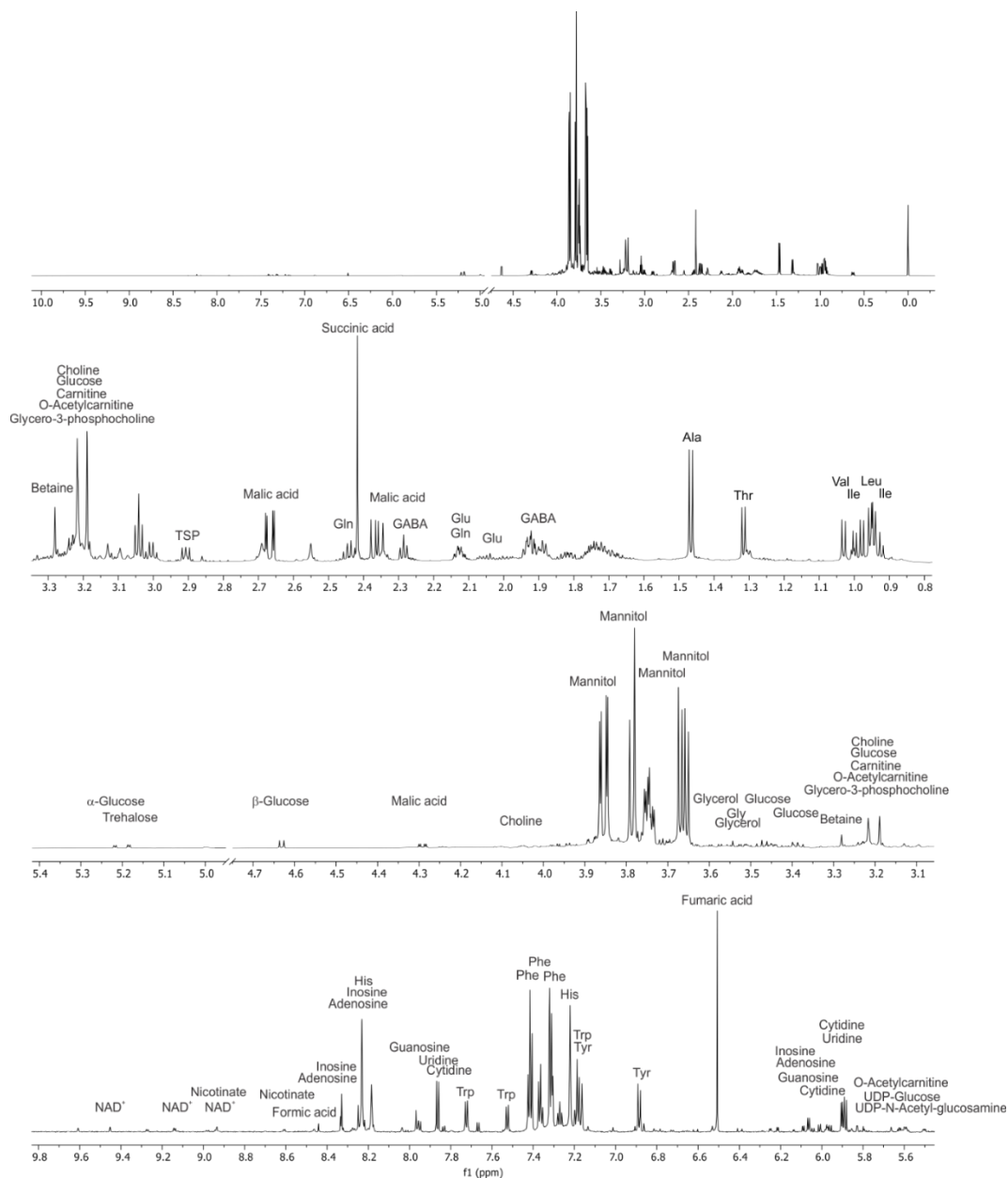


Figura 1. Espectro RMN de ¹H obtenido a 750 MHz de los extractos acuosos del hongo *Lactarius indigo*. (1a) Espectro de RMN de ¹H completo de 0.0 a 10.0 ppm; (1b) Espectro de RMN de ¹H expandido de 0.8 a 3.0 ppm; (1c) Espectro de RMN de ¹H expandido de 3.2 a 5.5 ppm; (1d) Espectro de RMN de ¹H expandido de 5.8 a 9.6 ppm.

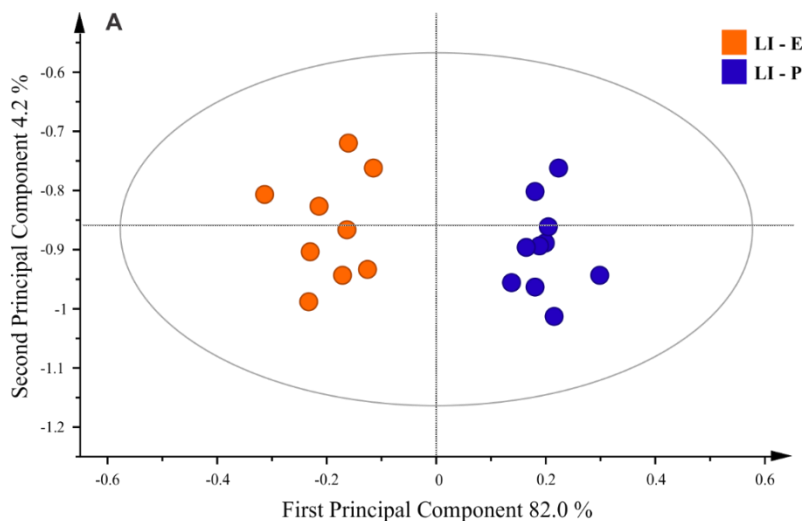


Figura 2. Modelo OPLS-DA donde se compara los perfiles metabolómicos de las partes del hongo *Lactarius indigo*.

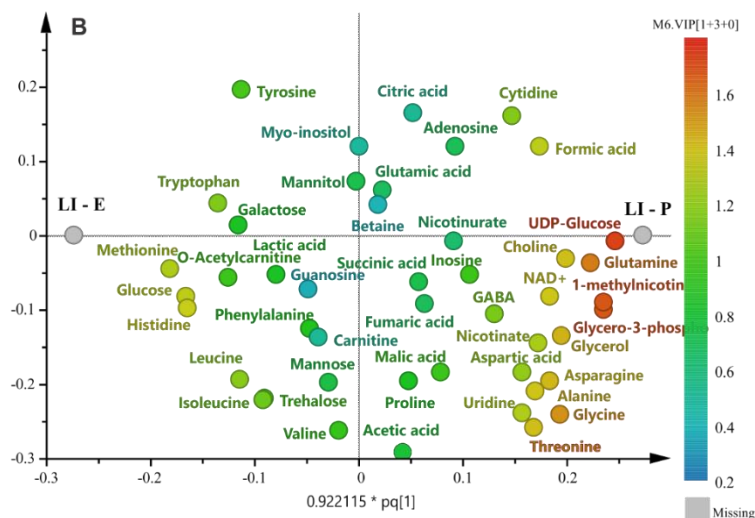


Figura 3. Diagrama de cargas del modelo OPLS-DA que muestra los metabolitos diferenciales en las partes del hongo *Lactarius indigo*.

Conclusiones

Es el primer reporte de perfil metabolómico para el hongo *Lactarius indigo* de gran importancia cultural y comercial en México. Se observó que el píleo tiene una mayor concentración de metabolitos diferenciales. Los resultados obtenidos muestran que el empleo de la metabolómica mediante RMN de ^1H es una herramienta sensible y eficaz para la determinación de las huellas metabolómicas en alimentos.

Agradecimientos

Esta investigación recibió apoyo financiero de la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP-IPN) y al programa Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI-IPN).

Referencias

- [1] A. Cano-Estrada & L. Romero-Bautista, Economic, nutritional and medicinal value of edible wild mushrooms. *Revista Chilena de nutrición*, **43**, 75 – 80, (2016).
- [2] E. Boa. Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población. *FIAT PANIS*, **17**, 9-16, (2005).
- [3] K.I Espejel-Sánchez. Potencial nutracéutico de tres especies de hongos silvestres de la sierra norte de Puebla. Tesis de maestro en ciencia y tecnología agroalimentaria, (2018).
- [4] K.I Espejel-Sánchez, T. Espinosa-Solares, B. Reyes Trejo, G. Hernández-Rodríguez, J. M. Cunill-Flores, D. Guerra-Ramírez. Nutritional value and thermal degradation of bioactive compounds in wild edible mushrooms, **27**, 3, (2021).
- [5] V. García-Quiroz. Efecto de metabolitos de *Lactarius* sp sobre el crecimiento de bacterias patógenas. Tesis de maestría en farmacología básica. (2007).
- [6] Valdivia. The importance of domestication in the conservation of edible wild fungi in Mexico. *Bosque*, **36**, 2, (2015).

MANEJO EFECTIVO DE LA FERTILIZACIÓN CON N PARA MEJORAR LA NUTRICIÓN EN CULTIVOS DE PLANTAS DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea* L.): UN ENFOQUE DE METABOLÓMICA BASADO EN RMN

Margarita del Carmen Hidalgo González^a, Elvia Becerra-Martínez^{b*}, César Omar Montoya-García^c, Rosario García-Mateos^d

^a Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto Politécnico Nacional, Av. Luis Enrique Erro S/n, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, 07738, Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México. e-mail: mhidalgo1800@alumno.ipn.mx

^b Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, Instituto Politécnico Nacional, Av. Luis Enrique Erro S/N, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México, 07738, México. e-mail: elmartinezb@ipn.mx

^c Colegio de Postgraduados - Campus Montecillo. Km. 36.5, Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, 56230, Estado de México, México. e-mail: ing.montoya.cesar@gmail.com

^d Universidad Autónoma Chapingo - Departamento de Fitotecnia. Km. 38.5, Carretera México-Texcoco, 56230, Chapingo, Estado de México, México. e-mail: rosgar08@hotmail.com

Introducción

El crecimiento, desarrollo y el rendimiento de las plantas dependen de varios factores, especialmente durante la producción. El estrés abiótico forma parte de los factores cruciales e incluye la temperatura, la intensidad de la luz, la salinidad, la disponibilidad de agua y de nutrientes, que pueden interrumpir las vías de síntesis de metabolitos primarios y secundarios, que son esenciales para satisfacer los requisitos de la planta [1]. En cultivos de campo y sistemas hidropónicos es esencial la aplicación de fertilizantes que contengan nitrógeno. El nitrógeno (N) es un elemento esencial que trasciende en el metabolismo primario y secundario, particularmente en metabolitos que contienen nitrógeno en su estructura, tal como ácidos nucleicos, aminoácidos, clorofila, proteínas y ciertos lípidos. La deficiencia del elemento conduce a alteraciones directa o indirectamente en las rutas metabólicas de las plantas y por ende en las funciones estructurales y bioquímicas de la planta [17]. Sin embargo, la aplicación desmedida basada en métodos empíricos puede dar lugar a la reducción de la eficiencia del nitrógeno, además de efectos negativos en el medio ambiente [1].

La verdolaga es un cultivo de ciclo corto, que se cosecha entre los 40 y 50 días [3, 8]. Se distribuye en muchas partes del mundo y especialmente en las zonas tropicales y subtropicales [15]. Debido a su rico contenido nutricional constituido por minerales, polisacáridos, ácidos grasos, proteínas, alcaloides, terpenoides, esteroides, vitaminas, lignanos, compuestos fenólicos, flavonoides, homoisoflavonoides, homoisoflavonas, glucósidos de amida, alcaloides de amida e isoindol, y oleraceinas ha atraído un gran interés para su producción, comercialización y consumo [14]. Varios estudios han informado los efectos de las prácticas de cultivo, las condiciones de cultivo y los factores genéticos en la composición química de la verdolaga [13]. De los cuales la mayoría se han centrado principalmente en su contenido de antioxidantes y ácidos grasos por factores abióticos [4, 5].

Las prácticas de cultivo, como el abonado son medios útiles y prácticos para la modulación de la composición química de la planta [13, 5], la información sobre los

efectos del estrés abiótico causado por la variación de nitrógeno es limitada. La metabolómica se centra en todos los metabolitos de bajo peso molecular (<1000 Da), los cuales son productos finales del metabolismo. Su estudio sirve como un indicador directo de la actividad bioquímica de las células en un determinado momento como respuesta del organismo a los factores genéticos o ambientales [10]. Por lo anterior la metabolómica es una herramienta confiable para la identificación y cuantificación de un amplio espectro de compuestos con actividad biológica con la finalidad de proporcionar un perfil holístico del metabolismo [2, 9, 6]. La RMN de ^1H es una de las principales técnicas analíticas usada para estudios de metabolómica ya que permite la detección y cuantificación de metabolitos primarios (azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos), y metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y terpenoides) de forma paralela. [7]. Lo anterior permitirá estudiar los cambios metabolómicos de cultivos de verdolaga aplicando diferentes concentraciones de nitrógeno, lo que proporcionará información valiosa sobre la respuesta de nutrientes y las rutas metabólicas favorecidas en la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.).

Parte Experimental

La siembra se realizó en charolas de germinación de 117 cavidades, con vermiculita como sustrato, con 4 semillas por cavidad, y, los semilleros se colocaron en las cajas plásticas con agua. Para las cosechas a los 32, 39 y 46 dde, se colectó toda la biomasa área de una superficie de 0.03894 m² de cada una de las unidades experimentales, se midió la altura y el rendimiento de la biomasa área. Las muestras en fresco, se guardaron en ultra congelador (-80°C). Posteriormente se liofilizó con nitrógeno, y se molió para su posterior análisis en NMR de ^1H .

Resultados y Discusión

En los espectros de RMN de ^1H se identificaron 41 metabolitos distribuidos en tres regiones espectrales: región alifática (0.8-3.0 ppm), región anomérica (3.0-5.5 ppm) y región aromática (6.0-10.0 ppm). En la región alifática, entre 0.8-3.0 ppm, se detectaron aminoácidos alifáticos (alanina, asparagina, arginina, ácido glutámico, glutamina, ácido γ -aminobutírico, isoleucina, leucina, treonina, valina y prolina), ácidos orgánicos (ácido acético, ácido cítrico, ácido málico, ácido pirúvico, ácido succínico y ácido 2-hidroxiisobutírico), también se identificó etanol. En la región anomérica, se observaron colina (3.18 ppm), O-fosocolina (3.21 ppm) y metanol (3.35 ppm); además de seis carbohidratos (fructosa, galactosa, myo-inositol, sacarosa, xilosa, α - y β -glucosa). En la región aromática, se identificó el alcaloide trigonelina (8.88 ppm); aminoácidos aromáticos como histidina, fenilalanina, triptófano y tirosina; en esta región también se observaron ácidos: fórmico (8.42 ppm), fumárico (6.55 ppm), y los isómeros 3-O cafeoilquínico (6.47 ppm), 4-O-cafeoilquínico (6.53 ppm) y 5-O cafeoilquínico (6.47 ppm); los nucleósidos como adenosina (6.06 ppm), citidina (6.03 ppm), guanósina (5.90 ppm) y uridina (7.86 ppm). Los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , y 2D obtenidos a 750 MHz para

los tres cultivares nativos de verdolaga revelo una huella digital particular, dependiente del origen de la planta y la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva hidropónica (Figura 1).

Xochimilco

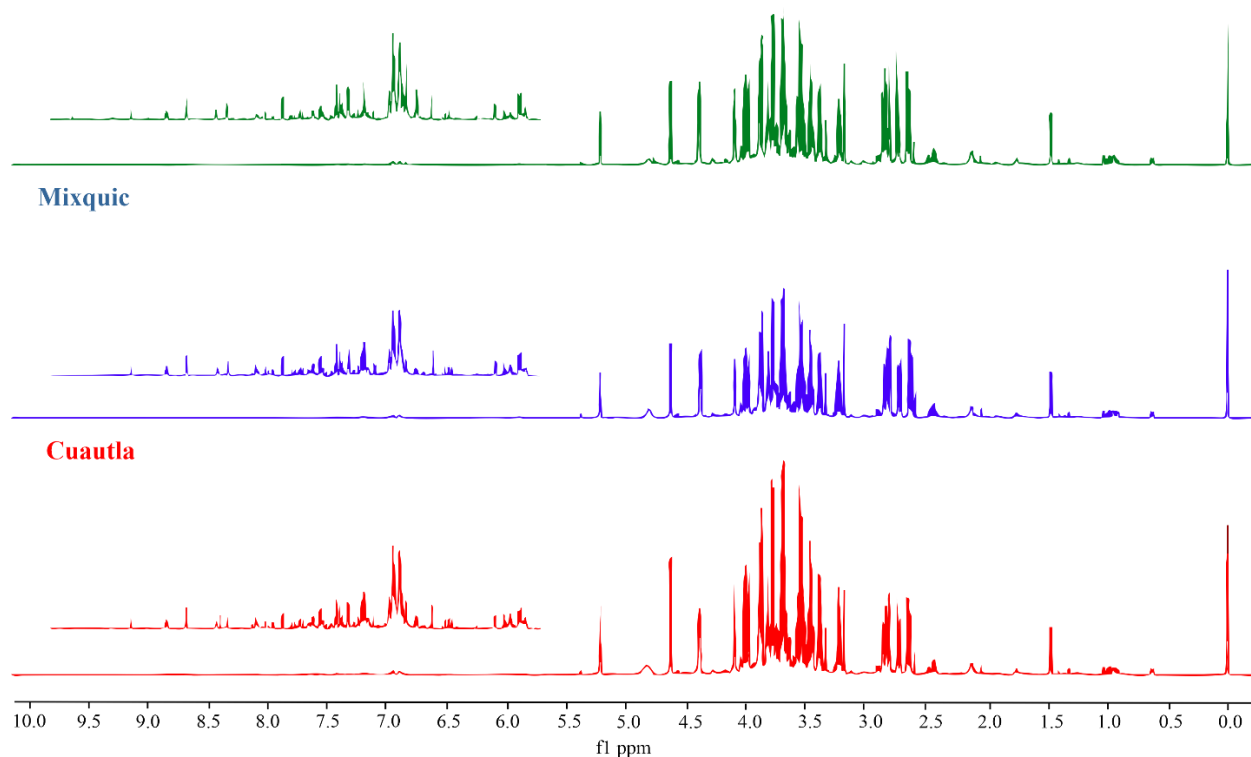


Figura 1. Espectros ^1H -RMN a 750 MHz representativos de tres cultivares de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) en función de la dosis de nitrógeno en hidroponía en el intervalo de δ -0.5 a 10.0 ppm, y las expansiones para el rango de δ 6.5 a 9.0 ppm. Cultivares (A) Xochimilco, (B) Mixquic, y (C) Cuautla.

Con el uso del mapa de calor se observó que cada cultivar tiene un perfil y concentración diferente de los metabolitos dependiendo de la concentración de nitrógeno; la verdolaga V_x con concentración de 16 Mm N presentó mayor concentración de metabolitos como sacarosa, asparagina, fenilalanina, histidina, isoleucina, treonina, tirosina, prolina, guanosina, O-fosfocolina, ácido glutámico; el mismo cultivar producido con 12 mM N mostró mayor concentración de otros metabolitos como: el ácido acético, ácido fumárico los ácidos cafeoilquínico (4-O-CQA y 5-OCQA) y metanol. En la verdolaga V_M se observaron mayores concentraciones del metaboloma con 16 mM N, los metabolitos que destacan son: sacarosa, xilosa, alanina, histidina, tirosina, isoleucina, valina, treonina, fenilalanina y ácido glutámico; con 12 mM N se obtuvieron concentraciones altas en 4-O-CQA, 5-OCQA, adenosina, ácido pirúvico, glutamina, 2-hydroxyisobutirato, ácido succínico y O-fosfocolina. La verdolaga V_C tuvo un comportamiento similar a los dos cultivares antes mencionados, las concentraciones del metaboloma se vieron favorecidas

con la concentración de 16 mM N, los metabolitos que destacan son fructosa, glucosa, myo-inositol, sacarosa, galactosa, xilosa, alanina, asparagina, ácido aspártico, γ -aminobutírico, ácido glutámico, glutamina, histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, prolina, treonina, triptófano, tirosina, valina (Figura 2).

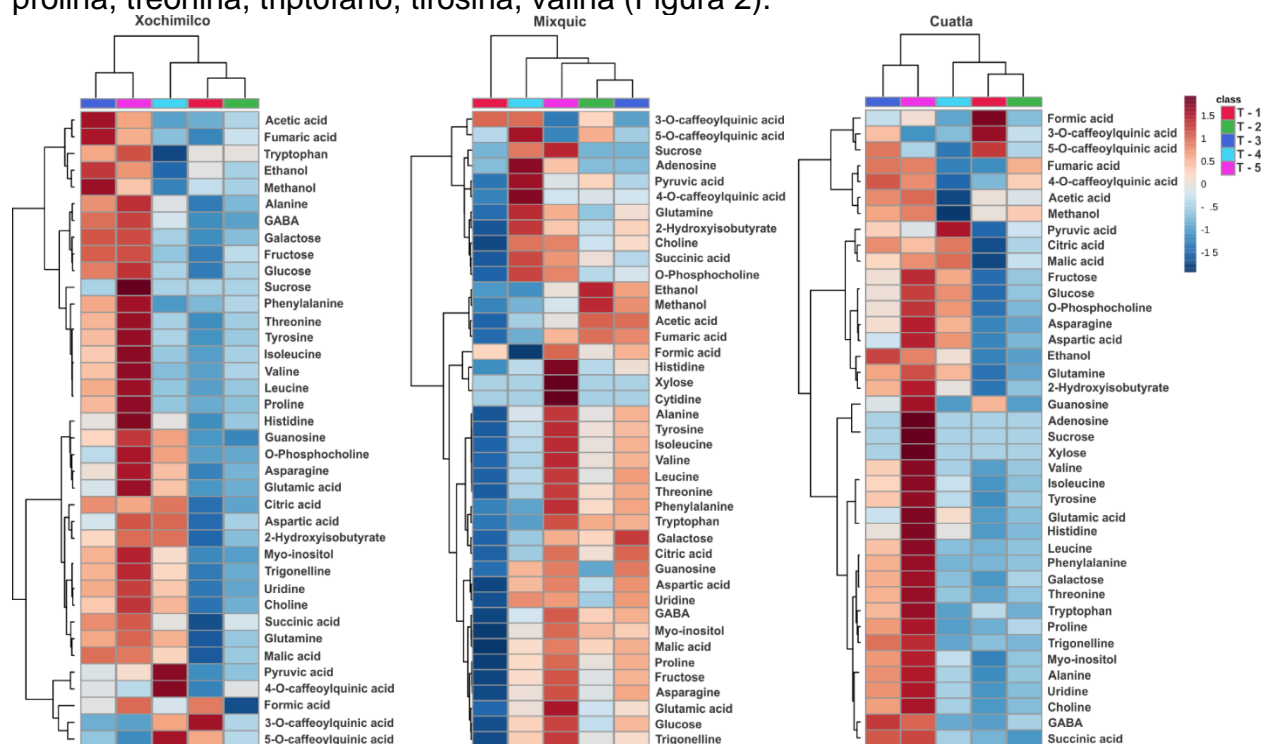


Figura 2. Mapa de calor del perfil metabólico de tres cultivares de verdolaga (*Portulaca oleracea*) en función de la dosis de nitrógeno en hidroponía. El color azul representa una tendencia descendente y el rojo una tendencia ascendente. T-1: 0,5; T-2: 4,0; T-3: 8,0; T-4: 12,0; T-5: 16,0 mM N L⁻¹.

Conclusiones

El perfil metabólico de verdolaga mediante RMN reveló que las concentraciones de metabolitos primarios y secundarios en verdolaga fueron diferentes entre los cultivares nativos, y también por las dosis de nitrógeno en la solución nutritiva aplicada. Los análisis de regresión mostraron incrementos en todos los metabolitos detectados en función de la concentración de nitrógeno; en términos generales la concentración que promueve la mayor concentración de metabolitos es con 16 mM de N. Con la información generada mediante la huella metabólica RMN se puede identificar la dosis óptima metabólica de nitrógeno para producir la mayor concentración de los metabolitos de interés económico y nutricional de la verdolaga.

Agradecimientos

Esta investigación recibió apoyo financiero de la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP-IPN). El programa Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI-IPN).

Referencias

- [1] A. Giménez, M.D.C. Martínez-Ballesta, C. Egea-Gilabert, P.A. Gómez, F. Artés-Hernández, G. Pennisi, F. Orsini, A. Crepaldi y J.A. Fernández. Efecto combinado de la salinidad y las luces LED sobre el rendimiento y la calidad de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) microgreens. *Horticulturae*, **7(7)**, 180, (2021).
- [2] A.H. Emwas, C. Luchinat, P. Turano, L. Tenori, R. Roy, R.M. Salek, D. Ryan, J.S. Merzaban, R. Kaddurah-Daouk, A.C. Zeri, N. Gowda, D. Raftery, Y. Wang, L. Brennan & D.S. Wishart, Standardizing the experimental conditions for using urine in NMR-based metabolomic studies with a particular focus on diagnostic studies: a review. *Metabolomics*, **11(4)**, 872-894, (2015).
- [3] C. O. Montoya-García, V. Volke-Haller, A. Trinidad-Santos, C. Villanueva-Verduzco & J. Sánchez-Escudero. Respuesta de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) a la fertilización con NPK. *Revista de Fitotecnia Mexicana*, **40(3)**, 325-332, (2017).
- [4] C.O. Montoya-García, V. Volke-Haller, A. Trinidad-Santos & C. Villanueva-Verduzco. Change in the contents of fatty acids and antioxidant capacity of purslane in relation to fertilization. *Scientia Horticulturae*, **234**, 152-159, (2018a).
- [5] C.O. Montoya-García, V. Volke-Haller, A. Trinidad-Santos & C. Villanueva-Verduzco. Concentración nutrimental de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) en respuesta a la fertilización con NPK. *Agrociencia*, **52**, 241-254, (2018b).
- [6] F. Calò, C.R. Girelli, S.C. Wang & F.P. Fanizzi. Geographical origin assessment of extra virgin olive oil via NMR and MS combined with chemometrics as analytical approaches. *Foods*, **11(1)**, 113, (2022).
- [7] F. Saheri, G. Barzin, L. Pishkar, M.M.A. Boojar & L. Babaeekhou. Foliar spray of salicylic acid induces physiological and biochemical changes in purslane (*Portulaca oleracea* L.) under drought stress. *Biologia*, **75(12)**, 2189-2200, (2020).
- [8] G. Bekmirzaev, B. Ouddane, J. Beltrao, M. Khamidov, Y. Fujii, & A. Sugiyama. Effects of Salinity on the Macro-and Micronutrient Contents of a Halophytic Plant Species (*Portulaca oleracea* L.). *Land*, **10(5)**, 1-13, (2021).
- [9] G. Saviano, D. Paris, D. Melck, F. Fantasma, A. Motta & M. Iorizzi, Metabolite variation in three edible Italian *Allium cepa* L. by NMR-based metabolomics: A comparative study in fresh and stored bulbs. *Metabolomics*, **15(8)**, 1-13, (2019).
- [10] J.C. Lindon, JK Nicholson y E. Holmes. The handbook of metabonomics and metabolomics: Chapter 1 - Metabonomics and Metabolomics Techniques and Their Applications in Mammalian Systems. Elsevier, (2011).
- [11] L.M. Schmidtke, G. Antalick, K. Šuklje, J.W. Blackman, J. Bocard & A. Deloivre. Cultivar, site or harvest date: the gordian knot of wine terroir. *Metabolomics*, **16(5)**, 1-17, (2020).

- [12] M.A. Farag & Z.T.A. Shakour, Metabolomics driven analysis of 11 *Portulaca* leaf taxa as analysed via UPLC-ESI-MS/MS and chemometrics. *Phychemistry*, **161**, 117-129, (2019).
- [13] S.A. Petropoulos, A. Fernandes, M.I. Dias, I.B. Vasilakoglou, K. Petrotos, L. Barros, I.C. Ferreira. Valor nutricional, composición química y propiedades citotóxicas de la verdolaga común (*Portulaca oleracea* L.) en relación con la etapa de cosecha y la parte de la planta. *Antioxidantes*, **8(8)**, 293, (2019).
- [14] V. Balabanova, I Hristov, D Zheleva-Dimitrova, P Sugareva, V Lozanov, & R Gevrenova, Bioinformatic insight into *Portulaca oleracea* L. (Purslane) of bulgarian and Greek origin. *Acta Biologica Cracoviensia Series. Botanica*, **62(1)**, 7-21, (2020).
- [15] V Baradaran Rahimi, F. Farideh Ajam, H. Rakhshandeh, V. & Reza Askari. A Pharmacological review on *Portulaca oleracea* L.: Focusing on anti-inflammatory, anti-oxidant, immuno-modulatory and antitumor activities. *J Pharmacopuncture*, **22(1)**, 7-15, (2019).
- [16] V.B Rahimi, F. Ajam, H. Rakhshandeh & V.R. Askari. A Pharmacological Review on *Portulaca oleracea* L.: Focusing on Anti-Inflammatory, Anti- Oxidant, Immuno-Modulatory and Antitumor Activities. *Journal of pharmacopuncture*, **22(1)**, 7–15, (2019).
- [17] Z. Shi, F. Wei, R. Wan, Y. Li, Y. Wang, W. An, K. Qin, G. Dai, Y. Cao y J. Feng. Impacto de los niveles de fertilizantes nitrogenados en el perfil de metabolitos de la fruta *Lycium barbarum* L. *Moléculas*, **24(21)**, 3879, (2019).

COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS EN UN EQUIPO FOTOMÉTRICO CONSTRUIDO EN EL LABORATORIO CON ESPECTROFOTÓMETROS COMERCIALES EN LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALMIDÓN EN DIFERENTES MUESTRAS

Jessica Alvarez Velázquez^a, Carolina Flores Avila^b, Minerva Monroy Barreto^{a*}

^a Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma De México. C.P. Ciudad de México, CDMX Tel: +52 (55) 34 52 24 57, e-mail: jessi_caalvaa@hotmail.com, mmonroyb@quimica.unam.mx

^b Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma De México. C.P. Ciudad de México, CDMX. caroflores@quimica.unam.mx

Introducción

El almidón es el polisacárido que forma parte de la reserva energética en los vegetales y es parte fundamental en la dieta del humano. Su concentración en vegetales varía según su estado de madurez. Químicamente está compuesto de dos polisacáridos: la amilosa y la amilopectina, en general, el almidón contiene alrededor del 15 al 30 % de amilosa y lo demás de amilopectina [1].

Por su estructura, altamente estable y organizada, el almidón es insoluble en agua, sin embargo, en agua caliente, la amilopectina puede absorber líquido y propiciar el hinchamiento y aumento de volumen de la estructura.

El yodo reacciona con la amilosa y forma un complejo azul intenso característico, por lo que este se utiliza como prueba de identificación del almidón. Sin embargo, también es posible efectuar un análisis cuantitativo de la cantidad de almidón en una muestra empleando una técnica espectrofotométrica visible.

En este trabajo se realizó la determinación de almidón en 3 muestras (almidón para ropa en aerosol, Maizena y plátano Tabasco) utilizando un espectrofotómetro, un fotómetro comercial y un fotómetro casero [2] para comparar los resultados obtenidos en cada uno de ellos.

Parte Experimental

Equipo

Espectrofotómetro Evolution 201 UV-Visible de la marca Thermo Scientific®; fotómetro 1100 RS de la marca Cole Parmer® y fotómetro casero elaborado con materiales accesibles.

Curva de calibración

De una disolución Stock de 135.5 ppm de almidón se tomaron alícuotas de diferentes volúmenes (0.5mL, 1mL, 2mL, 3mL y 4mL) y se colocaron en matraces volumétricos de 10.0 mL. Para desarrollar color se agrega 0.1mL de la disolución de yodo y se llevan a la marca de aforo con agua. Se preparó un blanco de reactivos en un matraz volumétrico de 10.0 mL con 0.1mL de la disolución de yodo y se llevó a la marca de aforo.

Preparación de la muestra

Almidón en aerosol

La botella del producto se agitó como lo indica el instructivo y se presionó el botón de salida sobre un vaso de precipitado hasta alcanzar 10 mL. Se dejó en reposo durante unos 15 minutos para permitir que el propelente escapara del vaso y posteriormente tomar 1 mL del producto y colocarlo en un matraz volumétrico de 50.0 mL. Se llevó a la marca de aforo con agua. De la disolución al 2 % se tomaron 2 mL y se colocaron en un matraz volumétrico de 25.0 mL se agregó el yodo y se llevó a la marca de aforo. Se realizó la medición en los tres equipos

Maizena

Se pesaron 10 mg de Maizena, se calentó agua hasta ebullición para mezclarla en una cantidad mínima con la Maizena, se agitó hasta que se integró por completo. Posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 50.0 mL y se llevó hasta la marca de aforo. De la disolución preparada se tomó 1 mL y se transfirió a un matraz volumétrico de 10.0, mL se agregó el yodo y se llevó a la marca de aforo.

Plátano

Se pesó un plátano sin cáscara y se trituró. El pure resultante se mezcló con 250 mL de agua y se hizo pasar todo a través de un colador. Se lavó 3 veces el colador con aproximadamente 50 mL de agua. Se dejó reposar durante 20 minutos hasta que sedimentó y se decantó, desechándose el sobrenadante. Lo decantado se ajustó con aproximadamente 400 mL de agua y se calentó de 10 a 15 min, sin llegar a ebullición. Se filtró mientras estaba caliente a través de un colador forrado con un papel filtro. De esta disolución se transfirieron 2 mL a un matraz volumétrico de 10.0 mL, se agregó el yodo y se llevó a la marca de aforo.

Resultados y discusión

Con el objeto de conocer el comportamiento espectrofotométrico del producto de la reacción del yodo con el almidón se realizó una curva de calibración en el espectrofotómetro Thermo Scientific® en el intervalo de longitud de onda de 380 a 800 nm (Figura1).

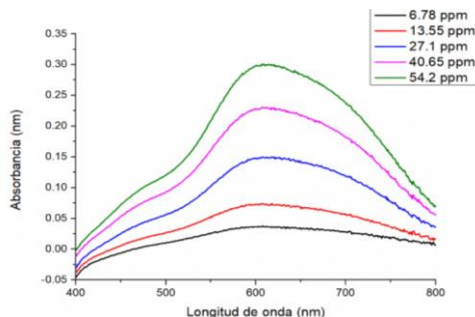


Figura 1. Espectro de absorción del complejo yodo-almidón obtenido en el espectrofotómetro Thermo Scientific®.

Cole *et. al.* [3] reportan que en el almidón en presencia de iodo; la amilosa es la responsable del color azul intenso con un máximo de absorción en 630 nm. La amilopectina con iodo forman un complejo rojo-violeta (con un máximo de absorción en 548 nm) y la presencia de una mezcla de amilosa-amilopectina en una proporción de 25 y 75%, respectivamente forman un complejo morado (con un máximo de absorción en 600 nm), que es el perfil obtenido en los espectros de la Figura 1.

De los espectros obtenidos se observa un pico muy ancho con un máximo de absorción en la longitud de onda 604 nm. Con base en este resultado se realizó un barrido en el fotómetro Cole Palmer, encontrando que el máximo de absorción igualmente se presentó a 604 nm. El dispositivo casero no cuenta directamente con la opción de selección de longitud de onda. En cada uno de los instrumentos se hicieron las determinaciones por triplicado. Las curvas de calibración obtenidas para cada uno de los equipos se muestran de las Figuras 2 a 4.

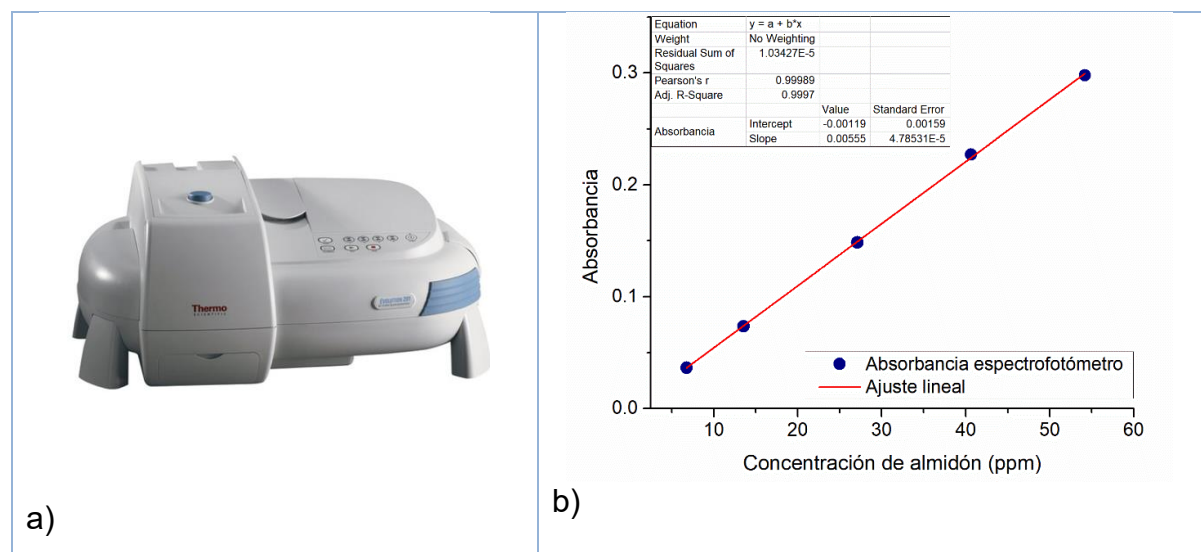


Figura 2.a) Espectrofotómetro Thermo Scientific® empleado para realizar las mediciones. b) Gráfico de calibrado, absorbancia en función de la concentración de almidón.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de las curvas de calibración; se observa que los tres equipos muestran un coeficiente de determinación mayor a 0.99, incluyendo el equipo de construcción casera. Tal como se esperaba, el equipo de construcción casera presenta el menor valor de pendiente, lo que indica que es menos sensible que los equipos comerciales que cuentan con un sistema óptico más robusto.

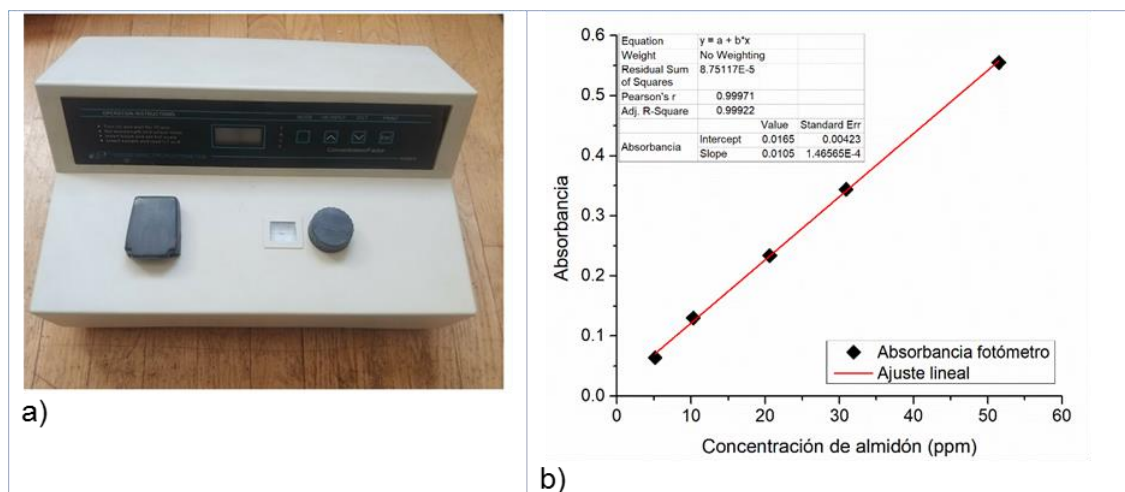


Figura 3.a) Fotómetro Cole Palmer empleado para realizar las mediciones. b) Gráfico de calibrado, absorbancia en función de la concentración de almidón

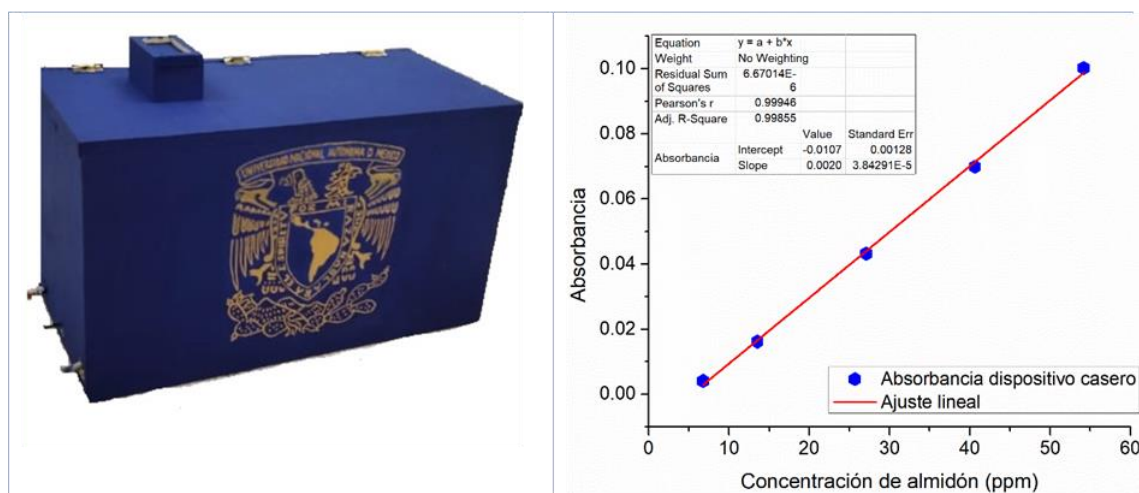


Figura 4.a) Fotómetro casero empleado para realizar las mediciones. b) Gráfico de calibrado, absorbancia en función de la concentración de almidón

Tabla 1. Comparación de parámetros de las curvas de calibración

	m	s_m	b	s_{b0}	r^2
Thermo Scientific	0.0056	4.79E-05	-0.0012	0.0016	0.9997
ColePalmer	0.0105	1.47E-04	0.0166	0.0042	0.9992
Casero	0.0020	3.84E-05	-0.0108	0.0013	0.9986

m pendiente, b ordenada al origen, s_m desviación de la pendiente, s_{b0} desviación de la ordenada al origen

Se realizó la prueba de contraste de significación F para comparar las varianzas de las pendientes del equipo casero con los equipos comerciales y no se encontró diferencia significativa entre los pares de varianzas a un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 2. Porcentaje de almidón encontrado en las muestras de Aerosol, Maizena® y Plátano Tabasco en los 3 equipos estudiados.

EQUIPO	Thermo Scientific®	Cole Palmer®	Casero
AEROSOL			
Porcentaje de almidón	1.8	1.8	2.3
Desviación estándar	0.02	0.01	0.04
Desviación estándar relativa	0.8	0.7	1.6
MAIZENA			
Porcentaje de almidón	-	57.0	55.0
Desviación estándar	-	1.3	2.4
Desviación estándar relativa	-	2.3	2.5
PLÁTANO			
Porcentaje de almidón	-	0.1	0.1
Desviación estándar	-	0.001	0.02
Desviación estándar relativa	-	2.1	2.4

Para el análisis de la muestra de almidón en aerosol para ropa, la Maizena y el plátano se realizó una ANOVA para comparar las medias muestrales obtenidas con los dispositivos de medida. Se obtuvo que para la muestra de almidón en aerosol sí hay diferencia significativa entre los fotómetros comerciales y el casero, no así para la muestra de Maizena y plátano.

El resultado del contenido de almidón en la botella de aerosol obtenido para los 3 dispositivos es de alrededor del 2 %. Para la muestra de fécula de maíz de la marca Maizena® el contenido de almidón que se encontró con el dispositivo comercial es de 57 % y con el dispositivo casero 55 %. En el caso de la muestra del plátano Tabasco se detectaron concentraciones de 0.1 % de almidón. Como el objetivo principal fue evaluar la idoneidad del uso del fotómetro casero para ser usado con fines docentes y facilitar el acceso a un equipo en las prácticas de laboratorio, vemos que los valores promedio de cada muestra evaluada no fueron significativamente diferentes en la mayoría de los casos, por lo que se considera factible su uso.

Se observó una recuperación de almidón baja en la muestra de plátano debido a las variables que afectan en la ejecución del protocolo, sin embargo, los promedios obtenidos no son significativamente diferentes, lo que nos demuestra que no afectó el uso de instrumentos de lectura diferentes, aunque es necesario realizar una revisión y optimización del protocolo experimental usado.

También se debe recordar que el almidón está formado principalmente por dos tipos de compuestos de cadenas largas de moléculas de glucosa, la amilosa, que es una molécula lineal, y la amilopectina, que es una molécula ramificada. Y aunque la amilasa es más soluble en agua, bajo las condiciones experimentales aplicadas, no es posible evitar la

interferencia de amilopectina, como menciona Cole *et. al.* [3] la amilopectina en solución (atribuible a la fuente botánica) está disponible para unirse con el triyoduro contribuyendo al color visual de la solución.

Conclusión

En las determinaciones realizadas los 3 equipos mostraron coeficientes de determinación por encima del 0.99. Al comparar las varianzas de las pendientes del equipo casero con los equipos comerciales y no se encontró diferencia significativa entre los pares de varianzas a un nivel de confianza del 95 %.

Al comparar las medias muestrales obtenidas para la muestra de almidón en aerosol para ropa se obtuvo una diferencia significativa entre los fotómetros comerciales y el casero, no así para la muestra de Maizena o plátano, sin embargo, el valor obtenido para la muestra de aerosol es alrededor del 2 % para los tres equipos.

Se comprobó que es factible el uso del fotómetro casero con fines de docencia con respecto a los dos instrumentos comerciales. En cuanto a los métodos de análisis, es necesario realizar ajustes para adecuarlos a los recursos disponibles en los laboratorios de docencia, así como para disminuir la generación de residuos y costos.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del programa UNAM-DGAPA-PAPIME 205822, Química Analítica sustentable; desarrollo de protocolos de prácticas aplicando reactivos verdes y diseño de un prototipo fotométrico elaborado con materiales accesibles.

Se agradece a la Dra. Araceli Peña Álvarez, jefa del departamento de química Analítica, UNAM las facilidades para llevar a cabo el trabajo.

Referencias.

