

# CARRERAS



Química de Alimentos



Química



Química Farmacéutica



Bioquímica Clínica



# SERVICIOS



Laboratorio de Alimentos OSP



Laboratorio de Química Ambiental OSP



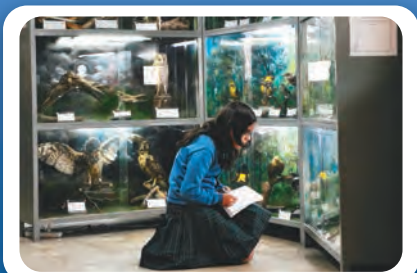
Laboratorio Clínico y Bacteriológico



Laboratorio Microbiológico OSP



CENTRO DE INFORMACIÓN DE MEDICAMENTOS Y TÓXICOS



Museo de Historia Natural



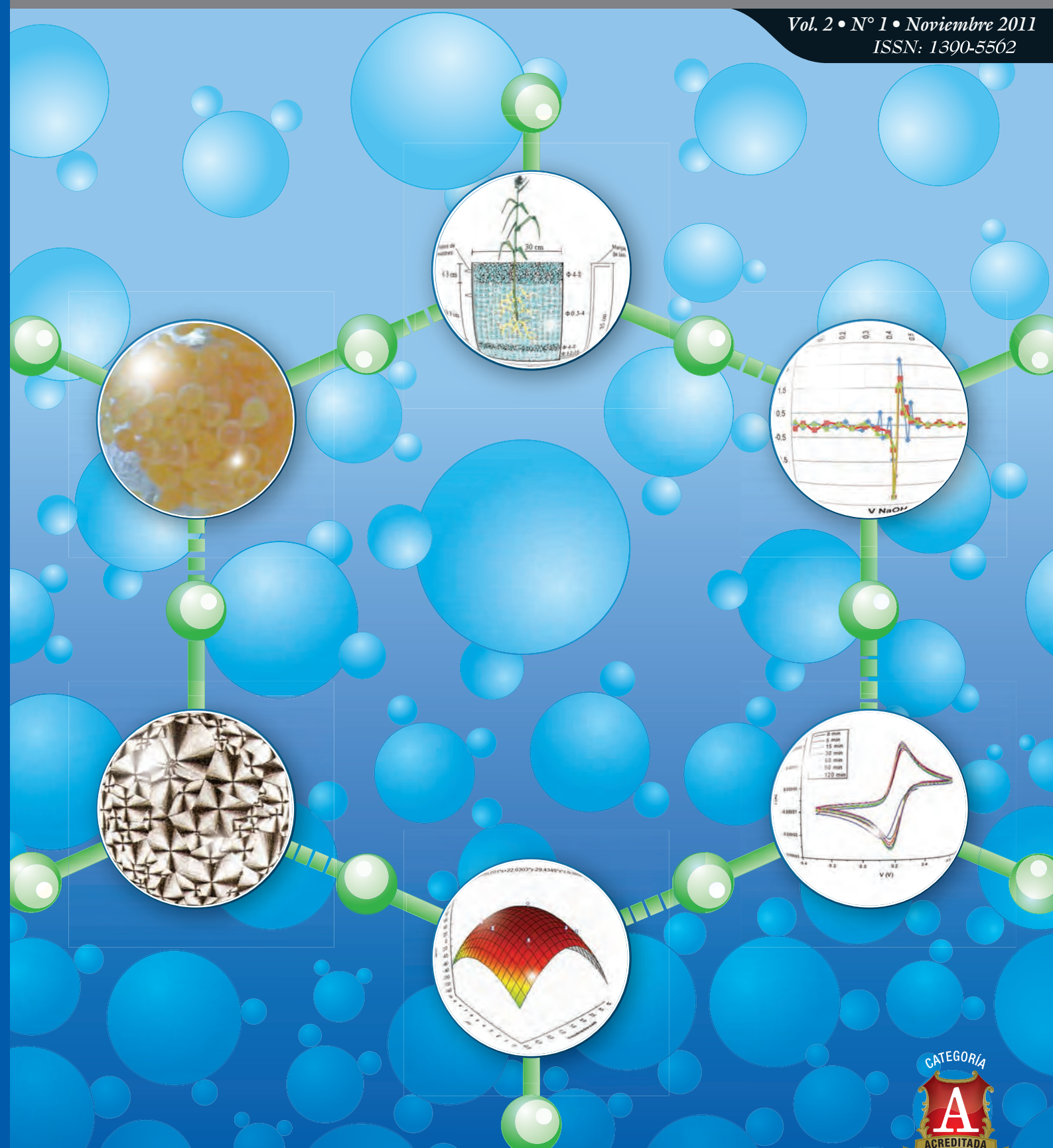
Instituto de Investigación y Postgrado

# Química Central



Revista de la Facultad de Ciencias Químicas  
Universidad Central del Ecuador

Vol. 2 • N° 1 • Noviembre 2011  
ISSN: 1300-5562





# CONTENIDOS

<b>Presentación</b> .....	<b>1</b>
<b>Desarrollo de un Método Micropotenciométrico de bajo costo para la Determinación de Acidez Valorable</b> .....	<b>3</b>
<i>William Calero Cáceres, Pablo Bonilla</i>	
<b>Desarrollo y Validación de un Método Espectrofotométrico para Cuantificación de Claritromicina en Comprimidos</b> .....	<b>13</b>
<i>Andrea Cumba, Carlos Calderón</i>	
<b>Optimización del Proceso de Adsorción de Plomo con Quitosano Modificado para ser Utilizado en el Tratamiento de Aguas</b> .....	<b>19</b>
<i>C. Gisela Dávila Molina, Pablo Bonilla</i>	
<b>Remoción de Fósforo en un Sistema de Humedales Artificiales a Escala de Laboratorio</b> .....	<b>25</b>
<i>María Ivonne Reyes Luz, Alejandro Guido Zárate, Sonia Gabriela Carrillo Núñez, Carmen Durán de Bazúa</i>	
<b>Estudio Electroquímico de Monocapas Autoensambladas de Cisteamina Funcionalizadas con 6-metil-2-piridincarboxaldehído</b> .....	<b>33</b>
<i>Ibeth Rendón Enríquez, Julio César Aguilar Cordero</i>	
<b>Cristalización y Plastificación de Margarina Industrial para Panificación</b> .....	<b>39</b>
<i>Yolanda Salas Sotaminga, Iván Tapia, Marcelo Garzón</i>	
<b>Utilización de Residuos de Café Tostado y Molido como Bioadsorbente para la Remoción de Arsénico (V) en Agua</b> .....	<b>49</b>
<i>Erika Tingo Proaño, Ramiro Acosta</i>	
<b>Instrucciones para los autores</b> .....	<b>61</b>

## QUÍMICA CENTRAL

QUÍMICA CENTRAL (ISSN 1390-5562), Volumen 2, Número 1, noviembre 2011. Revista científica bianual de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador. El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja el punto de vista de la Facultad de Ciencias Químicas. Tiraje: 1500 ejemplares. Dirección: Instituto de Investigación y Postgrado, calle Jerónimo Leyton (detrás del Hospital del Día), Ciudadela Universitaria, Quito. Teléfonos: (593 2) 3216 975 / 2523 710 / 2500 409. Apartado postal: 17-03-1369, Quito-Ecuador.