- [1] Gómez, C., Vera, C., Villarroel, P. (2018). Almidón resistente: Características tecnológicas e intereses fisiológicos. *Revista chilena de nutrición*. 45 (3). <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182018000400271>
- [2] Flores, C., Monroy, L., Monroy M. (2021). Propuesta de práctica sustentable usando un prototipo espectrofotométrico elaborado con materiales electrónicos fáciles de obtener. *Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 7 (7), 62-68. <https://amyd.quimica.unam.mx/course/view.php?id=710§ion=3>
- [3] Cole, M., Eggleston, G., Triplett, A. (2017) Analytical evaluation of current starch methods used in the international sugar industry: Part I. *Food Chemistry* 228, 226–235.
- [4] Brânzanic, A., Lehene, M., Pesek, S. (2022). On the Origin of the Blue Color in The Iodine/Iodide/Starch Supramolecular Complex. *Molecules*, 27, (8974), 1-13. <https://doi.org/10.3390/molecules27248974>
- [5] Doughan, S., Shahmuradyan, A. (2021). At-Home Real-Life Sample Preparation and Colorimetric-Based Analysis: A Practical Experience outside the Laboratory. *Journal of Chemical Education*, 98, 1031-1036. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jchemed.0c01299>

- [6] Faultless Liquid Starch. <https://faultlessbrands.com/product/faultless-starch/>
- [7] Landmark, J., Mathews, K., Stickle, D. (2004). Quantitative Assay for Starch by Colorimetry Using a Desktop Scanner. *Journal of Chemical Education*, 81 (5), 702-704. www.JCE.DivCHED.org
- [8] Martínez, E. (2015). Caracterización morfológica y contenido de almidón resistente y disponible en bananos (*Musa sapientum*) exportables del Ecuador. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 19 (3). <https://dx.doi.org/10.14306/renhyd.19.3.161>
- [9] Robledo, C. (Octubre-Diciembre 2021). *Revista CiencAcierta*. (16). <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2021/10/15/cienciacierta-no-68-e-xxxiii-congreso-nacional-de-quimica-analitica-cnqa/>

ESTUDIO METABOLÓMICO BASADO EN RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE JUGO DE LIMÓN

Maitane Itzel Mendoza Sáenz de Buruaga^a, Martha Elena García Aguilera^a, Nuria Esturau Escofet^{a*}

^aUniversidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear, Circuito exterior s/n Circuito de la Investigación Científica, C.U. Coyoacán, 04510, CDMX. Tel.: +52 (55) 562 247 70 ext. 45648, e-mail: maitanesaenz@comunidad.unam.mx, mgarciaa@iquimica.unam.mx, nesturau@iquimica.unam.mx

Introducción

Los limones son uno de los frutos cítricos más comercializados alrededor del mundo gracias a sus propiedades nutricionales y farmacéuticas. Su alto valor biológico es atribuido a su composición, contiene compuestos como son: flavonoides (diosmina, hesperidina, limocitrina), alcaloides y ácidos fenólicos (ácido ferúlico, sinápico, p-hidroxibenzoico). Su actividad biológica, así como sus propiedades organolépticas y nutricionales están fuertemente asociadas con la diversidad intrínseca que existe entre su forma de cultivo y su locación regional. Debido a ello, existe una gran necesidad por desarrollar metodologías exitosas y reproducibles que permitan su completa caracterización. Existen en la actualidad numerosos métodos analíticos para determinar la autenticidad y el origen geográfico de productos agroalimentarios como es el caso del jugo de limón. Una de las técnicas útil y eficiente para estos propósitos es la metabolómica basada en ¹H-RMN [1].

La metabolómica, se define como la disciplina ómica encargada de la identificación y cuantificación sistemática e integral de los metabolitos que se encuentran presentes en una muestra biológica, así como sus interacciones y respuestas a intervenciones ambientales, o cambios en una matriz biológica [2]. La RMN se caracteriza por ser una técnica espectroscópica no destructiva, rápida, robusta y que requiere una mínima preparación de muestra lo que permite la identificación de metabolitos en matrices complejas [3].

En la literatura están reportados diversos estudios de cítricos por metabolómica basada en RMN como son la identificación de su perfil metabolómico [4], la identificación de biomarcadores [5], la detección de adulteración [6], el estudio de las condiciones de cultivo [7], entre otros.

Para el caso concreto del jugo de limón, la metabolómica basada en RMN ha sido aplicada con fines de identificación del perfil metabolómico [1,8–11], identificación de biomarcadores [5] e infecciones patógenas [12].

El presente trabajo describe la metodología para la preparación de muestras de jugos de limón y la adquisición de los espectros de ¹H-RMN en un equipo de 700 MHz con criosonda, con el fin de identificar los metabolitos que conforman la “huella dactilar” de los jugos. Esta metodología podría aplicarse para realizar los análisis de jugos que garanticen la identidad y calidad con fines de consumo y comercialización.

Parte Experimental

El jugo de limón se extrajo manualmente previo a su análisis. Para todas las muestras se centrifugó un mililitro de jugo a 4°C, 10000 rpm por 15 min. De presentarse sólidos suspendidos en el sobrenadante fue necesario dejar reposar por 30 min. A 600 µL del sobrenadante, se adicionaron 100 µL de sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)propiónico (TSP por sus siglas en inglés) en D₂O (0.75 mM). El pH de la muestra se ajustó con DCI/NaOD con ayuda de un potenciómetro. Finalmente, se transfirieron 600 µL de la disolución a un tubo de RMN de 5 mm y se adquirieron los espectros de ¹H-RMN con supresión de agua (con la secuencia de pulsos *noesygppr1d*) en un espectrómetro Bruker Avance III HD 700 MHz (campo magnético de 16.4 T) equipado con una criosonda TCI H-C/N-D a una temperatura de trabajo de 300K. Los datos de decaimiento de inducción libre (FID) se multiplicaron por una función exponencial con un ensanchamiento de línea de 0.3 Hz antes de la Transformada de Fourier. El procesamiento de espectros se realizó utilizando TopSpin 3.5 pl 6. La corrección de fase y línea base se hizo de forma automática, y después se revisó manualmente. Los desplazamientos químicos de ¹H-RMN se referenciaron a la señal de TSP a 0.00 ppm.

Resultados y Discusión

Considerando el alto contenido de agua en las muestras de jugos fue necesaria la supresión de la señal del agua en los espectros de RMN (señal más intensa). Se utilizó la secuencia 1D NOESY-presat (*1 Dimension Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy with Presaturation*) con la cual se consigue una alta eficiencia en la supresión de la señal de agua sin pérdidas de intensidad para la mayoría de las demás señales y con muy buena línea base, logrando que la pérdida de información en los espectros se reduzca al mínimo. En la Figura 1 se muestran dos espectros de ¹H-RMN de jugo de limón adquiridos a pH 3 y 7, en los que se observa que la supresión de la señal de agua con la secuencia 1D NOESY-presat (4.7 ppm) es muy eficiente y sin distorsiones de la línea base.

En los espectros de la Figura 1 se pueden observar tres regiones según los compuestos que aparecen en ellas como: compuestos aromáticos en la región de 9.7 a 5.5 ppm, carbohidratos de 5.5 a 3.0 ppm y ácidos orgánicos de 3.0 a 0.0 ppm. La señal más intensa del espectro son los dos dobletes del ácido cítrico, cuyo desplazamiento químico depende del pH, a 2.8 ppm a pH=3 y a 2.5 ppm a pH=7.

En cuanto a la facilidad para identificar los metabolitos, en la región aromática a pH=3 (Figura 1A), aparecen señales anchas que a pH=7 (Figura 1B) no se observan, por lo que se decidió ajustar el pH entre 6.8 y 7.2.

En la Figura 2 se muestra un espectro de ¹H-RMN de una muestra de jugo de limón fresco con la asignación de 29 metabolitos y en la Tabla 1 se enlistan dichos metabolitos en función de la familia química a la que pertenecen junto con su respectivo desplazamiento químico, multiplicidad y constante de acoplamiento.

Una vez establecido el pH de análisis, se estudió el tiempo en el que los espectros de ¹H-RMN pueden ser analizados sin cambios en las señales una vez preparada la muestra y

se determinó que de un día para otro se pueden adquirir los espectros si la muestra se mantiene a 20°C.

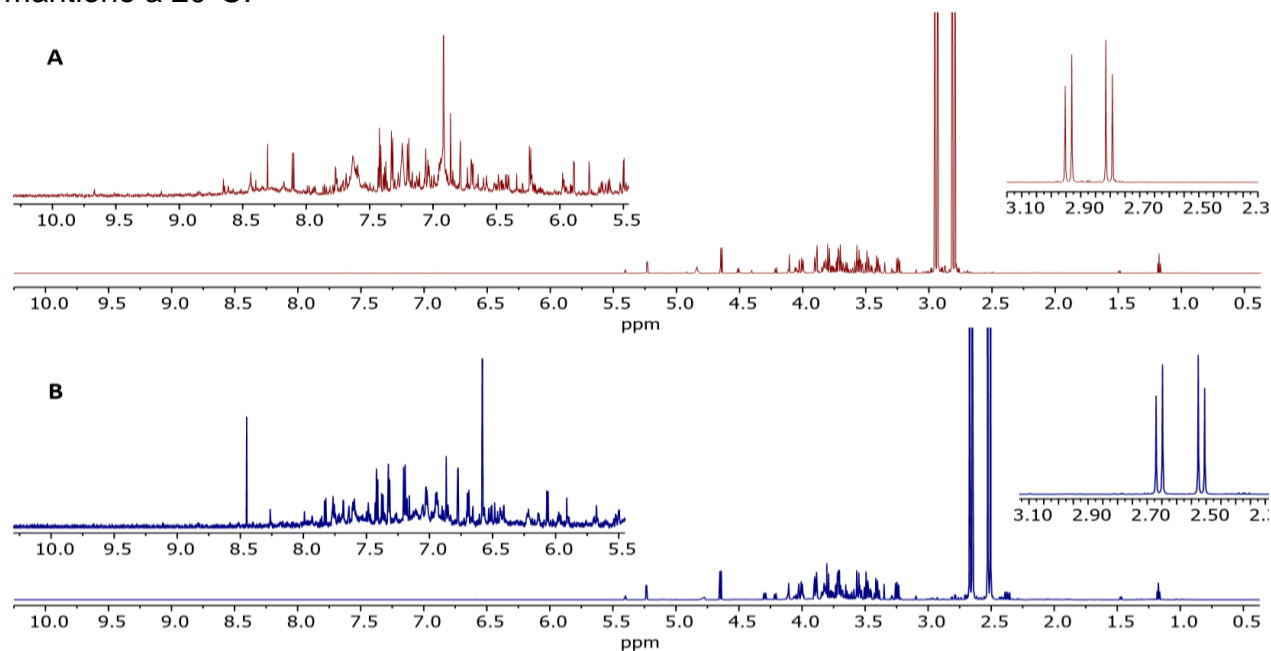


Figura 1. Espectros de ^1H -RMN con supresión de agua a 700 MHz de una muestra de jugo de limón recién exprimido. A) pH=3. B) pH=7. Se muestran ampliaciones de la región aromática y del ácido cítrico.

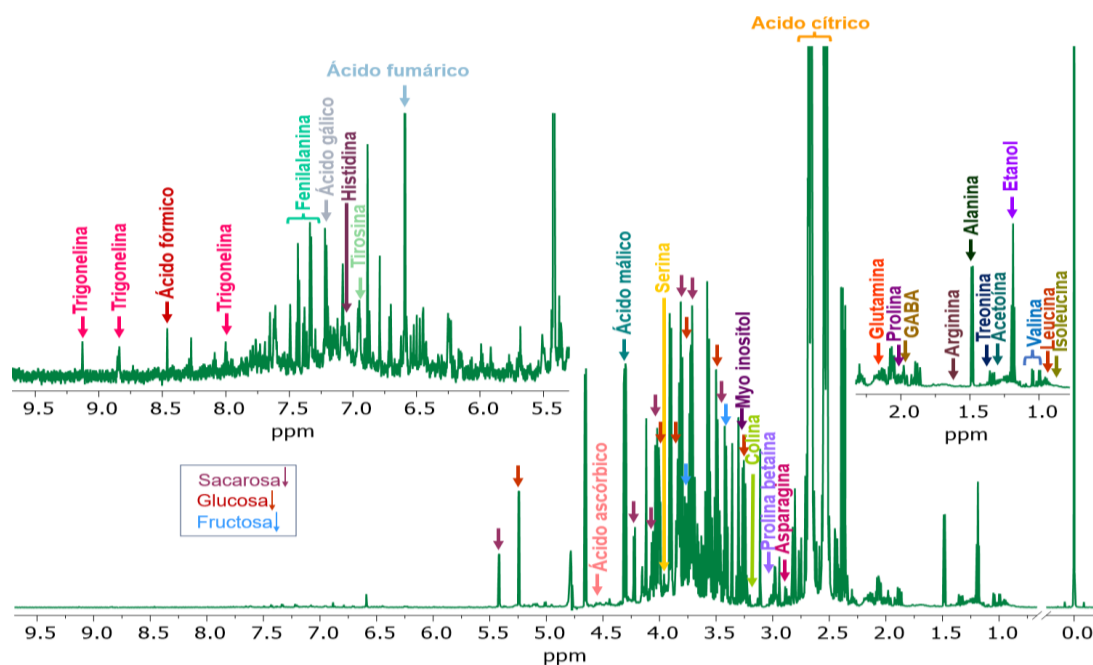


Figura 2. Espectro de ^1H -RMN a 700 MHz de una muestra de jugo de limón a pH=7 con la asignación de algunos metabolitos.

Tabla 1. Metabolitos identificados en las muestras de jugo de limón

Familia química	Metabolito	Desplazamiento químico (δ ppm, multiplicidad, J=Hz)
Ácidos orgánicos	Ácido cítrico	2.60(dd, 15.21, 94.76)
	Ácido fórmico	8.46(s)
	Ácido fumárico	6.59(s)
	Ácido málico	2.67(m), 4.31(dd, 3.10, 10.10)
	Ácido gálico	7.21(d, 8.31)
Alcoholes	Etanol	1.19(t, 7.09, 7.09)
Vitaminas	Ácido ascórbico	4.52(d, 1.95)
	Colina	3.20(s)
Aminoácidos	Alanina	1.48(d, 7.22)
	Arginina	1.54(m)
	Asparagina	2.82(d, 3.79)
	Fenilalanina	2.87(dd, 7.52, 16.81), 7.33(m), 7.43(m)
	GABA	1.98(m)
	Glutamina	2.13(m)
	Histidina	7.08(s)
	Isoleucina	0.96(m)
	Prolina	2.02(m), 2.18(m)
	Prolina betaína	3.13(s)
	Serina	3.95(m)
	Tirosina	6.95(m), 7.20(m)
	Treonina	1.33(d, 11.09)
	Leucina	0.95(d, 8.32), 0.96(d, 1.44)
	Valina	1.02(dd, 7.02, 35.17)
Carbohidratos	Fructosa	3.62(d, 1.98), 3.83(m)
	Glucosa	3.258(dd, 7.97, 9.44), 3.55(m), 3.73(d, 4.47), 3.81(m), 4.00(d, 4.87), 5.24(d, 3.76)
	Sacarosa	3.49(s), 3.50(s), 3.71(s), 3.81(s), 4.02(m), 4.06(s), 4.22(d, 8.76), 5.42(d, 2.86)
	Myo-Inositol	3.28(m), 4.07(m)
Otros	Acetoína	1.35(d, 11.87)
	Trigonelina	4.44(s), 8.01(m), 8.84(m), 9.13(s)

La técnica es muy útil para realizar el seguimiento de la degradación de los metabolitos en función del tiempo. Por ejemplo, la Figura 3 muestra la degradación del ácido ascórbico (doblete en 4.52 ppm) del jugo de limón a 27°C en función del tiempo. En la figura se aprecia cómo la intensidad de la señal va disminuyendo.

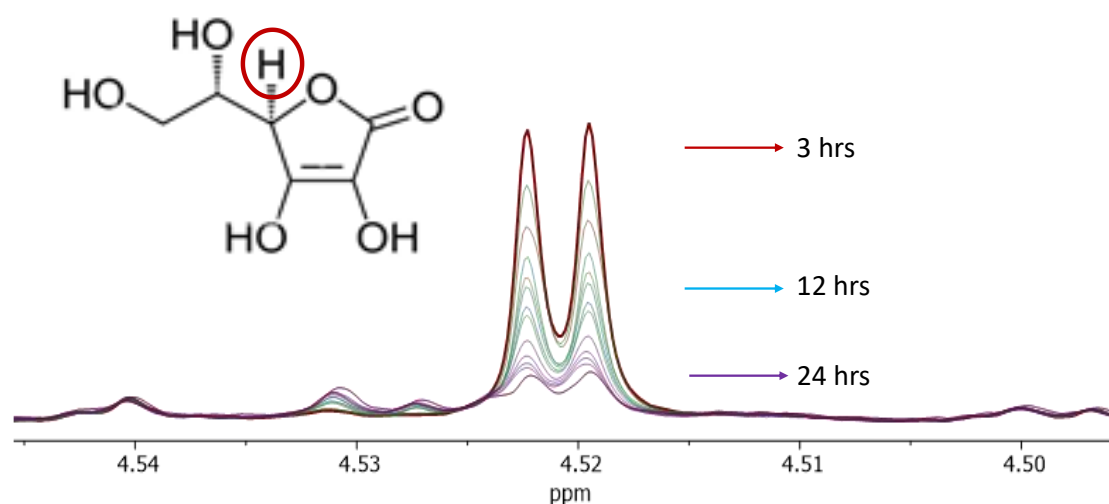


Figura 3. Ampliación de la región de los espectros de ^1H -RMN a 700 MHz de una muestra de jugo de limón a 27°C por 24 horas.

Conclusiones

En el presente trabajo se optimizó y estandarizó la metodología para la preparación de muestras de jugo de limón, la adquisición de los experimentos de ^1H -RMN con supresión de agua en un equipo de RMN de 700 MHz equipado con una criosonda y el procesado de los espectros. Se determinó que el pH entre 6.8 y 7.2 es el valor óptimo para la preparación de la muestra.

En los espectros de las muestras de jugo de limón se identificaron 29 metabolitos. Los metabolitos asignados comprenden aminoácidos (alanina, prolina, valina, histidina, fenilalanina, isoleucina, treonina, tirosina...), azúcares (fructosa, myo-inositol, sacarosa, glucosa...), ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fumárico...), entre otros. Es posible utilizar la técnica para tener un seguimiento de la degradación de metabolitos en función de la temperatura y del tiempo.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero al proyecto SAGARPA - CONACYT No. 292836 "Plataforma nacional de metabolómica en espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)- OMICS para la solución de problemas nacionales del sector agroalimentario". MIMSB agradece al mismo proyecto por la beca otorgada. Todos los participantes agradecen a Edwin Peña de la empresa Pimex alimentos y bebidas por las muestras y la asesoría brindada

Referencias

- [1] Villa-Ruano N, Pérez-Hernández N, Zepeda-Vallejo LG, Quiroz-Acosta T, Mendieta-Moctezuma A, Montoya-García C, et al. 1H-NMR Based Metabolomics Profiling of Citrus Juices Produced in Veracruz, México. *Chem Biodivers.* **16**(5), 6459–6465, (2019). doi:10.1002/cbdv.201800479
- [2] Idle JR, Gonzalez FJ. *Metabolomics. Cell Metabolism.* **6**(5), 348–351, (2007). doi:10.1016/j.cmet.2007.10.005
- [3] Hatzakis E. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* **18**(1), 189–220, (2019). doi:10.1111/1541-4337.12408
- [4] Miguez I, Hodos N, Moltini AI, Gámbaro A, Rivas F, Moyna G, et al. 1H NMR metabolic profiles as selection tools of new mandarin cultivars based on fruit acceptability. *Sci Hortic.* **287**, 0304-4238, (2021) doi:10.1016/j.scienta.2021.110262
- [5] Heinzmann SS, Brown IJ, Chan Q, Bictash M, Dumas ME, Kochhar S, et al. Metabolic profiling strategy for discovery of nutritional biomarkers: Proline betaine as a marker of citrus consumption. *American Journal of Clinical Nutrition.* **92**(2), 436–443, (2010). doi:10.3945/ajcn.2010.29672
- [6] Cuny M, Le Gall G, Colquhoun IJ, Lees M, Rutledge DN. Evolving Window Zone Selection method followed by Independent Component Analysis as useful chemometric tools to discriminate between grapefruit juice, orange juice and blends. *Anal Chim Acta.* **597**(2), 203–213, (2007). doi:10.1016/j.aca.2007.07.018
- [7] Montgomery KH, Brar G, Krishnan V V. Metabolomics Study at the Postharvest Conditions of Cold Storage and Fungicide (Imazalil Sulfate) Treatment in Navel Oranges and Clementine Mandarins. *ACS Agricultural Science and Technology.* **2**(1), 79–89, (2022). doi:10.1021/acsagscitech.1c00169
- [8] Cicero N, Corsaro C, Salvo A, Vasi S, Giofré S V., Ferrantelli V, et al. The metabolic profile of lemon juice by proton HR-MAS NMR: The case of the PGI Interdonato Lemon of Messina. *Nat Prod Res.* **29**(20), 1894–1902, (2015). doi:10.1080/14786419.2015.1012166
- [9] Mucci A, Parenti F, Righi V, Schenetti L. Citron and lemon under the lens of HR-MAS NMR spectroscopy. *Food Chem.* **141**(3), 3167-3176, (2013), doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.151
- [10] Pei Y, He C, Liu H, Shen G, Feng J. Compositional Analysis of Four Kinds of Citrus Fruits with an NMR-Based Method for Understanding Nutritional Value and Rational Utilization: From Pericarp to Juice. *Molecules.* **27**(8), (2022). doi:10.3390/molecules27082579
- [11] Costa R, Salvo A, Rotondo A, Bartolomeo G, Pellizzeri V, Saija E, et al. Combination of separation and spectroscopic analytical techniques: application to compositional analysis of a minor citrus species. *Nat Prod Res.* **32**(21), 2596–60, (2018). doi:10.1080/14786419.2018.1428597.

[12] Muccilli V, Vitale A, Sheng L, Gentile A, Cardullo N, Tringali C, et al. Substantial Equivalence of a Transgenic Lemon Fruit Showing Postharvest Fungal Pathogens Resistance. *J Agric Food Chem.* **68**(12), 3806–3816, (2020). doi:10.1021/acs.jafc.9b07925

ENSAYO PRELIMINAR PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE TIOCIANATO EN AGUA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS

Flor Idalia Ramírez Martínez^a, Mara Sarahí Florencio Martínez^a, Judith Amador Hernández^a, Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{a*}

^a 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, México.
ilianagarza@uadec.edu.mx

Introducción

El tiocianato es un anión básico que forma compuestos covalentes con una gran variedad de especies, su estructura de Lewis es lineal, presenta dos estructuras químicas el SCN⁻ (S-tiocianato) y NCS⁻ (N-tiocianato), denominado ligante ambidentado, los metales con los que tiene mayor afinidad son Fe, Mn, Cu, Zn y Ni, por lo cual forma complejos metálicos [1]. El tiocianato se utiliza en varios procesos industriales como el fotoacabado, producción de herbicidas e insecticidas, industria del teñido, producción de fibras acrílicas, de tiourea, galvanoplastia y como inhibidor de la corrosión, por otro lado también se puede encontrar de forma natural en plantas, bacterias, algas, hongos y animales los cuales fisiológicamente son capaces de degradar al cianuro llegando a formar el tiocianato, mientras que en el ser humano suele estar presente en bajas concentraciones en el suero, saliva y orina, esto como resultado de la digestión de vegetales del género *Brassica* los cuales contienen glucosinolatos o en alimentos como la leche y queso [2,3]. Su estudio es importante ya que, el tiocianato no solo estaría presente en nuestro cuerpo por la ingesta sino también por exposición al cianuro, parte de este se transforma en tiocianato lo que significaría una problemática a nivel de las glándulas tiroideas ya que la síntesis de la hormona tiroidea se vería disminuida provocando hipotiroidismo [4]. Existen diferentes metodologías que ayudan a la determinación de tiocianato presente en diferentes matrices, como los métodos fluorométricos, cromatográficos, electrocatalíticos y espectrofotométricos [5]. El método más utilizado es el espectrofotométrico que implica la formación de un complejo metálico, esto consiste en una reacción entre el tiocianato y el hierro para producir una serie de complejos coloreados rojos, representados por [Fe(SCN)_n]³⁻ⁿ⁺ donde n= 1,2,3...6, la concentración de tiocianato determina el número de iones que se coordinaran alrededor de cada ion de hierro (III), esta es una reacción rápida, con la desventaja de que si se tiene la presencia de los siguientes iones S²⁻, SO₃²⁻, CN⁻, C₂O₄²⁻, Fe²⁺ y Cu²⁺ se ve afectado el color del complejo [6]. No solo la pérdida de color afecta la determinación de los complejos, sino también las altas concentraciones de tiocianato, puesto que, a bajas concentraciones de tiocianato la especie dominante es [Fe(SCN)]²⁺, a concentraciones intermedias [Fe(SCN)₂]⁺ y a concentraciones elevadas [Fe(SCN)₆]³⁻, este tipo de reacciones se llevan a cabo en un medio ácido para impedir la hidrólisis del catión [7]. El presente trabajo tiene como objetivo determinar la concentración de tiocianato presente en muestras de agua modelo, formando el complejo rojo [Fe(SCN)]²⁺ utilizando el espectrofotómetro UV/Vis.

Parte Experimental

Se realizó una disolución de trabajo con $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ $1 \times 10^{-3}\text{M}$, KSCN $1 \times 10^{-3}\text{M}$ y HNO_3 $3.8 \times 10^{-3}\text{M}$ para llevar a su lectura en un Espectrofotómetro UV/Vis (Cary 50 Bio de Varian) y obtener la longitud de onda de máxima absorción del complejo formado a $\text{pH}=2$, después se procedió a repetir las lecturas cada 10 minutos y después de la hora las lecturas se realizaron cada 20 minutos hasta llegar a los 150 minutos, esto con la finalidad de determinar la estabilidad del complejo.

Para determinar el intervalo de trabajo se preparó una serie de ocho estándares de SCN^- de concentraciones desde 11 a 92 mg/L, manteniendo la relación 1:1 ($\text{Fe}^{3+}:\text{SCN}^-$) Finalmente se realizó la curva de calibrado, utilizando una serie de cinco estándares (23 a 69 mg/L de SCN^-).

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se presenta el espectro que se obtuvo de la disolución de trabajo para determinar la longitud de máxima absorción, encontrando que el complejo rojo formado, $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$, presenta un máximo de absorción en 460 nm.

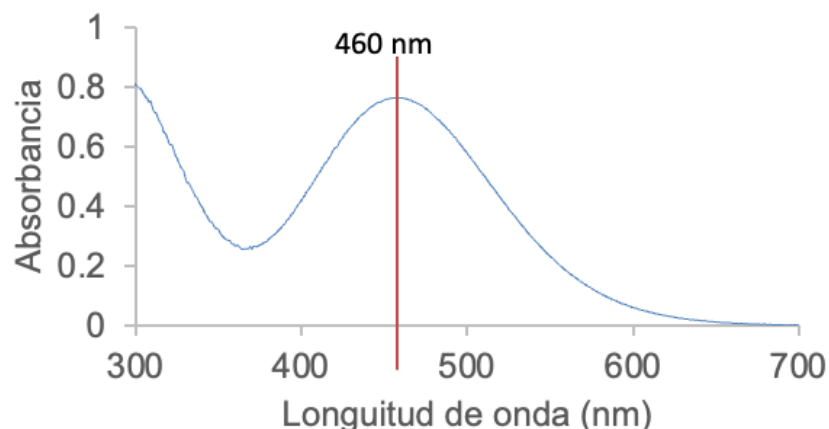


Figura 1. Espectro de Absorción del complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ y su longitud de máxima absorción en 460 nm.

Con la disolución de trabajo se realizó la cinética (ver Figura 2) para determinar el efecto de la disminución del color con el tiempo.

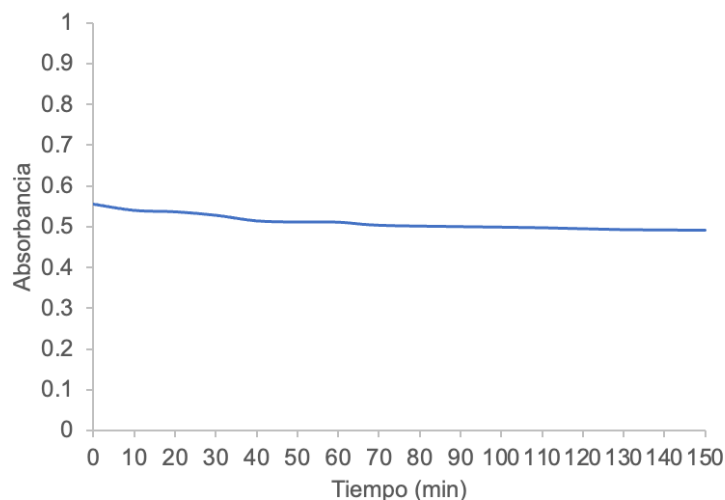


Figura 2. Cinética de formación del complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ durante 150 minutos.

Como se puede observar, después de los primeros 10 minutos de la primera lectura de la disolución de trabajo se tuvo una pérdida de 2.8% de absorbancia, la pérdida de absorbancia se mantuvo en promedio 1.09% desde los 10 minutos hasta los 70 minutos y por último de los 70 a los 150 minutos el descenso de absorbancia fue en promedio 0.54%. Esto nos indica que las lecturas se deben realizar antes de los 10 minutos para obtener una buena linealidad en la curva de calibrado como la que se presenta en la Figura 3.

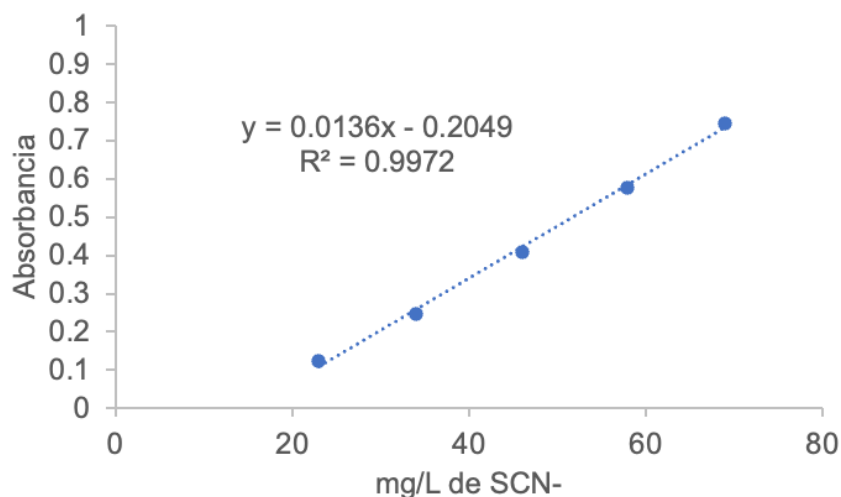


Figura 3. Ejemplo de curva de calibrado que se obtuvo para la cuantificación de SCN^- a 460 nm

En la Figura 3 se presenta la ecuación de la recta y $R^2=0.9972$ la cual nos indica una buena linealidad, sin embargo, se puede mejorar la linealidad si se añade el tiocianato de forma simultánea a las muestras para disminuir el efecto del tiempo durante la preparación de la curva de calibración y la lectura de la muestra. Con estos resultados ya podemos determinar la concentración de SCN^- presente en una disolución acuosa modelo, por lo que se continuará trabajando con este proyecto hasta poder determinar la concentración del SCN^- en muestras de aguas naturales que contienen una fuerza iónica mayor, debido a la presencia de iones que son considerados interferentes para la formación del complejo.

Conclusiones

Con los resultados obtenidos podemos concluir que se puede determinar rápidamente la presencia de SCN^- mediante la formación del complejo rojo $\text{Fe}(\text{SCN})_2^{2+}$, manteniendo constante la relación de la concentración del Fe^{3+} y el SCN^- , y controlando la acidez del medio, sin embargo, es necesario seguir realizando más pruebas para utilizar esta metodología en muestras naturales.

Agradecimientos

A la responsable del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por facilitar los recursos necesarios para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] A. Azizitorghabeh, J. Wang, J. Ramsay, A. Ghahreman. A review of thiocyanate gold leaching – Chemistry, thermodynamics, kinetics and processing. *Minerals Engineering*. **160**, 1-15, (2021).
- [2] A. Benvidi, M. Ghanbarzadeh, M. Dehghan, M. Mazloum, R. Vafazadeh. Thiocyanate ion selective electrode based on bis(N-3-methylphenyl salicylideneamino)copper(II) ionophore. *Chinese Chemical Letters*. **25**, 1639–1642, (2014).
- [3] W. Douglas, M. King, B. Mohapatra, R. Cameron, A. Kapoor, D. Koren. A critical review on destruction of thiocyanate in mining effluents. *Minerals Engineering*. **34**, 38–47, (2012).
- [4] E. Willemin, A. Lumen. Thiocyanate: a review and evaluation of the kinetics and the modes of action for thyroid hormone perturbations. **21**, 1–28, (2017).
- [5] M. Keyvanfard, K. Alizad, P. Elahian. Determination of Thiocyanate by Kinetic Spectrophotometric Flow Injection Analysis. *Journal of Chemistry*. **1**, 1-5, (2013).
- [6] K. De Berg. *The Iron(III) Thiocyanate Reaction*. Springer. Estados Unidos. (2019).
- [7] R. Cordova-Moreno, C. Moreno-Bonett, R. Zugazagoitia-Herranz, F. López-Naranjo, C. Sánchez-Martínez. Modelo educativo teórico-práctico: “El consumo de tabaco”. *Educación Química* **26**, 127-133, (2015).

CARACTERIZACIÓN POR ATR-FTIR Y RMN DE PIGMENTOS DE USO ARTISTICO

Emiliano Meléndez Hernández^a, Pablo Arturo Rodríguez Aguilar^a, Nuria Esturau Escofet^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, LURMN. Ciudad Universitaria, Circuito Exterior s/n Circuito de la Investigación Científica, CDMX. C.P. 04510. Tel. (55) 5622 4770 #45648 / 45649, e-mail emihernandez2000.z@gmail.com, esturau.nuria@gmail.com

Introducción

El presente trabajo forma parte de las actividades del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC), formado por diversos Institutos de la UNAM: Química, Física e Investigaciones Estéticas. Este laboratorio se distingue por trabajar de manera interdisciplinaria para analizar los diversos objetos de patrimonio cultural y materiales de referencia. Dentro de las investigaciones enfocadas en el estudio de los pigmentos, se tiene por objetivo la caracterización química de los componentes y la generación de espectros de referencia, particularmente en formulaciones comerciales.

Los pigmentos son compuestos que proporcionan el color y opacidad a la pintura, son sólidos en forma de polvo fino que llegan a tener un tamaño de 0.2 a 20 μm de diámetro; pueden ser sustancias orgánicas o inorgánicas, coloridas, blancas o negras; que son casi insolubles en el medio donde son incorporados [1,2].

En esta investigación, el objetivo principal es el estudio de los pigmentos orgánicos que han sido empleados en el arte moderno mexicano [2]. Las técnicas analíticas empleadas son: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier por Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

La técnica de ATR-FTIR permite observar los grupos funcionales presentes en la molécula por las vibraciones de los enlaces de estos mismos.

La técnica de RMN permite realizar la elucidación de estructuras moleculares y conocer la composición química de una muestra [3]. Los experimentos realizados fueron unidimensionales de ^1H y ^{13}C y los bidimensionales [4]:

- COSY: Correlación homonuclear para la identificación de enlaces ^1H - ^1H a dos a tres enlaces de distancia
- HSQC: Correlaciones heteronucleares entre ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia, y en versión editada (ed-HSQC) indica si las señales provienen de CH y CH_3 o CH_2 .
- HMBC: Correlaciones heteronucleares a dos o tres enlaces que pueden ser ^1H - ^{13}C o ^1H - ^{15}N .

Parte Experimental

Se analizaron los pigmentos en las muestras: laca garanza ACK (1), rojo fuego RHK (2) y PY12 (3).

Espectroscopia de infrarrojo por ATR

Se tomó una pequeña cantidad de muestra y se colocó sobre el disco de detección del equipo de ATR-FTIR, se baja el pico de diamante que presiona la muestra contra el detector y se obtiene de manera directa el espectro de infrarrojo con un espectrofotómetro de infrarrojo Agilent Technologies Cary 670 con un módulo para ATR PIKE Technologies GaldATR a 20°C usando el programa Agilent Resolution Pro. Seguido de esto, los espectros son procesados con el programa de MestReNova v.14.2 para su análisis.

Resonancia Magnética Nuclear

Para el análisis por RMN, se pesaron 20 mg de muestra en un vial, se le añadieron 600 µL de cloroformo deuterado (CDCl₃) y se agitó con un vórtex para su disolución. Posteriormente, se traspasaron a tubos Eppendorf® y se centrifugo a 11000 RPM, 22°C durante 15 min para separar los compuestos no disueltos. El sobrenadante se colocó en un tubo de RMN de 5mm. Los espectros se adquirieron a 298 K en un espectrómetro Bruker Avance III HD 700 MHz (campo magnético de 16.4 T) equipado con una criosonda TCI H-C/N-D. El procesamiento se realizó con el programa MestReNova v.14.2. Para el análisis de los espectros, se referenciaron las señales del disolvente no deuterado residual en 7.26 ppm y 77.16 ppm, del ¹H y ¹³C respectivamente.

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se muestra el espectro ¹H RMN de la muestra **1** donde se observan señales alifáticas anchas entre 0.5 y 2.0 ppm, aromáticas de 7.0 a 8.5 ppm y por encima de 9 ppm de hidrógenos unidos a heteroátomos. Este conjunto de señales y la diferencia en su intensidad sugiere que existen varios compuestos, y dado que nos interesa estudiar los pigmentos nos centraremos en el análisis de las señales aromáticas.

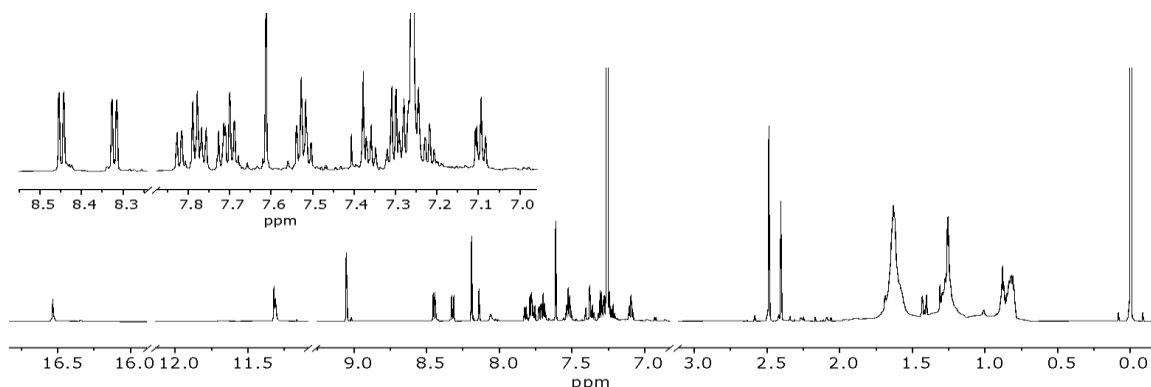


Figura 1. Espectro ¹H RMN de la muestra **1** y ampliación de la región aromática (7.0 – 8.5 ppm).

A continuación, se explican las correlaciones observadas de los espectros bidimensionales de RMN que nos llevaron a la elucidación de la muestra **1**, para fines de describir con facilidad el proceso de elucidación los átomos del pigmento elucidado al

final se encuentran ya asignados. En la Figura 2a se muestra el espectro COSY de **1**, donde se observan correlaciones en la región aromática: el doblete (d) H6 (8.32 ppm) correlaciona con el triplete (t) H5 (7.28 ppm) que este a su vez correlaciona con H4 (t, 7.09 ppm) y H4 correlaciona con H3 (d, 7.25 ppm). Estas correlaciones nos indica la existencia de un anillo aromático de 6 miembros orto-sustituido. En el HMBC (Figura 2b) se observan que el protón H1 (2.49 ppm) correlaciona con 3 carbonos: el cuaternario C2 (128.5 ppm), C3 (130.6 ppm) y el cuaternario C7 (137.0 ppm), lo que indica que el anillo aromático esta sustituido por un metilo en posición orto, y dado que H8 (11.32 ppm) no presenta correlación en el espectro ed-HSQC podemos inferir que se encuentra unido a un heteroátomo. Este protón H8 correlaciona en el HMBC con C6 lo cual indica que el anillo orto-sustituido tiene un heteroátomo como sustituyente además del metilo. En el COSY también se observa un segundo sistema aromático orto-sustituido con las correlaciones: H13 (d, 7.78 ppm) con H14 (t, 7.53 ppm), H14 con H15 (t, 7.70 ppm) y H15 con H16 (d, 8.45 ppm). En el HMBC H13 correlaciona con: C11 (150.1 ppm), C17 (134.7 ppm) y con C15 (132.1 ppm). Por otra parte, H16 correlaciona con: C18 (132.5 ppm), C12 (126.7 ppm) y 14C (128.1 ppm). Esto indica que hay un segundo anillo aromático fusionado tipo naftaleno unido por C17 y C12. En este anillo el singulete (s) H11 (9.05 ppm), correlaciona con: C19 (161.5 ppm) y el carbonilo C9 (179.2 ppm). Finalmente se observa que H25 (s, 8.19 ppm) y H22 (s, 7.61 ppm) correlacionan con los carbonos cuaternarios: C21 (121.5 ppm), C23 (130.0 ppm), C24 (138.5 ppm) y C26 (133.3 ppm), donde los desplazamientos químicos de C23, C24 y C26 sugieren la sustitución con un heteroátomo. El desplazamiento químico del protón H₂O (16.54 ppm) y su ausencia de correlación en ed-HSQC indica que es un grupo hidroxilo.

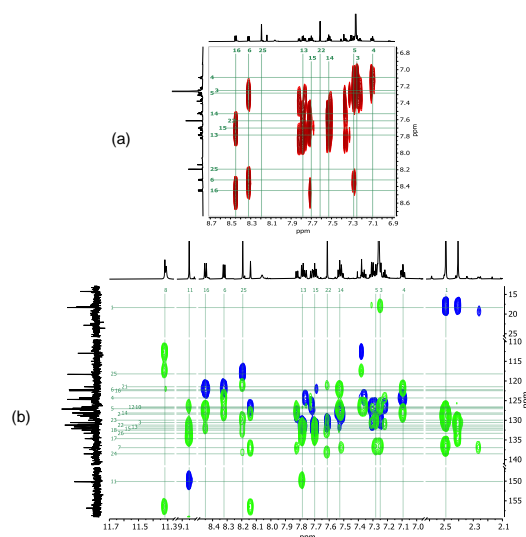


Figura 2. Espectros de la muestra **1** a 700 MHz a) COSY de la región aromática. b) ed-HSQC (señales en color azul) y HMBC (señales en color verde) apilados.

Analizando el espectro de infrarrojo de la muestra **1** (Figura 3), se observa una señal en 3253 cm^{-1} perteneciente a un enlace N-H, una banda en 1552 cm^{-1} del grupo N=N, en 1537 cm^{-1} del grupo N-C=O en forma libre y 1251 cm^{-1} de NHC=O. Estas bandas indican la presencia del grupo azo (N=N). También se observa una banda en 1060 cm^{-1} perteneciente a C-Cl aromáticos.

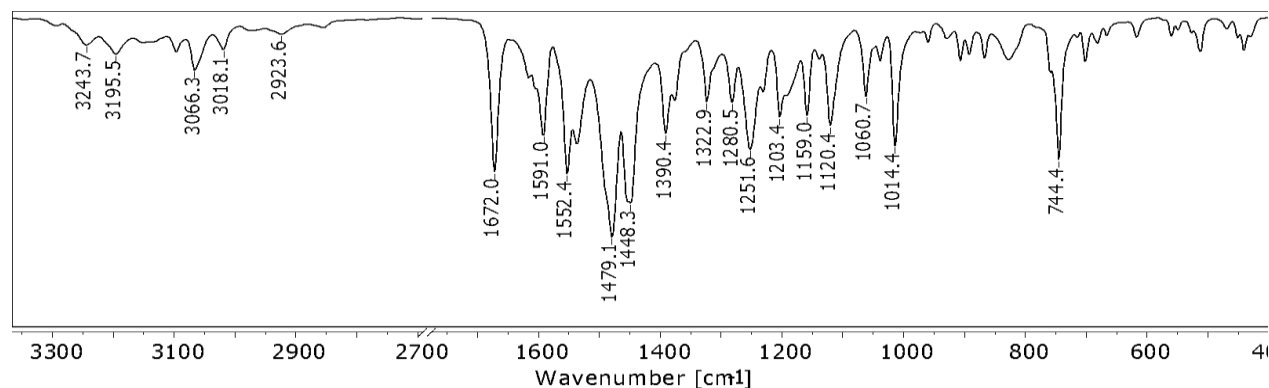


Figura 3. Espectro de infrarrojo obtenido por ATR-FTIR de la muestra **1** indicando las bandas más representativas del espectro.

Analizando en conjunto los datos de RMN e infrarrojo, se elucidó la estructura del pigmento rojo PR112 en la muestra **1**. En la Figura 4 se indican con flechas las correlaciones clave COSY (rojas) y HMBC (verdes) de dicho pigmento y se indican los datos espectroscópicos.

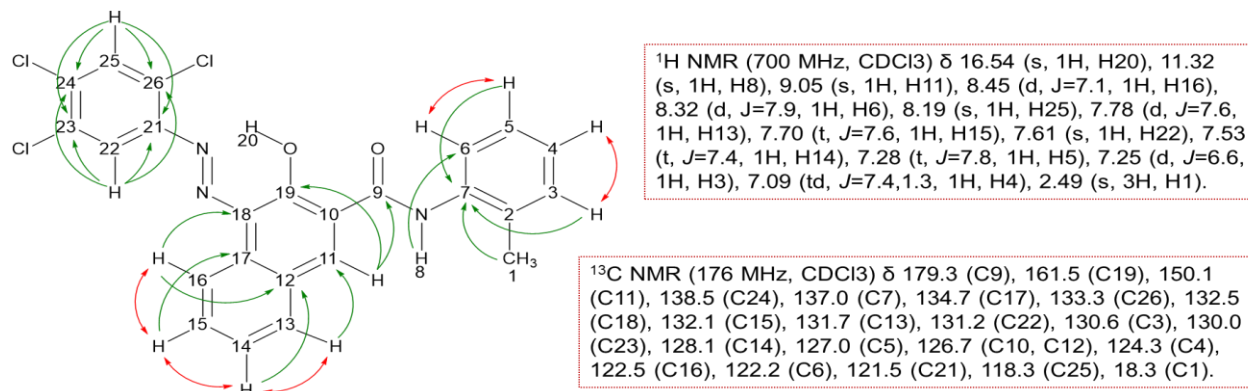


Figura 4. Estructura del Pigmento Rojo PR112. Con flechas se indican las correlaciones COSY (rojas) y HMBC (verdes). En el lado derecho se muestran los datos de RMN ¹H y ¹³C.