Sitio Web:  
<http://fcqcentral.edu.ec/>

Correos electrónicos:  
• [revista.fcq@uce.edu.ec](mailto:revista.fcq@uce.edu.ec)

ISSN: 1390-5562

<b>CONSEJO EDITORIAL</b>	Quím. Ronny Flores, PhD
<b>COORDINADOR</b>	Dr. Wilson Parra, MSc
<b>Decano</b>	Dra. Janeth Montalvo, MSc
<b>Vicedecano</b>	Dra. Isabel Fierro, MSc
<b>Directora de Carrera</b>	Dra. Blanca Bravo, MSc
<b>Directora IIP</b>	Dr. Jorge Heredia, PhD
<b>Investigador</b>	
<b>CONSEJO TÉCNICO</b>	
<b>Área Fisicoquímica</b>	Dr. Pablo Bonilla, MSc
<b>Área Química Analítica</b>	Dr. Carlos Calderón, MSc
<b>Área Química</b>	Dra. Susana López, MSc
<b>Centro de Química</b>	Dr. Fernando Novillo, MSc
<b>Empresa Pública Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento</b>	Dr. Edgar Pazmiño
<b>Área Bioquímica Clínica</b>	Dra. Lourdes Pazmiño
<b>Universidad Veracruzana</b>	Dr. Julio Solís, PhD
<b>Área Bioquímica Clínica</b>	Dra. Beatriz Vargas
<b>REVISOR DE ESTILO Y REDACCIÓN</b>	Dr. Manuel Aguilar
<b>Diseño e Impresión:</b>	Editorial Universitaria

## EDITORIAL

Abril de 2010, lanzamiento de la edición número 1 de la nueva revista científica de la Facultad de Ciencias Químicas "QUIMICA CENTRAL", luego de un silencio de más de 18 años. El desafío planteado, editar dos números por año, con el propósito de divulgar las investigaciones que se desarrollan en la Facultad, tanto a nivel de pregrado como de posgrado.

Octubre de 2011, primeras pruebas de la edición número 2 de la revista. No hemos cumplido con el objetivo de editar dos números por año; sin embargo, en medio de las dificultades propias en las que se desenvuelve el quehacer científico en el país, haber conseguido el lanzamiento de la edición número 2, es ya un éxito.

La revista aparece en momentos en que se plantean para las universidades ecuatorianas nuevos desafíos en la búsqueda de la excelencia académica. La Ley Orgánica de Educación Superior fija un marco regulatorio que prioriza la investigación científica a fin de dar soluciones a los problemas nacionales de la producción y los servicios. La obligatoriedad de acreditar, en un plazo perentorio, a todas las carreras y programas académicos, determina que las distintas facultades orienten su accionar hacia la investigación, el desarrollo y la innovación para así alcanzar el tan anhelado despegue industrial y económico del país.

Reconociendo que todos los países que han logrado ingresar en la élite del primer y segundo mundos, han realizado fuertes inversiones en capacitación del talento humano y en infraestructura, el futuro del país esta inevitablemente vinculado a lo que desde las universidades generemos en el campo de la ciencia y la tecnología.

En este inédito escenario, la Química, como una de las ciencias básicas "duras" está llamada a ser la ciencia central, en la que se apoyen las demás ciencias aplicadas: la Medicina, las ingenierías, las ciencias naturales, la biotecnología. Actualmente en el país se están discutiendo diversos temas como la soberanía alimentaria, los medicamentos genéricos, los biocombustibles, la minería, la remediación ambiental, la adulteración de productos de consumo masivo, el ocaso de la época petrolera. En todos estos casos se tratan materias primas o productos industriales que, en esencia, se consideran como compuestos químicos y son de la competencia de los químicos y bioquímicos.

A nivel mundial, el año 2011 ha sido declarado por la IUPAC y la UNESCO como el Año Internacional de la Química, y todos los que de una u otra manera hacemos química, tenemos la responsabilidad moral de discutir las nuevas formas de concebir a esta fascinante ciencia que tanto ha contribuido al bienestar de la humanidad.

En esta edición se han incluido siete artículos sobre investigaciones en el campo de los alimentos, los medicamentos y el manejo ambiental. Nos hemos propuesto indexar la revista en el ámbito internacional para lo cual hemos invitado a colegas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) a publicar sus resultados.

Reiteramos la invitación a la comunidad química del país a presentar sus trabajos de investigación con el convencimiento de que su divulgación contribuirá al progreso de las ciencias en el Ecuador.

*Consejo Editorial*



## Desarrollo de un Método Micropotenciométrico de Bajo Costo para la Determinación de Acidez Valorable

WILLIAM CALERO CÁCERES<sup>a\*</sup>, PABLO BONILLA<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Coloideoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito.

\*Correspondencia: wcaleroc@hotmail.com

Recibido: 22 enero 2011 / Aceptado: 17 septiembre 2011

### Resumen

Se desarrolló un método micropotenciométrico de bajo costo para la determinación de acidez valorable en muestras alimentarias, matriz jugos, utilizando materiales de fácil adquisición para su construcción, como son sueldas de tungsteno puro de 1.6 mm x 175 mm, alambres de cobre de uso eléctrico de 0.1 mm, multímetro genérico, puntas de pipeta plásticas, algodón y silicona. Con la finalidad de mantener la rigidez analítica el método fue optimizado y evaluado estadísticamente por medio de ensayos de linealidad, exactitud, precisión, estabilidad, límite de detección y cuantificación utilizando ácido cítrico como analito diana. Con el nuevo método se realizó un estudio comparativo frente al método potenciométrico clásico con electrodo de vidrio por medio del análisis de la recta de regresión y el estadístico *t* como confirmación, demostrando su aplicabilidad para el análisis de muestras alimenticias, obteniéndose una alternativa con ventajas analíticas, económicas y ambientales.

**Palabras clave:** Análisis de alimentos, Análisis Electroquímico, Química Analítica Instrumental, Jugos de frutas, Bebidas refrescantes.

## Development of a Low-Cost Micropotentiometric Method for the Determination of Titratable Acidity

### Abstract

We developed a low-cost micropotentiometric method for determining titratable acidity in food samples, matrix juices, using readily available materials for construction, such as pure tungsten welds of 1.6 mm x 175 mm, copper wire of 0.1 mm for electrical use, generic multimeter, plastic pipette tips, cotton and silicone.

In order to maintain the analytical rigidity, the method was optimized and evaluated statistically by tests of linearity, accuracy, precision, stability, limit of detection and quantification using citric acid as a target analyte.

With the new method, the results were evaluated according to the comparative study against the classical potentiometric method with glass electrode through the analysis of the regression line and the statistic *t* as confirmation, demonstrating its applicability for the analysis of food samples.

**Keywords:** food Analysis, Electrochemical Analysis, Instrumental Analytical Chemistry, Fruit juices, Soft drinks.

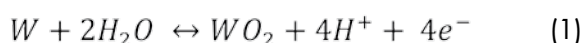
## 1. Introducción

Para determinar acidez valorable, se titula un volumen (o un peso) conocido de una muestra alimentaria frente a una base valorada, bien sea hasta un punto final señalado por el pH por un método potenciométrico o bien hasta el de la fenolftaleína [1]. El punto final electroquímico es ampliamente aplicado y proporciona datos inherentemente más exactos que el método correspondiente que utiliza indicadores [2].

Las titulaciones ácido-base con monitoreo potenciométrico para análisis químico o estudios de procesos en solución se ve limitada por el alto costo de los sensores de pH a base de membrana de vidrio combinados con electrodos de calomel saturado. Además, el tamaño de estos electrodos exige la utilización de celdas de reacción y buretas de gran volumen.

Si bien el electrodo de vidrio es muy eficiente en soluciones acuosas diluidas, no es posible miniaturizar membranas de vidrio y los ultramicroelectrodos de pH a base de intercambiadores líquidos tienen un costo muy elevado [3]. Además, los electrodos de vidrio poseen naturaleza frágil y características especiales que limitan sus aplicaciones in-situ [4]. Por estos motivos se plantea buscar una nueva alternativa a las titulaciones potenciométricas clásicas, que ofrezca resultados validados, de bajo costo y de aplicación sencilla.