Siguiendo el procedimiento anteriormente descrito se analizaron las muestras **2** y **3** en las que se identificaron los pigmentos PR3 y PY12. A continuación se muestran los experimentos de ¹H RMN asignados a cada una de las estructuras, así como las correlaciones claves que permitirían su elucidación.

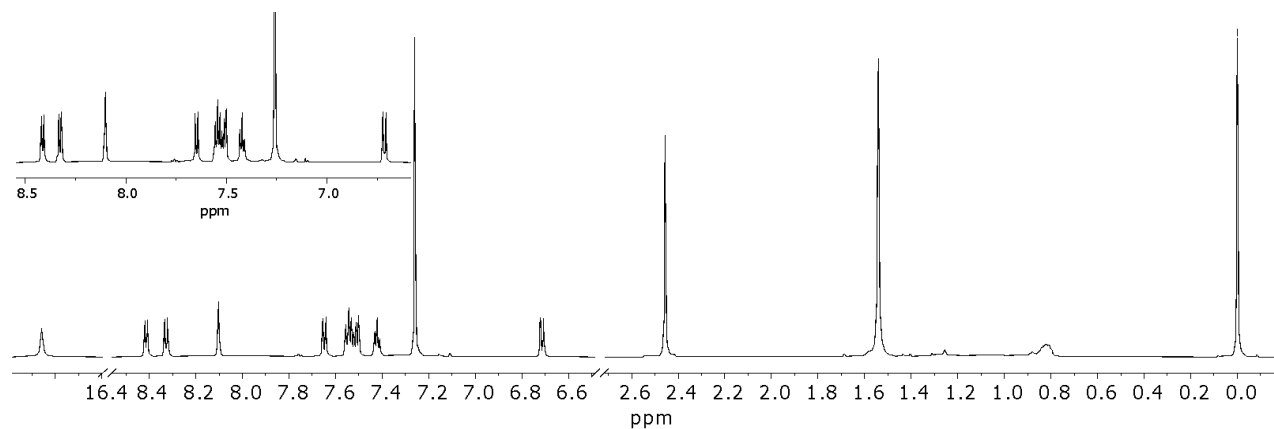
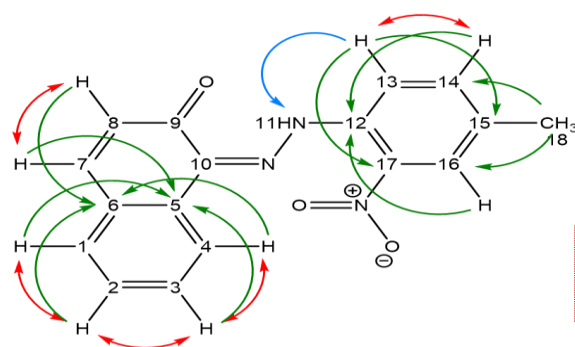


Figura 5. Espectro ^1H RMN de la muestra 2 con ampliación en la región de 7.4 – 7.7 ppm con asignación.



^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 16.7 (s, 1H, H11), 8.4 (d, J , 8.3 (d, $J=8.6$, 1H, H13), 8.1 (s, 2H, H16), 7. =8.0, 1H, H46 (d, $J=9.6$, 1H, H7), 7.5 (d, $J=8.1$, 1H, H14), 7.5 (t, $J=7.7$, 2H, H2), 7.5 (d, $J=7.6$, 1H, H1), 7.4 (d, $J=7.2$, 1H, H3), 6.7 (d, $J=9.6$, 1H, H8), 2.5 (s, 3H, H18).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 180.7 (C9), 143.1 (C7), 137.2 (C17), 136.7 (C14), 135.7 (C12), 134.4 (C15), 133.4 (C5), 132.7 (C10), 129.5 (C3), 129.1 (C1), 128.9 (C6), 127.6 (C2), 127.1 (C8), 125.8 (C16), 122.8 (C4), 117.9 (C13), 20.7 (C18).

Figura 6. Estructura del Pigmento Rojo PR3 elucidado en la muestra 2. Con flechas se indican las correlaciones COSY (rojas), ^1H - ^{13}C HMBC (verdes) Y ^1H - ^{15}N HMBC (azules). En el lado derecho se muestran los datos de RMN ^1H y ^{13}C .

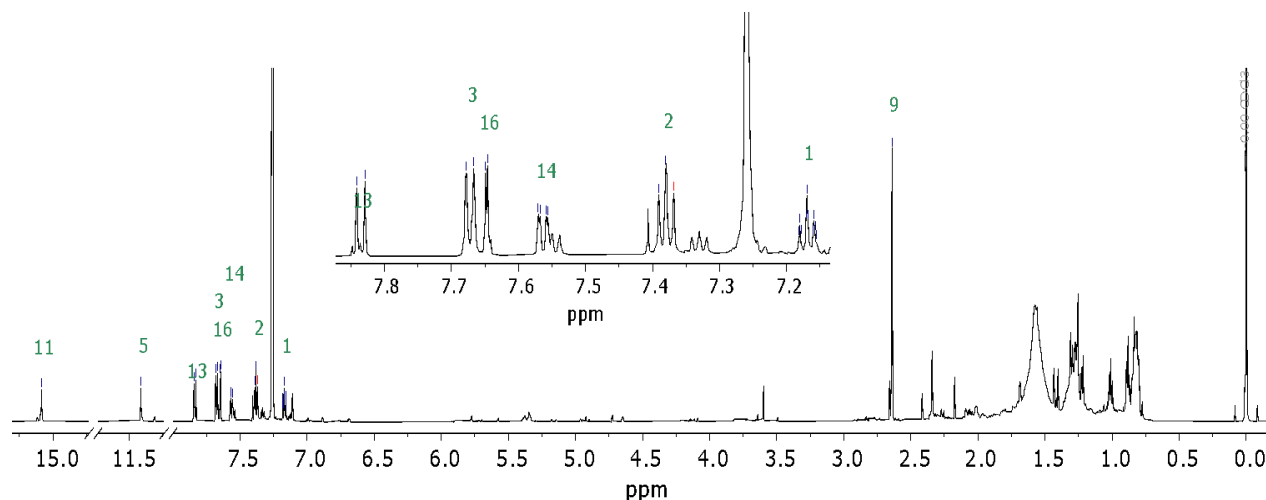


Figura 7. Espectro ^1H RMN de la muestra 3 con ampliación en la región de 7.0 – 8.0 ppm con asignación.

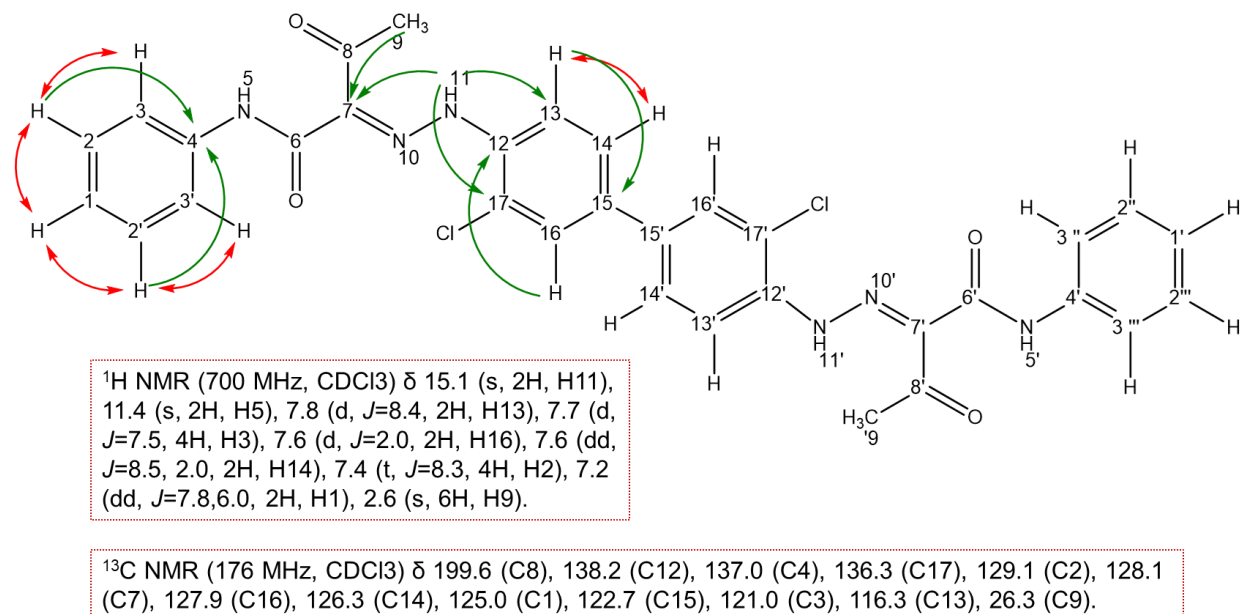


Figura 8. Estructura del Pigmento Amarillo PY12 elucidado en la muestra **3**. Con flechas se indican las correlaciones COSY (rojas) y HMBC (verdes). En la parte inferior muestran los datos de RMN ¹H y ¹³C.

Conclusiones

La combinación de los datos obtenidos por RMN y ATR-FTIR permitió la elucidación estructural de los pigmentos PR112, PR2 y PY12 en las muestras laca garanza ACK, rojo fuego RHK y PY12 respectivamente. Estos pigmentos se encuentran comúnmente en obras de patrimonio cultural, por lo que, los espectros obtenidos en este trabajo pueden ser empleados como referencia en el análisis de obras de patrimonio cultural.

Agradecimientos

Se agradece a Marisol Reyes Lezama, Beatriz Quiroz García, Martha E. García-Aguilera y Adrián Mejía González por la asesoría técnica. Y a Sandra Zetina del Laboratorio de Diagnóstico de Obras de Arte del Instituto de Investigaciones Estéticas de la UNAM por la conceptualización histórica y las muestras proporcionadas.

Referencias

- [1] K. Hunger, M.U. Schmidt. Industrial Organic Pigments: Production, Crystal Structures, Properties, Applications. Alemania. (2004)
- [2] T.J. Learner. Analysis of Modern Paints. Estados Unidos. (2004)
- [3] P. Aguilar-Rodriguez, S. Zetina, A. Mejía-González, N. Esturau Escofet. Microanalytical Characterization of an Innovative Modern Mural Painting Technique by SEM-EDS, NMR and Micro-ATR-FTIR among Others. **28**, [2] 10-11 (2023)
- [4] L. Field, H. Li, A. Magill. Organic Structures from 2D NMR Spectra. Reino Unido. (2015)

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE PROCESOS ELECTROQUÍMICOS

Paola Ibeth Serrano-Campos^a, Jaqueline Ramírez-Sánchez^a, Sandra Maldonado^b,
Mayra Rodríguez-Peña^b, Reyna Natividad Rangel^b, Patricia Balderas-Hernández^b,
Gabriela Roa-Morales^{b*}

^a Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón intersección Paseo Tollocan S/N, C.P. 50120, Toluca, Estado de México, México.

^b Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Toluca-Atlacomulco, Km 14.5, Campus San Cayetano, Toluca, MEX, 50200, México.
email: groam@uaemex.mx, pserranoc00@alumno.uaemex.mx, jramirezs009@alumno.uaemex.mx

Introducción

El agua residual proveniente de la actividad industrial contiene compuestos orgánicos persistentes (COP) que no pueden oxidarse completamente en los tratamientos convencionales. Los procesos convencionales de descontaminación de aguas residuales, en ocasiones, no han resultado eficientes para alcanzar el grado de pureza requerido. Por ello, ha sido necesario insertar nuevos tratamientos, tal como los electroquímicos, que incluyen electrocoagulación (EC) y Procesos de Oxidación Avanzada (POA) que consigan eliminar o reducir los contaminantes de una mejor manera mediante la aplicación una corriente eléctrica [1].

La EC genera iones metálicos en el ánodo formando el coagulante con ayuda de la reducción del agua en el cátodo donde se genera iones hidróxido, que ayuda a eliminar especies contaminantes tal como, los sólidos suspendidos. Por otro lado, los POA son procesos fisicoquímicos basados en la generación y uso de radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$), a una temperatura y presión cercana a la del ambiente, y que son capaces de producir cambios estructurales en las especies químicas contaminantes de forma poco selectiva y muy activa, por su alta capacidad oxidante [2][4]. La ventaja de los POA es que la materia orgánica contaminante puede degradarse o llegar a la mineralización, sin la producción de lodos.

Por tal motivo en este trabajo se propone utilizar estos dos tipos de tratamiento electroquímico para comparar su eficiencia y a su vez ser acoplados a trenes de tratamientos de aguas reales [3].

Parte Experimental

La muestra de agua residual se obtuvo de la industria confitera antes y después de un pretratamiento biológico.

Las muestras fueron sometidas a dos tipos de tratamientos electroquímicos: electrocoagulación con electrodos de aluminio (20 cm por 3 cm) y electrooxidación con electrodos de Diamante Dopados con Boro (DDB) (22 cm por 2.5 cm) de CONDIAS.

Los tratamientos se realizan en un reactor electroquímico tipo lote, el cual tiene una capacidad de 500 mL, con electrodos de aluminio y electrodos DDB para la EC y EO, respectivamente. En ambos se aplicó una corriente eléctrica de 1, 2 y 3 A durante 1 hora.

La calidad del agua se analiza mediante parámetros como pH, turbidez, color, Carbono orgánico total (TOC), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) y Demanda Química de Oxígeno (DQO). Además, se realiza la determinación de grasas y aceites (GyA) [5].

Resultados y Discusión

La figura 1 muestra la eficiencia de eliminación de TOC después de aplicar tres corrientes a la muestra de agua residual después del tratamiento biológico. De acuerdo con los resultados que se presentan en la figura anterior, se observa que la eficiencia de la remoción incrementa con el aumento de la intensidad de corriente, generando más radicales hidroxilos, que pueden formar un catión radical al extraer un electrón de sustratos ricos en electrones, y pueden hidrolizarse fácilmente en medios acuosos dando un producto oxidado que suele ser menos tóxico. Se puede observar que la mejor eficiencia fue a 3 A logrando una eficiencia de 31 % con DDB en la eliminación de materia orgánica.



Figura 1. Tratamiento EO-DDB con pretratamiento biológico.

En la figura 2, tras realizar el tratamiento con electro-oxidación se puede observar que el valor de la concentración disminuye y esto a su vez nos indica que se requiere menor cantidad de oxígeno para oxidar la materia orgánica, por lo que se tendría agua “menos contaminada”.

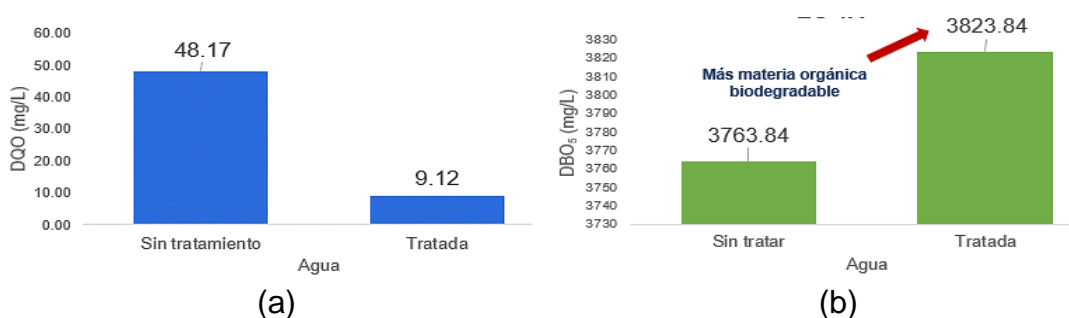


Figura 2. (a) DQO y (b) DBO₅ del agua con pretratamiento biológico, muestreada antes y después del tratamiento con EO.

En la figura 3, en el tratamiento con 2 A se logra ver una mayor disminución de TOC. Por lo que un aumento de la corriente aplicada mejora el paso en el transporte de masa y a su vez, el transporte de masa se vería potenciado por el aumento de la velocidad y de la turbulencia.

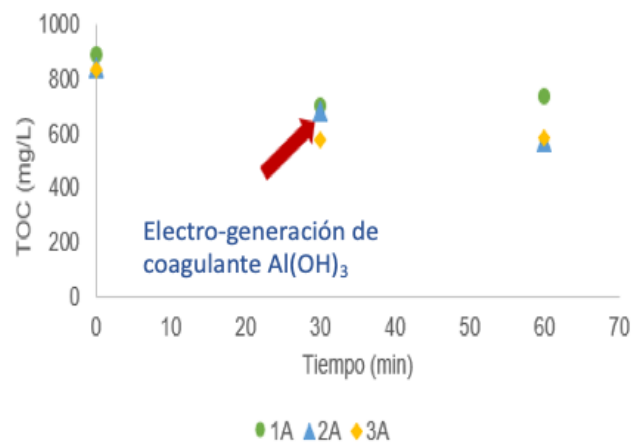


Figura 3. Tratamiento EC-Electrodos de aluminio con pretratamiento biológico

En la figura 4, se acopló la EC/EO y se observa una disminución en el TOC, sin embargo, se requiere mayor tiempo de tratamiento o bien, aplicar una mayor intensidad de corriente para tener mejor eficiencia en los tratamientos, ya que solo se logró una eliminación de TOC de 24 %, solo hay que considerar que se realizó el tratamiento a la muestra de agua residual sin pretratamiento biológico, así que el TOC inicial es prácticamente el doble en comparación con la muestra con previo tratamiento biológico.

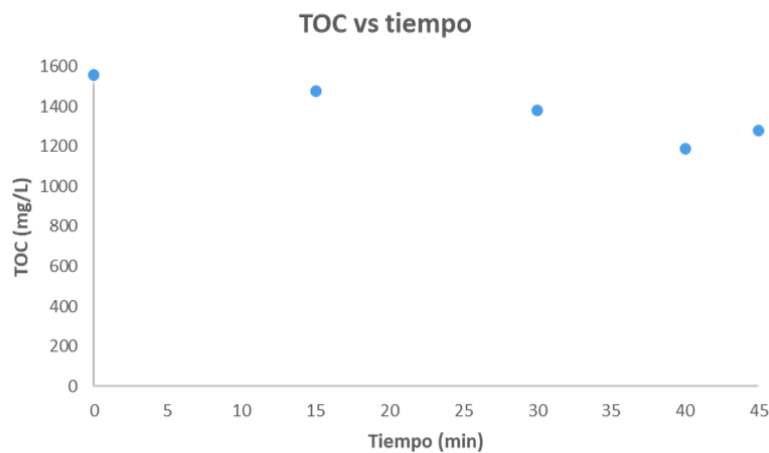


Figura 4. Acoplamiento EC/EO sin pretratamiento biológico

También se realizó un análisis de grasas y aceites (GyA) debido a la procedencia del agua residual, ya que en la industria confitera utilizan materia prima de este origen para preparar diferentes golosinas, tal como el chocolate y pastas dulces.

En la Tabla 1 se muestra que el agua residual aún con un pretratamiento biológico registró una cantidad de GyA de 282 mg L⁻¹. Al aplicar el tratamiento por EO se observa una eliminación del 11% y con la EC presento una un 47% de remoción de GyA.

Tabla 1. Determinación gravimétrica de grasas y aceites de muestra de agua con pretratamiento biológico antes y después de los tratamientos electroquímicos.

Muestra de agua	GyA, mg/L	% de remoción
Con pretratamiento biológico	282	0
Tratamiento con EO	250	11.34
Tratamiento con EC	149	47.16

La EC muestra mejor eficiencia debido a que el proceso es eficiente para remover materia particular, tal como la materia coloidal, ya que durante la formación del coagulante atrapa la materia orgánica y se separa mediante sedimentación de los lodos generados. Por otro lado, la EO genera los OH que degradan y llegan a mineralizar la materia orgánica siempre y cuando lleguen a la superficie de los electrodos.

Conclusiones

La EC parece ser más eficiente que la EO en cuestión de eliminación de materia orgánica, principalmente coloidal.

De acuerdo con el valor obtenido en la DBO₅, el agua de la industria de la confitería se clasifica como fuertemente contaminada (3763.842 mg/L).

Se requiere mayor tiempo de tratamiento o una mayor intensidad de corriente para observar si los procesos electroquímicos pueden llegar a ser más eficientes.

La densidad de corriente, así como el tipo, distancia y geometría de los electrodos, es importante para conseguir altas tasas de eliminación, ya que determina la producción de las especies requeridas para cada tratamiento electroquímico.

La cantidad de grasas y aceites presentes en las aguas residuales disminuye en un 47.16 % tras el tratamiento con electrocoagulación.

Agradecimientos

Agradecemos al CONACYT por financiar el proyecto 62.

Al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM por las instalaciones del Laboratorio de Química Ambiental

Referencias

- [1] M. Rodríguez Peña, C.E. Barrera Díaz, procesos de oxidación avanzada en el tratamiento de agua, **166**, Universidad Autónoma del Estado de México, México, (2020).
- [2] V.M. García-Orozco, G. Roa-Morales, I. Linares-Hernández, I.J. Serrano-Jimenes, M.A. Salgado-Catarino, R. Natividad, Electrocoagulation of a chocolate industry wastewater in a Downflow column electrochemical reactor, *J. Water Process Eng.* **42** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102057>.
- [3] C.A. Martínez-Huitle, M.A. Rodrigo, I. Sirés, O. Scialdone, Single and Coupled Electrochemical Processes and Reactors for the Abatement of Organic Water Pollutants: A Critical Review, *Chem. Rev.* (2015). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00361>.
- [4] S.O. Ganiyu, C.A. Martínez-Huitle, M.A. Oturan, Electrochemical advanced oxidation processes for wastewater treatment: Advances in formation and detection of reactive species and mechanisms, *Curr. Opin. Electrochem.* **27** (2021) 100678. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.100678>
- [5] DOF, NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación, (2023).

CIENCIA EN CASA; FABRICACIÓN DE UNA COLUMNA CROMATOGRÁFICA PARA SEPARAR PIGMENTOS NATURALES.

Nathaly Aparicio Sánchez^a, Laura Galicia^a, Gabriela Valdés Ramírez^{a*}

^aUniversidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco -186, Col. Vicentina, Ciudad de México, CP 09340, Iztapalapa, México. nath.apsan@gmail.com, *gabrivra@gmail.com

Introducción

La cromatografía en los diferentes medios de trabajo es un método de separación y análisis que tiene aplicación dentro de múltiples disciplinas científicas. Dicha técnica fue “inventada” y denominada así por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios de siglo XX quien la utilizó para separar diferentes pigmentos vegetales, como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar soluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio llena con polvo de carbonato de calcio; posteriormente, las diferentes especies que componen las muestras inyectadas pueden observarse separadas en bandas coloreadas a lo largo de la columna. [1-4]

En general, para realizar una separación cromatográfica la muestra de interés se disuelve en un solvente al que se le conoce como eluyente, puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico, que posteriormente se utiliza como fase móvil y se hace pasar a través de la fase estacionaria, que se presume inmisible e inmóvil dentro de una columna o superficie sólida a utilizar; la elección de las distintas fases a utilizar depende de que los componentes de la muestra a separar puedan distribuirse (y consecuentemente separarse) en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil; en cambio, los componentes unidos débilmente a la fase estacionaria se mueven con mayor rapidez; como consecuencia, los componentes de la muestra pueden separarse en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa o cuantitativa utilizando otros métodos. [1-4]

La columna cromatográfica está constituida por un tubo (de vidrio o plástico) que se empaqueta con un sólido (fase estacionaria), cuya característica principal es no reaccionar con el disolvente o la muestra a separar. La fase estacionaria debe pulverizarse y mantenerse siempre dentro del tubo de vidrio sin fluir a través de la columna. Por otra parte, la fase móvil ocupa los espacios abiertos entre partículas de la fase estacionaria. Para comenzar la separación de una muestra, por ejemplo, compuesta de tres componentes: A, B y C (como se muestra en la figura 1), se realiza una inyección de la muestra en la parte superior y por las paredes de la columna en el tiempo t_0 , a partir de este momento, los componentes de la muestra comienzan a distribuirse entre las dos fases (móvil y estacionaria) $t_1, t_2 \dots t_n$ donde n depende del número de componentes que se puedan separar en la muestra. [4, 8]

Una parte fundamental de este experimento es la elución ya que implica la purificación de la muestra con el lavado de la columna mediante la adición continua de fase móvil. En la primera inyección de fase móvil “nueva”, el eluyente arrastra a la muestra disuelta en

la fase móvil avanzando hacia abajo en la columna, es en esta acción donde tiene lugar el reparto o distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria, $t_1, t_2 \dots t_n$ donde n depende del número de componentes que se puedan separar en la muestra. [4, 8]

A medida que la fase móvil fluye por la columna, transporta moléculas de soluto hacia abajo de la columna en una serie continua de transferencias entre las dos fases. La velocidad media a la que una porción de soluto migra hacia abajo en la columna depende de la fracción de tiempo que permanece o reside en la fase estacionaria. Esta fracción de tiempo es largo para los componentes de una muestra que son retenidos por la fase estacionaria y corto cuando el soluto reside principalmente en la fase móvil. De manera ideal, las diferencias de velocidad resultantes hacen que los componentes de la mezcla se separen en bandas, que es posible observar a lo largo de la columna como se muestra en la figura 1, t_n . [4, 8]

Es posible aislar las especies separadas haciendo pasar fase móvil por la columna hasta que las bandas individuales llegan al extremo de la columna, al ser eluidas y pueden ser detectadas o colectadas al tiempo n (t_n), como se observa en la figura 1. [4, 8]

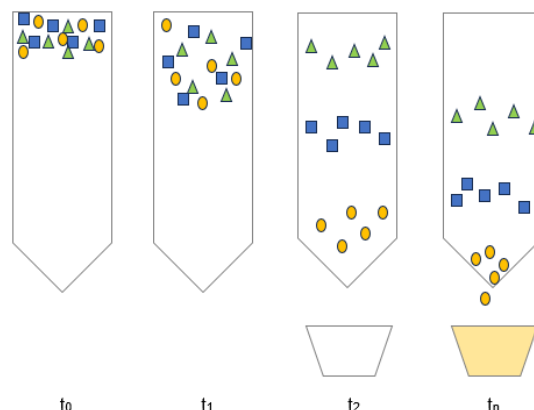


Figura 1. Representación de las etapas de separación en una columna cromatográfica [8]

Si bien, la cromatografía es una técnica separación ampliamente utilizada en los laboratorios de análisis e investigación, en donde se utilizan columnas tan complejas como las empleadas para cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases (GC) o cromatografía de líquidos de ultra-alta resolución UHPLC, sin embargo, también pueden ser tan sencillas y construirse utilizando elementos que se pueden encontrar fácilmente en el hogar. En el presente trabajo, se muestra paso a paso la fabricación de una columna cromatográfica y su uso para la separación de pigmentos encontrados en vegetales, frutas, hojas, etc. La motivación del trabajo surge a partir de las problemáticas encontradas para realizar experiencias de laboratorio desde casa, durante la pandemia por COVID-19, la necesidad de mostrar una alternativa para que los estudiantes realicen actividades experimentales desde sus hogares aprendiendo,

aplicando y reforzando conceptos como solubilidad, extracción, separación, afinidad, purificación y concentración.

Parte experimental

Durante la presente actividad experimental se prepara una columna cromatográfica con materiales que podemos tener a nuestro alcance cotidianamente demostrando que es posible realizar una separación por cromatografía desde casa. Los materiales por utilizar son: jeringas de diferentes volúmenes (1mL, 3mL,), harina de arroz (comercial o casera), alcohol etílico del 96°, algodón, muestras por separar: verduras, vegetales, frutos y hojas, recipientes de vidrio con tapa (preferentemente pequeños) y cuchara pequeña.

Preparación de la muestra

Se realiza una extracción sólido/líquido. Se inicia colocando una porción de la muestra de trabajo, que contiene los pigmentos naturales a separar, en trozos pequeños dentro de un frasco como se muestran en la Figura 2 a-c). Posteriormente, se adiciona eluyente, en este caso alcohol comercial, hasta cubrir la muestra por completo como se puede observar en la Figura 2 d). Por último, para evitar la evaporación del eluyente cerramos el frasco y esperamos hasta observar que el eluyente ha cambiado de coloración en una tonalidad intensa, lo cual indica que los pigmentos se han extraído al eluyente. Figura 2 e) muestra el recipiente con la muestra que se desea extraer para la separación de los pigmentos.

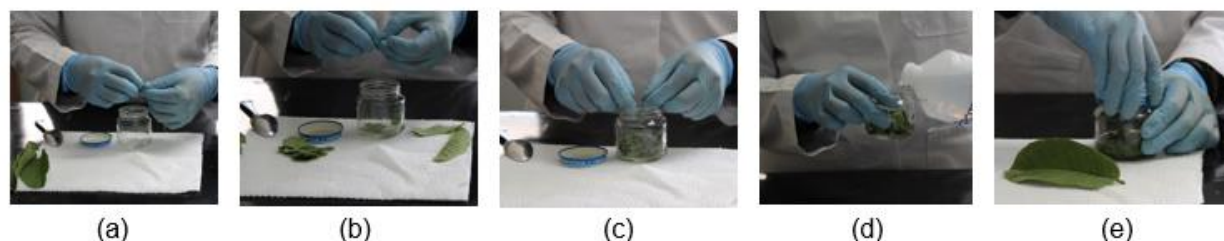


Figura 2. Extracción de la muestra de pigmentos a separar (hojas de guayabo) a) Troceado de las hojas de guayabo, b) y c) introducción de trozos pequeños de la muestra a separar un recipiente, d) Adición de eluyente hasta cubrir por completo la muestra, e) Protección de la muestra (reposo) para favorecer la extracción de la muestra.

Preparación de la fase estacionaria de la columna cromatográfica

Se coloca una porción de sólido adsorbente (harina de arroz) en un recipiente como se muestra en la Figura 3 a). Posteriormente, se adicionan pequeños volúmenes de alcohol hasta hidratar todo el sólido como es mostrado en la Figura 3 b). Se continúa adicionando más eluyente, se mezcla cuidadosamente hasta obtener una composición homogénea (Figura 3 c y d). La Figura 3 e), muestra la consistencia semilíquida que se debe tener para la fase estacionaria antes de introducirla en el cilindro que sirve como soporte para formar la columna cromatográfica. Las cantidades de sólido y eluyente, dependen del tamaño de la columna y del número de columnas que se deseen preparar.

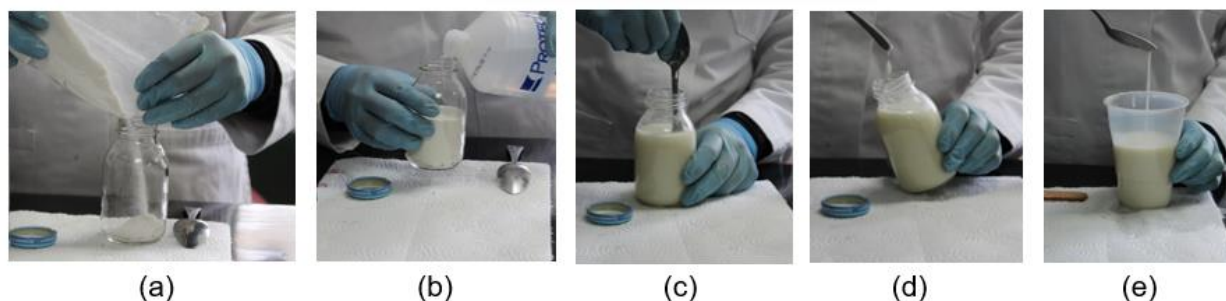


Figura 3. Preparación de la fase estacionaria: a) Sólido adsorbente (harina de arroz), b) Adición de eluyente, c) y d) Agitación de la mezcla (harina-etanol), e) Consistencia a para la fase estacionaria antes de introducir a la columna.

Para empaquetar la columna, se coloca una capa de algodón (lo más fina y delgada posible) en la base de la jeringa (Figura 4 a), a continuación, como se muestra en la Figura 4 b) y c), se añade lentamente la mezcla de harina/alcohol hasta llenar casi por completo la jeringa que utilizamos como columna. Por último, se deja reposar la columna sosteniendo la jeringa en posición vertical para conseguir que la fase estacionaria se compacte y se observe que por lo menos el 75% del tubo de la jeringa contenga fase estacionaria (Figura 4 d). Después de observar el correcto empaquetamiento de la columna, se hacen adiciones de alcohol (fase móvil), mismo que se deja fluir por la columna para que por gravedad compacte por completo la fase estacionaria en la columna.

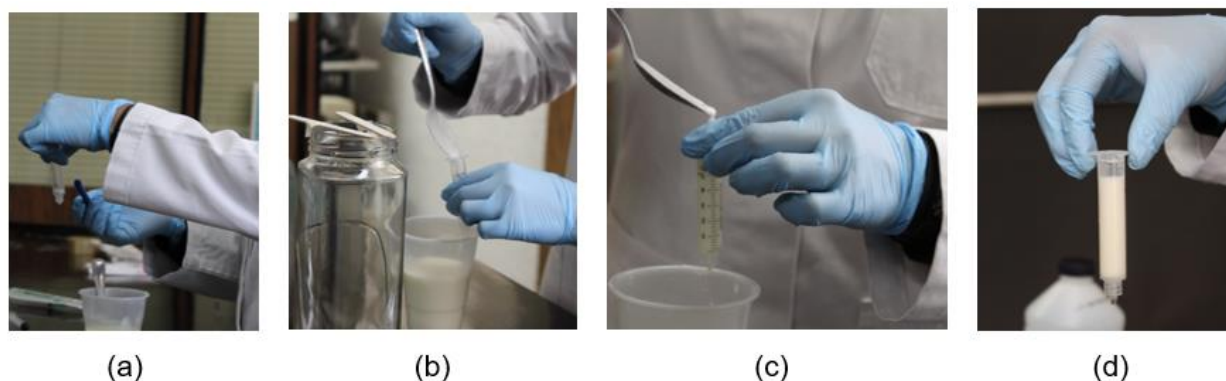


Figura 4. Empaquetamiento de la columna cromatográfica, a) Filtro de algodón, b) y c) llenado de la columna, d) Columna empaquetada.

Carga de la muestra en la columna

Se debe esperar a que las adiciones iniciales de fase móvil se encuentren dentro de la fase estacionaria antes de adicionar (cargar) la muestra a separar. Una vez que se tiene el extracto de la muestra a separar, con ayuda de una jeringa, se adiciona desde la parte superior de la columna un pequeño volumen de muestra (el volumen depende del tamaño de la columna y, deberá ser proporcional a esta, por ejemplo para una columna con

jeringa de 5mL, se puede cargar 0.5mL de muestra), la adición de la muestra debe realizarse preferentemente en forma suave y por las paredes de la columna para mantener una superficie plana y homogénea de la fase estacionaria que favorezca una separación uniforme como se muestra en la Figura 5.

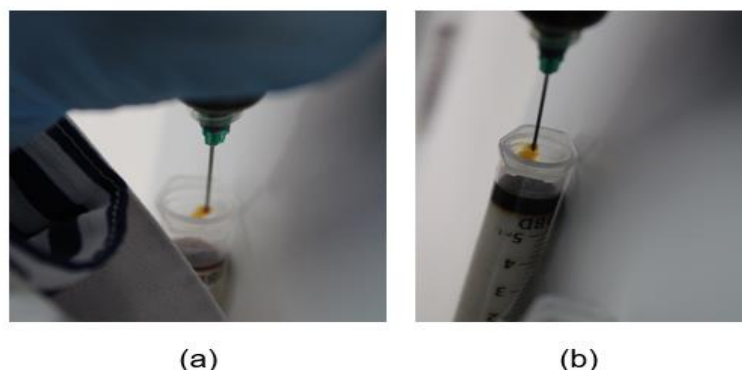


Figura 5. Carga de la muestra a separar: a) inicio de la adición de la muestra, b) final de la carga de muestra.

Separación de la muestra

Cuando prácticamente toda la muestra ha pasado a la parte superior de la fase estacionaria, se adiciona un pequeño volumen de fase móvil sobre la fase estacionaria teniendo las mismas consideraciones que al cargar la muestra, dicho procedimiento debe repetirse tantas veces como sea necesario hasta que se logra la separación de los componentes de la muestra, el flujo continuo de la fase móvil favorece la elución de los pigmentos (componentes) de la muestra. En este momento, es posible observar la formación de diferentes bandas (zonas) de colores con diferentes intensidades como resultado de la separación de los pigmentos de la muestra como se observa en la Figura 6, donde se muestra una columna cromatográfica a diferentes tiempos para la separación de los pigmentos existentes en un extracto de hojas de guayabo.

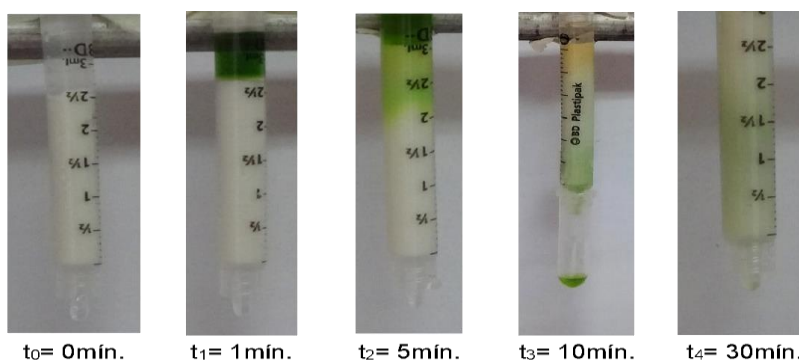


Figura 6. Columna cromatográfica, a diferente tiempo transcurrido para la elución y separación de la muestra de extracto de hoja de guayabo.

En la Figura 6, se observa una muestra de color verde (extracto de hoja de guayabo) que, al hacerse pasar a través de una columna de cromatografía con una fase estacionaria a base de harina de arroz (puede ser comercial o preparada en casa) y etanol comercial como fase móvil (eluyente), al transcurrir el tiempo, se observan bandas de diferentes colores que varían en diversas tonalidades de verde y amarillo, esto a consecuencia de la separación de los componentes del extracto original en diferentes componentes o pigmentos (clorofilas, xantofilas y carotenos); los pigmentos verdes pasan rápidamente a través de la columna, ya que su afinidad por el eluyente es mayor que por la fase estacionaria, mientras que los pigmentos amarillos son retenidos con mayor fuerza por la fase estacionaria al tener una mayor afinidad por la fase estacionaria que por el eluyente siendo retenidos en la parte superior de la columna mientras que, los pigmentos verdes son arrastrados por el eluyente y se mueven a través de la columna de cromatografía. La afinidad entre los diferentes pigmentos del extracto y fase estacionaria y móvil, permiten realizar la separación de los pigmentos (componentes) de la muestra.

Conclusiones

Después de llevar a cabo la presente actividad experimental podemos concluir que es posible realizar actividades experimentales desde casa, las cuales permitan emular experiencias de laboratorio que los alumnos realizarían dentro de las instalaciones de una institución educativa.

Es de notar también que, si bien la presente demostración no tiene un rigor comparable al que se tiene en un laboratorio de docencia a nivel profesional o de una investigación formal, es una propuesta didáctica que sirve para paliar las carencias experimentales de los estudiantes que se enfrentan a la posibilidad de tener una sesión de laboratorio de química. La actividad aquí descrita, permite reforzar y/o asimilar conceptos como: solubilidad, extracción, separación, afinidad, purificación y concentración.

Finalmente, es posible demostrar que esta columna de cromatografía, puede ser utilizada para la separación de pigmentos de otros productos naturales u otros compuestos coloridos que encontramos en el hogar.

Cabe señalar que la actividad aquí descrita, es una actividad que se puede realizar sin la necesidad de estar en un laboratorio y, para realizar un análisis de los componentes separados en las muestras se requieren de instrumentos como espectrofotómetros ultra violeta-visible, infrarrojos, masas, resonancia magnética nuclear u otros que nos permitan la caracterización de los pigmentos separados.

Agradecimientos

LG, GVR y NAS, agradecemos a la División de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa por el incentivo otorgado mediante el Programa de Apoyo a Proyectos de Docencia e Investigación 2022.

Referencias

- [1] O. Coskun. North Clinic Istanbul., **2**, 156-160 (2016).
- [2] A. Johnston, J. Scaggs, C. Mallory, A. Haskett, D. Warner, E. Brown, K. Hammond, M. M. McCormick, O. M. McDougal. Journal of Chemical Education, **90**, [6], 796-798, (2013).
- [3] T.R. Ibarra-Rivera, C. Delgado-Montemayor, F. Oviedo-Garza, J. Pérez-Meseguer, V. M. Rivas-Galindo, N. Waksma Minsky, L. A. Pérez-López. Journal of Chemical Education, **97**, 3055-3059, (2020).
- [4] Skoog, Douglas A., F. James Holler y Stanley R. Crouch. Sección cinco: Métodos de separación. Sergio Cervantes González. Principios de análisis instrumental. CENGAGE Learning. (2007).
- [5] Y. Salinas-Moreno, A. R. E. Zuñiga-Hernández, L.B. Jiménez-De la Torre, V. Serrano-Altamirano, C. Sánchez-Feria, REVISTA CHAPINGO SERIE HORTICULTURA, **18** [3], 395-407, (2012).
- [6] E. Pérez-Pérez, G. Ettiene, M. Marin, A. Csassa-Padron, N.Silva, J.Raga, C.González, L.Sandoval, D. Medina. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ); **31**, 60-77, (2014).
- [7] A. Portillo, OFFARM, **20** [5], 191-192, (2001).
- [8] Christian, D. Gary. Química Analítica. McGraw Hill. (2009)

ANÁLISIS NUTRIMENTAL DE UN ALIMENTO FUNCIONAL A BASE DE BAGAZO CERVECERO ADICIONADO DE NUTRACÉUTICOS.

Gloria Menchaca Espinoza^a, María Del Pilar Haro Vázquez^{b*},
Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo^b

^a Priv. Del Álamo No. 35 Fracc. Hacienda Santa María, C.P. 22245 Tijuana, B.C. Tel: +52 (664) 789 3722, e-mail: menchaca.gloria@uabc.edu.mx

^{b,c} Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional C.P 22390, Tijuana B.C. México. Tel: +52 (664) 120 33 71, e-mail: pilarharo@uabc.edu.mx; gaby@uabc.edu.mx

Introducción

En nuestra actualidad encontrar opciones de alimentos o snacks realmente saludables es complicado entre las ofertas del mercado, encontramos muchos productos que proclaman ser benéficos para la salud, pero en la mayoría de los casos la información nutrimental no es totalmente clara, y se incorporan varias sustancias sintéticas al alimento, como lo pueden ser edulcorantes, colorantes, saborizantes y conservadores artificiales, los cuales tienen efectos dañinos a largo plazo en la salud del consumidor. Esto representa un problema de salud pública importante, adicionado a esta problemática la mayoría de las industrias de alimentos no utilizan materias primas de calidad, ingredientes que proporcionen beneficios a la salud. La ciudad de Tijuana B.C. considerada como la capital de la cerveza artesanal de México, por los premios cosechados gracias a la calidad y diversidad de sus cervezas producidas [1]. Estas cervecerías generan grandes cantidades de residuos al año, el residuo en mayor proporción es el bagazo cervecero, el cual representa el 85% de los residuos generados por esta industria. Este se obtiene después del proceso de maceración, es la parte insoluble del grano de cebada que se encuentra mezclado con el mosto, El mosto se filtra para ser fermentado y producir la cerveza, en este proceso se obtiene el bagazo como subproducto y debe disponerse. Se estima que se producen alrededor de 20 kg de bagazo cervecero húmedo por cada 100 L de cerveza elaborada [2], esto es una gran cantidad considerando que existen varias cervecerías de producción constante en la ciudad, lo cual da origen a una problemática ambiental al ser desechado en rellenos sanitarios, ya que su descomposición genera gas metano que es un gas de efecto invernadero. Actualmente este residuo se busca aprovecharlo como alimento de ganado. El bagazo cervecero contiene en mayor proporción *Hordeum Vulgare*, un cereal comúnmente conocido como cebada, su aporte nutricional es importante, ya que contiene proteínas, fibra soluble, algunos minerales y vitaminas del grupo B, se considera un nutraceutico ya que posee una gran cantidad de fibra que contribuye en el proceso de digestión de carbohidratos, mejora el perfil lipídico en sangre, así como también reduce el índice glucémico en sangre [3], lo cual postula a la cebada como un gran ingrediente para el diseño de un alimento funcional. El objetivo de este trabajo es realizar el análisis nutrimental de una galleta salada utilizando para su diseño como ingrediente principal el bagazo de cerveza, avena, semillas por su aporte de Omegas 3,

6 y Vitamina E, además de especias y hierbas aromáticas que en su mayoría son considerados nutraceuticos.

Primeramente se realizó el análisis a la materia prima de interés y posteriormente obtener la información nutrimental del producto terminado para informar de manera clara y precisa al consumidor, ofreciéndole una opción que además de su aporte natural de macronutrientes tenga beneficios a la salud a largo plazo con su consumo constante, y que a su vez la producción de esta galleta contribuya al cuidado del medio ambiente, dándole un uso importante al desecho de mayor proporción en la industria cervecera.

Parte Experimental

Materia prima: El bagazo proviene de la elaboración de una cerveza tipo Kölsch de una cervecería artesanal local, con una humedad aproximada del 78%, por lo cual se dispone a secar los granos en una estufa de secado a una temperatura controlada de 60°C como se muestra en figura 1, para su posterior molienda.



(a)



(b)

Figura 1. Materia Prima. a) Bagazo cervecero, donde se puede observar que los granos se encuentran aglomerados debido a él gran porcentaje de humedad que presenta. (b) Textura del grano seco, donde se puede visualizar una mejor distribución del grano.