Los óxidos metálicos han sido utilizados en el diseño de electrodos electroquímicos en forma de películas o estructuras [5]. Las superficies metálicas que forman los hidróxidos insolubles en soluciones acuosas pueden ser utilizadas para determinaciones de pH como el estaño, plomo, arsénico, antimonio, bismuto, tungsteno, cobre, plata, oro, zinc, mercurio, tantalio, renio, hierro, osmio, rodio, iridio y platino [6-9]. Podemos desplazar el potencial electroquímico de una celda cambiando la concentración de una especie no electroactiva presente en el equilibrio electroquímico, aplicado al sistema tungsteno/óxido de tungsteno:



$$E = E^0 + \frac{2.303 RT}{4F} \log \frac{[WO_2][H^+]^4}{[W][H_2O]^2} \quad (2)$$

$$E = E^0 + \frac{2.303 RT}{F} pH \quad (3)$$

También se han obtenido polímeros como excelentes sensores de pH [10-12].

El tungsteno ha sido estudiado como sensor de pH desde mediados del siglo pasado en la investigación de pH intracelular [13], también en prototipos de sensores de pH para potenciómetros de inyección de flujo a microescala aplicado al análisis de bebidas alcohólicas y de muestras de agua ambiental [14]. Baeza y Vargas et al. han efectuado estudios utilizando un microelectrodo sensor a base de  $W^0$ , un microelectrodo de referencia de  $Cu|Cu(II)|H_2O||$  y  $Cu|Cu(II)|CuSO_4||$  y la utilización de materiales de bajo costo, para la fabricación de material volumétrico como la microbureta a microescala total integrada en una celda para titulaciones ácido-base, a la par se reportan estudios comparativos obteniéndose resultados similares en la titulación de ácidos minerales monopróticos y de sales ácidas de potasio, en comparación con el electrodo de vidrio y calomel saturado [15-16].

Por lo que, en base a los antecedentes relacionados, en este trabajo se planteó desarrollar y evaluar la factibilidad de un método con sensores de pH y de referencia de bajo costo para la valoración potenciométrica de la acidez valorable, utilizando materiales de fácil adquisición, como una alternativa al método clásico con electrodo indicador de vidrio.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Reactivos

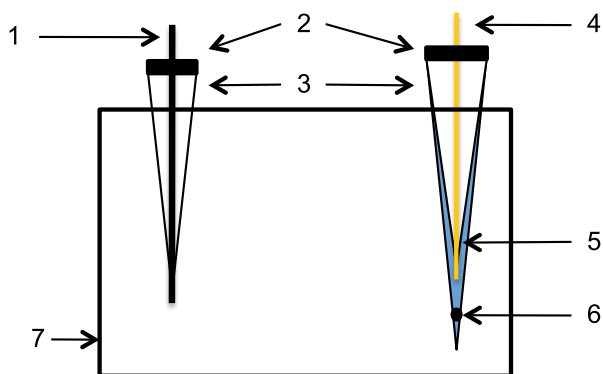
Hidróxido de Sodio p.a., Ftalato Ácido de Potasio p.a. Sulfato cúprico p.a. y Ácido Cítrico p.a. adquiridos en Merck (Darmstadt, Alemania), Soluciones tampón de pH 4.01, 7.00 y 9.21 adquiridos en Mettler Toledo (Gieben, Alemania).

### 2.2. Soluciones y muestras

Se preparó una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.1 N aproximadamente valorándola frente a un estándar de Ftalato Ácido de Potasio (KHF), para el estudio estadístico se prepararon soluciones estándar de ácido cítrico en un rango entre  $0.06 \pm 0.01\%$  (p/v) y  $10.18 \pm 0.11\%$  (p/v), y para el estudio comparativo se utilizaron 30 muestras de jugos en sus variedades natural, bebidas tipo jugo, néctares y zumos.

### 2.3. Construcción de electrodos

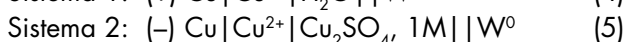
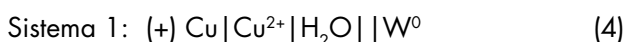
Para el electrodo indicador se utilizó una barra de tungsteno (pureza >99.5%) para soldadura adquirida en Weldcraft (Appleton, EUA), se corta un segmento de  $3.830 \pm 0.005$  cm de largo y  $2.310 \pm 0.005$  cm de ancho (fijo de la barra), se introduce en un tip de plástico (utilizados en las pipetas automáticas) de  $5.000 \times 0.815$  cm, y se sujeta con silicón. Para el electrodo de referencia se utilizó un alambre de cobre de 14", utilizados en sistemas eléctricos, se cortan dos segmentos de  $4.750 \pm 0.005$  cm de largo y  $0.145 \pm 0.005$  cm de ancho (fijo del alambre), los cuales son introducidos en dos tips de plástico de  $5.000 \times 0.815$  cm, y se fija con silicona. Finalmente, se embona en otros tips de plástico de  $3.635 \times 0.700$  cm, los cuales tienen en su parte final un pedazo de algodón compacto que sirve para aislar la solución interna del microelectrodo de referencia, que fue agua destilada decarbonatada y sulfato de cobre 1 M; se procuró mantener constante la distancia entre el pedazo de algodón y el alambre de cobre, encontrándose en un rango de  $0.240 \pm 0.010$  cm.



**Figura 1.** Microcelda potenciométrica de bajo costo para la determinación de pH. 1: Barra de tungsteno. 2: Silicona en barra. 3: Tips de pipeta automática. 4: Alambre de cobre  $4.5\text{cm} \times 0.1\text{cm}$ . 5: Solución de  $\text{CuSO}_4$  1M o agua destilada decarbonatada. 6: Algodón. 7: Vaso de  $15\text{ cm}^3$ .

### 2.4. Método micropotenciométrico de bajo costo para la determinación de acidez valorable

Se analizó el desempeño de dos sistemas electroquímicos:



Y la cantidad de muestra [0.50 mL (+) y 1.00 mL (-)] frente a una muestra comercial de concentración desconocida, obteniéndose la siguiente matriz de experimentos:

**Tabla 1.** Matriz de experimentos para la selección del sistema electroquímico

Exp.	Cod.	Sistema electroquímico (A)	Cantidad muestra (B)	Interacción AB
1	1	-	-	+
2	a	+	-	-
3	b	-	+	-
4	ab	+	+	+

Se añade con una pipeta la muestra de jugo a un vaso plástico de bajo costo de 15 mL de capacidad, con agua destilada decarbonatada se completa un volumen de 3 mL, se coloca un mini magneto y se tapa el vaso. Se insertan los electrodos en orificios hechos en la tapa del vaso, se acopla en el agitador magnético y a la microbureta rellena de NaOH 0.1 N, se utiliza un multímetro de bajo costo para la medición de la diferencia de potencial entre el electrodo de W y el electrodo de referencia de Cu/Cu<sup>2+</sup>, el microelectrodo de referencia se conecta a la entrada de tierra del voltímetro. Mientras se añade la base titulante se registran los datos de potencial eléctrico. Se efectuó el análisis por quintuplicado y los parámetros indicadores fueron el análisis de varianza [17] acoplado al diseño factorial 2<sup>k</sup>, la desviación estándar, el rango y el coeficiente de variación.

Con la finalidad de evaluar el comportamiento lineal de los sistemas electroquímicos 1 y 2, se construyeron curvas de calibración con soluciones tampón de pH 4.01, pH 7.00 y pH 9.21, rango que cubre el pH en una valoración ácido-base, por cuatro días con tres repeticiones. Como indicador se utilizó la ecuación de Nikol'skii que relaciona el potencial eléctrico medido en función del pH, contrastando la pendiente y el coeficiente de correlación mediante el análisis de la t de comparación de medias [18].

Además, ambos sistemas fueron sometidos a un control de estabilidad en función del tiempo utilizándose soluciones tampón, como indicador se tuvo el rango de dispersión y el tiempo de respuesta.



**Figura 2.** Sistema electroquímico de bajo costo. 1: Soporte de acrílico. 2: Jeringa dispensadora de solución titulante.