Diseño experimental de la receta del alimento funcional: se llevó a cabo la selección de ingredientes de la masa de las galletas con el enfoque a realizar un snack “salado” que también sea opcional como acompañamiento de comidas o bebidas. Los ingredientes empleados para la elaboración de la masa: agua, harina de avena, bagazo de cerveza, aceite de semilla de uva, pimienta y sal además de los indicados en la tabla 1, cada uno en diferentes proporciones.

Tabla 1. Ingredientes adicionales y las cantidades o rangos utilizados para cada receta.

Galleta A	Ajonjolí (5 g hidratado y 5 g seco)	Perejil (0.5)	Chile en polvo (1.5 g)	Fécula de maíz (10 g)
Galleta B	Chía (5 g hidratado y 5 g seco)	Orégano (0.2-0.5 g)	Albahaca (0.2-0.5 g)	
Galleta C	Chile en polvo (1.2 g)	Orégano (0.1 -0.5 g)	Ajo (0.3-0.6g)	

Se realizaron 15 pruebas hasta optimizar la cantidad de cada uno de los ingredientes en cada galleta, partiendo de una proporción 1:1 bagazo-avena y variando el contenido de sal (0.6-1.3 g), mientras que se mantuvo fijo el contenido de aceite (10 mL) y pimienta (0.5 g), junto con los ingredientes de la tabla 1, y se adicionaron en la superficie como diferenciadores un toque de semillas girasol y chile en polvo en la **galleta A**, semillas de calabaza para la **galleta B**, y en la última variante cacahuete para la **galleta C**, al igual que los tiempos de horneado, realizando pruebas de aceptabilidad para las mismas con 10 personas.

Preparación del alimento: se pesan cuantitativamente cada uno de los ingredientes para las tres variantes de galletas, se realiza una mezcla incorporando los ingredientes secos y húmedos, buscando obtener una masa homogénea en cada uno de los casos, encontrando que la masa requería tiempo de reposo en frío, por lo cual se logró mejores resultados a las dos horas de refrigeración. De la misma manera se fueron variando la cantidad de bagazo, harina de avena y agua que fueron críticas para la masa, obteniendo que la proporción 1:2 era la óptima para la galleta B y C, mientras que la galleta A requirió sustituir 1/3 de la cantidad de harina de avena por fécula de maíz, para su compactación. Las hierbas aromáticas se optimizaron en base a las pruebas de aceptabilidad por las diez personas mencionadas. Se continúa con el proceso de aplanado para posteriormente adicionar los diferenciadores superficiales en cada una de las tres variantes, se realiza el cortado de las galletas de forma circular con 4 cm de diámetro, para después pasarlas a una charola y llevarlas al horno por un tiempo aproximado de 30-35 min a 180°C.

Preparación de la muestra para el análisis bromatológico:

Se realiza la molienda de cada una de las muestras de galletas, hasta obtener una molienda fina y uniforme en un procesador de alimentos, además se analizará el bagazo utilizado.

Se realizaron las siguientes determinaciones:

- a) Humedad: se empleó una termo balanza marca RADWAG y modelo MA 50.X2.A, a

- una temperatura de 100°C.
- b) Cenizas: calcinación en seco utilizando mechero y posteriormente una mufla Thermolyne 1400 a 700°C durante 4 horas. [4]
 - c) Carbohidratos totales: se determinó por el remanente de los componentes principales.
 - d) Azúcares totales: se utilizó el método fenol-sulfúrico (Dubois, et al en 1956) en muestras lixiviadas por 48 horas, midiendo absorbancia a 488 nm en un espectrofotómetro HACH 6000, y posterior interpretación en curva estándar [5].
 - e) Azúcares Reductores: se utilizó el método de 3,5 Dinitrosalicílico (DNS) midiendo absorbancia a una longitud de onda de 540 nm utilizando un espectrofotómetro HACH 6000 [6] en las muestras lixiviadas y posterior interpretación en curva estándar.
 - f) Fibra cruda: se utilizó muestra seca sin grasa para el proceso de digestión con H₂SO₄ (0.255N) y posterior digestión básica con NaOH (1.25%), se filtra, se lava, se seca y pesa, para después calcinarse y registrar el peso del residuo. [7]
 - g) Proteínas: se utilizó el método HACH para a determinación de nitrógeno total Kjeldahl (TKN) utilizando de 0.2-0.3 g de muestra, después de su análisis se mide absorbancia (A) y se interpreta en curva estándar como A vs TKN. [8]
 - h) Grasas y aceites: Por el método Soxhlet empleando un extractor de grasas “Gold Fish” usando de 2 a 5 g de muestra. [9]
 - i) Sodio como cloruro de sodio: La técnica utilizada fue una titulación argentométrica en la muestra lixiviada. [10]

Diseño de encuestas de aceptabilidad y cartas de consentimiento informado, donde el participante evaluó principalmente el sabor, la textura, la forma y la presentación (los cuales se reportan en este trabajo), adicional a estas características también se proporcionaron otros datos como frecuencia en el consumo de galletas, tamaño, inclusión de la galleta en la dieta diaria y calificación general.

Resultados y Discusión

Las tres galletas diseñadas a partir del bagazo cervecero se muestran en la figura 2 y los resultados del análisis bromatológico se muestran en la tabla 2.



Figura 2. Fotografías de las galletas elaboradas.

Tabla 1. Resultados del análisis bromatológico por 100 g de muestra (aproximadamente 33 galletas):

Parámetro:	Galleta A (Semilla de Girasol)	Galleta B (Semilla de Calabaza)	Galleta C (Cacahuete)	Bagazo Original
Humedad	3.3	3.5	1.6	2.5
Proteínas	8.7	10.4	9.8	11.1
Carbohidratos totales	67	61	70	81
Azúcares Totales	22	27.6	28.5	29.9
Azúcares Reductores	10.0	10.4	12.3	13.1
Fibra	4.6	6.3	8	5.7
Grasas Totales	17.4	22.5	15.1	4.3
Cloruro Sodio (mg de NaCl/100g de muestra)	3200	2330	274 0	250

Se muestra en la figura 3 la curva de calibración para azúcares totales, en donde se puede observar el coeficiente de determinación (r^2) con valor de 0.9977, lo cual es muy cercano a 1 y nos indica la precisión general de la técnica analítica implementada.

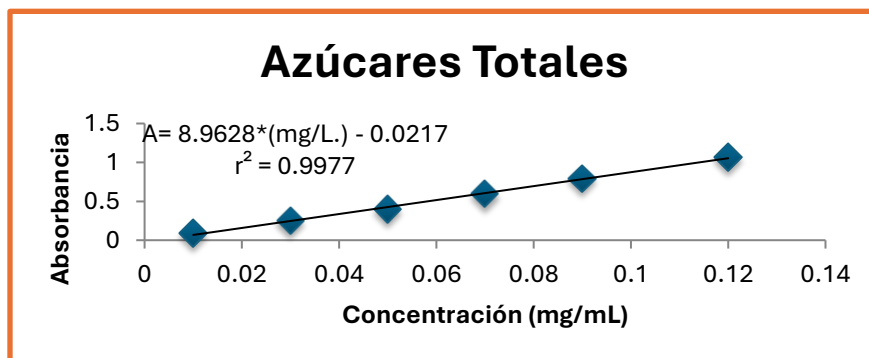


Figura 3. Curva de calibración para determinar la concentración de azúcares totales en las muestras.

Como resultado del análisis bromatológico para cada una de las galletas podemos observar que las galletas B y C presentan alto contenido de proteínas y fibra, aparte del aportado por el bagazo cervecero y la avena se debe al uso de semilla de calabaza y chía, en la galleta C el aporte es por las proteínas presentes en cacahuete. La galleta C presenta menor contenido de grasa, Las galletas A y B presentan mayor contenido de grasa principalmente por el aporte de ácidos grasos linoleicos y oleicos que proviene de las semillas de girasol y calabaza respectivamente. Las tres versiones de galletas tienen distintos aportes nutrimentales (superiores a los que muestra el bagazo cervecero) proporcionados por los ingredientes que contienen, algunos de los cuales son considerados nutraceuticos e inclusive superalimentos, esto no quiere decir que una galleta sea mejor que las otras, ya que las variaciones no son tan amplias.

Resultados de encuestas de aceptabilidad de cada una de las galletas:

Se le solicitó al participante que evaluará las galletas conforme a su sabor, textura, forma y presentación otorgándole un puntaje o calificación en una escala del **1 al 5, donde 1 se refiere a “Muy Bajo / Total desagrado” y 5 se refiere a “Muy alto / Muy agradable”**. En la figura 4 se muestran los resultados obtenidos con los valores promedio para cada uno de los parámetros evaluados en las encuestas realizadas a 30 participantes que van desde los 20 hasta los 70 años. El alimento fue altamente aceptado por los participantes en el estudio, en promedio obteniendo una calificación mínima de 4.30 y máxima de 4.80, resultando como “Muy agradable”, las calificaciones más altas fueron para la galleta con cacahuete, seguidas de la galleta con semilla de calabaza, en general los participantes comentaron que encontraban un buen equilibrio entre los sabores, así como una textura crujiente que fue de gran agrado, afirmando que sería un alimento que incluirían en su dieta diaria.

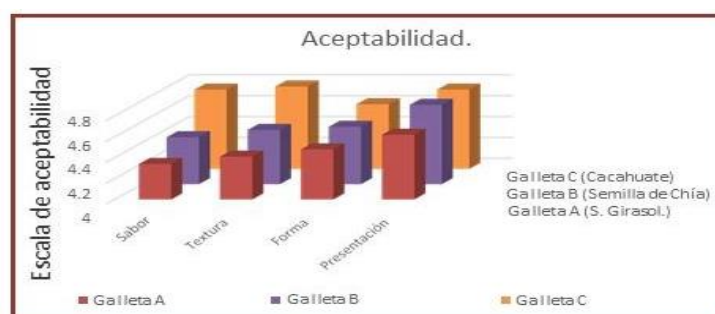


Figura 4. Gráfico de los resultados de las encuestas de aceptabilidad.

Conclusiones

Se obtuvieron tres versiones del alimento (galletas) a base de bagazo cervecero considerado como un residuo de la industria cervecera, el cual se utiliza como materia prima en su elaboración, Los resultados mostraron que los participantes evaluaron con muy buena aceptabilidad el producto elaborado, adicionalmente de acuerdo al análisis bromatológico se obtiene galletas con contenido nutrimental de buena calidad y que puede ser usado como snack que ofrecerá beneficios a la salud por sus ingredientes nutracéuticos y superalimentos empleados en el diseño de la receta. El siguiente paso en esta investigación es realizar un estudio de mercado y plan de negocio debido a la alta aceptabilidad de las galletas elaboradas.

Agradecimientos

Agradezco a mi directora de tesis Dra. María del Pilar Haro por llevarme de la mano en cada uno de mis proyectos de investigación desarrollados durante mi carrera, por brindar apoyo y ejemplo académico pero también de vida, a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingenierías de la Universidad Autónoma de Baja California por siempre ser un espacio abierto a las oportunidades, por facilitar instalaciones, equipo y apoyo brindado para la realización de esta investigación, así como también a la cervecería Lúdica®, por proporcionar la materia prima para lograr el diseño del alimento funcional, así como al Q.I. Emmanuel Cota por el enlace con la cervecería y a los participantes en la encuesta de aceptabilidad. Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Baja California (<https://ror.org/05xwqcq167>).

Referencias

- [1] A. García, La mejor cerveza artesanal de México se produce en Tijuana: RateBeer, Forbes México. (2019) <https://www.forbes.com.mx/forbes-life/tijuana-se-consolidado-como-la-capital-cervecera-de-mexico/> (Consultado 23 de Julio 2023)
- [2] I. Del C. Barrera Martínez. Revalorización de residuos de la industria cervecera. CIATEJ, Gobierno de México, México. (2019).

<https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Revalorizacion-de-residuos-de-la-industria-cervecera/148> (Consultado 23 de Julio 2023)

[3] J. A. Del Villar Ruiz, E. Melo Herráiz, *Guía de plantas medicinales del Magreb*. Fundación Dr. Antoni Esteve. Barcelona, España. (2010)

[4] NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. (1978)

[5] S. S. Nielsen, *Food analysis laboratory manual*. Purdue University, West Lafayette, Indiana. 2003.

[6] S. Nielsen, *Food Analysis Second Edition*; An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, USA (1998)

[7] NMX-F-090-S-1978. Determinación de fibra cruda en alimentos. (1978)

[8] Rossi, A. M., Villarreal, M., Juárez, M.D., Sammán, N.C., Nitrogen contents in food: a comparison between the Kjeldahl and HACH methods, *The Journal of the Argentine Chemical Society* - Vol. 92 - N° 4/6, 99-108 (2004)

[9] NMX-615-NORMEX-2018. Determinación de grasa. (2018)

[10] NMX-F-360-S-2013. Determinación de cloruros como cloruro de sodio. (2013)

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ELECTROANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA B1 BASADA EN UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOPARTÍCULAS DE CuO

Karen Olquin Contreras^a, Daniel Hernández Ramírez^b, Giaan Arturo Álvarez Romero^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 2217, e-mail: giaan@uaeh.edu.mx

^b Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz. Área Académica de Química. Avenida Universidad No.1, Nanchital, Veracruz, México. C.P. 96360

Introducción

Las aflatoxinas (AF) son sustancias tóxicas que pueden contaminar los cultivos de alimentos. Estas toxinas son producidas por dos especies de hongos relacionados llamados *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. En la naturaleza, hay varios tipos de AF, pero las más peligrosas para los humanos y los animales son las AF B1, B2, G1 y G2, ya que se han encontrado en los principales cultivos alimentarios [1].

La aflatoxina B1 (AFB1) es la más común en los alimentos contaminados naturalmente, y está identificada como una de las aflatoxinas más tóxicas y cancerígenas para el ser humano por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer [2]. Es por esto que, la detección rápida, sensible y precisa de AFB1 en alimentos es de gran importancia. Se han reportado en la literatura múltiples métodos analíticos para la determinación de AFB1 en alimentos, como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [3], cromatografía en capa fina (TLC) [4], y el ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA) [5]; sin embargo, estos métodos son costosos, consumen mucho tiempo y pueden ser insensibles. En comparación con estos métodos, la detección electroquímica ha demostrado ser sensible, menos costosa y más rápida.

Estos nuevos métodos electroanalíticos, basados en el uso de voltamperometrías, como la voltamperometría cíclica (VC), se basan, en el empleo de sensores electroquímicos construidos a partir de electrodos modificados con materiales inertes que permiten determinaciones analíticas más rápidas y a bajo costo [6].

Particularmente, los electrodos de pasta de carbono modificados están siendo usados con más frecuencia como sensores para la determinación de biomoléculas debido a su fácil preparación, sencillez en la modificación y renovación superficial [7]. Las nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos se pueden incorporar fácilmente en un electrodo de pasta de carbono (EPC) y aprovechar el efecto sinérgico de las propiedades del grafito (propiedades eléctricas y mecánicas) y las nanoestructuras de los óxidos metálicos (propiedades electrocatalíticas) [8].

En este trabajo se describe el desarrollo de una metodología basada en voltamperometría cíclica empleando electrodos de pasta de carbono modificados con nanopartículas de óxido de cobre para la determinación de AFB1.

Parte Experimental

Reactivos e instrumentación.

Los reactivos químicos usados son, polvo de grafito, aceite de parafina, cloruro de potasio, hidróxido de sodio, nanopartículas de óxido de cobre, aflatoxina B1, todo grado analítico de marca Sigma-Aldrich. Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente y se empleará para la preparación de todas las soluciones requeridas, usa agua desionizada con una resistividad de 18.2 M Ω .

En los experimentos electroquímicos se usa un sistema de tres electrodos, Ag/AgCl saturado como electrodo de referencia, una barra de grafito de 6 mm de diámetro como contraelectrodo y un electrodo de pasta de carbono modificado con nanopartículas de óxido de cobre en la mezcla composite como electrodo de trabajo.

El electrolito soporte empleado consistió en una solución de cloruro de potasio 0.1M. Para la optimización del medio de trabajo se ajustó el valor de pH en el intervalo de 6 a 13, empleando una solución de hidróxido de sodio.

Para las mediciones voltamperométricas se usa un potenciostato/galvanostato marca Methrom, modelo Dropsens. Para medir los pH de las diferentes soluciones se utiliza un potenciómetro marca CORNING, modelo Meter 450.

Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado con óxido de cobre.

La pasta de carbono modificada se prepara mezclando cuidadosamente el polvo de grafito, con las nanopartículas de óxido de cobre y aceite mineral empleado como aglutinante. La mezcla es homogeneizada durante 15 minutos de manera manual; posteriormente la pasta de carbono modificada fue empaquetada en un tubo de plástico (jeringa para insulina) y, por último, se inserta un contacto de cobre en uno de los extremos para conectarlo con el potenciostato. El electrodo de pasta de carbono sin modificar se prepara de manera similar sin incluir a las nanopartículas de óxido de cobre.

Efecto del pH del electrolito soporte.

Se evaluará por voltamperometría cíclica, el efecto del pH del electrolito soporte en el proceso de oxidación de la aflatoxina B1 a una concentración de 100 ng/L. El valor de pH de la solución electrolítica será ajustado en el intervalo de 6-13 en la escala de pH. Se seleccionará el valor de pH que incremente la diferencia de intensidad de corriente en el proceso de oxidación entre una muestra con y sin el analito presente.

Efecto de la composición del electrodo.

Se evaluará por voltamperometría cíclica, el efecto de la cantidad de óxido de cobre en la pasta de carbono sobre la señal de respuesta anódica en la superficie del electrodo de trabajo, seleccionando la proporción de modificante que incremente la diferencia de intensidad de corriente en el proceso de oxidación entre una muestra con y sin el analito presente.

Efecto de la velocidad de barrido.

Por medio de voltamperometría cíclica se estudia el efecto de la velocidad de barrido sobre la intensidad de corriente anódica en el proceso de oxidación de la Aflatoxina B1. Para ello el valor de la velocidad de barrido será estudiado en un intervalo de 0.1-1.1 V/s, seleccionando el valor que muestre la mayor diferencia de intensidad de corriente entre una muestra con y sin el analito presente.

Determinación de los parámetros analíticos del método propuesto.

La metodología optimizada se empleará en el estudio del efecto de la variación de concentración de Aflatoxina B1, posteriormente se graficarán los valores de intensidad de corriente anódica vs concentración de Aflatoxina B1 para la construcción de una curva de calibración.

Para la determinación del límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y la sensibilidad, se realizará mediante el estudio estadístico de la curva de calibración construida usando la metodología recomendada por la IUPAC.

Resultados y Discusión

Optimización del pH de trabajo para el sistema electroquímico.

La optimización del pH de trabajo se realizó mediante voltamperometría cíclica (VC) y variando el pH de soluciones de KCl 0.1M. Hasta pH 12, la diferencia de intensidades de corriente anódica de una muestra con aflatoxina B1 (AFB1) y una solución blanca (Δi) es proporcional al aumento en el valor de pH. La figura 1 muestra el valor de intensidad de corriente anódica a pH 12 para una muestra con y sin AFB1, existiendo una disminución de la intensidad de corriente en presencia de AFB1 respecto al blanco. Esto indica, que la AFB1 interviene en la transferencia de electrones sobre la superficie del electrodo para la oxidación de CuO disminuyendo la intensidad de corriente anódica. Se selecciono el pH 12 como valor optimizado para los estudios posteriores.

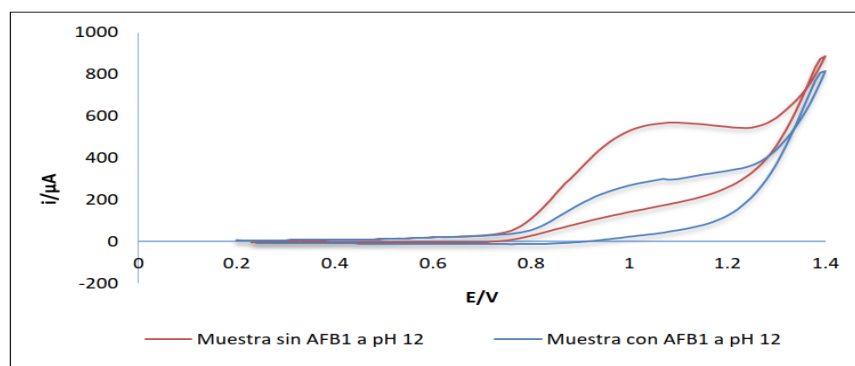


Figura 1. VC a pH 12 (ajustado con NaOH), usando el sensor $CuO - NPs/CPE$, para una muestra sin y con AFB1 a 100 ngL^{-1} en KCl 0.1 M, usando una velocidad de barrido de 0.1 V/s en sentido anódico.

Optimización del porcentaje de $CuO - NPs$ en electrodos de pasta de carbono (CPE).

Se evaluó por voltamperometría cíclica, el efecto de la cantidad de CuO en la pasta de carbono, empleando una solución de AFB1 100 ng/L en 10 ml de KCl 0.1 M. Se probaron los siguientes porcentajes de CuO : 0%, 5%, 15%, 10%, 20% y 25%. Al comparar los voltamperogramas obtenidos con los diferentes porcentajes de CuO , se observa que la proporción 15% CuO , presentó la mayor diferencia de intensidad de corriente anódica respecto a una solución blanco y la muestra, en contraste al resto de propuestas (tabla 1). La baja conductividad de CuO , brinda información para contemplar que una mayor concentración de este en la mezcla composite produce una disminución en el paso de corriente, situación que se refleja en una disminución de la diferencia de intensidad de corriente. Se eligió entonces la proporción de 15% de CuO como la óptima.

Tabla 1. Valores de la diferencia de intensidad de corriente anódica entre una solución blanco y una muestra conteniendo AFB1 (Δi) para los diferentes porcentajes de modificante en el CPE.

% CuO en el CPE	Δi (μA).	% RSD
% 5	81.823	2.138
% 10	117.2 61	1.699
% 15	187.3 85	5.583
% 20	108.6 64	2.120
% 25	43.17 8	4.956

Optimización de la velocidad de barrido para el sistema electroquímico.

Se realizó la optimización de la velocidad de barrido para el sistema usando voltamperometría cíclica en un intervalo de 0.02 V/s a 0.12 V/s, en una solución de AFB1 con una concentración de 100 ng/L en 10 ml de KCl 0.1 M. En la figura 2, se observan que el aumento de la velocidad de barrido es proporcional al aumento en la diferencia de intensidad de corriente, hasta un valor de 0.1 V/s. Por tal motivo, se seleccionó 0.1 V/s como valor optimizado, ya que este, nos brinda una mayor diferencia de intensidad de corriente respecto al blanco.

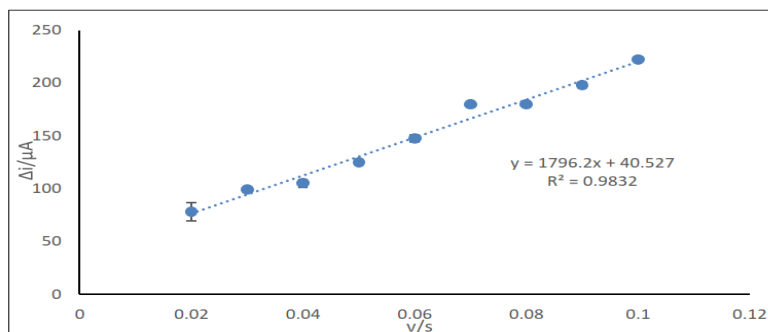


Figura 2. Gráfico de la velocidad de barrido vs la Δi anódica entre una solución blanco y una muestra de AFB1 a una concentración de 100 ng/L disuelta en una solución de KCl 0.1 M a pH 12, usando el sensor *CuO-NPs/CPE*.

Caracterización analítica de la metodología propuesta.

Se realizó una curva de calibración a diferentes concentraciones de AFB1 vs Δi anódica realizando las mediciones por triplicado. Se observa un aumento proporcional en Δi respecto al aumento de la concentración de AFB1 hasta 140 ng/L, posteriormente Δi anódica disminuye. La Figura 3 muestra la curva de calibración y el análisis de ajuste lineal obtenidos, la ecuación de regresión encontrada fue: $i (\mu A) = 1.0401 [AFB1] (ng/L) + 15.062$ con una R^2 de 0.9953. El límite de detección y cuantificación encontrados fueron 9.72 ng/L y 32.40 ng/L respectivamente.

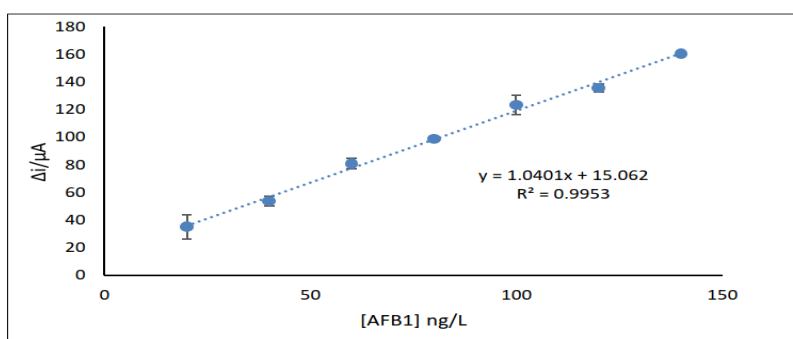


Figura 3. Curva de calibración de la diferencia de intensidad de corriente anódica entre una muestra con y sin AFB1 vs diferentes concentraciones de AFB1 obtenidas con los parámetros óptimos de la VC, en una solución de KCl 0.1M.

Repetibilidad y reproducibilidad.

La repetibilidad se determinó realizando 10 mediciones sucesivas usando un mismo sensor en una solución de AFB1 a 100 ng/L y en las condiciones optimizadas. La desviación estándar relativa en la prueba de repetibilidad fue 2.07% (<10%RSD).

La reproducibilidad se evaluó usando 5 electrodos preparados de manera independiente, en condiciones optimizadas y solución de AFB1 100 ng/L. El promedio

de RSD para el estudio de reproducibilidad fue de 3.7221% (<10%RSD). Los valores de RSD para las ambas pruebas fueron satisfactorias.

Conclusiones

Los resultados mostraron una respuesta electroquímica lineal y altamente sensible en el intervalo de concentración de AFB1 de 10 a 140 ng/L con un límite de detección y cuantificación de 9.72 ng/L y 32.40 ng/L respectivamente. Además, se demostró que el electrodo modificado presenta una excelente estabilidad y reproducibilidad, por lo cual, la metodología propuesta resulta ser una herramienta prometedora para la detección rápida y sensible de AFB1 en alimentos y puede ser aplicada como un dispositivo analítico portátil y de bajo costo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CONAHCyT por el apoyo otorgado mediante el proyecto de Ciencia Básica A1-S-8057. Karen Olguin Contreras agradece al CONAHCyT por la beca otorgada para la realización del proyecto.

Referencias

- [1] M. Carvaja. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1 -ADN. **16**, [2] 109-120 (2013).
- [2] J. Bennett, M. Klich. Micotoxinas. Revisiones de microbiología clínica **16**, [3] 497–516 (2003).
- [3] I. Algul, D. Kara. Determination and chemometric evaluation of total aflatoxin, aflatoxin B1, ochratoxin A and heavy metals content in corn flours from Turkey. **157**,70-76, (2014).
- [4] I. Var, B. Kabak, F. Gök. Survey of aflatoxin B1 in helva, a traditional Turkish food, by TLC. **18**, [1] 59-62 (2007).
- [5] Y. Xiong, K. Pei, Y. Wu, H. Duan, W. Lai, Y. Xiong. Plasmonic ELISA based on enzyme-assisted etching of Au nanorods for the highly sensitive detection of aflatoxin B1 in corn simples. **267**, 320-327 (2018).
- [6] Z. Feng, N. Gao., J. Liu, H. Li. Boron-doped diamond electrochemical aptasensors for trace aflatoxin B1 detection. **1122**, 70-75 (2020).
- [7] F. Rahimi, H. Roshanfekar, H. Peyman. Ultra-sensitive electrochemical aptasensor for label-free detection of aflatoxin B1 in wheat flour sample using factorial design experiments. **343**, (2021).
- [8] M. Arroquia. Sensor electroquímico basado en nanoesferas de dopamina auto-ensambladas [Tesis de licenciatura]. Universidad Politécnica de Madrid (2016).
- [9] C. Wang, H. Zhang, X. Jiang, B. Zhou. Electrochemical determination of aflatoxin B1 (AFB1) using a copper-based metal-organic framework (CU-MOF) and gold nanoparticles (aunps) with Exonuclease III (Exo III) assisted recycling by Differential Pulse Voltammetry (DPV). **52**, [16] 2439–2453 (2019).

DETERMINACION DE Cr, Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Na y K POR MP-AES EN LEVADURAS ENRIQUECIDAS CON Cr (III)

Patricia Monserrat Villegas Sánchez^a, Luis Francisco Flores León^a, Claudia Paola Martínez Martínez^a, Susana Guadalupe Delgado Hernández^a, Víctor Andrés Preciado Guerrero^a, Luis Fernando Mejía Díaz^a, Katarzyna Wrobel^a, Eunice Yañez Barrientos^a, Kazimierz Wrobel^a, Alma Rosa Corrales Escobosa^{a*}

^a Universidad de Guanajuato. DCNE, Departamento de Química. Cerro de la Venada, Sin No. Pueblito de Rocha, C.P. 36040, Guanajuato, Gto. Tel: +52 (55) 4737365120, e-mail: pm.villegassanchez@ugto.mx, alma_rce@ugto.mx.

Introducción

Los oligoelementos son requeridos en bajas concentraciones por las células vivas y realizan actividades esenciales al participar como cofactores para mantener la integridad estructural de las proteínas o actividades enzimáticas o como segundos mensajeros [1]. No obstante, a altas concentraciones pueden ser tóxicos. La preservación de la homeostasis de los oligoelementos es esencial para el correcto funcionamiento de los organismos, puesto que, dependiendo de la especie química, la cantidad absorbida y/o acumulada en la biomasa determinan si los efectos resultantes son tóxicos o beneficiosos. Es importante señalar que dependiendo del tipo de organismo puede existir diferente metabolismo y nivel de tolerancia a las concentraciones de los oligoelementos, y la absorción de algún ion metálico puede interferir en la homeostasis de otros. Por ejemplo, el Fe, Mg, Co y Zn son nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo equilibrado las plantas, algunos estudios han presentado que la absorción de cromo puede perturbar la homeostasis de estos elementos [2]. Por otra parte, *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo modelo para el estudio de varios procesos celulares fundamentales, incluida la absorción, el procesamiento y el control homeostático de nutrientes minerales y oligoelementos [3]. El objetivo de este trabajo fue evaluar si el medio de cultivo YNB (medio mínimo base de nitrógeno para levadura) y YPG (medio complejo compuesto por extracto de levadura, pectona y glucosa), el tipo de cepa (*S. cerevisiae* y *S. boulardii*) y el Cr (III) influyen en perfil de Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Na y K. La técnica utilizada fue la espectroscopia de emisión atómica acoplada con plasma de microondas (MP-AES), la cual tiene la capacidad de detectar varios elementos simultáneamente.

Parte Experimental

Producción de levadura enriquecida con Cr (III)

Inicialmente, se cultivaron de manera individual las cepas de *S. cerevisiae* y *S. boulardii* en cajas de Petri con medio PDA (Agar Papa Dextrosa). Para el preinóculo, se tomó con un asa estéril una colonia de cada cepa y se transfirió de manera independiente a matraces con 100 mL de **medio YPG** (compuesto por: 1.0 % (m/v) de extracto de levadura, 2.0 % (m/v) de pectona y 2.0 % (m/v) de glucosa) o **medio YNB** (1.7 g/L de medio Base de Nitrógeno de levadura, de Sigma-Aldrich No. de catalogo Y0626 y 4 %

(m/v) de glucosa). Los matraces fueron incubados toda la noche a 28 °C a 150 rpm. Posteriormente, las células fueron cosechadas mediante centrifugación a 2000 x g por 10 min y lavadas 3 veces con agua milli-Q estéril. Una vez obtenidas las células lavadas, y con la finalidad de llevar a cabo una rápida absorción de Cr, las levaduras fueron preincubadas por 30 min con Cr (III). Para ello, de manera individual en tubos Eppendorf de 2 mL se transfirió una cantidad de 1×10^9 células y se le agregó 0.1 mL o 1.0 mL de una solución con 25,000 mg L⁻¹ de Cr (III) para el medio YNB o YPG, respectivamente. El cromo utilizado fue como CrCl₃.6H₂O. Transcurrido el tiempo de incubación en presencia de cromo, el contenido de los tubos fue transferido a los matraces de 250 mL con 100 mL del medio correspondiente (YPG y YNB) e incubados por 24 h a 150 rpm. A la par se realizaron los cultivos controles (sin cromo) para cada cepa y medio. Al finalizar el tiempo de incubación, se tomó la D.O a 600 nm y la biomasa fue lavada 2 veces con agua destilada para eliminar el exceso de Cr. La biomasa fue congelada y liofilizada para evaluar el crecimiento, incorporación de Cr y análisis de elemental por MP-AES.

Determinación elementos por MP-AES

Se pesó aproximadamente 50 mg de biomasa liofilizada de cada una de las muestras en tubos de vidrio para digestión ácida y se agregó 1 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro. Los tubos fueron calentados a 80°C durante 20 minutos, posteriormente la temperatura se elevó a 120°C y se mantuvo por 3 horas. Cumplido el tiempo las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y posteriormente fue adicionado 1 mL de H₂O₂ y las muestras fueron calentadas nuevamente a 120°C por 30 minutos [4]. Consecutivamente, las muestras se transfirieron a un tubo eppendorf y se llevaron a un volumen de 2 mL con agua Mili-Q. Las muestras fueron centrifugadas, diluidas de acuerdo con el contenido del elemento y analizadas por la técnica analítica MP-AES (espectroscopia de emisión atómica con plasma sostenido por microondas por sus siglas en inglés). Las longitudes de onda monitoreadas para cada elemento son presentadas en la Tabla 1.

Análisis estadístico

Se realizó una Análisis de varianza ANOVA de un factor y utilizando el método Tukey ($p < 0.05$) utilizando el software Statistica (TIPCO Software inc. 2018, versión 13).

Resultados y Discusión

Generación de curvas de calibración

Las determinaciones de Cr, Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Na y K se llevaron a cabo mediante el método de calibración externa. En la Tabla 1, se presentan los parámetros analíticos obtenidos del proceso de calibración. El rango de calibración para Cu, Fe, Mo, Ca, Mg fue entre 0.03 a 0.5 mg L⁻¹, para Cr; Na entre 0.03 a 1.0 mg L⁻¹ y para Zn de 0.03 a 3.0 mg L⁻¹. En todos los casos se muestra buena linealidad y un coeficiente de determinación (R^2) ≥ 0.99 , excepto para Na que fue de ≥ 0.98 . Los límites de detección son del orden de $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo el más bajo para Cu ($6.8 \mu\text{g L}^{-1}$) y más alto para Na ($130 \mu\text{g L}^{-1}$).

Determinación de elementos en levaduras enriquecidas con Cr (III)

Una vez establecidos los parámetros analíticos para cada uno de los elementos a determinar, se procedió a evaluar la cantidad de Cr incorporado a la biomasa en las diferentes muestras. Los resultados se presentan en la Figura 1. La mayor incorporación de Cr a la biomasa fue en el medio YPG para la cepa de *S. boulardii* ($447 \pm 71 \mu\text{g Cr g}^{-1}$ de biomasa) comparado con *S. cerevisiae* ($275 \pm 76 \mu\text{g Cr g}^{-1}$ de biomasa). En medio YNB, ambas cepas incorporaron el cromo de manera similar. *S. cerevisiae* incorporo $391 \pm 54 \mu\text{g Cr g}^{-1}$ de biomasa y *S. boulardii* $351 \pm 30 \mu\text{g Cr g}^{-1}$ de biomasa. Cabe señalar que en comparación con el medio base YNB, se utilizó 10 veces más de Cr en el medio de YPG; sin embargo, la incorporación de Cr en ambos medios fue similar.

Tabla 1. Parámetros analíticos de la evaluación de las curvas de calibración de los datos obtenidos en MP-AES. Resumen de las funciones de calibración y coeficiente de linealidad (R^2), límite de detección ($\mu\text{g/L}$) y cuantificación ($\mu\text{g/L}$) instrumentales.

Elemento	λ analizada (nm)	Rango de calibración mg/L	Función de calibración	R^2	LD, $\mu\text{g/L}$	LQ, $\mu\text{g/L}$
Cr	427.480	0.03 - 1.00	$y = 11605 c - 120$	0.9999	13	45
Cu	324.754	0.03 – 0.50	$y = 154897 c + 488$	0.9997	2	6
Fe	302.064	0.03 – 0.50	$y = 9758 c + 32$	0.9997	3	9
Mo	379.825	0.03 – 0.50	$y = 6223 c - 7$	0.9994	6	18
Zn	481.053	0.03- 3.00	$y = 474 c + 5$	0.9999	9	29
Ca	393.366	0.03 – 0.50	$y = 96503 c + 3052$	0.9982	36	119
Mg	279.553	0.03– 0.50	$y = 107274 c - 2547$	0.9994	27	92
Na	589.592	0.03 – 1.00	$y = 176777 c - 1022$	0.9882	39	130
K	266.491	0.03 – 3.00	$y = 28446 c + 3927$	0.9921	25	85

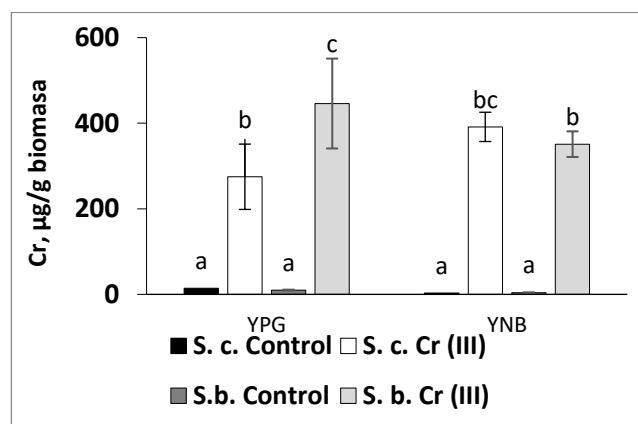


Figura 1. Determinación de la incorporación de cromo total a la biomasa obtenida del análisis por MP-AES después de la digestión ácida con HNO_3 . La biomasa se obtuvo después de 24 h de cultivo en medio YPG sin Cr (control) o enriquecidos con 250 mg L^{-1} de Cr (III) y en medio YNB sin Cr (control) o enriquecidos con 25 mg L^{-1} de Cr (III) para *S. cerevisiae* (*S. c.*) y *S. boulardii* (*S. b.*). Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Tukey para $p \geq 0.5$.

Posterior a la incorporación de Cr a la biomasa de las levaduras en la muestra digerida con HNO_3 , se realizó la determinación de los niveles de Cu, Fe, Mo, Zn, Ca, Mg, Na y K por MP-AES, llevando a cabo la disolución correspondiente para cada elemento. En la Figura 2, se presentan las gráficas con los resultados obtenidos para los elementos minoritarios Cu, Mo, Zn y Fe. Para Cu, no hay diferencias significativas entre cepas o por la adición de Cr al medio YPG (entre 3.5 a 5.2 µg Cu g^{-1} de biomasa). Sin embargo, en el medio YNB el enriquecimiento con Cr, ocasiona un aumento de aproximadamente el doble de Cu incorporado en la biomasa para ambas cepas. Para *S. cerevisiae* hay un aumento en los niveles Mo en la biomasa, cuando ambos medios son enriquecidos con Cr (de 18.9 a $28.0 \text{ µg Mo g}^{-1}$ de biomasa para medio YPG y de 36.8 a $67.3 \text{ µg Mo g}^{-1}$ de biomasa para medio YNB). Mientras que en *S. boulardii* este efecto solo se ve en el medio mínimo YNB (28.5 a $58.3 \text{ µg Mo g}^{-1}$ de biomasa). En el caso de Zn, la mayor concentración se encontró en medio YPG (599 - 717 µg Zn g^{-1} de biomasa) con respecto al medio YNB (13 - 123 µg Zn g^{-1} de biomasa), no presentando diferencias entre las cepas o la presencia del Cr. Para el caso de Fe, no hay diferencias entre las cepas o la presencia del Cr en el medio YPG. Sin embargo, en medio YNB se observó que el enriquecimiento con Cr en el medio ocasiona mayor incorporación para ambas cepas (de 19.8 a $34.8 \text{ µg Fe g}^{-1}$ de biomasa para *S. cerevisiae* y de 38.6 a $57.6 \text{ µg Fe g}^{-1}$ de biomasa para *S. boulardii*).

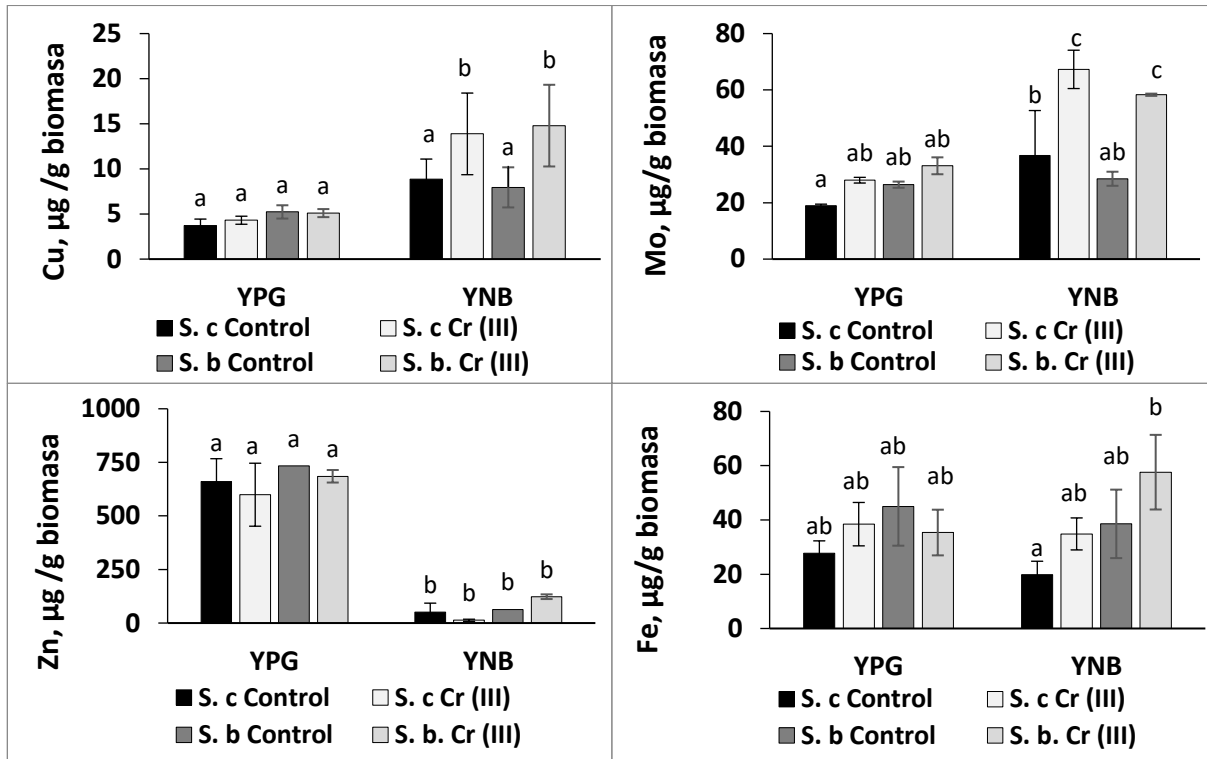
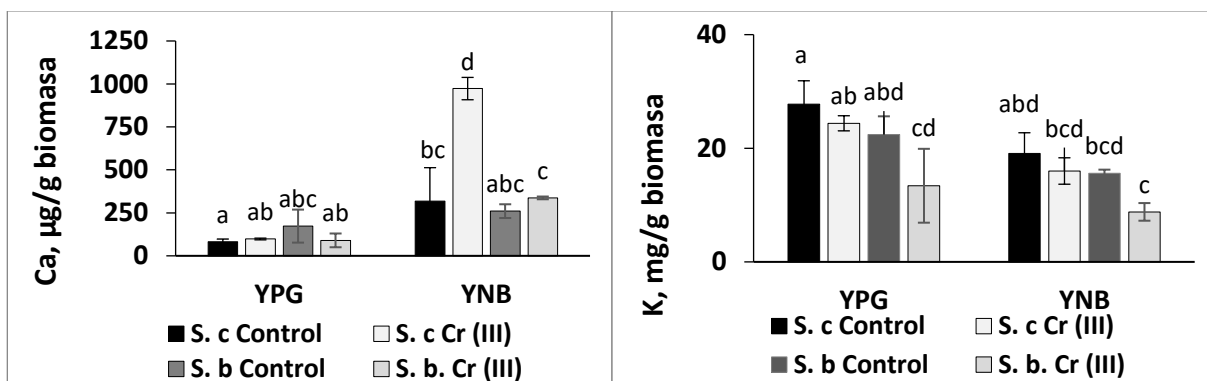


Figura 2. Perfil de elementos minoritarios (Cu, Mo, Zn y Fe) obtenidos de la biomasa digerida con HNO₃ y determinadas por MP-AES. La biomasa se obtuvo de células de levaduras cultivadas en medio YPG y YNB en presencia y ausencia de Cr (III). Los resultados son expresados en cantidad (µg para Cu, Mo, Fe y Zn) del elemento por g de biomasa. Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Tukey para p ≥ 0.5.

Los resultados de los elementos “mayoritarios” (Ca, K, Na y Mg) son presentados en la Figura 3. La mayor cantidad de calcio se observó en medio YNB y en presencia de Cr (973 µg Ca g⁻¹ de biomasa) para la cepa de *S. cerevisiae*. Por otra parte, se observó una menor incorporación de potasio por la presencia de Cr, en ambas cepas y medios de cultivo. No hay diferencias significativas en las concentraciones de Na y Mg en la biomasa de las levaduras de 8 tratamientos analizados.