3: Jeringa de 1 mL con división de 0.01 mL. 4: Llave clínica de 3 vías. 5: Electrodo de referencia de Cu/Cu<sup>2+</sup>.

6: Electrodo indicador de W. 7: Vaso de 15 mL con muestra. 8: Ventilador de computador acoplado con una resistencia de 130 W y un imán. 9: Entrada para fuente de 9V. 10: Multímetro de bajo costo.

## 2.5. Estudio estadístico

Se determinó el límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) del método micropotenciométrico de bajo costo por medio del análisis de 20 muestras blanco, se consideró la media de los resultados más tres desviaciones estándar en el caso del LD y seis desviaciones estándar en el caso del LC [19-20].

Para el parámetro de exactitud y precisión, se analizaron soluciones a cinco niveles de concentración de ácido cítrico entre 0.06% (p/v) y 10.18% (p/v) por medio del método micropotenciométrico de bajo costo durante tres días con diez repeticiones por nivel; para la precisión el parámetro indicador fue el Análisis de Varianza de dos factores, para la exactitud se evaluaron la desviación estándar, el coeficiente de variación el error absoluto y relativo.

Se analizó la sensibilidad del método por medio de cinco pequeños incrementos de concentración de ácido cítrico, el parámetro indicador fue el porcentaje de recuperación.

## 2.6. Método potenciométrico utilizando electrodo de vidrio

Se utilizó una variación del método AOAC 942.15 el cual establece que el punto final por medición potenciométrica es el volumen de titulante necesario para al-

canzar un pH de 8.2, como en este estudio se procuró evaluar el comportamiento del sistema potenciométrico medido en actividades electroquímicas, se tomará como punto final los obtenidos mediante métodos gráficos.

Se transfiere con una pipeta volumétrica 10 mL de la muestra en un vaso de precipitación de 100 mL, se añade, aproximadamente 20 mL de agua destilada decarbonatada, se coloca un magneto y se acopla el vaso en un agitador magnético, se inserta el electrodo de vidrio de un potenciómetro comercial dentro de la solución problema. Mediante una bureta de 10 mL rellena de NaOH aproximadamente 0.1 N, se añade la base titulante, a la par se registran las medidas de potencial eléctrico. En el presente estudio se utilizó el potenciómetro WTW Inolab 720.

## 2.7. Estudio comparativo

Se analizaron 30 muestras de jugos y bebidas en un amplio intervalo de concentraciones por medio del método potenciométrico con electrodo de vidrio (referencia) y el método micropotenciométrico de bajo costo por triplicado. Como parámetros indicadores se tuvieron a la recta de regresión, pendiente, ordenada y el coeficiente de correlación momento-producto. Como complemento se utiliza el contraste "t" para datos emparejados con la finalidad de evaluar si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos para cada análisis.



### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Desarrollo y optimización del método

Los resultados de la matriz de experimentos 1 se detallan a continuación:

**Tabla 2.** Resultados del análisis de acidez valorable de una muestra de limonada de acuerdo al diseño factorial 2<sup>2</sup>.

Exp.	Cod.	Acidez Valorable expresada como % ácido cítrico (p/v)				
		Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>
1	1	0,27	0,26	0,27	0,26	0,27
2	a	0,26	0,27	0,27	0,26	0,26
3	b	0,28	0,27	0,30	0,28	0,27
4	ab	0,26	0,28	0,27	0,26	0,27

**Tabla 3.** Parámetros de dispersión para la optimización de electrodos.

Exp.	Cod.	ŷ (% AC)	S (% AC)	CV (%)
1	1	0,27	0,01	2,06
2	a	0,26	0,01	2,07
3	b	0,28	0,01	4,37
4	ab	0,27	0,01	3,12

**Tabla 4.** Análisis de Varianza 2<sup>k</sup> para la selección de electrodos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	GL	F	F tab 95%	F tab 99%
A	2,45E-04	2,45E-04	1	3,48 <sup>ns</sup>	4.49	8.53
B	4,05E-04	4,05E-04	1	5,76*		
AB	1,25E-04	1,25E-04	1	1,78 <sup>ns</sup>		
Error	1,13E-03	7,03E-05	16			
Total	1,90E-03		19			

No existe significancia en la obtención de resultados entre el sistema electroquímico con electrodo de referencia de Cu|Cu<sup>2+</sup>|H<sub>2</sub>O||W<sup>0</sup> y su homólogo de Cu|Cu<sup>2+</sup>|Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1M||W<sup>0</sup> al 95% y 99% de confianza, la fuente de variación de la cantidad de mues-

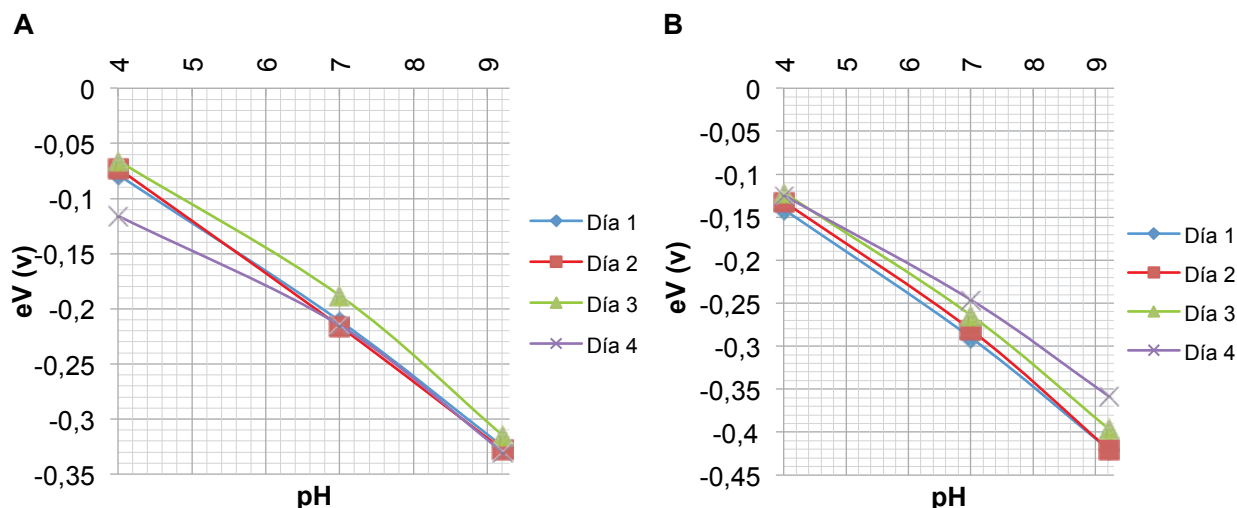
tra es significativa al 95% de confianza, la interacción entre ambos efectos, no es significativa al 95% y 99% de confianza. Con respecto al análisis de las gráficas obtenidas en la valoración micropotenciométrica para ambos sistemas, en las representaciones eV vs. V NaOH se observa que el sistema 1 posee una rampa de decrecimiento de potencial eléctrico con una pendiente más pronunciada que el sistema 2, lo cual influye de manera directa en la obtención de los puntos finales de titulación.

Con respecto a la cantidad de muestra, se observa un aumento del coeficiente de variación de manera inversamente proporcional a la cantidad de muestra, en especial para la celda electroquímica con sulfato de cobre 1M como solución interna en el electrodo de referencia, por lo que se decidió utilizar 1.00 mL de muestra, cantidad con la cual se obtienen coeficientes de variación razonablemente bajos (CV≈2%).

Con respecto al comportamiento lineal de los sistemas electroquímicos frente al pH se obtuvieron los siguientes resultados:

**Tabla 5.** Resultados de la medición del potencial eléctrico (V) en función del pH para el sistema electroquímico 1 (Cu|Cu<sup>2+</sup>|H<sub>2</sub>O||W<sup>0</sup>).