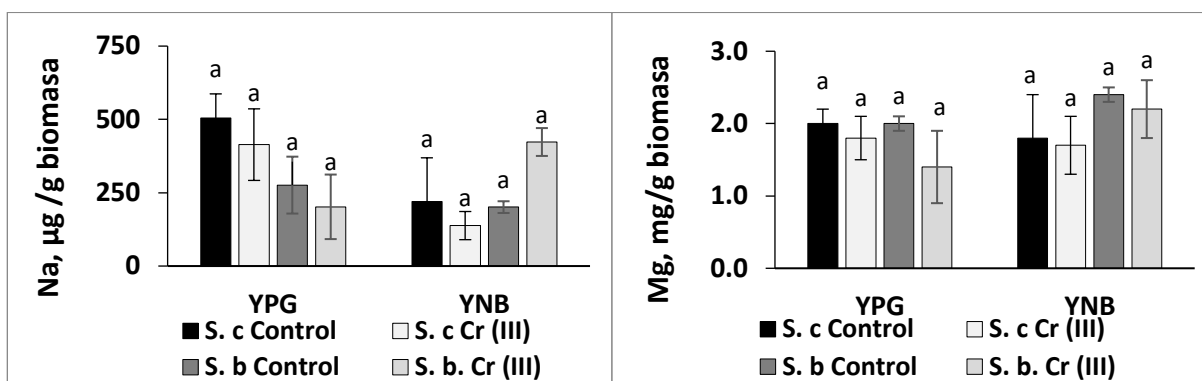


Figura 3. Perfil de elementos mayoritarios (Ca, K, Na y Mg) obtenidos de la biomasa digerida con HNO_3 y determinadas por MP-AES. La biomasa se obtuvo de células de levaduras cultivadas en medio YPG y YNB en presencia y ausencia de Cr (III). Los resultados son expresados en cantidad (μg para Ca y Na o mg para Mg y K) del elemento por g de biomasa. Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Tukey para $p \geq 0.5$.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la composición del medio mínimo YPG contribuye a una mayor incorporación de Cu, Mo y Fe cuando los cultivos son enriquecidos con 25 mg L^{-1} de Cr para ambas cepas de levaduras. En este mismo medio, también hay mayor cantidad de Ca para *S. cerevisiae*. Y la presencia de Cr en el medio causa una ligera disminución de K.

Agradecimientos

Agradecimientos a la Dirección de Apoyo a la investigación y Posgrado de la Universidad de Guanajuato por las becas y financiamiento al proyecto (No. 137/2023) otorgadas.

Referencias

- [1] D. Cannas, E. Loi, M. Serra, D. Firinu, P. Valera, P. Zavattari. Relevance of essential trace elements in nutrition and drinking water for human health and autoimmune disease risk. *Nutrients* 2020, 12 (7), 2074.
- [2] A. Sharma, D. Kapoor, J. Wang, B. Shahzad, V. Kumar, A.S. Bali, S. Jasrotia, B. Zheng, H. Yuan, D. Yan. Chromium Bioaccumulation and Its Impacts on Plants: An Overview. *Plants (Basel, Switzerland)* 2020, 9 (1).
- [3] J. Sun, S. Xu, Y. Du, K. Yu, Y. Jiang, H. Weng, W. Yuan. Accumulation and Enrichment of Trace Elements by Yeast Cells and Their Applications: A Critical Review. *Microorganisms* 2022, 10 (9).

- [4]A.A. Gonzalez-Ibarra, E. Yanez- Barrientos, K. Wrobel, A.R. Corrales-Escobosa, K. Wrobel. Effect of copper and molybdenum in nutrient solution on Cu, Mo, Fe, Mg, Ca, Zn, Na, K status in sunflower. *Journal of Plant Nutrition* 2022, 1.

CARACTERIZACION DE LEVADURAS ENRIQUECIDAS CON Cr (III)

Claudia Paola Martínez Martínez^{a*}, Susana Guadalupe Delgado Hernández^a, Patricia Monserrat Villegas Sanchez^a, Luis Francisco Flores León^a, Víctor Andrés Preciado Guerrero^a, Luis Fernando Mejía Díaz^a, Katarzyna Wrobel^a, Eunice Yañez Barrientos^a, Kazimierz Wrobel^a, Alma Rosa Corrales Escobosa^a

^a Universidad de Guanajuato. DCNE, Departamento de Química. Cerro de la Venada, Sin No. Pueblito de Rocha, C.P. 36040, Guanajuato, Gto. Tel: +52 (55) 4737365120, e-mail: claudiapmtz2@hotmail.com y alma_rce@ugto.mx

Introducción

Las deficiencias nutricionales de oligoelemento como Fe, Zn, Mo, Se y Cr están asociadas con diversos problemas de salud [1] Múltiples informes han demostrado que la suplementación con Cr (III) tiene efectos beneficiosos para la salud en humanos y animales, reduciendo los niveles de triglicéridos y mejorando notablemente la acción de la insulina, el control de la diabetes y síndrome metabólico [2]. Sin embargo, también reportes de que altas dosis o tratamientos prolongados causan efectos adversos para la salud. Por lo cual, la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) recomienda que dosis de Cr (III) en el rango entre 25-35 µg/día [3], dependiendo de la edad, sexo o condición clínica. Los suplementos nutricionales a base de Cr (III) más utilizados en el mundo y en México son el picolinato de cromo (III) y levaduras enriquecidas con Cr (III) *in vivo*, que aunque la especie de Cr (III) levadura no ha sido elucidada de manera contundente debido los posibles múltiples productos de coordinación formados con el Cr por la levadura, se adapta el término “factor de tolerancia a glucosa” (GTF, por sus siglas en inglés) que consiste en Cr (III) coordinado con glicina, cisteína, ácido glutámico y ácido nicotínico. Por otra parte, las células de *S. cerevisiae* enriquecidas en oligoelementos generalmente se reconoce como seguras y ricas en proteínas y vitaminas [4] e inclusive con actividad probiótica, aunado a que el proceso de la producción biomasa por fermentación es simple, rápido y fácilmente manejable [5,6]. Sin embargo es importante señalar que dependiendo del microorganismo y las condiciones de utilizada, existe diferencias en la captación, distribución y acumulación de Cr (III) en la biomasa [7], por lo que cada suplemente a base de Cr (III) debe ser evaluado. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió primeramente en la producción cultivos de levaduras biofortificadas con Cr (III) utilizando para ello dos cepas de levaduras: una cepa de levadura panadera de *S. cerevisiae* y una cepa probiótica, así como la utilización de dos medios de cultivo: un medio mínimo (YNB) y un medio rico (YPG) los cuales fueron enriquecidos con 25 y 250 mg L⁻¹ de Cr (III). Una vez obtenidos los cultivos se procedió a evaluar el crecimiento, la cantidad de proteínas e incorporación de Cr a biomasa y distribución de Cr en las fracciones celulares.

Parte Experimental

Producción de levadura enriquecida con Cr (III)

Inicialmente, se cultivó de manera individual las cepas de *S. cerevisiae* y *S. boulardii* en cajas de Petri con medio PDA (agar papa dextrosa). Posteriormente, para la obtención

de un preinóculo, mediante el uso de un asa estéril se tomó una colonia de cada cepa y se transfirió a tres matraces de 250 mL con 100 mL de medio YPG (compuesto por: 1.0 % (m/v) de extracto de levadura, 2.0 % (m/v) de pectona y 2.0 % (m/v) de glucosa) o medio YNB (Base de nitrógeno de levadura, de Sigma-Aldrich No. de catalogo Y0626 y con 4 % (m/v) de glucosa). Los matraces fueron incubados toda la noche a 28 °C. Posteriormente, las células fueron cosechadas mediante centrifugación a 3500 rpm por 10 min y lavadas 3 veces con agua milli-Q estéril.

Una vez obtenidas las células lavadas, y con la finalidad de llevar a cabo una rápida absorción de Cr a las células de levadura se llevó a cabo una preincubación de Cr-levadura. Para ello, se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL una concentración de 1×10^9 células y se agregó dependiendo del experimento, 0.1 mL y 1.0 mL de Cr (III) de una solución que contenía 25,000 mg L⁻¹ al experimento con el medio YNB y YPG, respectivamente. El cromo utilizado fue en forma de sal de CrCl₃. Los tubos con células y Cr (III) fueron incubados 30 min a 28 °C. Transcurrido el tiempo de incubación en presencia de cromo, el contenido de los tubos fue transferido a los matraces de 250 mL con 100 mL medio correspondientes. Los matraces fueron incubados por 24 h a 150 rpm. A la par se realizaron los cultivos controles (sin cromo) para cada cepas y medio (todos los experimentos fueron realizados por triplicado). Al finalizar el tiempo de incubación, la biomasa fue centrifugada y lavada 2 veces con agua miliQ para eliminar el exceso de Cr.

Determinación proteínas

Para llevar a cabo la determinación de proteínas en la biomasa de las levaduras, se obtuvo un extracto libre de células mediante la hidrólisis con NH₄OH de la siguiente manera: en un tubo Eppendorf se pesó 20 mg de biomasa de cada muestra y se añadió 1 mL de NH₄OH 0.1 N y se agitó con ayuda de un vortex [8]. El homogenado se dejó en calentamiento a 60 °C durante 1 hora. Finalmente, se centrifugó a 12 000 x g por 20 min para separar la pastilla del sobrenadante. Para la cuantificación de proteína se utilizó el Kit comercial QuantiPro™ BSA (QPBCA-1KT, de Sigma-Aldrich) que está basado en el ácido bicinconínico (BCA).

Determinación elementos por MP-AES

Para determinar el contenido de Cr total en biomasa, se pesó aproximadamente 50 mg de biomasa liofilizada de cada una de las muestras en tubos de vidrio para digestión ácida y se agregó 1 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro. Los tubos fueron calentados a 80°C durante 20 minutos, posteriormente la temperatura se elevó a 120°C y se mantuvo por 3 horas. Cumplido el tiempo las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y posteriormente fue adicionado 1 mL de H₂O₂ y las muestras fueron calentadas nuevamente a 120°C por 30 minutos [9]. Posteriormente, la muestra se transfirió a un tubo y se llevó a un volumen de 2 mL con agua Mili-Q. Para el análisis de distribución de Cr, la pastilla y el sobrenadante del extracto libre de células fue secado en el SpeeVac y posteriormente las muestras digeridas con HNO₃ siguiendo el protocolo de descrito

arriba. Las muestras fueron centrifugadas, diluidas y analizadas por la técnica analítica de emisión atómica con plasma sostenido por microondas (MP-AES). Las longitudes de onda monitoreadas para Cr fue 425.433 y 427.480 nm. La cuantificación se llevó a cabo mediante el método calibración externa, utilizando seis niveles de concentración (0, 0.03, 0.05, 0.10, 0.33, 0.5 y 1.0 mg L⁻¹ de Cr).

Resultados y Discusión

Evaluación de Crecimiento

En la figura 1 se presentan los resultados crecimiento obtenidos del enriquecimiento con Cr (III) de las dos cepas de levadura y dos distintos medios de Cultivo. Para *S. cerevisiae* el enriquecimiento con Cr en el medio YPG causó un ligero aumento en la cantidad de biomasa (276 ± 47 mg) en comparación con la muestra control (231 ± 32 mg), sin presentar diferencias significativas. En YNB la presencia del Cr provocó disminución en la biomasa (160 ± 33 mg a 119 ± 16 mg, para el control y Cr (III), respectivamente), con diferencias significativa. Para *S. boulardii*, se observó que la presencia de Cr (III) en ambos medios ocasiona una disminución en la biomasa: en YPG va de 246 ± 30 a 205 ± 7 mg y en YNB va de 193 ± 4 a 114.6 ± 20 mg.

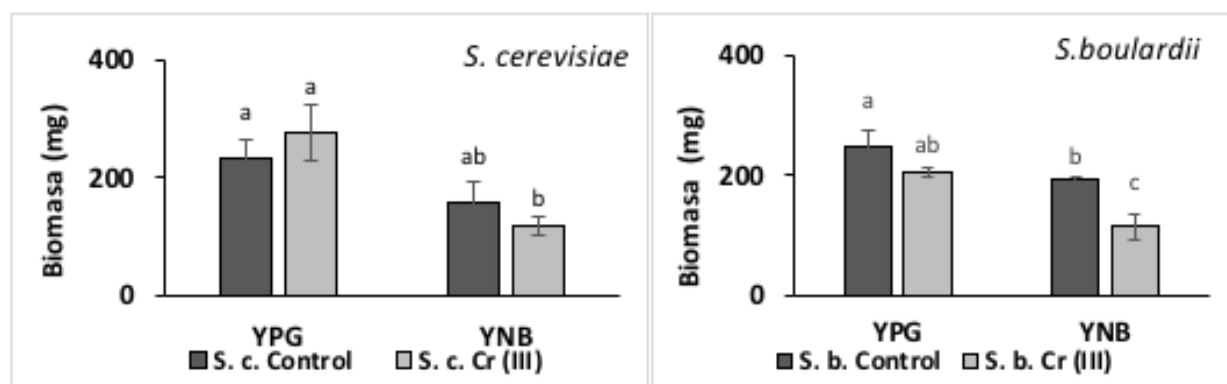


Figura 1. Comparación del crecimiento obtenido por el peso seco de la biomasa total de las levaduras. Las muestras de biomasa fueron liofilizadas después de 24 h de cultivo en medio YPG sin Cr (control) o enriquecidas con 250 mg L⁻¹ de Cr (III) y en medio YNB sin Cr (control) o enriquecidas con 25 mg L⁻¹ de Cr (III) para *S. cerevisiae* (izquierda) y *S. boulardii* (derecha). Letras diferentes indican diferencias significativas directas ($p < 0.05$) entre medias según la prueba Tukey. (n=3 réplicas biológicas)

Determinación de proteínas

La determinación de proteínas se realizó en un extracto libre de células obtenido por la hidrólisis con HN₄OH. Los parámetros analíticos obtenidos para la curva de calibración se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros analíticos de la curva de calibración para la determinación de proteínas.

Método	Rango de calibración	Función de calibración	R ²	LD	LQ
BCA	0.5- 30 µg/mL	$y=0.0146x + 0.0012$	0.9955	0.20 µg/mL	0.50 µg/mL

En la figura 2, se presentan los resultados de la cuantificación de proteína. Para *S. cerevisiae* la cantidad de proteína detecta fue entre 9.4 y 10.2 mg de proteína/100 mg de biomasa y no se observó diferencias significativas entre los dos medios de cultivo o la presencia de Cr. Por otra parte, para *S. boulardii* la cantidad de proteína producida en el medio YPG sin cromo fue similar que para *S. cerevisiae* y la presencia de Cr causa un incremento en las proteínas (11.1 mg de proteína/100 mg de biomasa). La mayor cantidad de proteína se detectó en medio YNB (14.6 mg de proteína/100 mg de biomasa). Sin embargo, en estas condiciones la presencia de Cr en el medio de cultivo causa una disminución en los valores de proteína (8.3 mg de proteína /100 mg de biomasa).

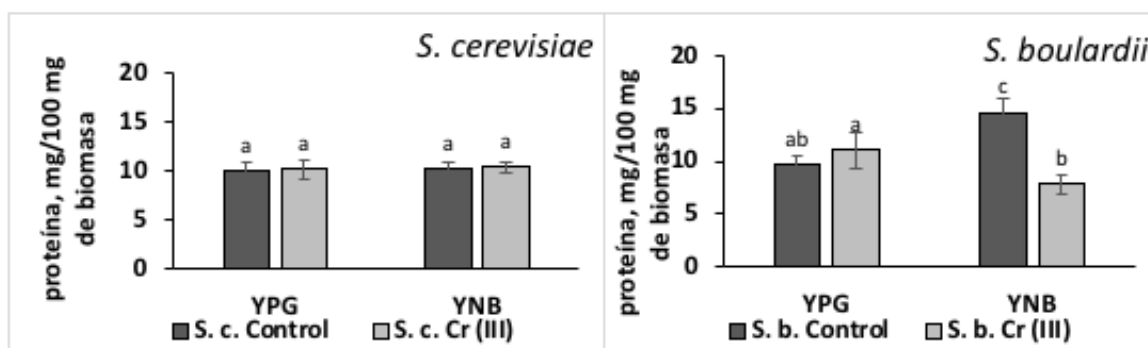


Figura 2. Determinación de proteínas en extracto libre de células de las levaduras por el método de BCA. El extracto libre de células se obtuvo de la hidrólisis con NH₄OH de 20 mg de biomasa obtenida después de 24 h de cultivo en medio YPG sin Cr (control) y enriquecidos con 250 mg L⁻¹ de Cr (III) y medio YNB sin Cr (control) o enriquecidos con 25 mg L⁻¹ de Cr (III) para *S. cerevisiae* (izquierda) y *S. boulardii* (derecha). Letras diferentes indican diferencias significativas directas ($p < 0.05$) entre medias según la prueba Tukey ($n=3$ réplicas biológicas)

Determinación de Cr total en biomasa y en la fracción citosólica y pastilla después hidrólisis con NH₄OH

En la figura 3 se presentan los datos de la concentración de Cr del fraccionamiento celular. Para la biomasa de *S. cerevisiae* enriquecidos con Cr en medio YPG, la mayor cantidad de cromo se encuentra en la fracción citosólica (108 µg Cr/g biomasa) con respecto a la pastilla (81 µg Cr/g biomasa); la suma de ambas fracciones presenta un porcentaje de recuperación del 67.2 % con respecto al total de cromo total en la biomasa (272 µg Cr/g). Para el medio YNB se tiene la misma tendencia que en medio rico, una mayor cantidad de cromo en la fracción citosólica (168 µg Cr/g biomasa) y menor

concentración de cromo en la pastilla (131 $\mu\text{g Cr/g}$ biomasa), la suma de ambas fracciones presenta un porcentaje de recuperación total del 71.1 % con respecto al cromo total en la biomasa (391 $\mu\text{g Cr/g}$).

En la cepa de *S. boulardii*, el enriquecimiento de Cr en medio YPG, causo la mayor concentración de Cr en la pastilla (278 $\mu\text{g Cr/g}$ biomasa) en comparación con la fracción citosólica (178.9 $\mu\text{g Cr/g}$ biomasa) y la suma de ambas fracciones presenta un porcentaje de recuperación de cromo entre de 107.2 % con respecto al cromo total en la biomasa (447 $\mu\text{g Cr/g}$). Para el medio YNB se obtuvo menor concentración de Cr en la pastilla (79.3 $\mu\text{g Cr/g}$ biomasa) y mayor concentración en la fracción citosólica (145.9 $\mu\text{g Cr/g}$ biomasa), recuperando 64 % de Cr de la suma ambas fracciones, respecto al Cr total de la biomasa (345 $\mu\text{g Cr/g}$).

Conclusiones

El enriquecimiento con Cr (III) en medio YNB, provoca una disminución del crecimiento del 25 y 50 % para *S. cerevisiae* y *S. boulardii*, respectivamente. No se observó diferencia en la cantidad de proteínas producida en las diferentes condiciones de cultivo, excepto para *S. boulardii*, que aumenta un 40 % en la cantidad de proteína en medio YNB con respecto los cultivos de *S. cerevisiae* o cuando se cultiva en medio YPG y una disminución de 50 % por presencia del Cr en el medio de cultivo. La concentración de Cr unido a biomasa en *S. cerevisiae* fue de 272 ± 76 y 447 ± 104 $\mu\text{g Cr g}^{-1}$ en medio YPG y YNB, respectivamente. Mientras que para *S. boulardii* fue 391 ± 34 y 351 ± 30 $\mu\text{g Cr g}^{-1}$ en medio YPG y YNB, respectivamente. En cuanto a la distribución de Cr en las fracciones, se observó que el Cr, se presenta principalmente en la fracción citosólica, excepto para *S. cerevisiae* cuando se cultivó en medio YPG.

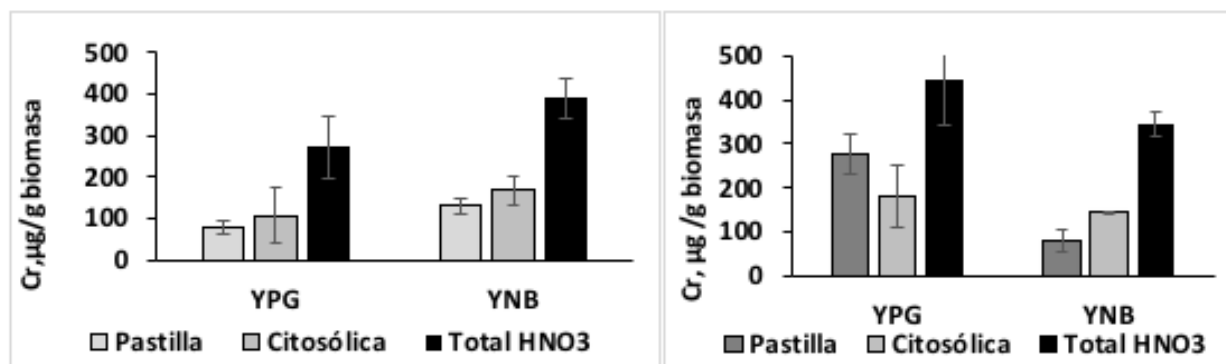


Figura 3. Cr total en pastilla y la fracción citosólica y su comparación con el Cr total incorporado en la biomasa de las levaduras determinado por MP-AES. La biomasa fue obtenida después de 24 h de cultivo en medio YPG enriquecido con 250 mg L^{-1} de Cr (III) o medio YNB enriquecido con 25 mg L^{-1} de Cr (III) para *S. cerevisiae* (figura de la izquierda) y *S. boulardii* (figura de la derecha).

Agradecimientos

Agradecimientos a la DAIP de la Universidad de Guanajuato por las becas y financiamiento al proyecto (No. 137/2023) otorgadas.

Referencias

- [1]D. Cannas , E. Loi, M.Serra, D. Firinu, P. Valera, P. Zavattari. *Nutrients* 12: 2074 (2020).
- [2]W. Maret. In *Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic*, ed. PL Carver, pp. 231-52. Zürich, Switzerland: De Gruyter (2019).
- [3]EFSA Panel on Dietetic Products N, Allergies. *EFSA Journal* 12. 3845 (2014).
- [4]J. Sun, S. Xu, Y. Du, K.Yu, Y. Jiang, et al. *Microorganisms* 10 (2022)
- [5]L. Liu,J-P. Lv,H. Uluko. *Journal of agricultural and food chemistry* 61: 1279-87 (2013).
- [6]EM. Balk, A. Tatsioni, AH. Lichtenstein, J. Lau,AG. Pittas. *Diabetes care* 30: 2154-63 (2007).
- [7]P. Kaszycki, D. Fedorovych, H. Ksheminska, L. Babyak, D. Wojcik, H. Koloczek. *Microbiol Res* 159: 11-7 (2004).
- [8]VG. Zetic, V.Stehlik-Tomas, S.Grba, L.Lutlisky, D.Kozlek. *Journal of Biosciences* 26: 217-23 (2001).
- [9]AA.Gonzalez Ibarra, E. Yanez Barrientos, K.Wrobel, AR.Corrales Escobosa, K. Wrobel. *Journal of Plant Nutrition*: 1-17 (2022).

DETERMINACIÓN DEL ALUMINIO EN LIXIVIADOS EN RELINE DE ENVASES TETRA PAK USADOS

Mayra Beatriz Vazquez Ramos^a, María Monserrat Ramírez Paniagua ^a, William Sánchez Ortiz ^{a*}, Jorge David Hernández Pérez ^b, Jorge Ivan Aldana González ^b, Manuel Eduardo Palomar Pardavé ^b, Mario Alberto Romero Romo ^b

^a Tecnológico Nacional de México, TES de Ecatepec, División de Ingeniería Química y Bioquímica.

^b Universidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco, Depto. De Materiales, Área de Ingeniería de Materiales 5518934478

E-mail: williamso@tese.edu.mx

Introducción

En la actualidad a nivel mundial se buscan soluciones para controlar la contaminación y hacer que este llegue a niveles muy bajos, poco aceptable para el hombre, por ello se buscan soluciones el cual es el reciclaje de los envases tetra pak como protagonista en este proyecto. A nivel de reciclaje, el envase tetra pak, no está formado por material biodegradable y por tanto de no ser reciclado tardaría miles de años en degradarse. Por suerte, existen métodos de reciclaje para dicho envase que permiten reutilizar prácticamente por completo sus materiales. A partir de su composición que comprende 75% papel + 20% polietileno + 5% aluminio. El aluminio es un 100 % apto para reciclaje obteniendo denominado «aluminio verde», ahorra en la fabricación hasta un 90 % de energía frente a la materia primaria [1]. Sin embargo, los métodos para la recuperación del aluminio son la calcinación que se lleva por encima de los 950 °C, el cual se requiere de cantidad de energía y genera gases que contaminan al medio ambiente. Otro de los casos es generar lixiviaciones donde se proponen sistemas ácidos o básicos, que son un peligro para el ambiente y los seres vivos [2]. El uso de los solventes eutécticos (DES) como en los últimos años ha permitido generar lixiviados de diferentes metales Ni, Pd, Mg, Zn, entre otros. Han sido de gran interés el desarrollo de procesos amigables con el medio ambiente, debido a que están conformados por una o dos sales uno donante y el otro receptor de enlace de hidrógeno [3]. Es por ello, que su aplicación es factible en el reciclaje del aluminio a partir del tetra pak. Llegando a considerar una solución en el reciclaje y reutilización de los componentes del tetra pak. [4]. A partir de sus componentes es extraordinariamente sencilla, no genera ningún tipo de subproducto y no necesita ninguna etapa de purificación, por lo que su huella ecológica es idónea siendo muy simple y económico [5]. Es por ello, que en este trabajo de investigación se aplicara el DES en la obtención de un lixiviado de los tetra pak en combinación con técnicas para generar la electro – recuperación del aluminio a bajo costo, con un cuidado de medio ambiente y a tiempos cortos. [6].

Parte Experimental

En la parte experimental se describirá como se empezó el procedimiento de preparación y caracterización superficial.

Preparación de los DES

El primero el DES formulado de Cloruro de Colina–Urea (ChCl-U) con una relación molar 1:2, ambos reactivos de Sigma Aldrich con 99% y 90% de pureza, respectivamente. Se calentó la mezcla a 90 °C con una agitación constante durante 24 h.

Generación de Lixiviados

Obteniendo el DES se procede incorporar 3 g de tetra pak, se montó un sistema de recirculación. A 90 °C y en un baño de aceite se montó un matraz de bola que contiene DES + tetra pak por 24 h.

Así mismo en 30 ml de DES se disolvió 15 g de la sal de Cloruro de Aluminio (AlCl_3), para generar un sistema que nos permita generar una comparación de la señal del lixiviado.

Evaluación Electroquímica

Para la evaluación electroquímica utilizo un ponteciostato/galvanostato marca Admiral instruments con el software Squidstat User Interface, con una celda típica de tres electrodos. Como electrodo de trabajo (EW) - carbón vítreo, contra-electrodo (CE) una barra de grafito y como electrodo pseudo referencia (ER) un alambre de plata. La técnica aplicada al DES, al AlCl_3 y al lixiviado fue la voltamperometría cíclica en un intervalo de potencial de 0.85 a -2.3 V en sentido cátodico, a diferentes velocidades de barrido desde 10 hasta 100 mV/s. Entre cada una de las pruebas se realizó una limpieza electroquímica aplicando un potencial de 0.1 V durante 5 min.

Resultados y Discusión

Los resultados de la técnica de voltamperometría cíclica permitiendo determinar las regiones de la lixiviación del aluminio de tetra pak, como se puede observar en la (Figura 1). Claramente se puede observar, en el caso del DES- Reline no hay procesos de reducción u oxidación respectivamente se caracterizó con una velocidad de barrido de 50 mV/s con un potencial que comenzó de 0.85 V en dirección de barrido catódico a temperatura ambiente. En la señal de la sal AlCl_3 30 mM podremos apreciar mejor en b) donde su velocidad de barrido es de 50 mV/s en su potencial podemos apreciar y analizar el pico es de -1.5 a -2.0 V. Para determinar el intervalo para determinar el comportamiento del lixiviado con una misma velocidad de 50 mV/s solo la formación del pico se puede ver de mejor manera en un potencial de -0.7 a -2.3 V a temperatura ambiente, haciendo una comparación de componente haciendo énfasis que se encuentran en la misma zona, aunque se presenta un pequeño desplazamiento a valores más negativos en el lixiviado.

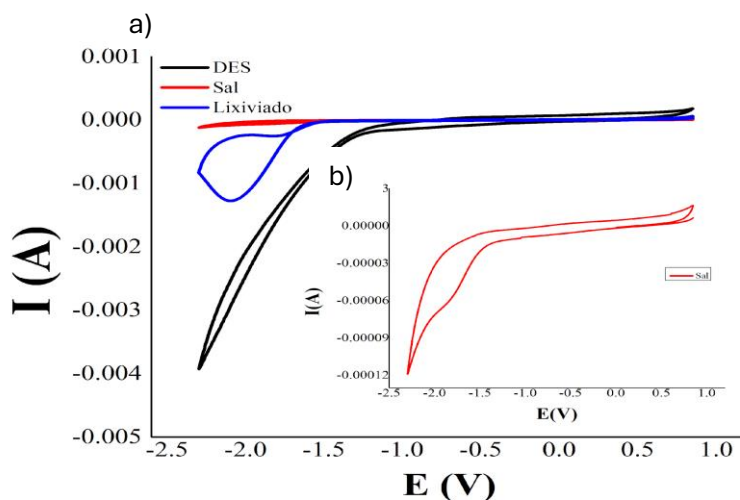


Figura 1. Comparación de voltamperometría del DES- Reline (-), sal de $AlCl_3$ (-) y el lixiviado generado del tetra pak (-).

Se realizó a diferentes velocidades de barrido de 10 en 10 mV/s en un rango que se inició de 30 hasta el 100 mV/s (Figura 2). Con un pico de reducción aproximadamente en una región de -2.0 a -2.5 V, la temperatura de trabajo es ambiente en todos los casos. En el sistema podemos observar las especies que se obtuvieron en el lixiviado, las voltamperometrías diferentes velocidades ayuda a indicar el control del proceso de masa analizando los picos, las velocidades de barrido que se efectuaron definen que el mecanismo de transporte de la materia esta controlado por la difusión.

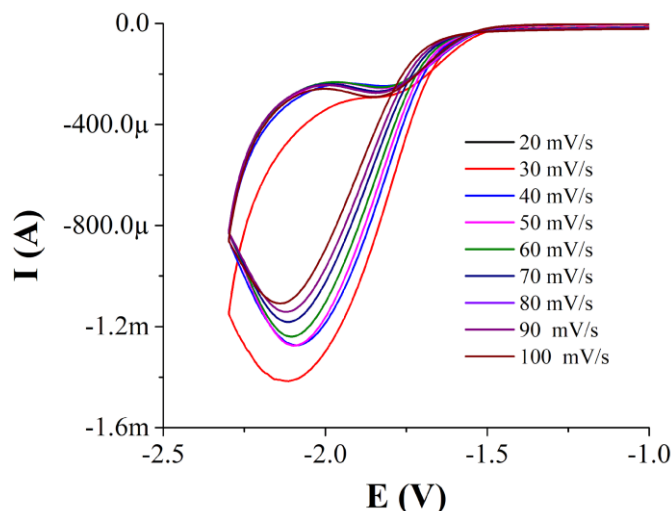


Figura 2. Estudio de velocidad de voltamperometría cíclica del lixiviado con Reline del tetra pak para la electrorecuperación del Aluminio.

Conclusiones

Comprobando con técnicas electroquímicas como es las voltamperometrías cíclicas se determine con el pico de reducción se pudo confirmar que es posible recuperar observar la señal del aluminio en el lixiviado, indicando que el DES- Reline es un disolvente para poder generar los lixiviados. También, los experimentos se llevaron a una temperatura ambiente indicando que la recuperación del aluminio podría ser de menor costo, ya que no se requiere un calentamiento. Se puede constatar los beneficios de la electrorecuperación de aluminio contenido en los envases de tetra pak.

Agradecimientos

Agradecemos principalmente a las instituciones Tecnológico de Estudios Superiores Ecatepec, la Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco por brindar los beneficios de usar sus instalaciones, servicios, aparatos para poder llevar a cabo la experimentación que se requirió, al Dr. William Sánchez, Dr. Ivan Aldana por guiarme en la estructura del proyecto, asesorías con el entendimiento, la paciencia.

Referencias

- [1] L. Rosales Hernández, "Caracterización de polialuminio y aluminio (Al), recuperado a partir de envases de Tetra Pak®, por microscopías y análisis térmicos", Pp 9-13, TIANGUISTENCO, MÉX., FEBRERO 2016.
- [2] D. A. Flores Maltos, J. Sandoval Cortés, B. Valdivia Urdiales, C. N. Aguilar González, Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos, Investigación y Ciencia, vol. 18, Pp 20-25, mayo-agosto, 2010
- [3] E. FLORES, VOLT AMETRIA CICLICA:LA ESPECTROSCOPIA ELECTROQUIMICAPARTE I, Revista de Química. Vol. IX. No 2. , Pp.164, Diciembre de 1995.
- [4] Espriu Perez, S. (2020). Empleo de Solventes Eutecticos Profundos en el biodegradables y de bajo costo. Mexico, Monterrey: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.
- [5] Rosales Hernandez , L. (2016). Caracterizacion de polialuminio y aluminio (Al), recuperado a partir de envases de Tetra Pak, por microspias y Analisis termicos. Mexico.
- [6] A. Alfonso , D., Baeza, A., Chinchilla, R., & Gómez, C. (2018). Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes. *Anales de la Química*, 79-87.

ESTUDIO DE LA INCLUSIÓN DE DIFLUNISAL EN α , β Y γ CICLODEXTRINA

César O. Nevares Negrete, León D. Ponce Pérez, Rosario Moya Hernández, Ricardo Hipólito Nájera, Norma Rodríguez Laguna, Rodolfo Gómez Balderas*

Laboratorio de Físicoquímica Analítica, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, Edo. Méx. 54714, México, email: 315183742@cuautitlan.unam.mx, rodolfo.gomez@unam.mx

Introducción

El diflunisal (HDif), con nombre químico ácido (5-(2,4-difluorofenil)-2-hidroxibenzoico) (Figura 1), es un antiinflamatorio no esterooidal de la familia de los ácidos arilacéticos; presenta un valor de pK_a de 3.3 [1]. Se utiliza para el tratamiento de la osteoartritis, artritis reumatoide y dolor moderado. Es un fármaco con efectos analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos, no narcótico de acción periférica [2].

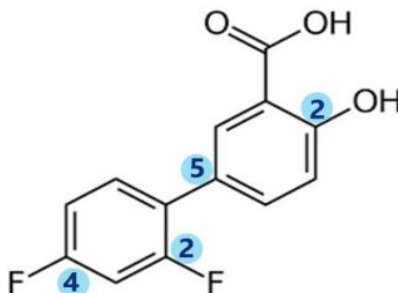


Figura 1. Estructura química del Diflunisal (HDif)

La actividad terapéutica del diflunisal se asocia con su capacidad para inhibir competitivamente tanto la ciclooxigenasa 1 (COX-1) como la ciclooxigenasa 2 (COX-2), con mayor afinidad por la COX-1 [1].

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de D-glucosa, 6, 7 u 8 para las ciclodextrinas nativas α , β y γ respectivamente (Figura 2) [3], unidas por enlaces α -(1,4) glucosídico (Figura 3a). La característica estructural más importante de estos compuestos es su conformación que delimita una cavidad interior relativamente apolar, siendo su exterior de naturaleza hidrofílica (Figura 3b). Estas tres CDs, presentan volúmenes aproximados de sus cavidades de 174, 262 y 427 Å³, respectivamente [4]. La cavidad interna de las CDs les permite formar compuestos de inclusión con una amplia variedad de moléculas hidrofóbicas, tanto en medio líquido como en estado sólido [5,6]. Un hecho característico es que, tras la formación del complejo de inclusión, el tamaño y la forma de la cavidad disponible permanecen prácticamente inalterados [7].

La titulación por calorimetría isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés) es una técnica que funciona mediante la medición directa del calor (Q) que se libera o absorbe durante un

evento de enlace; determinando, en un solo experimento, la estequiometría de la reacción (N), la entalpía (ΔH°) y la entropía (ΔS°), de donde se puede obtener ΔG° y K_c [8]. En el presente trabajo, se determinó el perfil termodinámico de la formación de los complejos de inclusión entre el diflunisal y las ciclodextrinas α , β y γ (α CD, β CD y γ CD) a pH de 7.0 y a una temperatura de 30 °C por ITC.

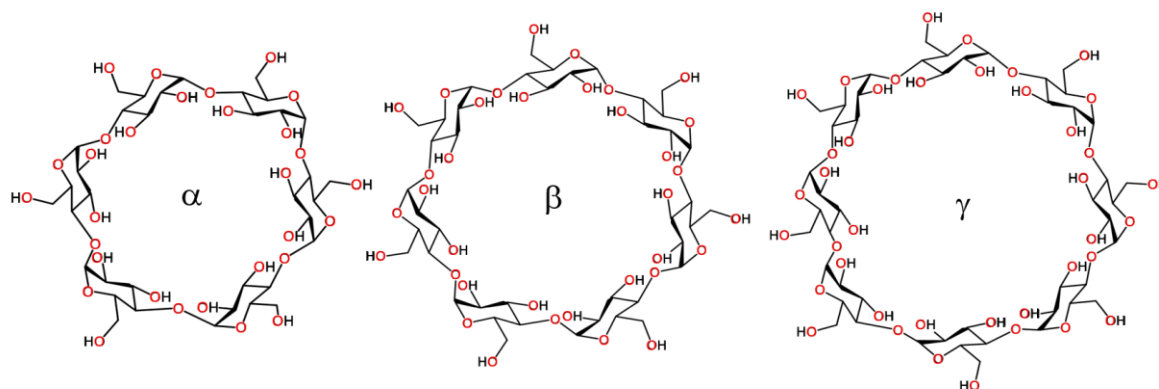


Figura 2. Estructura química de las ciclodextrinas α , β y γ [4].

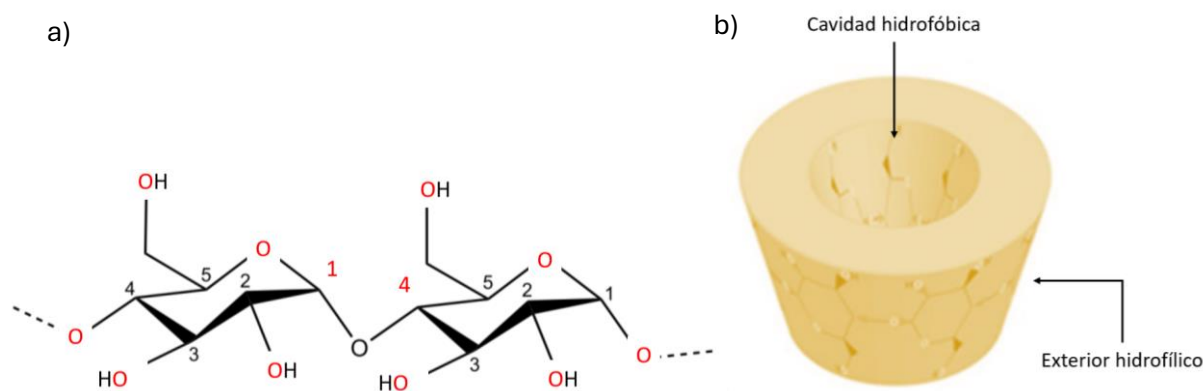


Figura 3. a) Enlaces α -(1,4) glucosídicos. b) Estructura toroidal de una ciclodextrina.

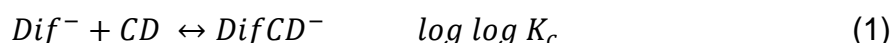
Parte Experimental

Todas las disoluciones acuosas del fármaco y las diferentes ciclodextrinas se prepararon en buffer de fosfatos de concentración 0.1 M a pH 7.0; a estas condiciones de trabajo el diflunisal se encuentra en su forma aniónica (Dif^-). Las concentraciones empleadas fueron de 9×10^{-4} M para el Dif^- y la concentración de las ciclodextrinas fue de 9×10^{-3} M.

En el equipo ITC la disolución de Dif^- se colocó en la celda de reacción ($V = 1.4303$ mL), en la celda de referencia se usó agua desionizada $\rho = 18.2$ M Ω cm; la disolución de cada CD se colocó en la jeringa de inyección. Las valoraciones se llevaron a cabo haciendo

20 inyecciones de 14 μL cada una. Cada inyección del valorante duro 28 s, con un intervalo de 300 s entre las inyecciones, permitiendo así que la señal calorimétrica generada por la complejación regrese a la línea base. El calor de dilución se midió colocando el buffer de fosfatos en la celda de reacción y valorando con la CD correspondiente.

Los resultados calorimétricos fueron tratados con el programa PEAQ-ITC, el cual realiza un ajuste para obtener una curva de enlace, donde se puede derivar el perfil termodinámico del sistema en estudio. Para esto se debe asumir un modelo de enlace en lo que se conoce del sistema de estudio, mostrando una descripción matemática de las reacciones químicas que tienen lugar en el sistema. El calor se calcula en función de los moles de ciclodextrina añadidos, indicado en el equilibrio químico de formación del complejo de inclusión:



El software PEAQ-ITC minimiza la función error U , Ecn. 2, mediante una regresión no lineal. La curva teórica se calcula utilizando la Ecn. 3 (Q_{calc}^i) la cual se compara con el dato experimental (Q_{exp}^i) de la i -ésima adición, ajustando el ΔH de la especie DifCD^- formada en el proceso de titulación.

$$U = \sum_i (Q_{calc}^i - Q_{exp}^i)^2 \quad (2)$$

$$Q_{calc}^i = \Delta n_{\text{DifCD}^-} \Delta H_{\text{DifCD}^-} \quad (3)$$

donde:

$$\Delta n_{\text{DifCD}^-} = n_{\text{DifCD}^-}^i - n_{\text{DifCD}^-}^{i-1} \quad (4)$$

La Ecn. 4 corresponde a los moles formados de DifCD^- en la adición del i -ésimo volumen de ciclodextrina. Para calcular $n_{\text{DifCD}^-}^i$ en el i -ésimo punto de la titulación, se consideran la reacción de formación del complejo DifCD^- (a partir de sus componentes CD y Dif^-) y su constante de equilibrio.

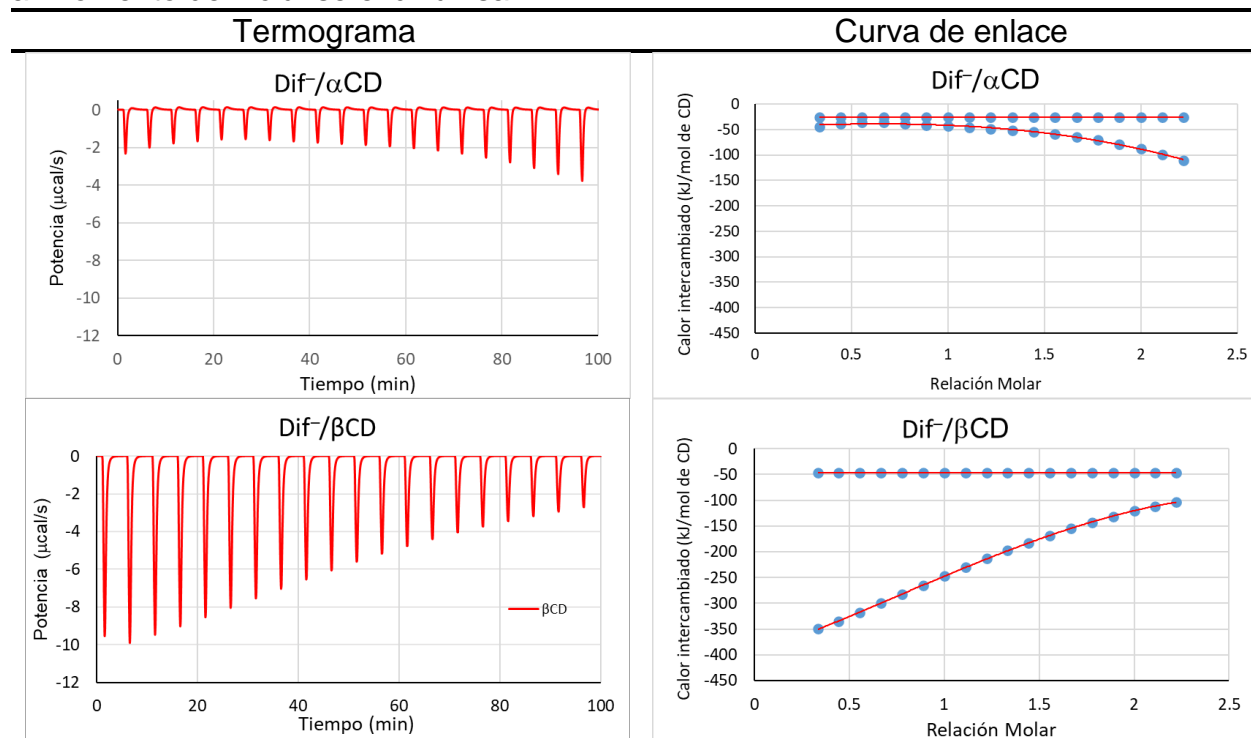
Resultados y Discusión

La Figura 4 muestra los termogramas (gráficos del lado izquierdo) y las curvas de enlace (gráficos del lado derecho) obtenidos durante los experimentos y el proceso de ajuste. La estequiometría considerada en los ajustes del programa PEAQ-ITC fue 1:1 (Dif^- :CD). Los termogramas confirman la interacción entre Dif^- con αCD , βCD y γCD , se observa que al momento de la adición de las CDs sobre el diflunisal se eleva la temperatura con respecto a la celda de referencia, por lo cual el equipo disminuirá la temperatura de la

celda de reacción para así poder igualarla en ambas celdas. La presencia de picos por debajo de la línea base en el termograma indica un proceso exotérmico, con entalpía negativa.

En la Tabla 1 se presentan los resultados termodinámicos obtenidos con ayuda del programa PEAQ-ITC, en el cual se realiza una resta entre los termogramas de inclusión y dilución para todos los complejos. Para el caso del sistema Dif⁻/αCD no se lograron obtener buenos ajustes y por lo tanto, tampoco resultados con significado físico de los parámetros termodinámicos. Esto se atribuye a que el volumen de la cavidad de la αCD es de 174 Å³, mientras que el volumen molecular del Dif⁻ es de 257 Å³, por lo que el diflunisal tendría dificultad estérica para incluirse dentro de la cavidad de la αCD.