Día	pH	Mediciones (V)			Media (V)	s (V)
		1	2	3		
1	4,01	-0,079	-0,080	-0,078	-0,079	0,001
	7,00	-0,211	-0,210	-0,211	-0,211	0,001
	9,21	-0,326	-0,328	-0,320	-0,325	0,004
2	4,01	-0,073	-0,073	-0,072	-0,073	0,001
	7,00	-0,216	-0,215	-0,217	-0,216	0,001
	9,21	-0,328	-0,327	-0,328	-0,328	0,001
3	4,01	-0,067	-0,065	-0,065	-0,066	0,001
	7,00	-0,188	-0,188	-0,189	-0,188	0,001
	9,21	-0,317	-0,315	-0,312	-0,315	0,003
4	4,01	-0,118	-0,116	-0,115	-0,116	0,002
	7,00	-0,216	-0,214	-0,215	-0,215	0,001
	9,21	-0,330	-0,329	-0,330	-0,330	0,001



**Figura 3.** Ecuaciones de Nikol'skii, A: Sistema electroquímico 1, B: Sistema electroquímico 2.

**Tabla 6.** Sensibilidad de calibración, coeficientes de correlación y contraste t de sensibilidad. Ecuación de Nikol'skii para los sistemas electroquímicos 1 y 2.

	Sistema 1		Sistema 2		Contraste "t" Sensibilidad		
	m (V·pH <sup>-1</sup> )	r	m (V·pH <sup>-1</sup> )	r	t	t crítico 95%	t crítico 99%
Día 1	-0,047	0,998	-0,053	0,997	1,683 <sup>ns</sup>	2,447	3,707
Día 2	-0,049	0,999	-0,055	0,995			
Día 3	-0,047	0,991	-0,052	0,995			
Día 4	-0,040	0,983	-0,044	0,996			
Media	-0,046	0,993	-0,051	0,996			
Desv. Est.	0,004	0,007	0,005	0,001			

No existe significancia en la sensibilidad de calibración entre el sistema electroquímico con electrodo de referencia de Cu|Cu<sup>2+</sup>|H<sub>2</sub>O|W<sup>0</sup> y su homólogo de Cu|Cu<sup>2+</sup>|Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1M|W<sup>0</sup> al 95% y 99% de confianza.

**Tabla 7.** Resultados de la evaluación de la significancia de correlación para los sistemas electroquímicos 1 y 2.

Día	Sistema 1	Sistema 2	t crítico 95%
	t	t	
1	22,338 <sup>ns</sup>	18,230 <sup>ns</sup>	12.71
2	31,607 <sup>ns</sup>	14,107 <sup>ns</sup>	
3	10,493*	14,107 <sup>ns</sup>	
4	7,604*	15,780 <sup>ns</sup>	

El sistema electroquímico 2 presenta una correlación significativa al 95% de confianza durante los 4 días

de evaluación, mientras que en el sistema electroquímico 1 se observa una acusada relación lineal significativa al 95% de confianza durante los 2 primeros días de evaluación. Cabe anotar que ambos sistemas electroquímicos se mantuvieron durante los 4 días de evaluación, sin cambio de soluciones internas y conservadas en sulfato de cobre 1M y agua como líquido de almacenamiento, respectivamente.

**Tabla 8.** Potencial eléctrico (eV) en función del tiempo para soluciones tampón de pH 4.01, pH 7.00 y pH 9.21.

Tiempo 0-900 s	Sistema 1, eV, V			Sistema 2, eV, V		
	pH 4.01	pH 7.00	pH 9.21	pH 4.01	pH 7.00	pH 9.21
Media	-0,045	-0,177	-0,352	-0,105	-0,242	-0,417
Des.Est.	0,007	0,005	0,002	0,003	0,002	0,007
Rango	0,026	0,022	0,011	0,012	0,008	0,023

Difieren desde el punto de vista de estabilidad en función del pH, siendo el sistema 1 más estable a rangos de pH alto y el sistema 2 inversamente, a pH bajo, lo cual demuestra la influencia de la solución interna del microelectrodo de referencia.

Con respecto a la estabilidad en función del tiempo; el microelectrodo cuya solución interna es de  $\text{CuSO}_4$ , a partir del tercer día el cobre se corroe por la presencia de la solución de carácter ácido; a partir del cuarto día se observan fenómenos de cristalización en el tapón de algodón; análogamente en el microelectrodo con solución interna de agua desmineralizada, a partir del tercer día es notable la presencia de burbujas a causa de la pérdida de líquido.

Estos fenómenos influyen en el desempeño práctico y se demuestran en la tabla 4, en donde durante los tres primeros días se mantiene una alta sensibilidad en función del pH, la cual comienza a decrecer considerablemente a partir del cuarto día en ambos sistemas; de acuerdo a la tabla 5 en el análisis de significancia de correlación, en el sistema 1 es más acusada la relación lineal durante los dos primeros días de estudio que en el sistema 2 al obtenerse valores más altos de

t, sin embargo, la disminución de la correlación se encuentra vinculada a la pérdida de su solución interna y en el sistema 2, a pesar de los fenómenos de corrosión observados se mantiene la significancia lineal entre su respuesta en función del pH.

De acuerdo a los resultados experimentales, los microelectrodos de referencia deben ser regenerados al segundo día de ensayo como plazo máximo, en especial el electrodo de referencia del sistema 2 incluyendo el reemplazo de su alambre de cobre y de la elaboración de una solución de  $\text{CuSO}_4$  1M. En cambio, el sistema 1 únicamente requiere substituir el tapón de algodón y su solución interna de agua desmineralizada, acompañado de un lijado del contacto de conexión a tierra del multímetro, además se evita correr el riesgo de contaminar la muestra debido a la naturaleza semipermeable del microelectrodo. Por lo que se decidió utilizar el sistema 1.

### 3.2. Estudio estadístico

En la Tabla 9 se presentan los resultados del Análisis de Varianza de dos factores para el análisis de Precisión a cinco niveles de concentración:

**Tabla 9.** Análisis de Varianza para la evaluación de precisión

% Ác. Cítrico(p/v)	Origen de las variaciones	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	F tab 95%	F tab 99%
0.10%	Repeticiones	9	8,56E-05	9,51E-06	0,60 <sup>ns</sup>	2,46	3,60
	Días	2	5,56E-05	2,78E-05	1,75 <sup>ns</sup>	3,55	6,01
	Error	18	2,87E-04	1,59E-05			
	Total	29	4,28E-04				
0.50 %	Repeticiones	9	8,65E-04	9,61E-05	0,91 <sup>ns</sup>		
	Días	2	2,87E-04	1,43E-04	1,36 <sup>ns</sup>		
	Error	18	1,90E-03	1,05E-04			
	Total	29	3,05E-03				
1.00%	Repeticiones	9	7,36E-04	8,18E-05	0,59 <sup>ns</sup>		
	Días	2	1,17E-03	5,84E-04	4,19*		
	Error	18	2,51E-03	1,40E-04			
	Total	29	4,42E-03				
5.00%	Repeticiones	9	1,71E-01	1,90E-02	1,27 <sup>ns</sup>		
	Días	2	2,05E-02	1,03E-02	0,68 <sup>ns</sup>		
	Error	18	2,71E-01	1,50E-02			
	Total	29	4,62E-01				
10.00%	Repeticiones	9	1,37E-01	1,52E-02	0,95 <sup>ns</sup>		
	Días	2	1,71E-03	8,56E-04	0,05 <sup>ns</sup>		
	Error	18	2,89E-01	1,61E-02			
	Total	29	4,28E-01				