Como era de esperarse, para los sistemas Dif⁻/βCD y Dif⁻/γCD, los valores del ΔH° son negativos, siendo más exotérmica la formación del complejo Dif⁻/βCD y menos exotérmica para el complejo de inclusión Dif⁻/γCD. Los datos de ΔG° indican que la formación de los complejos de inclusión es espontánea, siendo la más favorecida la del complejo Dif⁻/γCD. Por otro lado, analizando la entropía, se aprecia que para la formación de los complejos Dif⁻/γCD existe un mayor desorden en el sistema (-TΔS° negativos y por lo tanto ΔS° < 0), lo cual puede atribuirse a la alta deshidratación de la cavidad de γCD al momento de incluirse el diflunisal.



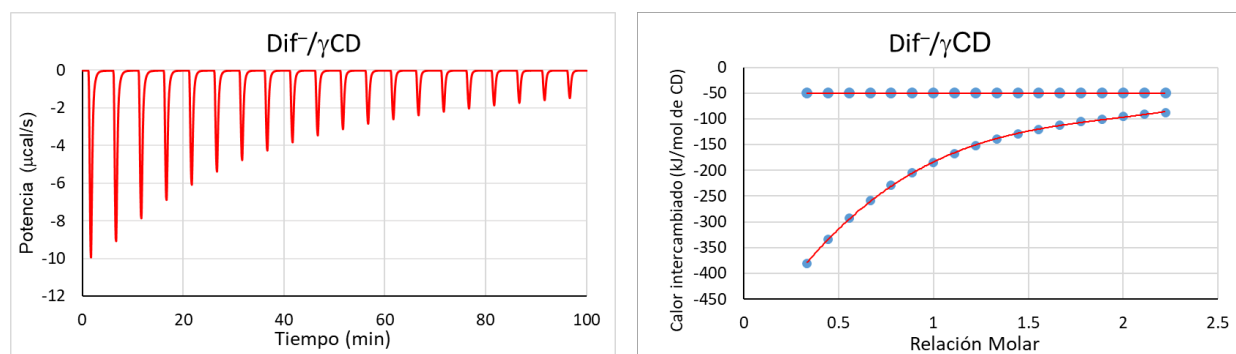


Figura 4. Termogramas y curvas de enlace para la interacción de Dif⁻ con las CDs. Las curvas superiores en las gráficas de la derecha corresponden al calor de dilución.

Tabla 1. Resultados fisicoquímicos de los complejos de inclusión.

Experimento	Dif-/αCD	Dif-/βCD	Dif-/βCD	Dif-/γCD	Dif-/γCD
Estequiometría	—	1:1	1:1	1:1	1:1
ΔH° (kcal/mol)	—	-4.19 ± 0.28		-3.66 ± 0.24	
ΔG° (kcal/mol)	—	-4.75		-5.16	
$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	—	-0.56		-1.5	
$\log K_c$ (M ⁻¹)	—	3.43	3.23	3.72	4.74
χ^2	—	0.012		0.035	

Conclusiones

El proceso de inclusión para la formación de los complejos en los sistemas Dif⁻/βCD y Dif⁻/γCD a 30 °C y a pH de 7.0, es espontáneo y exotérmico. Los complejos que se forman en cada sistema son: el complejo 1:1 (Dif⁻/βCD) para el primer sistema, y el complejo 1:1 (Dif⁻/γCD) para el segundo sistema. Para el caso de la interacción de Dif⁻ con αCD, no se lograron obtener parámetros termodinámicos debido a que el volumen molecular del fármaco aniónico es mayor que la cavidad interna de la αCD.

Comparando la aportación de la entalpía (ΔH°) y de la entropía (ΔS°) al valor de la energía libre de Gibbs (ΔG°), es posible decir que la inclusión es impulsada por la entalpía y no por la entropía.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa UNAM PAPIIT por el apoyo para realizar la investigación a través de los proyectos, IA202122 y IA209123. Se agradece al programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FES-Cuautitlán, UNAM, por el apoyo a este trabajo; al proyecto LANCAD-UNAM-DGTIC-058 por el tiempo de cómputo.

Referencias

- [1] Balali-Mood M, Prescott L. F. (1980). Failure of alkaline diuresis to enhance diflunisal elimination. *Br. J. clin. Pharmac.* 10, 163-165.
- [2] Kizu J, Tsuchiya M, Watanabe S, Yasuno N, Arakawa Y, Saijyo H, Okuda O. (2001). Preparation and clinical application of 2% diflunisal oral ointment for painful lesions of the oral mucosa. *Yakugaku Zasshi.* 2001 Nov;121(11):829-35. doi: 10.1248/yakushi.121.829
- [3] Wade A, Weller PJ. (1994). *Handbook of pharmaceutical excipients.* London: Pharm. Press & Am. Pharm. Assoc. 145–148.
- [4] Cárdenas-Lira K. J. (2022). Tesis: Termodinámica de la formación de complejos de inclusión de naproxeno con ciclodextrina en disolución acuosa. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
- [5] Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrinbased pharmaceuticals: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(12): 1023-1035.
- [6] Dodziuk H. (2006). *Cyclodextrins and their complexes.* Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [7] Liu B, Li W, Zhao J, Liu Y, Zhu X, Liang G. Physicochemical characterization of the supramolecular structure of luteolin/ cyclodextrin inclusion complex. *Food Chem.* 2013; 141: 900–906.
- [8] Ghai, R., Falconer, R. J., & Collins, B. M. (2012). Applications of isothermal titration calorimetry in pure and applied research—survey of the literature from 2010. *Journal of molecular recognition: JMR*, 25(1), 32–52. <https://doi.org/10.1002/jmr.1167>

UN NUEVO MÉTODO DE ANÁLISIS DE PARABENOS POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA Y CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA

Carlos Alberto Durán Loya^a, Sofía Azereth Córdova Zúñiga^a, Marsela Garza Tapia^a
Abelardo Chávez Montes^b, Magdalena Escobar Saucedo^a, Azucena del Carmen
González Horta^b, Rocío Castro Ríos^{a*}

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Departamento de Química Analítica, Av. Madero s/n, Mitras Centro, Monterrey, NL, 64460, México, Tel.: +528183294185, e-mail: rocio.castrors@uanl.edu.mx

^bUniversidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza NL 66455, México; Tel.: +52 81 8329 4080

Introducción

Los parabenos son alquil ésteres del ácido p-hidroxibenzoico que se utilizan como conservadores en productos farmacéuticos, cosméticos y alimentos [1]. Los parahidroxibenzoatos como el resto de los conservadores, son un grupo de compuestos con probadas propiedades antimicrobianas que se han utilizado en una gran variedad de productos durante décadas. Aunque el nivel de toxicidad de estos compuestos es bajo se han clasificado como sustancias disruptoras endocrinas. Recientemente, se ha reportado una relación entre la exposición prolongada y el cáncer de mama [2]. Debido a su uso generalizado, se ha incluido a los parabenos entre los llamados Contaminantes Emergentes ya que debido a las cantidades utilizadas en productos de cuidado personal y farmacéuticos no se eliminan totalmente durante el tratamiento de aguas residuales y pueden encontrarse en diferentes compartimientos ambientales [3]. Las propiedades químicas de los parabenos varían con las características de la cadena alquílica del éster, siendo el metilparabeno el más hidrofílico, con una solubilidad de 2500 mg/L y un coeficiente de partición de 1.96, mientras que el bencilparabeno es el menos polar con una solubilidad en agua de 23.4 mg/L y un log P de 3.56 [4]. Se sabe que la actividad microbiana de los parabenos mejora con el incremento en la longitud de la cadena alquílica éster; sin embargo, el uso de parabenos con cadenas muy largas es limitado debido a problemas de solubilidad. La estrategia más común es emplear mezclas de parabenos con el fin de obtener una actividad antimicrobiana adecuada [5]. El análisis de parabenos se realiza normalmente por cromatografía líquida, aunque también se ha reportado el uso de la cromatografía de gases-masas [1]. Para la extracción se han reportado diversas técnicas como extracción líquido-líquido, extracción asistida por ultrasonidos, extracción soxhlet, extracción en fase sólida, microextracción en fase sólida, microextracción líquido-líquido dispersiva, entre otras [1,5]. En este trabajo se presenta el desarrollo de un método por extracción en fase sólida y cromatografía líquida de alta resolución para el análisis de parabenos en productos de cuidado personal.

Parte Experimental

Reactivos

Para el desarrollo del trabajo se utilizaron estándares de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno y bencilparabeno (Sigma Aldrich), ácido fórmico (Sigma

Aldrich), acetonitrilo grado HPLC (JT Baker) y agua desionizada, obtenida de un purificador de agua Purelab Flex (Elga Veolia).

Análisis espectrofotométrico

En las primeras etapas del desarrollo del método de extracción, los parabenos se determinaron espectrofotométricamente, utilizando un espectrofotómetro (DU-7500, Beckman Coulter), obteniendo la absorbancia a 254 nm.

Análisis cromatográfico

Para determinar la concentración de los parabenos incluidos en este trabajo en los extractos, obtenidos en la etapa de preparación de la muestra, se empleó un método cromatográfico, previamente desarrollado y validado en nuestro laboratorio. El análisis se realizó utilizando un cromatógrafo de líquidos (Serie 1100, Hewlett Packard) equipado con desgasificador en línea, automuestreador, horno para columna y detector UV-Vis de longitud de onda variable. La columna utilizada fue una Discovery HS-F5-3 (15 cm x 2.1 mm, 3 μ m; Supelco) que se mantuvo a 45 °C. La elución se realizó en modo gradiente utilizando como solventes una solución acuosa de ácido fórmico 0.1 % y acetonitrilo a un flujo de 0.2 ml/min. El programa de gradiente inició con un 40% de acetonitrilo, manteniendo por 10 min. Se incrementó a 80% en 2 min y se mantuvo por 3 min más, para posteriormente regresar a las condiciones iniciales en 1 min dejando acondicionar la columna por 9 min.

El volumen de inyección fue de 3 μ L. Las fases móviles se filtraron con membranas de nylon (0.45 μ m, 47 mm; Millipore) y se sonicaron antes de su uso.

Extracción en fase sólida (SPE)

Para la SPE se utilizaron cartuchos Supelclean Envi-18 de 500 mg (SUPELCO), que están rellenos de una fase inversa C₁₈, y una estación de vacío de 12 puertos Visiprep (SUPELCO). El flujo de solventes y muestras se mantuvo a 0.5 mL/min. Antes de usarse, los cartuchos fueron acondicionados pasando con 5 mL de acetonitrilo y 5 mL de mezcla agua-acetonitrilo 90:10. Para determinar el volumen de ruptura se pasaron 15 mL de una solución acuosa de parabenos, cada uno a una concentración de 20 ppm, con 10 % v/v de acetonitrilo y 0.1 % v/v de ácido fórmico. Se colectaron fracciones de 1 mL y la presencia de los parabenos se determinó espectrofotométricamente a 254 nm. Para establecer las condiciones de elución, se realizó la extracción de los analitos en un cartucho previamente acondicionado. Para ello, se hicieron pasar por el cartucho 10 mL de una solución acuosa de parabenos, cada uno a una concentración de 20 ppm, con 10 % v/v de acetonitrilo y 0.1 % v/v de ácido fórmico, posteriormente se introdujo una etapa de lavado con 2 mL de agua. Para eluir se pasaron 5 mL de acetonitrilo, colectando fracciones de 0.5 mL que fueron leídas en espectrofotómetro a 254 nm. Para evaluar el desempeño del método propuesto se realizó el análisis de una solución de estándares

de parabenos a un nivel de concentración de 20 ppm cada uno. El método desarrollado fue también utilizado para el análisis de una muestra de enjuague bucal.

Resultados y Discusión

Los parabenos incluidos en este trabajo (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno y bencilparabeno) son ésteres del ácido 4-hidroxibenzoico que tienen coeficientes de distribución entre 1.96 y 3.6, por lo que para la extracción se decidió utilizar cartuchos de SPE de fase inversa C₁₈. El procedimiento propuesto de SPE inició con una etapa de limpieza y acondicionamiento que se realizó con acetonitrilo y una mezcla agua-acetonitrilo 90:10. Posterior a la preparación del cartucho, se continuó con la etapa de carga de la muestra. Durante la optimización se pasaron por el cartucho las soluciones conteniendo a los parabenos que tenían una composición similar, ya que se adicionó un 10 % de acetonitrilo para mantener la humectación del cartucho. Para asegurar que los analitos se encontraran en su forma protonada (pKa's 8.4-8.5 [4]) y favorecer así su retención en la fase extractante, antes de la extracción todas las soluciones de parabenos se adicionaron con ácido fórmico (0.1 % v/v).

El volumen de muestra a extraer se estableció determinando el volumen de ruptura. Este parámetro indica cuál es el volumen máximo que se puede hacer pasar por un determinado tipo de cartucho determinado sin que se produzcan pérdidas [6]. Se encontró que los analitos empezaban a eluir después de 10 mL de muestra, por ello este fue el volumen seleccionado de muestra a analizar. Para eliminar el solvente de la muestra residual y compuestos con baja retención, se introdujo una etapa de lavado con 2 mL de agua. Considerando la solubilidad de los parabenos y la fase móvil del método cromatográfico, la elución se realizó con acetonitrilo. Para establecer los volúmenes óptimos se realizó la extracción de 10 mL de una mezcla de parabenos y se eluyó con 5 mL de acetonitrilo, colectando fracciones de 0.5 mL. En base a estos experimentos se decidió desechar los primeros 0.5 mL y coleccionar el siguiente mL para posteriormente analizarlo por cromatografía líquida.

Para evaluar el desempeño del método, una mezcla acuosa de los parabenos (20 ppm) se sometió al análisis por SPE y cromatografía líquida. Para la cuantificación se construyeron curvas de calibración para cada analito, con cinco niveles de concentración entre 0.4 y 80 mg/L. En todos los casos se obtuvo una relación lineal con coeficientes de determinación y de correlación mayores a 0.99 (Tabla 1). Con las concentraciones obtenidas para las soluciones extraídas se calculó el % de recobro y la desviación estándar relativa para cada parabeno. La recuperación más baja (89.4 %) se obtuvo para el metilparabeno y la más alta para el propilparabeno 107.7 %, mientras que para el etilparabeno la recuperación fue de 107.4 %, para el butilparabeno de 98.8 % y para el bencilparabeno de 104.7 %; en todos los casos la desviación estándar relativa fue menor al 6 %. Además, el factor de enriquecimiento se calculó dividiendo la concentración obtenida para el extracto entre la concentración obtenida para una solución sin extraer, los valores obtenidos variaron entre 8.9 y 10.8. El método propuesto se aplicó al análisis

de una muestra de enjuague bucal comercial, acidificada (ácido fórmico 0.1 % v/v) y adicionada con 10 % v/v de acetonitrilo. Fue posible detectar la presencia de metilparabeno a una concentración de 90 mg/L y, aunque la muestra presenta señal para otros compuestos, no coincide con el tiempo de retención de los analitos. En la Figura 1 se presentan los cromatogramas obtenidos para un estándar de 20 ppm cada uno de los analitos y el cromatograma de la muestra de enjuague bucal que contenía el metilparabeno y que se adicionó con los estándares de parabenos (5 ppm).

Tabla 1. Curvas de calibración obtenidas para metilparabeno, etilparabeno, propilparabenos, butilparabeno y bencilparabeno.

Analito	Pendiente	Intercepto	Coefficiente de determinación (r^2)
Metilparabeno	91.2846	0.3376	0.9999
Etilparabeno	83.0408	-7.2590	0.9998
Propilparabeno	76.9212	-34.1382	0.9997
Butilparabeno	73.8069	26.0322	0.9986
Bencilparabeno	60.5041	5.4981	0.9998

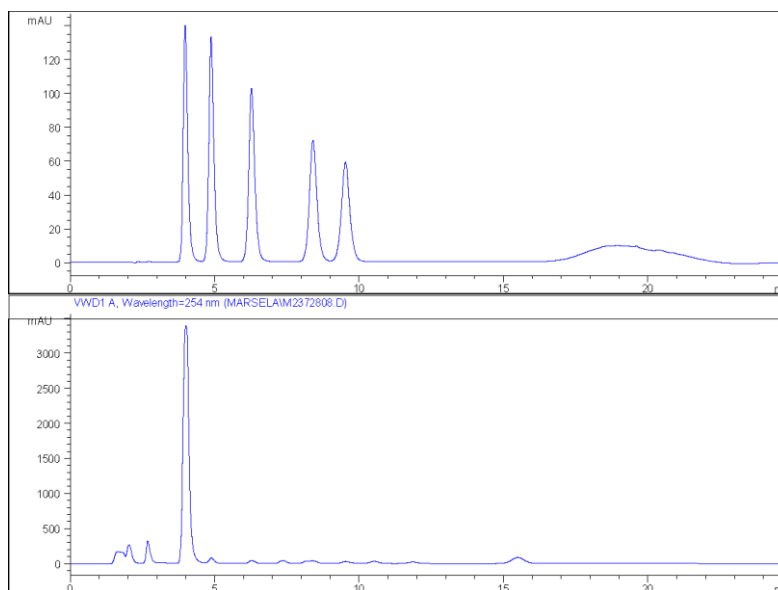


Figura 1. Cromatogramas obtenidos para: A) una solución acuosa de parabenos a una concentración de 20 ppm y B) para una muestra de enjuague bucal adicionada con parabenos (5 ppm) extraída con el método de SPE y cromatografía líquida propuesto. 1. Metilparabeno, 2. Etilparabeno, 3. Propilparabeno, 4. Butilparabeno, 5. Bencilparabeno.

Conclusiones

En el presente trabajo se desarrolló un método de SPE con cartuchos de fase inversa C18 combinado con cromatografía líquida de alta eficiencia que presentó exactitud y precisión adecuadas con recobros entre 89.4 y 107.7% y % DER menores al 6%. El método desarrollado es simple, rápido y permite concentrar los analitos 10 veces. El método propuesto se aplicó satisfactoriamente al análisis de un enjuague bucal comercial, sin que se detectara la interferencia de los componentes de la matriz.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Autónoma de Nuevo León por su apoyo con el Programa de Verano Científico y Tecnológico de Investigación, así como con el Programa de Apoyo a la Ciencia Tecnología e Investigación 2023.

Referencias

- [1] C. A. Chávez-Moreno, L. Hinojosa-Reyes, E.J. Ruiz-Ruiz, E. J., A. Hernández-Ramírez, J.L. Guzmán-Mar. *Journal of Separation Science*, **41**, 4488-4497 (2018).
- [2] I. Márquez-Sillero, E. Aguilera-Herrador, S. Cárdenas, M. Valcárcel. *Journal of Chromatography A*, **1217**, 1-6 (2010).
- [3] N. Garner, A. Siol, I. Eilks, I. *Chemistry in Action*, **103**, 36-43 (2014).
- [4] National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propylparaben>. Accessed Aug. 1, 2023.
- [5] C. Piao, L. Chen, Y. Wang. *Journal of Chromatography B*, **969**, 139-148 (2014).
- [6] K. Bielicka-Daszkiwicz, A. Voelkel. *Talanta*, **80**, 614-621 (2009).

ELECTRORECUPERACIÓN DE LANTANO A PARTIR DE LA LIXIVIACIÓN DE LAS BATERÍAS DE Ni-HM USADAS MEDIANTE DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDO

Israel Sosa Mejía^a, Kevin Yael Calva Ocegueda^a, William Sánchez Ortiz^{a*}, David Hernández Pérez^b, Jorge Iván Aldana González^b, Manuel Eduardo Palomar Pardavé^b, Mario Alberto Romero Romo^b

^aTecnológico Nacional de México, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, División de Ingeniería Química y Bioquímica. *E-mail: williamso@tese.edu.mx Tel. 5518934478

^bUniversidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco, Depto. De Materiales, Área de Ingeniería de Materiales

Introducción

En este trabajo se hizo una extracción de Lantano por medio de las baterías de Ni-MH, se determinó el impacto de las baterías en la sociedad y la contaminación que llegan a provocar en el aire, agua y el mal reciclaje. Las baterías eléctricas son una fuente de energía bastante usada en la actualidad como forma de obtener corriente eléctrica de una fuente no fija. La energía eléctrica que almacena es consecuencia de la acción química de la pila eléctrica. En el 2007, el mercado de las baterías y acumuladores portátiles alcanzó de forma aproximada los 450 millones de unidades, cuyo peso total se estima en 12.500 toneladas, repartidas entre baterías estándar, baterías de automóvil, acumuladores de teléfonos móviles y otros acumuladores recargables.

Cuando una batería pierde su capa protectora quedan expuestos una serie de metales pesados que producen efectos notoriamente nocivos para el ecosistema y nuestra salud, entre los que figuran el zinc, cadmio, plomo, mercurio entre otros. Es por ello que es importante generar la recuperación de ellos, debido a que algunos presentan una alta capacidad de contaminante. Sin embargo, la extracción y recuperación hidrometalurgia del Ni y Co está basada en procesos como: lixiviación ácida, trituración, molienda, secado, procesos pirometalúrgicos para las menas de sulfuros, lateritas (que incluyen óxidos y silicatos) y arseniuros, siendo los más importantes los sulfuros y lateritas, utilizando como medio lixivante al ácido sulfúrico (H₂SO₄) pero la disponibilidad de menas de sulfuros ha decrecido notablemente en los últimos años. México al no ser un país productor de estos metales, requiere de comprarlos e importarlos de diversos países como Canadá, Australia, China, Rusia e Indonesia. Dados los elevados costos es necesario encontrar otras fuentes a partir de las cuales se puedan recuperar estos valiosos metales

En los años setenta, se desarrollaron aplicaciones espaciales para las baterías de níquel e hidrógeno (NiH₂) [1] y, en la década de los noventa, aparecieron en el mercado las baterías secundarias que comprenden a las baterías Ni-Cd y Ni-MH, estas últimas compuestas por un 25% de Ni e hidróxido de potasio. Estas baterías dada, su alta capacidad de carga rápida y, larga vida útil, son utilizadas en teléfonos móviles, cámaras digitales, computadoras y vehículos híbridos eléctricos [2].

Las baterías Ni-MH contienen una variedad de elementos metálicos, como las tierras raras presentes en grandes cantidades de, más del 50% en peso [3], lantano, neodimio, cerio, praseodimio, y en cantidades importantes el níquel y cobalto, estos componentes presentan aplicaciones en tecnologías actuales, p. ej. las baterías en automóviles híbridos y componentes de equipos electrónicos, lo que las vuelve importantes desde el punto de vista económico, industrial, tecnológico y ambiental [4]. Pero, estos elementos se encuentran formando compuestos químicos, dentro de los cuales existen óxidos metálicos.

En otros países, se ha comenzado a trabajar en procesos de recuperación de metales a partir de materiales que son considerados un desecho, como lo son las baterías, lo cual ha dado origen a diversos métodos de recuperación, que incluyen procesos pirometalúrgicos, hidrometalúrgicos o ambos piro-hidrometalúrgicos, que permiten la separación selectiva. En la hidrometalurgia se emplean medios ácidos concentrados en una etapa de lixiviación para transferir metales de interés desde la fase sólida a la solución acuosa. Uno de los ácidos mayormente empleados es el ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado con una capacidad de recuperación de hasta 80% de tierras raras contenidas en baterías gastadas Ni-MH [5].

Como es sabido, los procesos hidrometalúrgicos generan millones de toneladas de desechos del producto de los procesos de molienda y lixiviación en la extracción de metales, que potencialmente pueden dañar el medio ambiente, al mismo tiempo que representan un riesgo para las personas que entran en contacto con ellos, pues muchas veces son desechados de una manera poco responsable, contaminando las aguas subterráneas [6].

Existen diversas metodologías descritas en la literatura dentro de las cuales se encuentran la deposición química y la extracción por solventes, los cuales presentan algunas desventajas en cuanto al uso de reactivos costosos y métodos complicados [7]. Una excelente alternativa son los métodos electroquímicos, los cuales presentan ventajas respecto a los métodos tradicionales, como son bajo costo, el casi nulo uso de reactivos costosos, y una importante reducción del tiempo de recuperación, además que se puede hacer una recuperación selectiva de los metales. Adicionalmente, el uso de los DEP en electroquímica presenta la ventaja adicional de que no se tiene la influencia del disolvente presente, es decir, los procesos de oxidación-reducción del agua, con lo que el intervalo de potencial en la cual se puede trabajar es mayor, lo que implica que se recupera de una manera más eficiente los metales contenidos en el lixiviado [8].

En recientes investigaciones, se ha demostrado que la electrodeposición de metales en los DEP es favorecida y fácilmente separable del electrolito. En diversos reportes científicos se ha estudiado la cinética de la electrodeposición, por medio de técnicas electroquímicas como voltamperometría cíclica y cronoamperometría, y se ha demostrado que un cambio del DEH del DEP (p. ej. etilenglicol a urea) produce un cambio en el mecanismo de nucleación y crecimiento de progresivo a instantáneo [8]. Por lo anterior, en el presente trabajo, se estudió la capacidad que tienen dos diferentes DEP

en la lixiviación del contenido de baterías Ni-MH, y se recuperaron los metales de interés mediante técnicas electroquímicas [9].

Parte Experimental

Sistemas lixiviantes

Primero el DES formulado de Cloruro de Colina–Urea (ChCl-U) con una relación molar 1:2, ambos reactivos de Sigma Aldrich con 99% y 90% de pureza, respectivamente, se calentó a 90 °C con una agitación constante durante 24 h para su completa disolución. Con un volumen de 30 ml de cada uno de los disolventes, se adicionó 3 g de sólidos de batería en un recirculador. Reline con una sal de lantano 50 mM para el patrón de señal. Para los sistemas de DES se aplicará un intervalo de temperatura desde ambiente hasta los 60 °C con agitación constante durante 24 h.

Caracterización Electroquímica

Para el estudio electroquímico se utilizará una celda típica de tres electrodos, como electrodo de trabajo (EW) - carbón vítreo, contra-electrodo (CE) una barra de grafito y como electrodo pseudo referencia (ER) un alambre de plata.

En la técnica de voltamperometría cíclica se realizará el análisis en el sentido catódico, para determinar los procesos de reducción. A una velocidad de barrido (mV/s) desde una velocidad de 10 hasta 100 mV/s. Determinando la ventana de trabajo donde se observen claramente los procesos redox, es especial los de reducción. Para las técnicas electroquímicas se requirió un Potenciostato-Galvanostato de la marca (Biologic) con una celda electroquímica.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos de la metodología, se analizan las señales del DES, sal de lantano y lixiviado. Donde observamos en la Figura 1, para el caso del blanco (DES) no presenta señal indicando que el DES no interfiere en la señal del lantano. Esto permite que el sistema no genere reacciones parásitas que se observen y que modifiquen la señal. La sal de Lantano presenta un intervalo en el pico de reducción desde -0.5 a -1.1 V, indicándonos donde nos permitió encontrar el pico al analizar el lixiviado. En el caso del lixiviado el intervalo donde se encuentra el pico de reducción del lantano se presenta entre -0.9 a -1.05 V, donde se analizó el sistema.

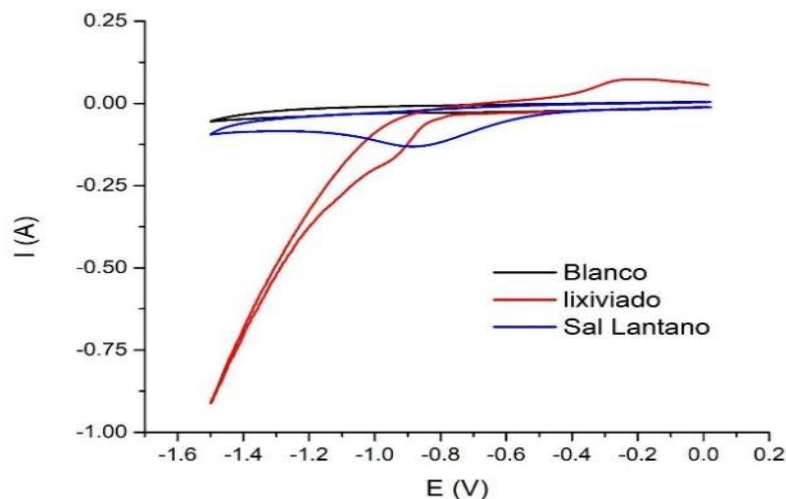


Figura 1. Comparación de voltamperometría del DES- Reline (-), sal de lantano (-) y el lixiviado generado del cátodo de la batería Ni-HM (-).

Se realizó el estudio de velocidad de barrido por medio de la técnica voltamperometría a diferentes voltajes y un tiempo determinado para obtener distintos ciclos como se muestra en la Figura 2, en la gráfica (a), en las gráficas posteriores (b y c) se compararon los diferentes puntos mínimos del estudio de velocidad en una regresión lineal para observar el comportamiento de las mismas. En este caso las gráficas nos indica que es mayor la absorción y se lleva un proceso de nucleación máximo para observar las especies que se obtienen en el lixiviado. Así mismo se observa con más detenimiento que la difusión (r^2) se forma con mayor presencia en la raíz de velocidad de barrido como se muestra en la gráfica c).

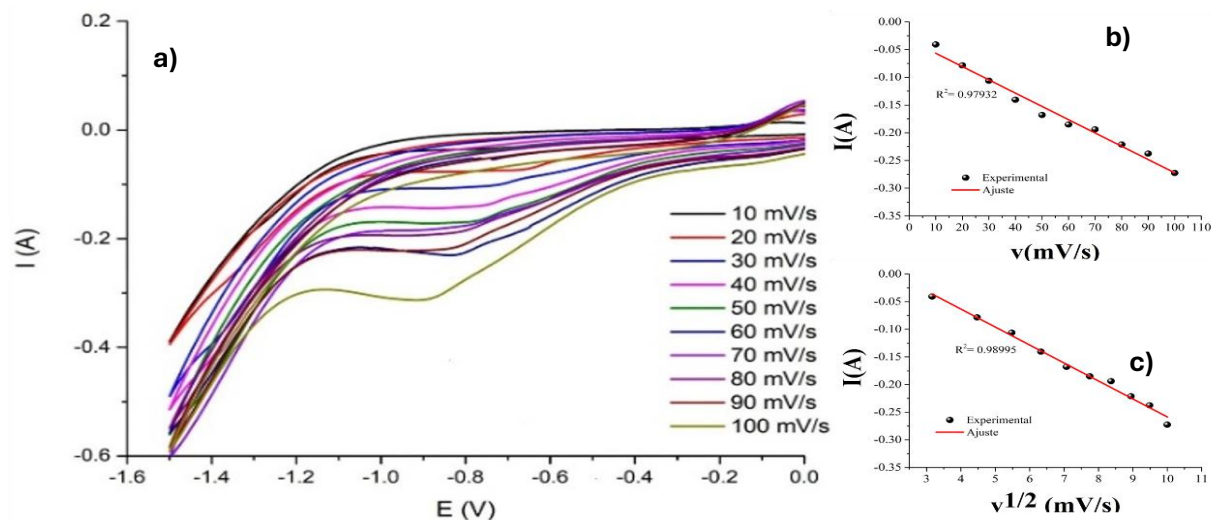


Figura 2. a) Estudio de velocidad de voltamperometría de los lixiviados con Reline del cátodo de las baterías de Ni-HM y estudio de la relación de la velocidad y corriente de pico b) lineal y c) la raíz de la velocidad de barrido.

Conclusiones

La aplicación de técnicas electroquímicas, permite ser una metodología económica y también de corto tiempo de ejecución. Así mismo el poder darle una segunda vida al contenido de tierras raras contenidas en baterías, en el caso particular el lantano. La recuperación de lantano, basado en un lixiviado de una pila de Ni-HM usada con disolventes eutécticos profundos es posible, por medio de las técnicas electroquímicas (voltamperometría cíclica), que nos permite una solución rápida y eficiente para obtener resultados en corto plazo.

Agradecimientos.

Agradecemos el apoyo de las instituciones Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec (TESE) y Universidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco, a los doctores W. S. O, J. I. A. G., M. A. R. R. Y M. E. P. P, que nos brindaron las herramientas para poder realizar el presente trabajo.

Referencias

- [1] Vidal Vides, C. (2013). DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS (DES, DEEP EUTECTIC SOLVENTS) Oviedo: Máster Universitario en Química y Desarrollo Sostenible.
- [2] Abhilash, S. S., Meshram, P., & Pandey, B. D. (2015). Hydrometallurgy. Metallurgical processes for the recovery and recycling of lanthanum from, 47-59.
- [3] Hernández C., L. E., González L., M. Á., Gómez, A. A., & Legorreta G., F. (2016). *RECUPERACIÓN DE TIERRAS RARAS A PARTIR DE BATERÍAS GASTADAS TIPO Ni-MH*. Puerto Vallarta, Jalisco, México: Memorias del XXXVII Encuentro Nacional de la AMIDIQ.
- [4] Sinha, S., Kumar Sinha, M., & Dhar Pandey, B. (2014). Extraction of lanthanum and cerium from Indian red mud. *International Journal of Mineral Processing*, 70-73.
- C.A, M., & V.S.T. , C. (26 de Octubre de 2003). Process development for the recovery of high-grade. *science direct*, págs. 238-244.
- [5] Piña Spezia, H. (2008). RECUPERACION DE METALES DE PILAS DE DESECHO [6] Ni-HM. México, D.F.: Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas.
- Saez Puche, R., Cascales, C., Porcher, P., & Maestro, P. (2000). Tierras raras: materiales avanzados. Francia: Investigación Química.
- Alvarez Calderon, E. E., & Trujillo Palacio, J. H. (13 de Marzo de 2020). Geopolítica de las tierras raras: un recurso natural estratégico para la seguridad multidimensional del Estado. *Revista Científica General José María Córdova*, 2-22.
- [7] Jimenez Muñiz, A. (Enero de 2015). Recuperación de tierras raras (Ce, La, Nd) a partir de pilas Ni/HM agotadas. Escuela Superior de ingeniería Química e Industrias Extractivas.

[8] Villela, Daniela. (agosto 2016). Situación actual del mercado de tierras raras y su potencial en Chile, Pp. 1-30,

[9] Leticia Esperanza Hernández Cruza, Miguel Ángel González López, Alejandro Alonso Gómez, Felipe Legorreta García (3-6 de mayo de 2016). RECUPERACIÓN DE TIERRAS RARAS A PARTIR DE BATERÍAS GASTADAS TIPO Ni-MH. memorias del XXXVII Encuentro Nacional de la AMIDIQ 3 al 6 de Mayo de 2016, Puerto Vallarta, Jalisco, México

OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA DE DISOLVENTES EMPLEADOS EN LA MICROEXTRACCIÓN LIQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA EL ANÁLISIS DE BENZOFENONAS EN MUESTRAS DE AGUA POTABLE

Sonia Itzel Tenorio Tranquilino^a, José de Jesús Olmos Espejel^{a*}

^a Laboratorio de Análisis Instrumental y Química Analítica Verde, Sección de Química Analítica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 55 54 62 34 51. email: jjolmos@cuautitlan.unam.mx

Introducción

Los compuestos absorbentes de la radiación UV son sustancias que se añaden a los productos cosméticos con la finalidad concreta de proteger la piel o los productos, de determinados efectos dañinos de dichos rayos. Los filtros UV (FUV) se pueden dividir en dos grupos: filtros inorgánicos o físicos y filtros orgánicos o químicos, entre los filtros químicos se encuentran los derivados de la benzofenona. [1]

Los filtros UV se utilizan en productos de protección solar y en otros productos de cuidado personal como cosméticos, cremas, lociones, aerosoles para el cabello, tintes, champú, etc. Después de ser utilizados, los filtros UV pueden ingresar al medio acuático a través de rutas directas o indirectas. En el ambiente acuático estos compuestos han sido considerados como tóxicos para los organismos acuáticos, por lo que la descarga continua y crónica hace que la exposición a ellos suponga un riesgo para los organismos acuáticos. [2]

De las principales preocupaciones por la presencia de productos para el cuidado personal en el medio acuático es su capacidad para interferir con el sistema endocrino de las especies marinas, puede producir efectos indeseados como: alteración de las funciones sexuales de los animales causando feminización, disminución de la fecundidad y anomalías en el desarrollo de algunos organismos. [3]

Una de las técnicas que se puede utilizar para la separación y preconcentración de los filtros ultravioleta es la extracción líquido-líquido. En dicha técnica se emplea un sistema ternario de disolventes: el primero de ellos es la muestra acuosa en la que se encuentran los analitos de interés, el segundo es el extractante el cual es un disolvente orgánico inmiscible con la muestra y en el que el analito es más soluble que en la fase acuosa, y el tercero es el disolvente dispersante que consiste en un disolvente orgánico miscible tanto con la muestra acuosa como con el extractante y que actúa como puente entre ambos. [4]

Las ventajas que presenta la microextracción líquido-líquido dispersiva es que, regularmente, no es necesaria la concentración del disolvente al final del proceso de extracción por lo que no se introducen impurezas o en caso de necesitarse, el procedimiento es rápido por los volúmenes bajos de disolvente utilizados. Además, de la reducción del tiempo de extracción y el volumen de disolventes tóxicos. [5]

El análisis de filtros UV se puede realizar mediante la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) que es una de las técnicas más utilizadas debido a que se trata de

compuestos orgánicos fácilmente liposolubles, que son mezclados habitualmente en formulaciones y por lo tanto dificultan su medida directa sin previa separación. [1]

La hidroxibenzofenona y la dihidroxibenzofenona, son metabolitos de la oxibenzona, uno de los ingredientes comunes en los filtros solares empleados en productos cosméticos y protectores solares. Estos contaminantes son desechados en las aguas residuales hacia cuerpos de agua natural.

De esta forma, el objetivo del trabajo es optimizar el sistema de disolventes de la extracción líquido-líquido dispersiva que permita la separación de las tres benzofenonas en muestras de agua potable.

Parte Experimental

Condiciones del análisis cromatográfico

Se optimizaron las condiciones de separación por HPLC para el análisis de los filtros ultravioleta estudiados, los análisis fueron realizados en un Cromatógrafo de líquidos de la marca Agilent Technologies modelo 1100 con detector UV/Vis. El volumen de inyección fue de 20 μL y para la separación se empleó una columna Zorbax C18 de 4.6 x 150 mm con un diámetro de partícula de 3.5 μm . La temperatura fue controlada a 40 $^{\circ}\text{C}$ y se empleó una elución isocrática con acetonitrilo (65%) y agua (35%) a un flujo de 1.2 mL min^{-1} . La detección se realizó a la longitud de onda de 290 nm y el tiempo de análisis programado fue de 5 minutos.

Muestras fortificadas con los FUV

Para la optimización del método se utilizaron muestras de 10 mL de agua potable fortificadas con los estándares de hidroxibenzofenona, dihidroxibenzofenona y oxibenzona a una concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, cada uno.

Optimización de la extracción líquido-líquido de las benzofenonas

Se probaron distintas mezclas de disolventes variando el volumen y el tipo de disolvente extractante y dispersante. Los disolventes empleados como disolvente dispersante fueron acetonitrilo, acetona y metanol, mientras que el cloroformo y diclorometano fueron evaluados como disolventes extractante.

Condiciones óptimas de extracción de las benzofenonas mediante microextracción líquido-líquido dispersiva.

Para la extracción de los analitos se utilizó una mezcla de 2 mL de acetonitrilo como disolvente dispersante y 1 mL de cloroformo como disolvente de extracción, una relación de volúmenes usada en diferentes trabajos que utilizan la técnica de forma tradicional. [6, 7]. La mezcla de disolventes se inyectó rápidamente en un tubo de centrifuga que contenía 10 mL de agua fortificada, introduciendo la aguja de la jeringa en el seno de la muestra. Después se homogenizó la mezcla durante 15 segundos empleando un vortex y se centrifugó a 4000 rpm durante 3 minutos para separar las fases. Después de separar

las fases, el cloroformo se colocó en un vaso de precipitados de 5 mL y se evaporó a sequedad calentando en un baño de agua a 40 °C. El residuo se resuspendió con 0.5 mL de una mezcla de MeOH (85%) y agua (15%), se filtró con acrodiscos de nylon de 0.45 µm y se inyectó al sistema de HPLC.

Resultados y Discusión

Condiciones del análisis cromatográfico

Las condiciones cromatográficas permiten separar de manera adecuada los analitos de oxibenzona, hidroxibenzofenona y dihidroxibenzofenona. En la figura 1 se muestra un ejemplo de los cromatogramas obtenidos.

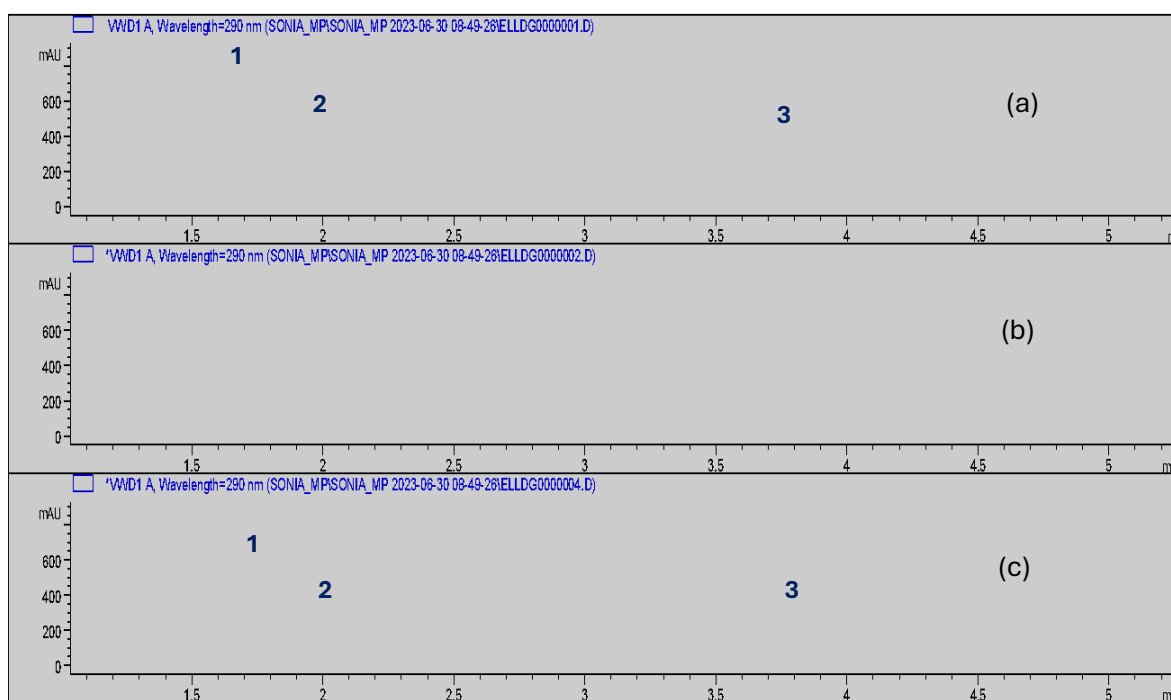


Figura 1. Cromatogramas obtenidos con el sistema DLLME-HPLC para: (a) disolución estándar a 20 µg/mL, (b) muestra blanco y (c) extracto de una muestra fortificada a 1 µg/mL. 1.Hidroxibenzofenona, 2.Dihidroxibenzofenona y 3.Oxibenzona

Optimización de la extracción de benzofenonas por microextracción líquido-líquido dispersiva.

El disolvente de extracción que permite obtener los mejores recobros de los filtros ultravioleta fue el cloroformo, ya que proporciona las señales más altas para las benzofenonas, particularmente para la oxibenzona. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de recobro de los analitos y la desviación estándar relativa de los datos al realizar la extracción por triplicado utilizando metanol como

disolvente de dispersión y variando el disolvente de extracción. En la figura 2 se encuentran los resultados representados de manera gráfica.

Posteriormente se comparó el porcentaje de recobro y la repetibilidad de la extracción variando el disolvente de dispersión. En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de recobro de los analitos y la desviación estándar relativa de los datos al realizar la extracción por triplicado utilizando cloroformo como disolvente de extracción y variando el disolvente de dispersión.

Tabla 1. Resultados de la eficiencia de la DLLME empleando cloroformo y metanol como sistema de disolventes.

No	Analito	% de recobro promedio (n=3)	%DER
1	Hidroxibenzofenona	59.60	9.98
2	Dihidroxibenzofenona	53.46	1.65
3	Oxibenzona	50.38	3.01

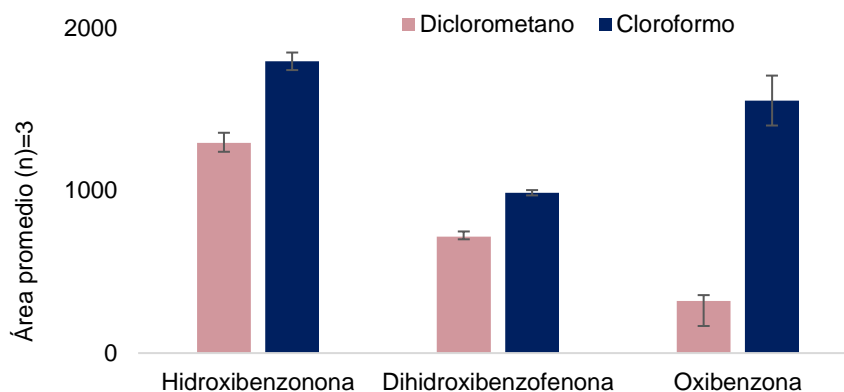


Figura 2. Optimización del disolvente de extracción para la recuperación de las benzofenonas estudiadas, utilizando metanol como disolvente dispersante.

Tabla 2. Resultados de recobro utilizando acetonitrilo y cloroformo como disolventes de dispersión y de extracción, respectivamente.

No	Analito	% de recobro promedio (n=3)	%DER
1	Hidroxibenzofenona	82.63	1.12
2	Dihidroxibenzofenona	83.65	0.51
3	Oxibenzona	30.34	23.78

En la Figura 3 se muestran los resultados de la extracción empleando metanol y acetonitrilo.

El método sigue en desarrollo y se optimizará el tiempo de agitación en vórtex para evaluar si mejora el recobro y la repetibilidad para la oxibenzona. De igual forma, el método se validará para determinar el intervalo de concentraciones en el que puede ser aplicado.

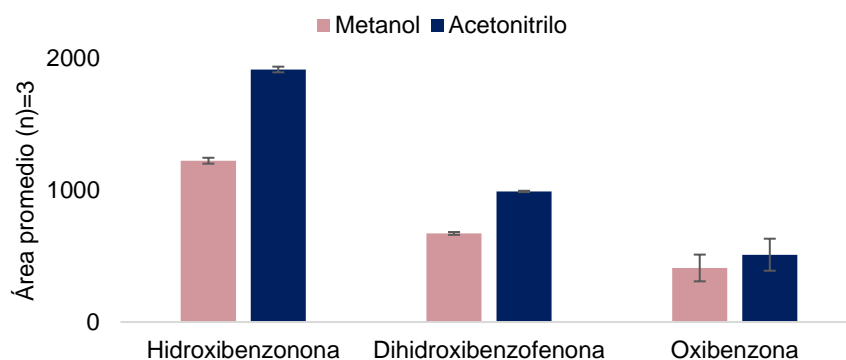


Figura 3. Optimización del disolvente dispersante para realizar la extracción líquido-líquido dispersiva utilizando cloroformo como disolvente de extracción.

Conclusiones

Se logró desarrollar un método de microextracción líquido-líquido dispersiva que permite extraer correctamente los analitos de hidroxibenzofenona, dihidroxibenzofenona y oxibenzona. Los porcentajes de recobro permiten el análisis de los contaminantes a niveles de ppm y se evaluará si el método puede ser aplicable a muestras contaminadas con los analitos a concentraciones traza.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los proyectos CONACYT 321878 y DGAPA-PAPIIT IN227323 por el apoyo recibido.

Referencias

- [1] A. Chisvert-Sanía. Desarrollo de métodos analíticos para el control de filtros uv de naturaleza orgánica en productos cosméticos para la protección solar. Universidad de Valencia. España. (2007).
- [2] A.M. Rodríguez Rivero, J.J. Olmos Espejel. Desarrollo de un método miniaturizado de extracción por adsorbentes sólidos y análisis cromatográfico para el monitoreo de parabenos y filtros UV en cultivos de microalgas. UNAM. México. (2020).

- [3] G. León Romero. Determinación de ingredientes de productos de cuidado personal en musculo de pescado mediante cromatografía de líquidos de alta resolución. UNAM. México. (2018).
- [4] M. Palomino Vasco. DLLME: una técnica sostenible para ahorrar tiempo y dinero. **1**, 307-308. (2018).
- [5] C. Cortada Cortés. Nuevas metodologías y aplicaciones de las técnicas de Microextracción líquido-líquido dispersiva para la determinación de contaminantes orgánicos. Universidad de Alicante. Alicante. (2012).
- [6] N. Arroyo-Manzanares, L. Gámiz-Gracia, and A. M. García-Campaña, *Food Chemistry*, **143**, 459–464 (2014).
- [7] L. Campone, A. L. Piccinelli, R. Celano, M. Russo, and L. Rastrelli, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **405**, 26, 8645–8652 (2013).

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO USANDO EXTRACTO DE MALVA COMO AGENTE REDUCTOR

Alexa Yael García Fimbres^a, Celia Paola Gutierrez Aranda^a, Paola Orozco Fernández^a,
Rocío Paola Carrillo Gaytán, Teresa Alejandra Razo-Lazcano^a, M. Pilar González-Muñoz^{a*}

^a Universidad de Guanajuato. División de Ciencias Naturales y Exactas. Departamento de Química. Sede Pueblito de Rocha. Cerro de la Venada S/N. Pueblito de Rocha. Guanajuato, Gto. Tel. +52 473 732 00 06 Ext. 8108, e-mail: gomupi@ugto.mx*

Introducción.

En la nanotecnología se estudian, obtienen y manipulan materiales y dispositivos a escala nanométrica. Los nanomateriales deben tener al menos una de sus dimensiones en un rango de 1 a 100 nm [1]. Las nanopartículas (NPs) de metales nobles, específicamente las nanopartículas de oro (AuNPs), tienen excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas. Actualmente destacan por sus propiedades foto terapéuticas, en la elaboración de partículas nanoestructuradas para el transporte selectivo de fármacos y en la fabricación de envases con propiedades antimicrobianas o para incrementar la resistencia a la abrasión de los envases [2].

La síntesis de AuNPs utilizando extractos de plantas es un procedimiento simple, económico y menos dañino para el medio ambiente. Estos procesos se basan fundamentalmente en la reducción del Au (III) mediante metabolitos naturales como polifenoles, azúcares reductores, bases nitrogenadas y aminoácidos en lugar de emplear reductores químicos, además estos metabolitos pueden actuar simultáneamente como estabilizadores de las NPs sintetizadas. Siendo la síntesis, estabilización y purificación simple y compatible con el medio ambiente [3-4]. El uso de estos métodos en ocasiones iguala o supera las expectativas de las nanopartículas sintetizadas por métodos físicos o químicos, en cuanto a costo y características de las NPs obtenidas. En este trabajo se sintetizaron AuNPs utilizando el extracto acuoso de las hojas de *pelargonium odoratissimum*, también conocido como geranio malva o malvón, este es una planta con flor que presenta tallos erectos y hojas aterciopleadas, es endémica de Sudáfrica y utilizada en jardinería como planta decorativa. En México se encuentra muy comúnmente en casas y jardines. Su alto contenido en mucílagos le confiere propiedades antiinflamatorias, sirve como tratamiento para afecciones del aparato digestivo, es utilizado como agente antibacteriano y cicatrizante natural [5].

En este trabajo se presentan los resultados de la síntesis y caracterización de AuNPs utilizando extracto de geranio malva como agente reductor. Mediante una reacción directa se buscó conocer si el geranio malva presentaba buenas propiedades como agente reductor del Au (III). Se evaluaron dos diferentes parámetros: concentración del precursor (150 ppm y 250 ppm) y tiempo de síntesis (30, 45 y 60 minutos).



Figura 1. Hojas de pelargonium odoratissimum (geranio malva).

Parte Experimental

Preparación de extracto acuoso de hojas de pelargonium odoratissimum (malva).

La planta de geranio malva de donde se obtuvieron las hojas se encuentra en las instalaciones del departamento de química en el Cerro de la Venada. Las hojas se lavaron con agua desionizada y se secaron en una estufa por 48 h a 50 °C. Se pesó 1 g de hojas secas de geranio malva y se añadió a 50 mL de agua en ebullición por 5 minutos. Después de este tiempo la mezcla se dejó enfriar y posteriormente se filtró, primero con papel filtro grado 41 y luego con una membrana de microfiltración con tamaño de poro de 0.22 μm . El extracto se guardó en un refrigerador hasta su uso.

Cuantificación de polifenoles totales por el método de azul de Prussian.

Este método se basa en una reacción de óxido-reducción donde los iones Fe^{3+} son reducidos a Fe^{2+} por los polifenoles naturales. La determinación se llevó a cabo de la siguiente manera: el extracto de malva al 2% se diluye con agua desionizada. En un matraz aforado se adicionan: 1 mL de extracto diluido, 1 mL de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.016 M y 1 mL de FeCl_3 0.02 M, la mezcla se agita utilizando un vórtex y se deja reposar 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se adiciona 1 mL de H_3PO_4 al 85% y se afora a 10 mL. Se agita nuevamente con vórtex y se lee en espectrofotómetro UV-Visible a 700nm. Como estándar se utilizó una solución de ácido gálico (AG). La curva de calibración se realizó en un rango de 10 a 50 ppm. El contenido de polifenoles totales se expresa como mg AG/ g de hojas de extracto seco.

Síntesis directa de estándar de oro (precursor) y extracto de malva 2 %.

Para la síntesis de nanopartículas de oro se utilizó como precursor una solución de un estándar de HAuCl_4 de 1000 ppm. Como agente reductor se utilizó extracto de geranio malva al 2 % (m/v). La cantidad necesaria de estándar de oro se coloca en un matraz aforado de 5 mL, luego se adiciona el extracto de geranio malva al 2 % hasta aforar. Después las mezclas se agitan unos segundos de manera manual y se dejan en reposo a temperatura controlada (25 °C). La síntesis de nanopartículas se verificó mediante el cambio de color en las soluciones con el tiempo. Se evaluaron diferentes concentraciones del precursor.

Porcentaje de rendimiento de la reacción de síntesis directa de estándar de oro (III) y extracto de malva 2%.

Para calcular el rendimiento de conversión de Au (III) a Au^0 , se analizó el contenido de oro (III) en la solución inicial y después de la síntesis en los extractos por Espectrometría

de Absorción Atómica de Flama. Se tomaron alícuotas de los extractos recuperados en el proceso de purificación, se aforaron hasta un volumen de 10 mL. Se realizó una curva de calibración de 0.5 a 20 ppm.

Caracterización de las nanopartículas de oro (AuNPs).

Espectroscopia de Ultravioleta Visible (UV-Vis). Esta técnica se utilizó para la caracterización y el seguimiento de formación de AuNPs a partir de su pico de absorción alrededor de los 540 nm. Las nanopartículas sintetizadas fueron transferidas a celdas de cuarzo de 1 cm, las lecturas de absorbancia se realizaron desde los 700 hasta los 400 nm. Los espectros UV-Vis se obtuvieron usando el espectrómetro de UV-Vis modelo Cary 50 Probe marca Varian.

Dispersión de Luz Dinámica (DLS). Para determinar el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas sintetizadas y suspendidas en agua, se empleó la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS). Las muestras se analizaron en un equipo Malvern Zetasizer Nano ZS9. Con este equipo también se realizó la determinación del potencial zeta de las AuNPs.

Resultados y Discusión

Cuantificación de polifenoles totales por el método de azul de Prussian.

Durante la fase experimental se requirió preparar extracto de malva al 2% con hojas cortadas y secadas en diferentes días. En la Tabla 1 se presentan los resultados del contenido de polifenoles (mg de AG/ gramo de hojas de geranio malva). Se puede observar que existe un cambio considerable en la cantidad de polifenoles presentes en las hojas de geranio malva de acuerdo con el día en que fueron cortadas las hojas. Estas diferencias observadas las hemos atribuido a las condiciones ambientales pues las hojas usadas se recolectaron de una sola planta. Las primeras hojas fueron recolectadas justo antes de que comenzara la temporada de lluvia y días con temperaturas elevadas, en tanto que la última recolección se realizó cuando ya había llovido durante 15 días de manera constante, esto afectó las condiciones de humedad del suelo lo cual afecta de manera directa el crecimiento de las plantas. Una baja humedad trae consigo una baja adsorción de agua lo que reduce también la adsorción de nutrientes. Se obtuvo que en promedio se tienen 6.022 ± 2.56 mg AG/ g de geranio malva.

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales de los extractos acuosos de geranio malva cuantificados por el método de Azul de Prussian

Día de recolección	28 de junio	03 de julio	11 de julio	13 de julio
mg ácido gálico / g de hojas de geranio malva.	3.170	5.245	6.505	9.169

Síntesis de AuNPs con extracto acuso de geranio malva

Los extractos preparados de geranio malva al 2 % p/v, fueron utilizados en la síntesis de AuNPs. La formación de las nanopartículas puede ser observada pues las soluciones

acuosas presentan un cambio en la coloración, la cual refiere a la formación de nanopartículas de oro. Esta coloración se presenta pocos minutos después de haber agregado el extracto geranio malva al precursor de Au (III). El cambio de color se presenta debido a las vibraciones de excitación del plasmón superficial en las nanopartículas del metal, la aparición de una coloración que va desde violeta muy tenue hasta café rojiza es una evidencia de la formación de AuNPs (Figura 2).

Porcentaje de rendimiento de la reacción de síntesis directa de estándar de oro (III) y extracto de malva 2%.

Para conocer el contenido de Au³⁺ en solución después del proceso de reducción con los extractos utilizados, se realizó la cuantificación después de cada tiempo de reacción estudiado mediante absorción atómica de flama. Los resultados muestran que cuando se utiliza una concentración del precursor de 150 ppm y el reductor al 2 % se obtiene un promedio de 96.12 % de rendimiento con una desviación estándar de 1.484. Cuando la concentración de precursor se incrementa a 250 ppm se tiene un promedio de 98.18 % de rendimiento y una desviación estándar de 0.367. En ambos casos el tiempo transcurrido no parece influir en el rendimiento de la reacción.

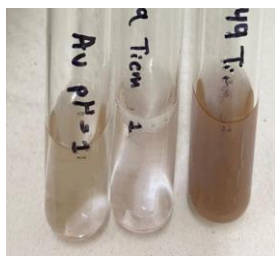


Figura 2. Soluciones coloidales de AuNPs obtenidas usando como reductor extracto de hojas de geranio malva.

Caracterización de las AuNPs.

Espectros de UV-Vis.

En las Figuras 3A y 3B se presentan los resultados obtenidos de los espectros de UV-Vis de la dispersión coloidal de AuNPs obtenidas con extracto de hojas de geranio malva al 2 %. Los espectros se obtuvieron para diferentes tiempos de síntesis (30, 45 y 60 m), para dos diferentes concentraciones de precursor (150 y 250 ppm), a una temperatura de 25 °C. Como se puede observar en ambas figuras, ocurre una pérdida en la absorción de la banda con el tiempo de síntesis, esto nos indica que el extracto es capaz de reducir al precursor, sin embargo no hay control sobre el crecimiento de la nanopartícula formada. La frecuencia de resonancia y el ancho de banda de absorción del plasmón dependen del tamaño y de la forma de las nanopartículas. En ambas figuras podemos observar el mismo patrón espectral, el cual consiste en una banda de superficie plasmónica muy ancha que va desde los 550 hasta los 700 nm, centrada en 625 nm aproximadamente. Podemos observar que cuando se utiliza una concentración de 250 ppm de precursor la intensidad del plasmón es mayor, esto debido a que la resonancia

del plasmón de superficie depende fuertemente también de otros parámetros como son la concentración de nanopartículas, distribución espacial y medio en el cual se encuentren dispersas. El tamaño, forma, recubrimiento y estado de agregación de las nanopartículas hace que los picos de los espectros se vean desplazados. A medida que el tamaño de las nanopartículas de oro aumenta, la banda del plasmón de resonancia superficial se desplaza hacia longitudes de onda mayores. Las nanopartículas en formas de nanoestrellas o nanorods presentan bandas de absorción que se extienden desde la región visible hasta el infrarrojo cercano de 600 a 900 nm [6-7].

Caracterización mediante dispersión de luz dinámica (DLS):

En la Figura 4A se muestra la variación del diámetro hidrodinámico de las AuNPs en función del tiempo, para dos diferentes concentraciones de precursor de oro (150 y 250 ppm). Se puede observar que para ambas concentraciones de precursor, se tiene el mismo comportamiento, una disminución del tamaño cuando pasamos de 30 a 45 minutos de síntesis y luego un incremento a los 60. Cuando se utiliza una concentración de 150 ppm, el mayor tamaño se tiene a los 30 minutos de síntesis, mientras que para 250 ppm es a los 60 minutos. Se obtienen menores tamaños cuando la concentración de precursor es de 150 ppm. Probablemente se obtienen núcleos cristalinos, muy pequeños en el primer momento de la síntesis, los que tienden a aglomerarse y formar núcleos mayores, al tener una mayor cantidad de núcleos iniciales los aglomerados formados serán de mayor tamaño.

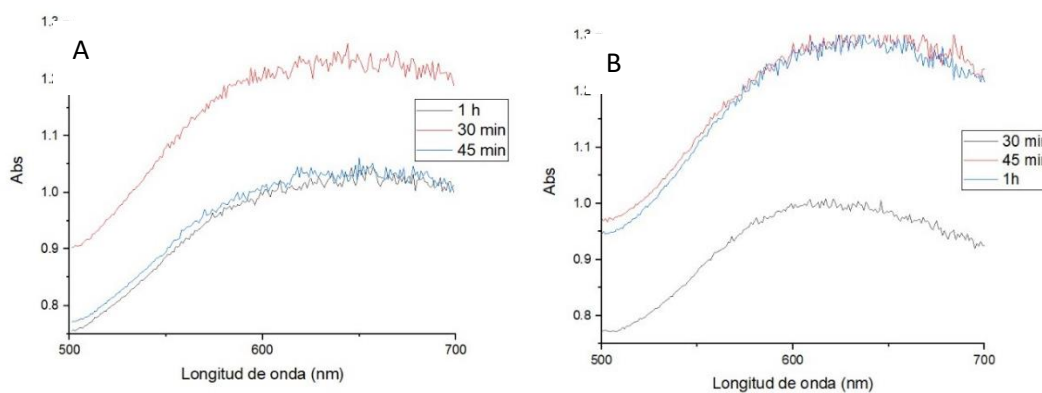


Figura 3. Espectro UV-Vis de absorción de AuNPs purificadas y suspendidas en una mezcla de agua/isopropanol (80/20), para diferentes tiempos de síntesis con extracto al 2 % w/v. A) 150 ppm y B) 250 ppm de precursor.

En la Figura 4B se muestra la variación del potencial z en función del tiempo de síntesis para dos concentraciones de precursor (150 y 250 ppm). Cuando se utiliza una concentración de 150 ppm observamos que el potencial zeta disminuye ligeramente de -14 mV a -16 mV. Cuando se utiliza la concentración de 250 ppm las primeras partículas muestran una ligera carga negativa (-5.0 mV) a los 30 minutos de síntesis la cual permanece prácticamente constante a los 45 minutos y luego este potencial disminuye hasta -16 mV a los 60 minutos. Estos valores de potencial zeta nos indican que las superficies de las partículas se encuentran cargadas negativamente por grupos

electronodadores, sin embargo está carga no logra que las partículas permanezcan suspendidas por períodos de tiempo largos. Los sistemas coloidales no son estables y por ello hay aglomeración importante, lo cual concuerda con lo obtenido mediante DLS y UV-Vis.

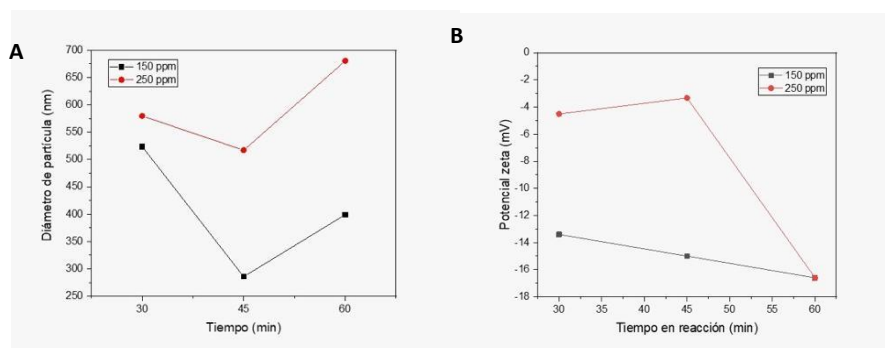


Figura 4. Variación del A) diámetro hidrodinámico de partícula y B) potencial zeta en función del tiempo, para dos concentraciones de precursor de oro (150 y 250 ppm), obtenido mediante DLS.

Conclusiones.

El extracto de hojas de pelargonium odoratissimum (geranio malva), presenta buenas propiedades reductoras para el Au (III). El contenido de polifenoles fue de 6.022 ± 2.56 mg AG/ g de hojas de geranio malva. Es posible sintetizar nanopartículas de oro utilizando como agente reductor el extracto de hojas de geranio malva, los rendimientos de reducción de oro son superiores al 96 %.

Los resultados de la caracterización muestran que se tienen agrupaciones de nanopartículas en el rango de micropartículas (260 - 680 nm). Es necesario realizar estudios de microscopía para conocer las morfologías.

Agradecimientos.

Agradecemos a la Universidad de Guanajuato por la beca otorgada a través del programa del verano de investigación para la realización de este proyecto.

Referencias.

- [1] Saleh, T. A. (2020). "Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities". *Environ. Technol. Innov.*, vol. 20, p. 101067.
- [2] Mateo, D; Morales, P; Ávalos, A; Haza, A. (2013). "Nanopartículas de oro: aplicaciones y citotoxicidad in vitro". *SciELO. Acta toxicológica argentina*.
- [3] Singh P., Kim Y., Zhang D., Yang D., (2016). Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 1353, 1-12.
- [4] Rana A., Yadav K., Jagadevan S. (2020) "A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity," *Journal of Cleaner Production*, vol. 272. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122880.
- [5] Mousavi, S.M; Hashemi, S.A; Behbudi, G; Mazraedoost, S; Omidifar, N; Gholami, A; Chiang, W.H; Babapoor, A; Pynadathu Rumjith, N. (2021). "A Review on Health Benefits of *Malva*

sylvestris L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications”. *Evid Based Complement Alternat Med*.

[6] Garcia M. A. (2011). Corrigendum: Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 45, no. 389501, pp. 1–20, 2012, doi: 10.1088/0022-3727/45/38/389501

[7] Noguez C. (2007). Surface plasmons on metal nanoparticles: The influence of shape and physical environment, *J. Phys. Chem. C*, vol. 111, no. 10, pp. 3606–3619, 2007, doi: 10.1021/jp066539m.

DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS APLICADOS A LA EXTRACCIÓN DE RODAMINA B EN PRODUCTOS COSMÉTICOS Y SU ANÁLISIS POR ESPECTROFOTOMETRÍA VISIBLE Y CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS

Jesús Gibran Juárez Rojas, José de Jesús Olmos Espejel

Laboratorio de Análisis Instrumental y Química Analítica Verde, Sección de Química Analítica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 55 54 62 34 51. email: jjolmos@cuautitlan.unam.mx

Introducción

Las primeras impresiones que obtenemos de un producto comercial nacen desde la vista, el color es algo primordial a la hora de presentar un producto y poder facilitar su comercialización. Generalmente los colorantes no modifican la calidad del cosmético, pero el desarrollo de estos comparado con los avances que se hacen con respecto a su toxicidad en nuestros organismos muchas veces no van a la misma velocidad. Por lo anterior, cuando nos damos cuenta de los riesgos que éstos provocan, ya hay un gran mercado haciendo uso de estos y el desuso de esta materia prima les crearía pérdidas enormes.

El colorante rodamina B es un compuesto químico empleado como colorante violeta y perteneciente a la familia de las rodaminas desarrollado en 1887 por Ceresole. Este colorante es ampliamente usado en las ramas textil y para teñir papel. Sin embargo, en la industria alimenticia y cosmética también se utiliza para dar color a los productos y mejorar su apariencia. Aunque su uso en materia cosmética está prohibido por la FDA, en países en desarrollo se sigue agregando con la finalidad de reducir costos. Las ventajas que tiene la rodamina B con respecto a otros colorantes, es que las concentraciones necesarias para dar una coloración intensa son menores a las 5 ppm, por lo que su uso es económico y difícil de rastrear por métodos convencionales.

Los padecimientos más relacionados con este colorante van desde irritación a piel y ojos hasta cáncer, en el peor de los casos, debido a la alta conjugación electrónica que es común en este tipo de colorantes.

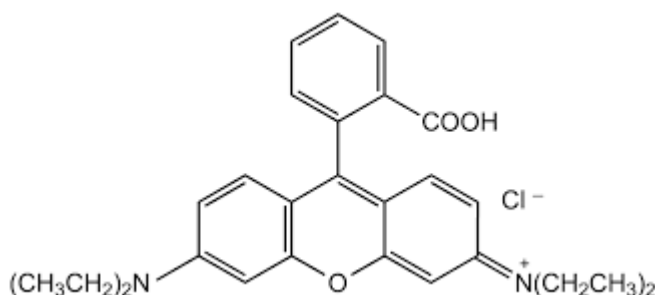


Figura 1. Molécula de Rodamina B.

Otro reto por afrontar con el uso de este colorante es lo difícil que es separarlo del agua debido a su gran afinidad con ésta, los métodos más convencionales para realizar su separación van

desde membranas líquidas, ozonificación y absorción, los cuales no son muy efectivos además de ser de un costo bastante elevado.

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un método que permita el análisis de rodamina B en productos cosméticos a los que la sociedad pueda estar expuesto y causar daños a la salud y al ambiente.

El extractante en este caso son los compuestos llamados líquidos eutécticos profundos, (DES, por sus siglas en inglés). Estos compuestos son formados por la complejación de una sal cuaternaria de amonio y una sal metálica o un donador de puente de hidrógeno. Los líquidos que resultan de estas mezclas tienen propiedades muy útiles como su alto punto de congelación y la facilidad que tienen de prepararse, generalmente aplicando una pequeña energía térmica. La principal ventaja de estas sustancias es que se puede manipular la polaridad del disolvente al variar la relación molar de sus componentes, haciendo posible casi cualquier extracción.

Parte experimental

Preparación del disolvente eutéctico profundo (DES).

En un vial de 10 mL se agregan cloruro de tetrabutilamonio (TBACl) y ácido decanoico (AD) en proporción molar 1:2, respectivamente. Se mezclan con una barra de agitación magnética durante 40 min hasta la formación del líquido.

Dilución del producto cosmético.

Se pesaron 100 mg del producto cosmético y se mezclaron con 10 mL de etanol. Se agitó durante 1 hora y se centrifugó cada mezcla durante 8 minutos a 4000 rpm.

Extracción de la Rodamina B.

Se colocaron 2.5 mL del sobrenadante del producto diluido en un tubo de centrifuga y se agregaron 300 μ L del DES y agua destilada hasta formar 10 mL de mezcla. Se agitó en un baño de ultrasonido por dos minutos y se centrifugó durante 8 minutos a 4000 rpm. El tubo de centrifuga se invirtió durante 2 minutos hasta que las fases se separaron. En esta posición, el tubo se sometió a congelación durante 5 minutos para solidificar el DES. Se separó el agua de la mezcla y se dejó fundir el sólido a temperatura ambiente. Finalmente, el DES se diluyó a 1 mL con etanol.

Análisis de las muestras.

Los extractos fueron analizados por espectrofotometría visible a 550 nm utilizando celdas de cuarzo de volumen reducido (1.5 mL). Como blanco se utilizó una mezcla de 300 μ L de DES con 700 μ L de etanol. Se realizaron barridos para obtener los espectros entre 700 y 400 nm para los estándares y muestras.

Se optimizó el análisis por cromatografía de líquidos y las mejores condiciones fueron volumen de inyección de 20 μ L, fase móvil a 1 mL/min en gradiente con acetonitrilo (A) y agua + 0.02 % de ácido acético (B), 0 min 45 % A, 6 min 90 % A, 8 min 90 % A, y un tiempo de equilibrio

de 5 min. Se utilizó una columna Zorbax C18 de 150 x 4.6 mm con diámetro de partícula de 5 μm . La detección se realizó a una longitud de onda de 550 nm.

Resultados y discusión.

Para el análisis, se realizó un barrido del espectro visible para identificar la longitud de onda máxima a la que absorbe la rodamina B usando como disolvente etanol. En la figura 2 se puede observar que el punto de máxima absorción es a 550 nm, por lo que las lecturas de la curva de calibración y el análisis de los productos comerciales se realizaron a esta longitud de onda.

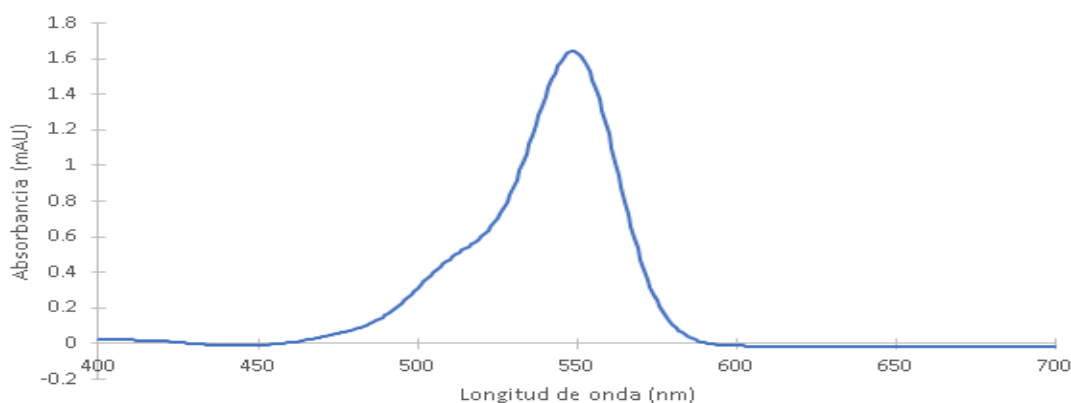


Figura 2. Absorción de la Rodamina B en la región visible del espectro electromagnético.

Se analizó por triplicado cada muestra comercial para determinar su espectro de absorción visible y poder compararla con nuestro estándar para evaluar la presencia de rodamina B. Los resultados se muestran en la figura 3.

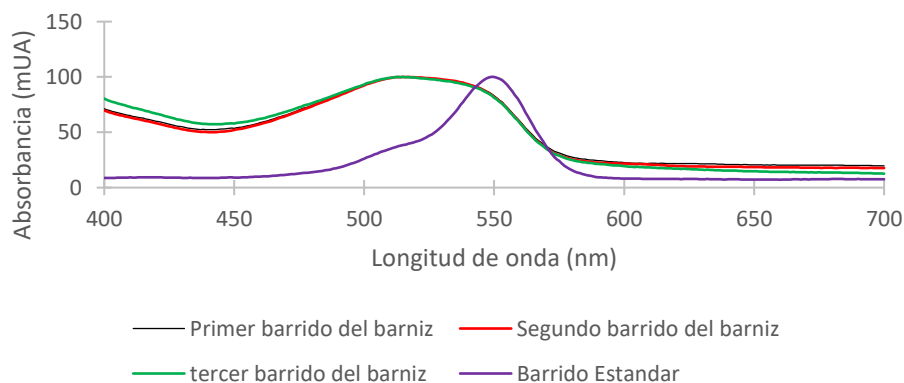


Figura 3. Comparación entre los espectros de absorción de un esmalte con una disolución estándar de la rodamina B a 2 $\mu\text{g/mL}$.

Los espectros de las muestras presentan interferentes que no permiten determinar con certeza la presencia o no de rodamina B en las muestras.

De esta forma, se optó por la optimización del análisis de los extractos por medio de la cromatografía de líquidos en fase reversa.

Las condiciones utilizadas permitieron obtener el resultado en un tiempo de 10 minutos como se observa en la figura 4.

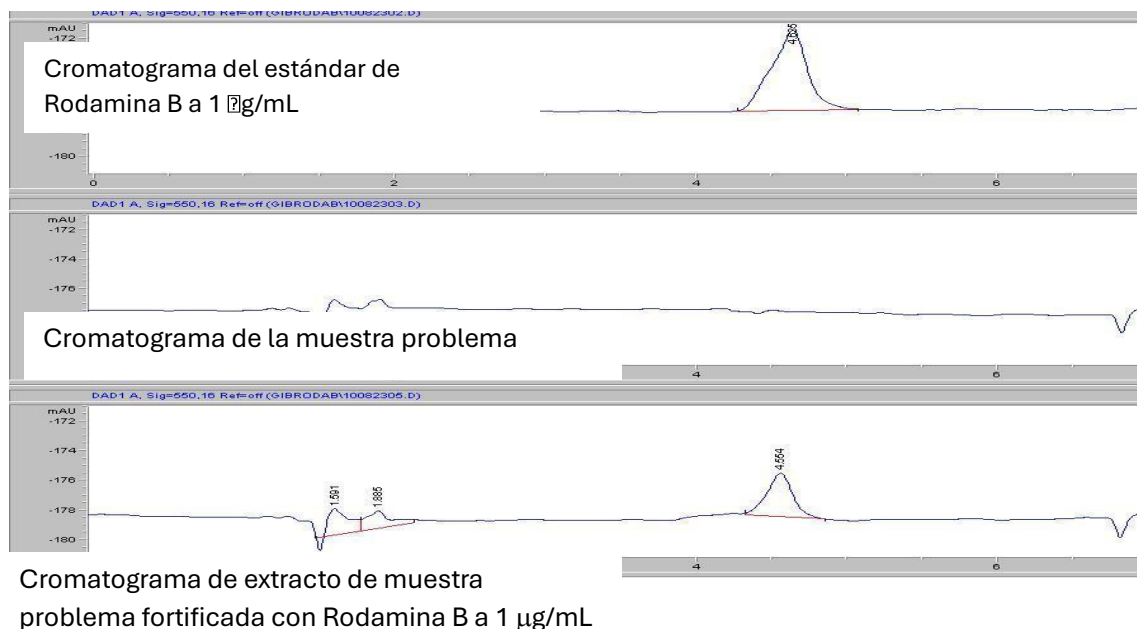


Figura 4. Cromatogramas del análisis de Rodamina B en una muestra de esmalte fortificado.

También, se evaluó la linealidad del sistema cromatográfico obteniendo un valor adecuado en el intervalo de 1 a 20 µg/mL.

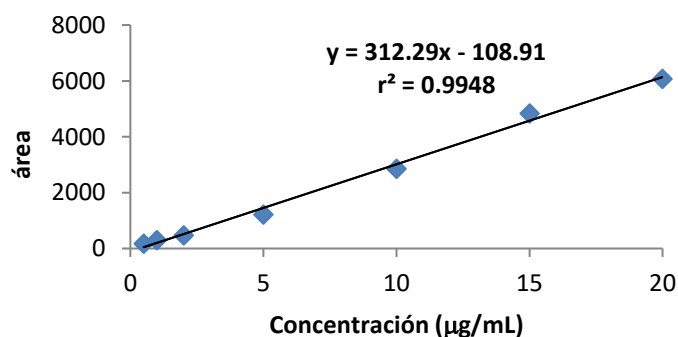


Figura 5. Linealidad del sistema cromatográfico para la determinación de Rodamina B.

Como se muestra en la figura 4, al inyectar los extractos de muestras comerciales no se ha logrado determinar la presencia de Rodamina B en los productos analizados por lo que serían una buena opción para utilizarse como blancos en el proceso de validación de la metodología.

Conclusiones

La metodología desarrollada presenta una extracción eficaz y ecológica para poder analizar rodamina B en productos cosméticos.

Debido a la presencia de interferentes en los extractos, la técnica de cromatografía de líquidos resulta una mejor opción para el análisis de las muestras de esmalte y labiales.

Los resultados nos indican que no existe presencia de Rodamina B en los esmaltes y labiales analizados, se seguirán estudiando muestras de interés para completar el presente estudio.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los proyectos CONACYT 321878 y DGAPA-PAPIIT IN227323 por el apoyo recibido.

Referencias.

- [1] Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep Eutectic Solvents (DESS) and their applications. *Chemical Reviews*, 114(21), 11060-11082.
- [2] Farooq, M. Q., Abbasi, N. M., & Anderson, J. L. (2020). Deep eutectic solvents in separations: Methods of preparation, polarity, and applications in extractions and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1633, 461613.
- [3] Yilmaz, E., & Soylak, M. (2018). A novel and simple deep eutectic solvent based liquid phase microextraction method for rhodamine B in cosmetic products and water samples prior to its spectrophotometric determination. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 81-86.
- [4] Tatebe, C., Zhong, X., Ohtsuki, T., Kubota, H., Sato, K., & Akiyama, H. (2014). A simple and rapid chromatographic method to determine unauthorized basic colorants (rhodamine B, auramine O, and pararosaniline) in processed foods. *Food Science and Nutrition*, 2(5), 547-556. <https://doi.org/10.1002/fsn3.127>

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS DE LIMONENO PRESENTE EN ACEITE ESENCIAL DEL FLAVEDO DE CÁSCARA DE NARANJA

Farid Amézquita Espino*, Marylett García Olguín, Andrea Terán López, Alejandro Núñez Vilchis

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Laboratorio de Instrumentación Analítica, Parque Biotecnológico UAQ, Cerro de las Campanas S/N Querétaro, Qro. C. P. 76010, e-mail: aamezquita25@alumnos.uaq.mx.

Introducción

Se ha demostrado recientemente que la extracción asistida por microondas es una técnica eficiente en la obtención de compuestos bioactivos [1]. En investigaciones previas, se ha utilizado este método para extraer aceites esenciales de naranja, logrando mayor rendimiento comparado con técnicas convencionales como el prensado en frío y la hidrodestilación [2, 3]. Aparte de la eficiencia, este proceso extractivo tiene como ventajas: tiempos más cortos de extracción, menor impacto ambiental y aceites esenciales de mayor calidad. En este trabajo se estudió la extracción, identificación y cuantificación del limoneno en el aceite esencial del flavedo de naranja. Este compuesto es un componente clave de dicho aceite esencial debido principalmente a sus propiedades terapéuticas [3, 4], haciendo que la extracción de aceite sea de gran relevancia en la industria farmacéutica y cosmética. Mediante un diseño experimental de Box-Behnken, se analizaron de manera sistemática las variables críticas del proceso: temperatura, tiempo de irradiación y proporción de los disolventes siendo la concentración de limoneno la variable respuesta. El diseño utilizado también nos permitió obtener un modelo de regresión, del cual se evaluaron los supuestos estadísticos de linealidad y normalidad, así como conocer el impacto de las variables estudiadas en el proceso, lo cual permitirá maximizar el rendimiento de limoneno en la extracción de aceite esencial de naranja en estudios posteriores.

Parte Experimental

Extracción del aceite esencial de naranja mediante extracción asistida con microondas. Se utilizaron cáscaras de naranja frescas obtenidas de un mercado local en Santiago de Querétaro, México. Las extracciones se realizaron en un microondas modelo Anton Paar Multiwave Pro. Siguiendo lo reportado por Attard *et al* [5]. Se pesaron 0.5 g del flavedo de naranja cortado en trozos de 5 mm x 5 mm y se colocaron en un tubo de microondas, al cual se le añadieron 10 mL de la mezcla de disolventes de acuerdo con la Tabla 1. Se selló el tubo y se expuso a diferentes temperaturas y tiempos de extracción como indica en la Tabla 1. Posteriormente, el extracto obtenido se recogió para realizar la identificación y la cuantificación del aceite esencial caracterizado como limoneno.

Diseño de superficie de respuesta mediante Box-Behnken.

Se diseñó un experimento de tres factores y tres niveles: proporción de acetona en la mezcla de disolventes (%), la temperatura de extracción (°C) y el tiempo de extracción (min), la variable respuesta fue el la concentración de limoneno expresado como mg de limoneno/ g de cáscara. El rango de variables independientes y sus niveles se muestran en la Tabla 1, siendo -1 los niveles bajos, 1 los niveles altos y 0 los intermedios. Las condiciones de extracción fueron optimizadas con el diseño de Box-Behnken utilizando Minitab como software.

Tabla 1. Variables y niveles codificados en el diseño Box-Behnken para las corridas experimentales en la extracción de limoneno asistida por microondas.

Corrida	A: Porcentaje de acetona en hexano (%)	B: Temperatura de extracción (°C)	C: Tiempo de extracción (min)
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

(A: -1 = 25 %, 0 = 50 %, 1 = 75 %; B: -1 = 100 °C, 0 = 120 °C, 1 = 140 °C; C: -1 = 10 min, 0 = 20 min, 1 = 30 min)

Identificación de limoneno por CG-EM presente en el aceite esencial de naranja extraído. La identificación del limoneno se realizó analizando los extractos en un cromatógrafo de gases acoplado a un equipo de espectrometría de masas Agilent (CG-EM-HP). De acuerdo con lo reportado Liu *et al* [6]; el sistema CG-EM fue equipado con una columna capilar HP-5MS (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm). Los espectros de masa se obtuvieron por impacto electrónico (EI) a 70 eV con un rango de m/z de 50 a 500. Las temperaturas del inyector y del detector empleadas fueron 150°C y 250°C respectivamente. La temperatura inicial del horno fue de 80°C y posteriormente se elevó a 250°C (17°C/min) durante 10 min. Se utilizó helio como gas acarreador con un flujo de 1.0 mL/min y split de 50:1. Los espectros de masas obtenidos fueron analizados usando la base de datos de espectros de masas del NIST para identificar el espectro del limoneno en el aceite esencial.

Cuantificación de limoneno (4-Isopropenil-1-metil-1-ciclohexeno) por CG-EM presente en el aceite esencial de naranja extraído.

Se prepararon 6 disoluciones de limoneno en hexano con concentraciones 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 y 6000 $\mu\text{g/L}$, junto con una disolución blanco de hexano y se analizaron por CG-EM en las mismas condiciones de las muestras de aceite esencial. A partir de los cromatogramas obtenidos a distintas concentraciones, se creó una curva de calibración por medio del método de estándar externo, donde se graficó el área de las señales en relación con la concentración. Asimismo, se obtuvieron los límites de detección y cuantificación, para obtener información descriptiva de la curva que permita determinar las concentraciones de limoneno presentes en las muestras de aceite esencial obtenidas. La concentración de limoneno se expresó como miligramos de limoneno por gramo de cáscara.

Resultados y Discusión

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (RSM) con un diseño Box-Behnken [7] para identificar las condiciones óptimas en la extracción del aceite esencial.

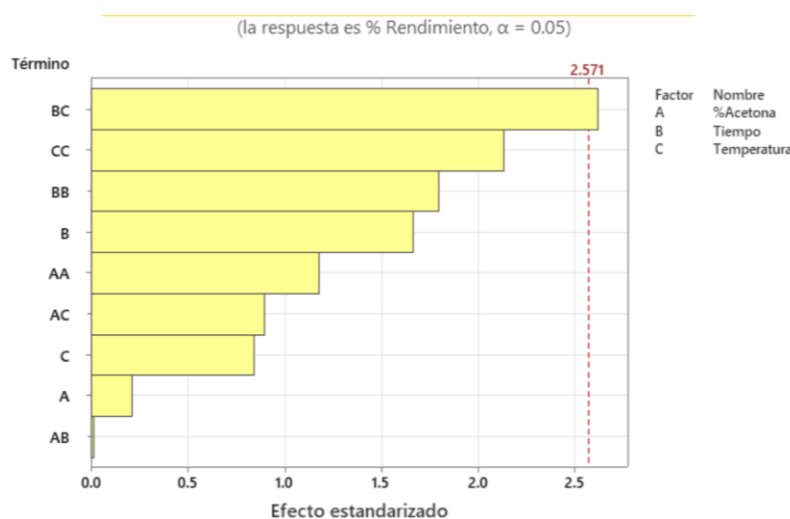


Figura 1. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados

En la Figura 1, Se identifica que la interacción del tiempo y temperatura es la única que sobrepasa la línea de referencia que identifica el umbral de importancia. Las gráficas de residuos de la Figura 2 ayudan a determinar si se cumplen los supuestos mínimos cuadrados ordinarios. (a) verifica que los residuos se están distribuyendo normalmente si al graficarse se asemejan a una línea recta. (b) Confirma que los resultados se distribuyan aleatoriamente y sin patrones reconocibles, datos atípicos o patrones en los puntos indican una violación al supuesto de linealidad. (d) También verifica que no se viole el supuesto de linealidad cuando los residuos son independientes entre sí.

La ecuación de regresión en unidades no codificadas describe la relación entre la respuesta y los términos en el modelo, los resultados se interpretan utilizando las unidades naturales de cada variable (1).

$$[mg/g \text{ cáscara}] = 83.0 + 0.80\%Ace + 1.86t - 1.99T - 0.00387\%Ace * \%Ace + 0.0368t * t + 0.01091T * T - 0.00014\%Ace * t - 0.00352\%Ace * T - 0.02575t * T \quad (1)$$

donde

$\%Ace = \text{Porcentaje de acetona}$

$t = \text{Tiempo de extracción}$

$T = \text{Temperatura de extracción}$

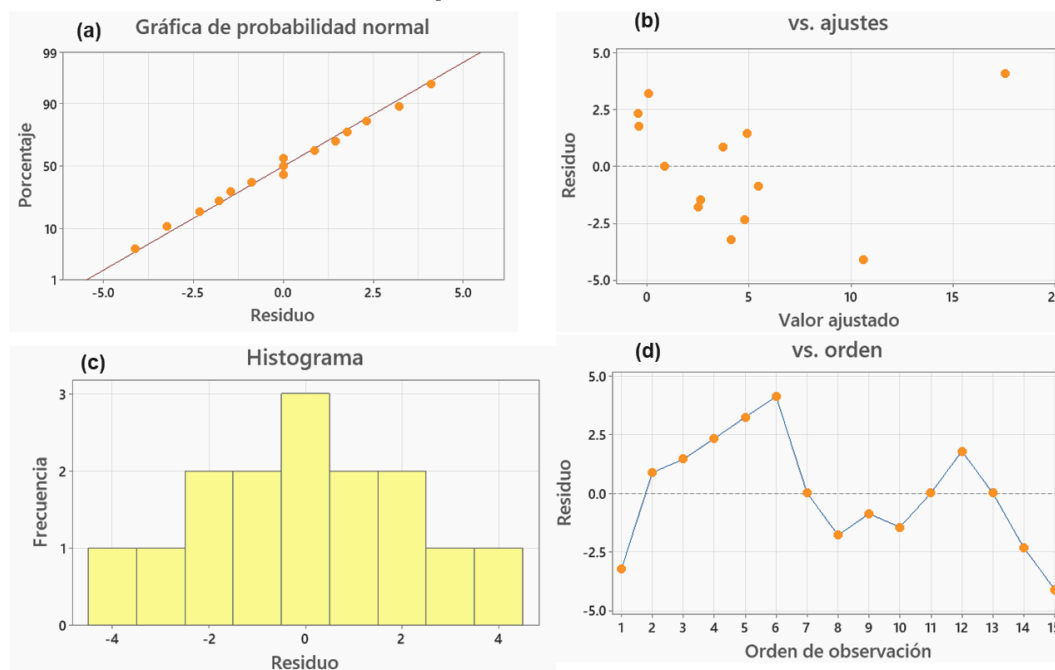


Figura 2. Gráficas de residuo para determinar si se cumplen los supuestos mínimos cuadrados ordinarios. (a) La línea recta graficada verifica la distribución normal de los datos. (b) 2 datos atípicos y significativos, demuestra que uno de los factores estudiados no es estadísticamente significativo. (c) Confirmación de la distribución normal de los datos. (d) La tendencia ascendente y descendente denotan nuevamente la insignificancia estadística de uno de los factores.

El análisis estadístico desglosado en las Figuras 1 y 2 demuestra la linealidad del método, y ejemplifica a partir de los diagramas de residuo vs orden, y de residuo vs ajustes, la violación al supuesto de linealidad en el método. Siendo el factor no significativo el responsable de los datos y forma atípica en ambas gráficas.