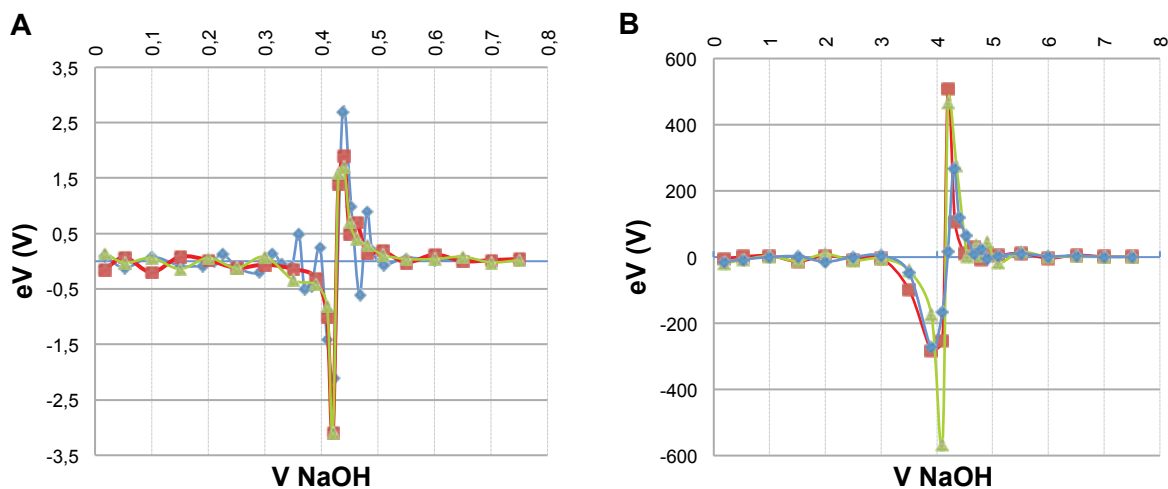
El efecto de las repeticiones no es significativo al 95% y 99% en los cinco niveles de análisis, sin embargo, el efecto del tiempo de análisis es significativo al 95% para el nivel de análisis al 1% (p/v) debido a que para este nivel se utilizó una cantidad de titulante superior al valor nominal de la microbureta de bajo costo (1.00 mL), por lo que la incertidumbre asociada al método es mayor a este nivel. Considerando este factor se decidió realizar para los siguientes niveles de análisis (5% y 10%) diluciones en agua desmineralizada descarbonatada.

**Tabla 10.** Resultados parámetros estadísticos

Parámetro	Resultado
Límite de detección	0,02 % Ác. Cítrico (p/v)
Límite de cuantificación	0,03% Ác. Cítrico (p/v)
Exactitud, CV	1.15% - 6.54%
Exactitud, Error Absoluto	-0.05% - 0.00 % AC (p/v)
Exactitud, Error Relativo	0.00% - 0.91%
Sensibilidad, Recuperación	100% - 107%

El límite de cuantificación obtenido (0.03% -p/v- Acido cítrico) permite cuantificar por este método la acidez valorable presente en la mayoría de muestras de jugos, frutas y bebidas tipo jugo comerciales, ya que el rango promedio en estas matrices se encuentra entre el 0.1% y el 10% (p/v) de ácido cítrico. Los valores referentes a la exactitud obtenidos por medio del ensayo de recuperación cuyo valor estándar es referido al obtenido por el método de la AOAC y el evaluado en este estudio, nos permitió demostrar que el método de bajo costo no posee errores sistemáticos de consideración, errores relativos correspondientes a 0.00% a 0.91% son considerados aceptables. Se obtuvieron porcentajes de recuperación de 100% y 107% para los 5 niveles evaluados, lo cual se considera aceptable; sin embargo, es necesario evaluar con más detalle este factor a mayor nivel de concentración con la finalidad de que los errores aleatorios no afecten considerablemente a los resultados obtenidos por los pequeños incrementos de analito.

### 3.3 Estudio comparativo



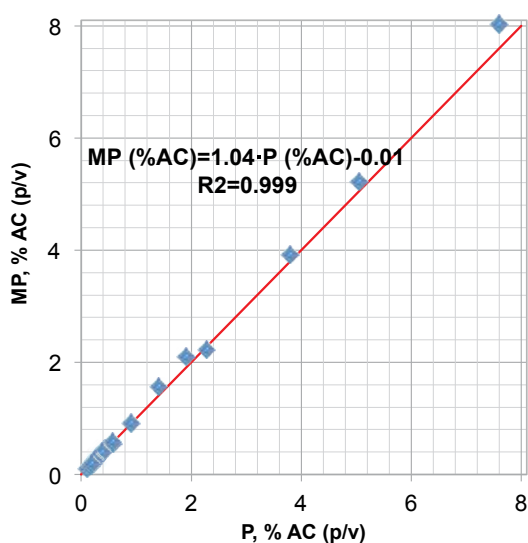
**Figura 4.** Muestra A1, segunda derivada ( $d^2eV/d^2V$ ) en función de volumen de NaOH 0.1003 N (mL), A: Método micropotenciométrico de bajo costo, B: Método potenciométrico clásico.



**Tabla 11.** Medias de los resultados del análisis de las muestras de bebidas (bebida tipo jugo, frutas, néctar) entre el método potenciométrico P (x) y el método micropotenciométrico de bajo costo MP (y)..

Resultado, % Ácido Cítrico (%p/v)								
Muestra	MP	P	Muestra	MP	P	Muestra	MP	P
A1	0,28	0,27	B1	5,22	5,05	C1	0,29	0,27
A2	0,31	0,30	B2	0,92	0,91	C2	0,28	0,28
A3	0,45	0,42	B3	3,93	3,79	C3	0,59	0,57
A4	0,46	0,45	B4	8,04	7,60	C4	0,28	0,27
A5	0,31	0,29	B5	1,58	1,40	C5	0,21	0,21
A6	0,11	0,11	B6	2,24	2,27	C6	0,16	0,16
A7	0,30	0,29	B7	0,16	0,19	C7	0,40	0,38
A8	0,26	0,26	B8	0,56	0,58	C8	0,27	0,26
A9	0,34	0,32	B9	2,11	1,90	C9	0,26	0,24
A10	0,46	0,43	B10	0,21	0,20	C10	0,20	0,19

**Figura 5.** Recta de regresión para la comparación del método potenciométrico P (x) y el método micropotenciométrico de bajo costo MP (y).



**Tabla 12.** Resultados de la evaluación de significancia entre el método potenciométrico y el método micropotenciométrico de bajo costo.

	MP	P
Varianza	3,113	2,823
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	
Estadístico t	2,531	
Valor crítico de t (dos colas), 99%	2,756	
Valor crítico de t (dos colas), 95%	2,045	

Por medio del método de la recta de regresión, se obtuvo una alta correlación ( $r^2 = 0.999$ ) y las desviaciones de la pendiente (1.04) y de la ordenada al origen (-0.01) se aproximan al comportamiento "ideal" (pendiente=1, ordenada=0,  $r=1$ ); de acuerdo al contraste t de significancia entre la media de los resultados obtenidos por cada sistema, entre los métodos no existe diferencia significativa al 99% de confianza pero sí es significativo ligeramente al 95% de confianza. Esta situación puede explicarse debido al amplio intervalo de concentraciones en el cual se trabajó, motivo por el cual el contraste t es cuestionado por muchos químicos analíticos ya que tal comparación es óptima cuando el intervalo de concentración es muy limitado. Sin embargo, por la alta correlación obtenida y por que el método no es significativo al 99% de confianza se puede aseverar que no existe diferencia estadística para la obtención de resultados de acidez valorable por el método micropotenciométrico de bajo costo y el método potenciométrico con electrodo de vidrio.

#### 4. Conclusiones

Se construyeron dos sistemas microelectroquímicos ( $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{H}_2\text{O}||\text{W}^0$  y  $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{Cu}_2\text{SO}_4, 1\text{M}||\text{W}^0$ ) con materiales de bajo costo, fácil adquisición, fabricación y regeneración sencilla.

Ambos sistemas ofrecen marcadas relaciones lineales de su respuesta frente al pH, con elevados coeficientes de correlación, siendo el sistema  $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{H}_2\text{O}||\text{W}^0$

más estable a pH alto e inversamente, el sistema  $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{Cu}_2\text{SO}_4, 1\text{M}||\text{W}^0$  a pH bajo.

A pesar de que ambos sistemas microelectroquímicos ofrecen resultados estadísticamente similares, se seleccionó al sistema  $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{H}_2\text{O}||\text{W}^0$  por su elevado desempeño, mayor facilidad de montaje y regeneración, menor riesgo de operación y costo económico que su homólogo de  $\text{Cu}|\text{Cu}^{2+}|\text{Cu}_2\text{SO}_4, 1\text{M}||\text{W}^0$ , cumpliendo todos los requisitos mínimos para un electrodo de referencia.

Con un volumen de 1.00 mL de muestra se obtuvo una baja dispersión de resultados, motivo por el cual se trabajó con esta cantidad durante todo el estudio como medida aproximada adecuada para el método micropotenciométrico de acidez valorable.

El límite de detección para el método micropotenciométrico para la determinación de acidez valorable se estimó en 0.02% de ácido cítrico (p/v) y el límite de cuantificación corresponde a 0.03% de ácido cítrico (p/v).

El método micropotenciométrico es altamente preciso y exacto en un amplio rango de concentraciones de ácido cítrico, utilizado como analito diana.

El método micropotenciométrico es capaz de diferenciar entre pequeños incrementos de concentración de ácido cítrico con porcentajes de recuperación cercanos al 100%.

Los resultados obtenidos por el método micropotenciométrico de bajo costo tuvieron concordancia con el obtenido por el método potenciométrico clásico con electrodo de vidrio, ambos resultaron ser comparables por el método de la recta de regresión y por el estadístico t al 99% de confianza.

El método analítico propuesto para la determinación de acidez valorable demostró su aplicabilidad en jugos naturales, bebidas tipo jugo y néctares/zumos con ventajas económicas, operativas, de portabilidad y ambientales frente a su homólogo clásico con electrodo de vidrio.

## Referencias

- Nielsen, S. (2009). Análisis de los Alimentos. Zaragoza: Acribia.
- Baeza, A. (2003). Titulaciones Ácido-Base Potenciométricas a Microescala Total con Microsensores de pH y de Referencia de bajo costo. *Rev. Chil. Educ. Cient.*, 1 (2).
- Skoog, D., & Holler, F. N. (2001). Principios de Análisis Instrumental (Vol. 5ta edición). México: McGraw Hill.
- Liu, C., Bocchicchio, B., & Overmyer, P. (1980). A Palladium-Palladium Oxide Miniature pH Electrode. *Science*, 207 (188-189).
- Smirnova, O., & Mikhailova, A. (2000). Potentiometric Parameters of a PVC-NaV6O15-Graphite Electrode. *Russ. J. Elec.*, 36 (8).
- Arnold, M., & Meyerhoff, M. (1984). Ion-Selective Electrodes. *Anal. Chem.*, 56 (5).
- Kurzweil, P. (2009). Metal Oxides and Ion-Exchanging Surfaces as pH Sensors in Liquids: State-of-the-Art and Outlook. *Sensors*, 9 (4955-4985).
- Galwa, N., & El Nahhal, I. (2007). Development of a Novel Solid-State pH Sensor Electrode Based on Titanium Oxide Thin Film as a Indicator Electrode in Potentiometric Acid-Base Titrations in Fused  $\text{NaNO}_3$  at 350°C. *J. Disper. Sci. Tech.* 28 (757-764).
- García-González, D., & Aparicio, R. (2002). Sensors: From Biosensors to the Electronic Nose. *Grasas y Aceites*, 53 (2).
- Hughes, R., Ricco, A., Butler, M., & Martin, S. (1991). Chemical Microsensors. *Science*, 254 (74-79).
- Aytaç, A., Kabasakalolu, M., Sari, B., & Talu, M. (2004). Ion-Selective Electrodes Prepared with Polyaniline Membranes. *Russ. J. of Elec.*, 40 (7).
- Sotomayor, P., Raimundo, I., Zarbin, A., Rohwedder, J., Oliveira, G., & Alves, O. (2001). Construction and evaluation of an optical pH sensor based on polyaniline-porous Vycor glass nanocomposite. *Sens. Act. B*, 74 (157-162).
- Caldwell, P. (1954). An Investigation of the Intracellular pH of Crab Muscle Fibres by Means of Micro-Glass and Micro-Tungsten Electrodes. *J. Physiol.*, 126 (169-180).
- Dimitrakopoulos, L., Dimitrakopoulos, T., Alexander, P., Logic, D., & Hibbert, B. (1998). A Tungsten Oxide Coated Wire Electrode Used as a pH Sensor in Flow Injection Potentiometry. *Anal. Commun.*, 35 (395-398).
- Baeza, A. (2003). Microbureta a Microescala Total para Titulometría. *Rev. Chil. Educ. Cient.*, 1 (2).
- Vargas, J., Baeza, A. U., Rodríguez, J., & Cáceres, L. (2004). Titulaciones Ácido-Base a Microescala Química utilizando Microsensores de pH y Microelectrodo de referencia: Adquisición de datos con nuevas tecnologías. *Rev. Chil. Educ. Cient.*, 2 (2).
- Box, G., & Hunter, W. H. Estadística para Investigadores. México: Reverté.
- Miller, J., & Miller, J. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Madrid: Prentice Hall.
- EURACHEM Group. (1998). The Fitness for Purpose of Analytical Methods. Middlesex: Eurachem Working Group.
- Angelini, N. (2005). Validación de Métodos Químicos Desarrollados en el Laboratorio. Buenos Aires: FAO.

## Desarrollo y Validación de un Método Espectrofotométrico para Cuantificación de Claritromicina en Comprimidos

ANDREA CUMBA<sup>°\*</sup>, CARLOS CALDERÓN<sup>°</sup>

<sup>°</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador

\*Correspondencia: andrea\_cumba@centrocesal.com

Recibido: 15 enero 2010 / Aceptado: 20 enero 2011

### Resumen

Se describe un método espectrofotométrico para la cuantificación de claritromicina en comprimidos, que se fundamenta en la formación de un compuesto cromóforo coloreado que resulta de la reacción entre claritromicina en solución y ácido sulfúrico concentrado y que absorbe en la región visible a 481 nm. En esta longitud de onda, la claritromicina contenida en un producto terminado, presenta lecturas de absorbancia que son directamente proporcionales a la concentración. La evaluación de la trazabilidad de los resultados obtenidos con el método espectrofotométrico, se realizó por comparación con el método de referencia (Cromatografía HPLC USP 29), y estadísticamente, a través de una prueba de *t* pareada, que determinó la no existencia de diferencias significativas entre los resultados de ambos métodos, por lo que el método desarrollado es trazable. Finalmente, se validó el método espectrofotométrico, para garantizar coherencia y reproducibilidad en los resultados. Para esto se evaluaron los parámetros de especificidad, robustez, linealidad, exactitud, precisión expresada en sus dos formas: repetibilidad y reproducibilidad. El método analítico resultó ser específico para la claritromicina, lineal en el intervalo validado de 15-50 ppm, el coeficiente de variación obtenido para la repetibilidad y reproducibilidad fue del 1% y el porcentaje de recuperación obtenido fue de 100.5%.

**Palabras clave:** claritromicina, espectrometría visible, validación de métodos analíticos.

## Development and Validation of a Spectrophotometric Method for Quantification of Clarithromycin Tablets

### Abstract

We describe a spectrophotometric method for quantification of clarithromycin tablets, which is based on the formation of a colored chromophore compound resulting from the reaction between clarithromycin solution with concentrated sulfuric acid, this chromophore absorbs at 481 nm. At this wavelength the clarithromycin-containing chromophore presents an absorbance that is directly related to its concentration.