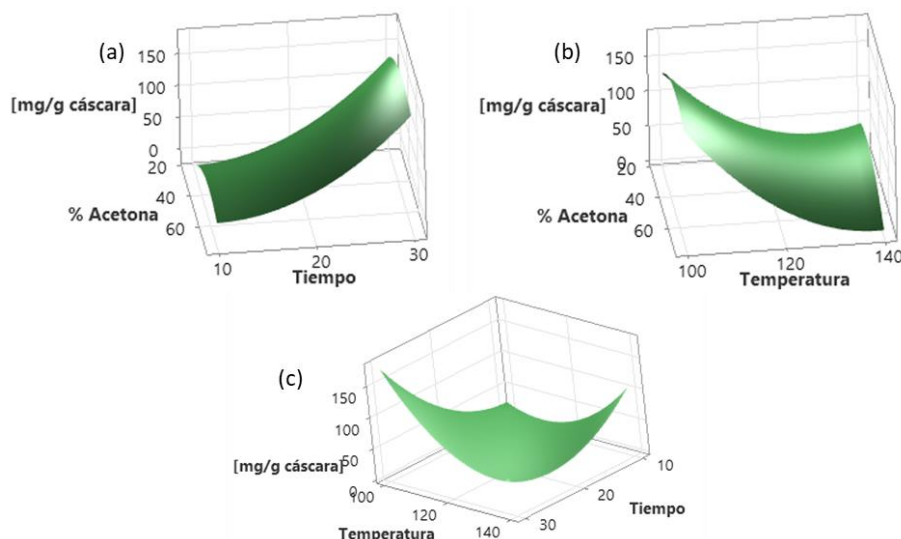


Figura 3. Gráficos de superficie. (a) Relaciona la concentración respecto al porcentaje de acetona vs tiempo de extracción. (b) Concentración respecto al porcentaje de acetona vs la Temperatura de extracción. (c) Concentración en función de la temperatura vs el tiempo de extracción.

El diagrama de superficie resumido en la Figura 3 sugiere en (a) que con tiempos más altos el rendimiento incrementa. (b) A temperaturas cercanas a 100°C, el rendimiento también aumenta. (c) La extracción se ve incrementada en las condiciones extremas de tiempo y temperatura, siendo 100 °C y 30 minutos las condiciones de mejor rendimiento. Todas las extracciones dieron mejores resultados con un 50% de acetona en hexano, debido a la polaridad de la acetona, que aumenta el calentamiento en microondas, y a la baja polaridad del hexano que permite solubilizar el limoneno. Esto concuerda con lo mencionado por Eskilsson *et al* y Shaw *et al* [8, 9], que reportan rendimientos más eficaces en mezclas 1:1 acetona-hexano.

En la Tabla 2 se presentan los extractos más concentrados en las diferentes condiciones empleadas.

Tabla 2. Comparación de extractos más concentrados a las 3 diferentes condiciones de % de acetona.

Condiciones de extracción	25% Acetona, 20 min, 140 °C	50% Acetona, 30 min, 100°C	75% Acetona, 20 min, 100°C
Concentración de limoneno [mg/g]	46	217	46

Hay una diferencia marcada en la concentración de limoneno obtenida con 50% acetona. Ya que con poca concentración de acetona el disolvente no es capaz de calentarse de manera uniforme por irradiación con microondas, incluso a la temperatura más alta. Esto se debe a que, solo la acetona es capaz de calentarse por la aplicación de microondas.

Por el contrario, con mucha acetona, la polaridad de la mezcla es mayor, imposibilitando la solubilización del limoneno, a pesar de alcanzar temperaturas más altas en menos tiempo [10].

Las condiciones optimizadas por el diseño Box-Behnken resultaron ser un 58.3% de acetona a 100°C por 30 min, con las cuales se obtuvieron 44 mg de limoneno por gramo de cáscara. Los resultados se compararon con un método validado con hexano puro como disolvente, irradiado con microondas por 30 min a 110°C en el que se obtuvo una recuperación de limoneno de 40 mg de limoneno por gramo de cáscara. Con ello se aprecia cómo, a pesar de ser resultados similares, el método propuesto tiene un rendimiento 10 % mayor que el método con hexano, lo que sugiere una mejor recuperación de limoneno bajo estas condiciones.

Conclusiones

La extracción de limoneno mediante microondas puede ofrecer rendimientos más altos si se logra mantener un calentamiento uniforme en todas las muestras durante todo el proceso.

Se lograron determinar dos condiciones favorables para una mayor extracción, siendo tiempos máximos (30 min) con temperaturas mínimas (100°C); y tiempos mínimos (10 min) con temperaturas máximas (140°C), todas utilizando una proporción de 50% de acetona en hexano como disolventes.

Agradecimientos

A las y los docentes de la asignatura del Laboratorio Integral de Básicas, así como a la Facultad de Química de la UAQ, ambos por permitirnos realizar el proyecto en sus instalaciones, de igual forma a amigos y familiares que nos alentaron cada día.

Referencias

- [1] A. Hamid Nour, A. Ruth Oluwaseun, M. Suliman Omer, & N. Ahmed. 2021. Microwave-Assisted Extraction of Bioactive Compounds (Review). Microwave Heating - Electromagnetic Fields Causing Thermal and Non-Thermal Effects
- [2] A. Franco-Vega, N. Ramírez-Corona, E. Palou, & A. López-Malo. 2016. Estimation of mass transfer coefficients of the extraction process of essential oil from orange peel using microwave assisted extraction. Journal of Food Engineering, 170, 136–143.
- [3] M. del C. Razola-Díaz, E. J. Guerra-Hernández, B. García-Villanova, & V. Verardo. 2021. Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil. Food Chemistry, 354, 129575.
- [4] S. A. Siddiqui, M. J. Pahmeyer, E. Assadpour, & S. M. Jafari. 2022. Extraction and purification of d-limonene from orange peel wastes: Recent advances. Industrial Crops and Products, 177, 114484.

- [5] T. M. Attard, B. Watterson., V. L. Budarin,. J. H. Clark. & A. J., 2014. Microwave assisted extraction as an important technology for valorizing orange waste. 38(6), 2278–2283.
- [6] K. Liu, W. Deng, W. Hu, S. Cao, B. Zhong, & J. Chun. 2019. Extraction of “Gannanzao” Orange Peel Essential Oil by Response Surface Methodology and its Effect on Cancer Cell Proliferation and Migration. *Molecules*, 24(3), 499.
- [7] H. Gutiérrez Pulido & R. De la Vara Salazar. 2012. Análisis y diseño de experimentos (2da ed., Capítulo 12, pp. 499-534). McGraw-Hill.
- [8] C. S. Eskilsson & E. Björklund. 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. 902(1), 227–250. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00921-3)
- [9] D. Shaw, A. D. Tripathi, V. Paul, A. Agarwal, P. K. Mishra, & M. Kumar. 2023. Valorization of essential oils from citrus peel powder using hydro-distillation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 32, 101036.
- [10] M. S. Kuk, R. M. Tetlow, & M. K. Dowd. 2005. Cottonseed extraction with mixtures of acetone and hexane. 82(8), 609–612.

REMOCIÓN DE Cu^{2+} EN AGUAS PURIFICADAS PROBENIENTES DEL POZO LEANDRO VALLE

B. D. Gómez Sánchez ^a, W. Sánchez Ortiz ^a, S. I. Rivera Hernández^b, Jorge Iván Aldana González^b, Manuel Eduardo Palomar Pardavé^b, Mario Alberto Romero Romo^b

^a División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Ecatepec, Estado de México, CP. 55210, México

^b Departamento de Materiales Área de Ingeniería de Materiales, Universidad Autónoma Metropolitana, Azcapotzalco, CDMX, CP. 02128, México

E-mail: williamso@tese.edu.mx Tel. 5518934478

Introducción

En la actualidad, existe una gran preocupación a nivel mundial, debido al considerable incremento en los índices de contaminación de efluentes industriales por parte de metales pesados tales como el cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio. Estas sustancias tóxicas tienden a persistir indefinidamente en el medio ambiente, comprometiendo el bienestar y equilibrio no solo de la fauna y la flora existente en dicho ecosistema, sino también la salud de las personas residentes en las comunidades aledañas, mediante su acumulación e ingreso a la cadena trófica. [1]

Debido a la actividad antropogénica que ha sufrido el Lago de Texcoco se han reportado resultados alarmantes de diversos contaminantes en las muestras de lodo tomadas por Universidad Autónoma de Chapingo, siendo estos sedimentos fuentes de metales tóxicos capaces de contaminar cuerpos de agua de la zona que es abastecida por el Lago de Texcoco [2]; al realizar análisis se encontraron resultados positivos para metales pesados, debido a la infiltración de agua y el contenido de metales del sedimento de Cu, Zn, Ni y Pb en el subsuelo del confinamiento obteniendo, obteniendo resultados cercanos al límite permitido por la norma mexicana NOM-127-SSA1-2021-DOF, [3].

Según 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, sin embargo, en la actualidad se reportan concentraciones de iones de metales pesados hasta de 450 ppm en los efluentes [4]. Sin embargo, aunque el subsuelo presenta un porcentaje de adsorción de metales es bueno, el problema es que la capacidad de adsorber el Cu no es la misma que los otros elementos [5]. Ya que el cobre, aunque es esencial para el funcionamiento normal del metabolismo en humanos, su consumo excesivo a través de aguas o bebidas contaminadas, puede producir náuseas, vómitos y/o dolor abdominal, pérdida del cabello, anemia y daños renal y hepático [6].

Es por ello que se ha investigado diferentes técnicas para remover cobre de aguas y suelos contaminados, donde se puede generar a partir de una precipitación química, el intercambio iónico, la adsorción, la filtración por membrana, las técnicas de tratamiento electroquímico, etc. [7], Siendo la última, una alternativa viable de bajo costo, rápida y amigable con el medio ambiente, en este trabajo se presenta la alternativa para reducir los niveles de cobre en el pozo Leandro Valle para generar sus consumo de una manera más segura.

Parte Experimental

Para la etapa experimental será dividida en 2 etapas, las cuales consistirán: La caracterización fisicoquímica de los principales parámetros sanitarios químicos del agua de pozo Leandro Valle. Para la segunda etapa se someterá a la remoción electroquímica del Cu^{2+} mediante técnicas electroquímicas.

Caracterización fisicoquímica

Se recolectaron 500 ml de agua de pozo hora con hora en el lapso de una jornada laboral completa, perteneciente al turno nocturno, ya que se considera el momento donde el pozo alcanza su máxima estabilización. Para el agua potable y de pozo se evalúan diferentes parámetros sanitarios químicos, principalmente dureza, alcalinidad y cloruros, estos se midieron mediante una titulación comparativa [1].

Tabla 1. Pruebas fisicoquímicas para determinar parámetros sanitarios.

Prueba	Condiciones
Dureza	Se tomaron 50 ml de agua en una probeta volumétrica, agregándola buffer para dureza COO_3 y 1 mg de negro de Eriocromo estos reactivos nos darán un color morado. Posteriormente se someterá a la titulación con EDTA, hasta obtener un color azul.
Alcalinidad	Se tomaron 100 ml de agua, se le agregaron 10 gotas de fenolftaleína y 10 gotas de naranja de metilo obteniendo un color naranja. Se sometió a la titulación con ácido sulfúrico al 0.1 M, hasta obtener un color rojo.
Cloruros	Se tomaron 100 ml de agua, se le agregaron 10 gotas de cromato de potasio obteniendo un color amarillo vibrante, Se tituló con nitrato de plata hasta obtener un color café.
Cloruros totales	Se tomaron 10 ml de la muestra, adicionando 5 gotas de yoduro de potasio, más 10 gotas de ácido fosfórico, otras 10 gotas de ácido clorhídrico y 10 gotas de almidón, en este caso como no existe presencia de cloro el resultado obtenido es incoloro.

Parámetros fisicoquímicos del pH y conductividad

Se monitorio de manera constante el pH y la conductividad, se evaluó 250 ml de agua con un potenciómetro, el equipo debe estar previamente calibrado para su uso, al realizar dicha calibración la slope de ser menor al 95% y programar a una temperatura de 25°C para el pH y 20°C para la conductividad.

Las concentraciones de metales pesados son componentes cuantificados mediante el uso de espectrofotometría, en este caso nos enfocamos únicamente en el Cu^{2+} .

Técnicas Electroquímicas

Para la aplicación de las técnicas electroquímicas se utilizó una celda típica de tres electrodos; como electrodo de trabajo carbón vítreo, como contra electrodo una barra de grafito y el electrodo de referencia $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{sat}$. Para determinar el potencial de reducción del cobre, se utilizó la voltamperometria cíclica.

Posteriormente se aplicara la técnica electroquímica para la realización de la remoción del cobre, a partir de los resultados obtenidos de la voltamperometría.

Resultados y Discusión

A partir de la caracterización fisicoquímica del agua de pozo realizada en el laboratorio, se reportan resultados favorables para la gran mayoría de los componentes sanitarios químicos (Tabla 2), mismos que son comparados con los [2] límites máximos y mínimos permisibles según la NOM-127-SSA1-2021-DOF. Se tiene un pH promedio de 7.2 el cual nos da información general de que el pozo se encuentra en las condiciones de idealidad para suministrar este vital líquido al consumo humano, para el caso de la conductividad nos da resultados de 280 $\mu\text{m/L}$ en promedio. [8] Este parámetro al igual que el pH nos da una información general del contenido sanitario químico por lo que se entiende no es un agua naturalmente dura (alto contenido de sales); por lo que no sorprende que los [2] parámetros de alcalinidad y dureza se encuentren muy por debajo de la norma mexicana. Sin embargo, [2] el Cu^{+2} se observa muy cercano al límite máximo permitido LMP por la norma mexicana, aunque en comparación a las normas internacionales se encuentra por arriba de los LMP, por lo que es un parámetro que según los sistemas de gestión de la inocuidad generan una alarma a monitorear frecuentemente y controlar; la electroquímica es una opción favorable para la solución de ambos problemas, mediante una voltamperometría se puede reducir el Cu^{+2} , mientras que para la caracterización del proceso redox es posible determinarlo mediante una cronoamperometría cíclica.

Tabla 2. Resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica del agua de pozo

Perfil fisicoquímico	Límite permisible	Intervalo de concentración
Dureza	200 mg/L	70 mg/L
Alcalinidad	500 mg/L	130 mg/L
Cloruros	35 mg/L	15 mg/L
pH	6.5-8.5	7.2
Conductividad	200 $\mu\text{m/L}$ -380 $\mu\text{m/L}$	280 $\mu\text{m/L}$
Cu^{+2} (espectrofotometría)	2.00 mg/L	2.00 mg/L

Se comparan los resultados obtenidos con los límites permisibles indicando que los parámetros fisicoquímicos (Tabla 2) se encuentran muy por debajo del LMP, a partir del estudio se encuentra una estabilidad química de los componentes, la dureza y alcalinidad nos indican que es un agua de naturaleza blanda y que puede ser sometida a un proceso de potabilización sencillo para su consumo humano. No es necesario eliminar los componentes con un sistema sofisticado como puede ser el uso de la osmosis inversa. Para el caso de los cloruros que se define como un electrolito (un ion cargado negativamente), se encuentra en una cantidad casi mínima; finalmente el cloro total no se encuentra presente.

Tabla 3. Resultados de los principales parámetros sanitarios químicos.

Componente	Volumen de las muestras (ml)	Gasto del titulante (ppm)	Color del analito
Dureza	50	55	Azul
Alcalinidad	100	120	Rojo
Cloruros	100	35	Café
Cloro total	10	Sin presencia	Incoloro

En la Figura 1, se observa el comportamiento del pH y de la conductividad que presenta el pozo Leandro Valle tiene un comportamiento estable y constante, como ya se había mencionado este es el parámetro principal a monitorear en este tipo de procesos ya que nos genera información esencial de las condiciones del pozo, al conocer los valores de la conductividad podemos conocer los sólidos totales al ser tan bajos, se vuelve a afirmar que un proceso electroquímico para la remoción sería suficiente para cumplir el objetivo de la reducción del Cu^{+2} .

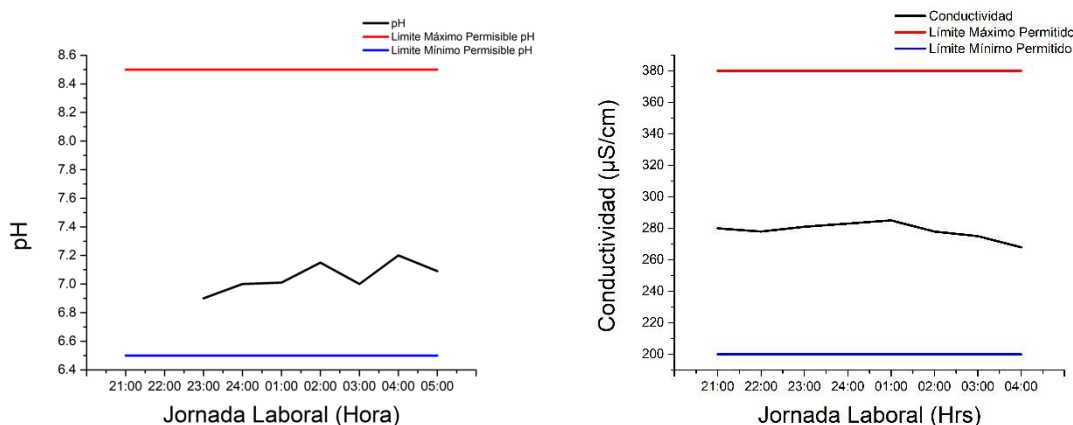


Figura 1. Comportamiento del pozo Leandro Valle a) pH y b) conductividad

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos del perfil fisicoquímico del agua se afirma que cumple adecuadamente con los parámetros de las normas mexicanas en sus componentes sanitarios químicos, tales como: alcalinidad, dureza, cloruros, pH, conductividad y sólidos totales, por lo que sería conveniente centrarnos en un método electroquímico únicamente para la recuperación del Cu^{+2} y ligandos, ya que este método no modificaría la naturaleza del agua de pozo ni se complicaría el proceso de potabilización en el agua purificada para consumo humano. La utilización de métodos electroquímicos nos permite cumplir con el objetivo de remover diversos metales pesados pero también nos ayuda a generar una caracterización específica de los metales tóxicos debido a su alta sensibilidad, además de que estas técnicas son consideradas económicas, de fácil

aplicación y contribuyen a la optimización del proceso, ya que el tiempo de contacto para la remoción del Cu^{+2} sería corto.

Agradecimientos

Externo mi gratitud al Dr. W.S.O por su compromiso y apoyo, aprovechando para mencionar su gran dedicación a la investigación y docencia. Así como al Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec por la oportunidad de desarrollarme profesionalmente en esta respetable casa de estudios, reconociendo también el apoyo recibido al Tecnológico de Estudios Superiores de Chimalhuacán por prestarme sus instalaciones en la realización de la primera caracterización fisicoquímica del agua.

Referencias

- [1] Red del Agua UNAM, C. T. (s. f.). *Noticias Nacionales - Abril 2018 II RAUNAM*. Unam.mx. Recuperado 10 de agosto de 2023, de http://www.agua.unam.mx/noticias/2018/nacionales/not_nac_abril19_2.html
- [2] DOF - Diario Oficial de la Federación. (s. f.). Gob.mx. Recuperado 11 de agosto de 2023, de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5650705&fecha=02/05/2022
- [3] Carranza-Edwards, A. (2018). Correlación litológica del subsuelo del lago de Texcoco. *Hidrobiológica*, 28(1), 93-101. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972018000100093
- [4] Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnológicas*, 18(34), 109-123. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-77992015000100010
- [5] Rodríguez-Gámez, O., Pérez-Macías, R., Aguilera-Rodríguez, I., Pérez-Silva, R. M., & Abalos-Rodríguez, A. (2020). *Remoción de cobre de aguas contaminadas empleando ramnolípidos*. Redalyc.org. <https://www.redalyc.org/journal/4435/443565548010/html/>
- [6] Victorava, L. F., & Feoktistova, Y. C. (s. f.). *Metabolism of copper. Its consequences for human health*. Sld.cu. Recuperado 7 de agosto de 2023, de <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n4/ms13416.pdf>
- [7] Varón-Hoyos, M., Restrepo-Victoria, Á., & Guerrero-Erazo, J. (2019). Agua potable para uso doméstico: análisis del ciclo de vida y de escenarios hipotéticos de manejo ambiental para la ciudad de Pereira, Colombia. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 18(35), 13-31. <https://doi.org/10.22395/rium.v18n35a2>
- [8] Soto, J. (2009). La dureza del agua como indicador básico de la presencia de incrustaciones en instalaciones domésticas sanitarias. Redalyc.org. <https://www.redalyc.org/pdf/404/40412515004.pdf>

APLICACIÓN DE UN MÉTODO DE MIL'S-DLLME PARA LA DETERMINACIÓN DE PARABENOS EN MUESTRAS DE CUIDADO PERSONAL

Emilio Muñoz Pineda^a, Rocío Castro Ríos^a, Abelardo Chávez Montes^b, Graciela Granados Guzmán^a, Norma C. Cavazos Rocha^a, Noemí Waksman Minsky^a, Marsela Garza Tapia^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina, Departamento de Química Analítica. Av. Francisco I. Madero s/n, C.P. 64460, Monterrey, Nuevo León, México. Tel. +52(81)83294185. *marsela.garzatp@uanl.edu.mx

^b Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química. Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

Introducción

Los conservadores son uno de los grupos más importantes de aditivos, ya que estos tienen como función prevenir, retrasar o detener la degradación de los alimentos causados por algunos microorganismos o enzimas [1].

Los parabenos son alquil ésteres del ácido p-hidroxibenzoico que se emplean ampliamente en la conservación de alimentos, fármacos y cosméticos, debido a su alta estabilidad a diferentes pH's y su función antimicrobiana de amplio espectro [2], los cuales múltiples ocasiones se utilizan en mezcla de estos con el fin de obtener un mayor campo de inhibición microbiana [3], por lo que el análisis simultáneo de este grupo de compuestos es importante.

En la actualidad estos compuestos han incrementado el interés de diversos grupos de investigación, ya que, se observó una asociación en la disrupción en el sistema endócrino y la aparición de cáncer de mama en pacientes que utilizaban productos con dichos conservantes [3].

La Microextracción Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) basada en el uso de un sistema ternario de solventes [4] ha demostrado ser una técnica capaz de extraer y preconcentrar al analito, de forma simple, rápida y con una alta eficiencia de extracción [5].

Por su parte, el uso de líquidos iónicos ha tomado importancia ya que han demostrado ser disolventes respetuosos con el medio ambiente para muchos procesos sintéticos y catalíticos, lo que ha impulsado su uso para sustituir a los disolventes orgánicos volátiles en diferentes técnicas de microextracción en fase líquida [6]. En este trabajo se presenta la aplicación de un método de Microextracción Líquido-Líquido Dispersiva con mezcla de líquidos iónicos (MIL's-DLLME) para la determinación de parabenos en muestras de productos de cuidado personal.

Parte experimental

Reactivos

Para el desarrollo del trabajo se utilizaron estándares de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno y bencilparabeno (Sigma Aldrich).

Líquidos iónicos: Tetrafluoroborato de 1 -decil-3-metilimidazolio (DMIM-BF₄), tetrafluoroborato de 1 -etil-3-metilimidazolio (EMIM-BF₄) ambos de Iolitec.

Ácido fórmico (Sigma Aldrich), acetonitrilo grado HPLC (JT Baker) y agua desionizada, obtenida de un purificador de agua Purelab Flex (Elga Veolia).

Análisis cromatográfico

Para determinar la presencia de parabenos en las muestras seleccionadas para este estudio, se utilizó un método cromatográfico, previamente desarrollado y validado por nuestro grupo de trabajo. Los análisis se llevaron a cabo empleando un cromatógrafo de líquidos (Serie 1100, Hewlett Packard) equipado con desgasificador en línea, automuestreador, horno para columna y detector UV-Vis de longitud de onda variable. La columna empleada fue una Discovery HS-F5-3 (15 cm x 2.1 mm, 3 μ m; Supelco), la cual se mantuvo a 45 °C. La elución se llevó a cabo en modo gradiente empleando como fase móvil una mezcla de solución acuosa de ácido fórmico 0.1 % y acetonitrilo a un flujo de 0.2 mL/min; siguiendo el siguiente programa de gradiente: inicio 40 % de acetonitrilo (durante 10 min), se incrementó a 80 % en 2 min y se mantuvo por 3 min más, posteriormente regresa a las condiciones iniciales en 1 min dejando acondicionar la columna por 9 min.

El volumen de inyección fue de 3 μ L y la longitud de onda de análisis fue de 254 nm.

MIL's-DLLME

Cuatro muestras de productos de cuidado personal (3 enjuagues bucales y un desodorante líquido) adquiridos en supermercados locales, fueron empleadas para este estudio.

La Microextracción líquido-líquido dispersiva con mezcla de líquidos iónicos se llevó a cabo empleando un método previamente optimizado en nuestro laboratorio. Para esto, 5 mL de la muestra fueron tomados y llevados a un volumen total de 50 mL empleando un buffer de formiatos a pH 3; posteriormente 5 mL de esta solución de trabajo fueron colocados en tubos de vidrio cónicos para centrifugación. Una vez colocado el volumen de la solución en los tubos una mezcla de 50 μ L de DMIM-BF₄ (extractante) y 125 μ L de EMIM-BF₄ (dispersante) fueron medidos e inyectados en el seno de la solución con ayuda de un microjeringa. Después de 5 min los tubos fueron llevados a centrifugación durante 10 min a 3000 rpm a una temperatura de 25 °C.

Una vez concluida la centrifugación la fase extractante depositada en el fondo del tubo fue removida con una microjeringa y 15 μ L de esta fueron resuspendidos a un volumen total de 250 μ L en una mezcla agua:acetonitrilo (40:60), para su posterior introducción al cromatógrafo de líquidos; todas las muestras se analizaron por triplicado.

Para las muestras que presentaban color, se probó la extracción a la muestra tanto coloreada como clarificada. La clarificación se hizo tomando 20 mL de la muestra y colocando 0.4 g de carbón activado en el recipiente que la contenía, este fue agitado durante 5 min con ayuda de un vortex, para posteriormente ser filtrada.

Resultados y Discusión

Los parabenos incluidos en este trabajo (metil, etil, propil, butil y bencilparabenos) son ésteres del ácido 4-hidroxibenzoico, los cuales son empleados como conservadores en productos de cuidado personal [7]. Su amplio uso, su relación con problemas de salud asociados a la disrupción endócrina [8] y su presencia en fuentes de agua como contaminantes emergentes [7]; aunado a la baja regulación que hay para algunos de ellos en muchos países, convierte su identificación y cuantificación en un punto de interés para la Química Analítica.

Cuatro muestras de cuidado personal adquiridas en supermercados locales fueron seleccionadas y nombradas del 1 al 4. Las muestra 1, 2 y 3 correspondieron a enjuagues bucales de diferentes marcas y etiquetados, las cuales declaraban la presencia de diferentes parabenos en sus formulaciones. La muestra 4 se trataba de un desodorante líquido el cual declaraba ser libre de parabenos.

Las muestras 1 y 4 no presentaban color, mientras que las muestras 2 y 3 tenían un color azul intenso.

Previo a la extracción, las muestras coloreadas fueron sometidas al proceso de clarificación empleando carbón activado como se describen en la sección anterior con la finalidad de que los compuestos coloreados no interfirieran tanto en el proceso de extracción como en el análisis cromatográfico. Además, una mezcla de la solución estándar de parabenos (2 mg/mL) fue tratada y analizada al igual que las muestras como referencia a los tiempos de retención de los analitos involucrados en el estudio.

El método de MIL's-DLLME empleado fue desarrollado y optimizado previamente en nuestro laboratorio y comparado con otros métodos de DLLME los cuales empleaban al menos un líquido iónico en su sistema ternario, demostrando este menores valores de %DER que los métodos reportados, además de ser útil para la extracción de los 5 parabenos incluidos en el estudio [9].

La muestra 1 declaraba en su etiquetado la presencia de metil parabeno, mientras que las muestras 2 y 3 mencionaban que contenían metil y propil parabeno.

En la figura 1 se muestran los cromatogramas de la extracción a la solución estándar de la mezcla de parabenos, así como la extracción por triplicado de la muestra 1 en la cual se puede observar por la superposición de los cromatogramas la reproducibilidad del método de extracción en muestras reales, mostrando un %DER del área de la señal cromatográfica de 10.4% para la recuperación del metilparabeno, el cual fue extraído exitosamente de la muestra.

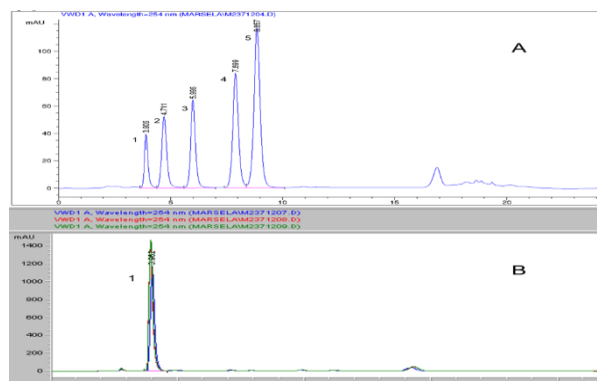


Figura 1. Cromatogramas obtenidos para: A) Una solución estándar de parabenos a una concentración de 2 mg/mL y B) Muestra 1 (enjuague bucal) ambos empleando el método de MIL´s-DLLME y cromatografía descritos. 1. Metilparabeno, 2. Etilparabeno, 3. Propilparabeno, 4. Butilparabeno, 5. Bencilparabeno.

En cuanto a las muestras 2 y 3, estas muestras como se mencionó anteriormente contenían color por lo que se llevó a cabo el proceso de MIL´s-DLLME tanto para la muestra coloreada original, como para la muestra clarificada; con la finalidad de observar la diferencia en la recuperación de los parabenos declarados en el etiquetado de las mismas, los resultados de dicha comparación se observan en la figura 2. Donde claramente se puede observar que la señal de los parabenos contenidos en la muestra disminuye considerablemente en la muestra clarificada con carbón activado, por lo cual es probable que la parte de los analitos estén siendo retenidos por este durante el proceso de clarificación, sin embargo, es importante resaltar que al hacer la extracción de la muestra original la señal del propil parabeno (3) se solapa con la señal de otro componente de la mezcla, el cual en la muestra clarificada no se observa, por lo que resultaría interesante analizar si aún con la retención de los analitos de interés en el carbón activado el uso de este sería recomendable al hacer más selectiva la identificación del propil parabeno y con ello su posible cuantificación empleando el sistema de detección de nuestro método.

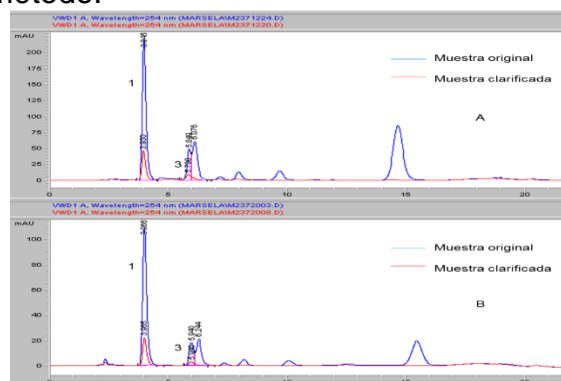


Figura 2. Cromatogramas obtenidos para: A) Muestra 2 (enjuague bucal) coloreada de MIL´s-DLLME y B) Muestra 3 (enjuague bucal) coloreada y clarificada ambos empleando el método de MIL´s-DLLME y cromatografía descritos. 1. Metilparabeno, 3. Propilparabeno.

Por último, una muestra de un desodorante líquido (muestra 4) sin color y el cual declaraba no contar con la presencia de parabenos en su formulación fue analizada. En la figura 3 se muestran los resultados obtenidos en la extracción de la muestra original, así como de la misma muestra adicionada con la mezcla de parabenos a una concentración de 2 mg/mL. En el análisis de la muestra se observa una señal con tiempo de retención similar al etil parabeno, por lo que se decidió analizar esta muestra en un cromatógrafo con detector de arreglo de diodos donde podemos observar que la señal con tiempo de retención similar al etil parabeno no corresponde al mismo, al presentar un espectro de UV completamente diferente al de este compuesto, tratándose así de otro componente de la muestra el cuál es extraído por nuestro método de MIL's-DLLME.

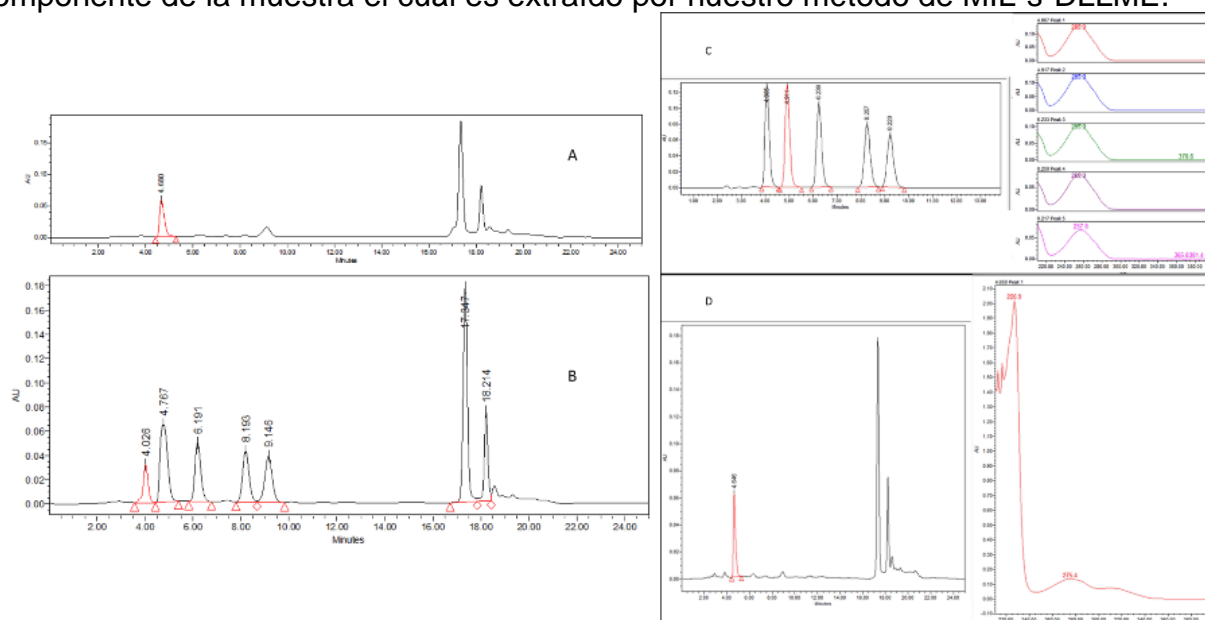


Figura 3. Cromatogramas obtenidos para: A) Muestra 4 (desodorante líquido) B) Muestra 4 adicionada con una mezcla de estándares de parabenos a 2 mg/mL ambos empleando el método de MIL's-DLLME y cromatografía descritos, C) Mezcla de parabenos junto a los espectros de UV de cada una de las señales y D) Muestra 4 junto al espectro de UV de la señal con tiempo de retención 4.66 min. *De ser posible, sería deseable que aumentará el tamaño de la figura 3, ya que no se alcanzan a distinguir con claridad los valores numéricos de los ejes en cada gráfico*

Conclusiones

El método de MIL's-DLLME optimizado con anterioridad por nuestro grupo de trabajo es aplicable en la recuperación de parabenos de muestras reales de cuidado personal, tales como enjuagues bucales y desodorantes líquidos. Es importante resaltar que este método nos permite recuperar de forma simple y rápida este tipo de compuestos de las muestras con o sin tratamiento previo de las mismas, considerando que la composición de dichas muestras es principalmente acuosa.

El método además de ser simple y rápido, consume una cantidad de reactivos sumamente bajo, generando una cantidad de residuos mínima. Además, de que el empleo de líquidos iónicos en el sistema ternario de disolvente, permite tener una buena reproducibilidad gracias a su baja volatilidad.

El método de MIL's-DLLME podría ser una alternativa para el rastreo de parabenos en diferentes tipos de muestras tanto de productos de cuidado personal, como de origen medioambiental.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Autónoma de Nuevo León por su apoyo con el Programa de Verano Científico y Tecnológico de Investigación, así como con el Programa de Apoyo a la Ciencia Tecnología e Investigación 2023.

Referencias

- [1] Badui Dergal S. Química de los alimentos. PEARSON Addison Wesley, 4a Edición, 738 (2006).
- [2] Wei H, Yang J, Zhang H, Shi Y. Chemical Research in Chinese Universities, **30(3)**, 368–73 (2014).
- [3] Jain R, Krishna M, Mudiam R, Chauhan A, Ch R, Murthy RC, et al. Food Chemistry, **141 (1)**, 436–43 (2013).
- [4] Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, MR., Aghaee, E., Ahmadi, F., et al. Journal of Chromatography A **1116 (1-2)**, 1-9 (2006).
- [5] Ocaña-González JA, Villar-Navarro M, Ramos-Payán M, Fernández Torres R, Bello-López MA. Analytica Chimica Acta, **858(1)**, 1 –15 (2015).
- [6] Khani R, Ghasemi JB, Shemirani F. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, **122**, 295–303 (2014).
- [7] Ramos-Payan M., MasPOCH S., Llobera A. Talanta, **165**, 496-501 (2017).
- [8] Zheng L, Wang H, Lv Q, Shen X, Liang J. Journal of Separation Science, **40 (22)**, 4385-93 (2017).
- [9] Garay Obregón Gabriel Omar (2020). Desarrollo de un procedimiento de microextracción líquido-líquido dispersiva empleando líquidos iónicos para la determinación de parabenos. Tesis de Licenciatura. UANL.

DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA EXTRACCIÓN DE As(V) POR SISTEMAS ACUOSOS DE DOS FASES FORMADOS POR POLÍMERO/SAL

Isaac Damián Hernández González^a, Teresa Alejandra Razo Lazcano^a, María Del Pilar González Muñoz^a, Julio César Armas Pérez^b, José Antonio Reyes Aguilera^b, Guadalupe Falcon Millán^{a*}

^aCerro de la Venada s/n, Pueblito de Rocha. C.P. 36030. Guanajuato, Guanajuato. ^bLomas del Bosque 103, Lomas del Campestre. C.P. 37150. León, Guanajuato.
e-mail: id.hernandezgonzalez@ugto.mx, g.falcon@ugto.mx

Introducción

La contaminación del agua ya sea por causas antropogénicas o fuentes naturales, se ha convertido en una preocupación ambiental importante en diferentes partes del mundo. La problemática mayor de esta contaminación es que la población de varios países está expuesta a altos niveles de arsénico (As) a través de la toma de aguas subterráneas ricas en As [1].

El arsénico, un conocido carcinógeno, se considera uno de los productos químicos más peligrosos del mundo, consumirlo o ingerirlo en alimentos o bebidas puede causar enfermedades y problemas de salud como arsenicosis un nombre común generalmente utilizado para problemas de salud relacionados con As, el cual puede tener síntomas como: trastornos de la piel, cánceres de piel, cánceres internos enfermedades de los vasos sanguíneos de las piernas y los pies, posiblemente diabetes, aumento de la presión arterial, y trastornos reproductivos entre otros [2].

Sabiendo lo anterior es de vital importancia implementar métodos para “purificar” o remover el arsénico del agua, actualmente existen varios métodos para realizar estos tratamientos de agua. Por mencionar algunos se tiene: oxidación, coagulación-floculación y adsorción [3].

Las técnicas mencionadas anteriormente requieren tiempos de operación largos y costosos, utilizan cantidades importantes de otros compuestos químicos tóxicos y constan de varias etapas en el proceso para lograr remover el As.

En la actualidad existen sistemas bifásicos comúnmente formados por dos polímeros (generalmente polietilenglicol (PEG) y dextrano) o un polímero y una sal (por ejemplo, fosfato, sulfato o citrato) [4,5]. Estos sistemas están basados en la técnica de extracción líquido-líquido y han ganado interés debido al gran potencial para la extracción, separación, purificación y enriquecimiento de biomoléculas. Aunque, el comportamiento de partición involucrado en el método es complejo y difícil de predecir.

Por estas razones hemos decidido optar por un método eficaz, simple y amigable con el medio ambiente basado en los sistemas acuosos de dos fases (ATPS, por sus siglas en inglés Aqueous Two-Phase Systems) para lograr extraer As(V) hacia la fase polimérica.

Parte Experimental

Se trabajó con PEG de peso molecular 400 g/mol, sulfato de sodio (Na_2SO_4), fosfato ácido de sodio (Na_2HPO_4), arseniato de sodio (Na_2HAsO_4) y ácido nítrico (HNO_3) para ajustar el pH.

Preparación de ATPS

En esta primera parte de la experimentación se utilizó PEG 400 g/mol para preparar la solución polimérica, la cual está compuesta por una considerable concentración de PEG y una pequeña concentración de la sal de sodio (Na_2SO_4 o Na_2HPO_4), la solución salina está compuesta por una considerable concentración de la sal de sodio correspondiente, H_3AsO_4 (obtenido de la modificación de pH con HNO_3 de la sal Na_2HAsO_4) en las siguientes concentraciones: 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.5 y 1 M y una pequeña concentración de PEG 400. Ambas soluciones se ponen en contacto durante 45 minutos a agitación constante de tipo ping-pong a 135 rpm. Después se espera a que se formen las dos fases acuosas y se llegue al equilibrio para finalmente caracterizar cada fase.

Resultados y Discusión

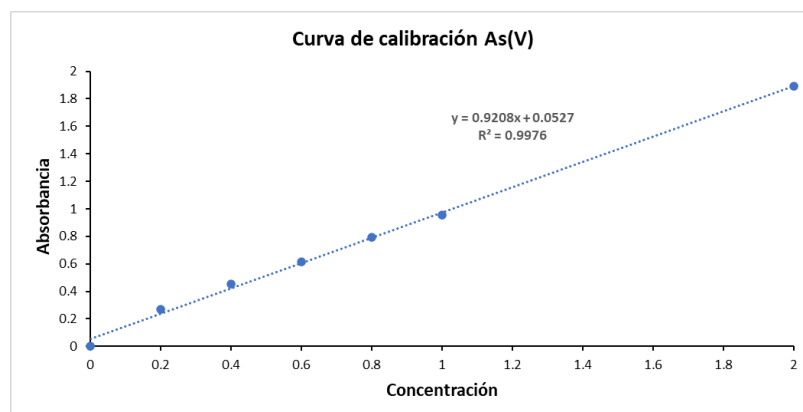


Figura 1. Gráfico de curva de calibración de As(V).

En la Figura 1. Se presenta la curva de calibración realizada para la determinación de la concentración de As(V) en cada una de las fases de los ATPS con una tendencia lineal. Es importante mencionar que se trabajó con la especie neutra H_3AsO_4 presente en la solución salina, ya que el PEG al no tener carga podría interactuar con la especie neutra por algún mecanismo de solvatación. Por lo que en la siguiente tabla se presentan los resultados de la cuantificación de As(V).

Tabla 1. Concentración de As(V) en fase polimérica y fase salina de los ATPS. Valores de coeficiente de distribución de As(V) y porcentaje de extracción de As(V)

Concentración As(V) inicial (M)	Concentración As(V) Fase polimérica (ppm)	Concentración As(V) Fase Salina (ppm)	Relación de Distribución (D)	Porcentaje de extracción de As(V)
0.05M	454	512	0.89	54.93
0.10M	824	1104	0.75	50.67
0.15M	1287	1933	0.67	47.79
0.20M	1877	2320	0.81	52.66
0.25M	2537	2798	0.91	55.48
0.50M	11276	20417	0.55	43.16
1M	26341	45600	0.58	44.27

Los porcentajes de extracción de As(V) utilizando ATPS de PEG 400 y Na₂SO₄ muestran valores dentro del rango de 43 a 55.5% de remoción. No existe como tal una tendencia de acuerdo con el aumento en la concentración inicial de As(V) como se esperaría que fuera al aumentar la concentración de éste. Sin embargo, se obtienen resultados importantes e interesantes ya que a concentraciones menores de As(V) de 0.05 y 0.10 M se obtienen porcentajes de extracción de 55 y 50% respectivamente en una sola etapa, y en realidad el agua contaminada con As(V) llega a tener concentraciones del orden de 20 a 50 ppm o mayores por lo que 0.05 M de As(V) cubre ese orden de concentraciones. Lo que puede estar ocurriendo es que la relación de volúmenes de las fases cambia con respecto a los volúmenes iniciales que se ponen en contacto, es una de las diferencias y distinciones que tienen este tipo de sistemas con respecto a la extracción líquido-líquido convencional, y esas diferencias importantes en los volúmenes impactan en las concentraciones de As(V) y por lo tanto en el porcentaje de extracción. Aunado a esto existe la posibilidad que la presencia de especies iónicas de arsénico pueda estar presentes en las fases debido al cambio en el pH que se da al poner en el medio el PEG y el Na₂SO₄, el cambio es ligero, de aproximadamente valores de 2.3 pero tomando en cuenta los pKa's del H₃AsO₄ (pKa1: 2.26, pKa2: 6.76 y pKa3: 11.3), la presencia de la especie H₂AsO₄⁻ ya está presente en las fases y en esta forma ya no interacciona con el PEG. Aún hay muchos estudios por hacer para lograr tener una explicación completa del comportamiento del proceso de extracción de As(V) utilizando estos sistemas bifásicos.

Conclusión

Se lograron formar los ATPS y en la caracterización de las fases se pudieron determinar porcentajes de extracción de hasta el 55% de As(V) en una sola etapa utilizando ATPS formados por PEG 400 g/mol y Na₂SO₄ con 0.25 M de H₃AsO₄ agitando por 45 minutos.

Agradecimientos

Se agradece al departamento de química por la aportación de material y espacio para llevar a cabo esta investigación, a la Dra. Guadalupe Falcon Millán por darme la oportunidad y apoyo de realizar esta investigación, y a la Dra. María del Pilar González Muñoz por su aportación de conocimiento para realizar esta investigación.

Referencias

- [1] Shiv Shankar, Uma Shanker, undefined Shikha, "Arsenic Contamination of Groundwater: A Review of Sources, Prevalence, Health Risks, and Strategies for Mitigation", The Scientific World Journal, vol. 2014, Article ID 304524, 18 pages, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/304524>
- [2] V. Hopp. "Fundamentos de Tecnología Química". Ed. Reverté, 1ª Edición. Barcelona. 1984. p. 285-289.
- [3] N.S. Awwad, Y.A. El-Nadi, M.M. Hamed. "Successive processes for purification and extraction of phosphoric acid produced by wet process". Chem. Eng. Process. 74. 2013.69-74.
- [4] R. Kijkowska, D. Pawlowska-Kosinska, Z. Kowalski, M. Jodko, Z. Wzorek. "Wet-process phosphoric acid obtained from Kola apatite. Purification from sulfates, fluorine and metals". Separation and Purification Technology 28. 2002. p. 197-205.
- [5] Benavides, J., M. Rito-Palomares. "Practical Application of Aqueous Two-Phase Partition to Process Development for the Recovery of Biological Products". Journal of Chromatography B.807. 2004. p. 3-11.