The evaluation of the traceability of the results obtained with the spectrophotometric method was performed by comparison with the reference method (HPLC Chromatography USP 29) and statistically through a paired *t* test, which determined that there were no significant differences between the results of both methods indicating that the developed method is traceable. Finally, the spectrophotometric method was validated to ensure consistency and reproducibility of the results. The evaluated parameters were specificity, robustness, linearity, accuracy, pre-

cision expressed in two ways: Repeatability and reproducibility. The analytical method proved to be specific for Clarithromycin, and linear in the range of 15-50 ppm. The variation coefficient obtained for repeatability and reproducibility was 1% and the percentage of recovery obtained was 100.5%.

**Key words:** clarithromycin, visible spectroscopy, validation of analytical methods.

## 1. Introducción

La industria farmacéutica siempre se ha enfocado en investigar nuevos métodos analíticos, que permitan la obtención de resultados en forma rápida, reproducible y confiable, para un ensayo específico. Sin embargo, algunos nuevos métodos analíticos investigados para determinados principios activos quedan sin aplicación, debido a que sus parámetros de desempeño de calidad (linealidad, rango, precisión, exactitud, especificidad y robustez) y operativos (sencillez y economía) resultan ser no idóneos para un ensayo analítico específico. Y aunque no pueda afirmarse que este sea el caso de claritromicina, por falta de información, únicamente puede mencionarse que no se conocen investigaciones sobre nuevos métodos analíticos para este principio activo.

Actualmente, la industria farmacéutica dispone de un solo método analítico para la cuantificación de claritromicina en todas las formas farmacéuticas disponibles en el mercado, así lo evidencia, la información obtenida de una búsqueda realizada en documentos oficiales y no oficiales. El método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC, es el único descrito en la farmacopea de los Estados Unidos USP 29 [1]. Al no existir alternativas analíticas para cuantificar claritromicina, se generan algunas limitaciones, entre ellas: congestiones por el elevado número de ensayos en los laboratorios de control de calidad, interrupciones por mantenimiento correctivo y preventivo del cromatógrafo, laboriosidad del método, altos costos de operación y finalmente dificultades técnicas.

No se conocen estudios acerca del desarrollo de nuevos métodos analíticos para claritromicina. El nuevo método espectrofotométrico que se desarrolló, se fundamentó en una reacción de hidrólisis del principio activo con ácido sulfúrico y formar un compuesto coloreado que absorbe en la zona visible del espectro [2].

El propósito de este estudio, fue desarrollar un método espectrofotométrico reproducible y confiable para la cuantificación de claritromicina en comprimidos.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Reactivos

- Metanol grado HPLC
- Estándar de claritromicina USP
- Ácido clorhídrico 0.1 M
- Buffer de acetato de sodio 0.1 M pH 5.0
- Agua analítica tipo II

### 2.2. Equipos

- Cromatógrafo líquido de alta resolución HPLC, con detector UV-Vis (SHIMADZU)
- Espectrofotómetro UV-Vis (SHIMADZU 1800 UV-Vis)
- Purificador de agua (ELGA CLASSIC)
- Potenciómetro (Ph/ION 125)
- Balanza Analítica (Mettler Toledo AG204)

### 2.3. Muestras

Los comprimidos de claritromicina se obtuvieron de tres casas farmacéuticas en las que la concentración del activo es declarada.

### 2.4. Establecimiento de los parámetros del método espectrofotométrico (optimización del método)

La velocidad de la reacción es indicada por la velocidad de desarrollo del color, la cual depende, a su vez, de la velocidad de ataque del reactivo cromóforo a claritromicina.

Para optimizar el desarrollo del color y conforme a ley de Beer, se ensayaron variables tales como: solu-



bilidad de claritromicina, ionización de la molécula, volumen de reactivo cromóforo y tiempo de reacción en el que se alcanza el máximo color [3].

Se probó la solubilidad de claritromicina en diferentes solventes [4]. El solvente escogido fue una solución buffer de acetato de sodio 0.1 M; la bibliografía reporta que el pH ácido es indispensable para la ionización de la molécula, por lo que se utilizó una solución de HCl 0.1M para llevar a pH 4.5; posteriormente se agregó un volumen de ácido sulfúrico concentrado y se observó el desarrollo de un color intenso alrededor de 75 minutos (tiempo en el que se desarrolla todo el color) y posteriormente, se realizó un barrido espectral en la zona visible del espectro y el pico máximo de absorción se obtuvo a los 481 nm. El mismo procedimiento se realizó para claritromicina contenida en comprimidos para probar la existencia de interferencias por matriz en la reacción.

## **2.5. Determinación cuantitativa por HPLC- Determinación de la trazabilidad del método**

Utilizando un cromatógrafo líquido HPLC, una columna cromatográfica RP-C18 4mm \* 15 mm, la temperatura de columna de 45°C, flujo de 1mL/min y con un detector a 210 nm se cuantificó el contenido de claritromicina en comprimidos de tres casas farmacéuticas y se procesaron los datos, obteniéndose lecturas de absorbancia que son directamente proporcionales a la concentración.

## **2.6. Determinación cuantitativa por Espectrofotometría-Determinación de la trazabilidad del método**

Utilizando un espectrofotómetro y realizando la reacción de coloración de la claritromicina con ácido sulfúrico, se cuantificó el contenido en comprimidos de tres casas farmacéuticas y se procesaron los datos, obteniéndose lecturas de absorbancia que son directamente proporcionales a la concentración.

## **2.7. Preparación de la curva de calibración [5]**

Se trabajó con soluciones estándar de claritromicina, se pesó 300, 400, 500, 600, 700 mg de principio activo para los niveles de 15, 20, 25, 30 y 35 ppm respectivamente, en un balón de 1000 mL, se agregó 500 mL de Buffer Acetato de Sodio 0.1 M y se zonificó por 10

min. Se tomó 5 mL de la solución anterior y se agregó el volumen de ácido sulfúrico en que se desarrolló el color, se dejó reaccionar por 75 min y se aforó con solución de HCl y se leyó la absorbancia a 481 nm.

## **2.8. Preparación de la muestra**

Diez comprimidos de cada casa comercial se trituraron hasta polvo y se pesó la cantidad equivalente para llegar a concentraciones de 15, 25, 35, 55 ppm. Las muestras se trataron de la misma manera que los estándares.

## **2.9. Determinación de trazabilidad del método [6]**

Para comparar la trazabilidad del método espectrofotométrico se realizó una t pareada con los datos de cuantificación de claritromicina en comprimidos, obtenidos por los dos métodos y se determinó que no existe diferencias significativas.

## **2.10. Validación del método analítico**

Se establecieron los criterios de aceptación para cada parámetro de calidad de la validación del método y se procedió a realizar los ensayos de linealidad, precisión, exactitud, robustez e incertidumbre [7, 8].

Para la linealidad, se realizó un ajuste, cada día y por cinco días de la función de respuesta instrumental para cinco niveles de concentración (15, 20, 25, 30, 35 mg/L) por triplicado en cada nivel.

La determinación de la exactitud, se realizó con un Material de Referencia (MR) [9] o material de Referencia enriquecido en 5 niveles (15, 25, 35, 55 mg/L) y de un material de referencia certificado (MRc) por quintuplicado, en condiciones de repetibilidad. Repetición del diseño anterior en cinco días distintos en condiciones de reproducibilidad.

La determinación de la especificidad se realizó con muestras de 3 casas farmacéuticas por triplicado para la realización de un barrido espectral.

La determinación de la robustez, se realizó con un Material de Referencia (MR) en un nivel de concentración determinado por triplicado y variando el tiempo de reacción de la formación del cromóforo coloreado, el

pH de la solución buffer acetato y la normalidad del ácido clorhídrico.

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Selección de la longitud de onda

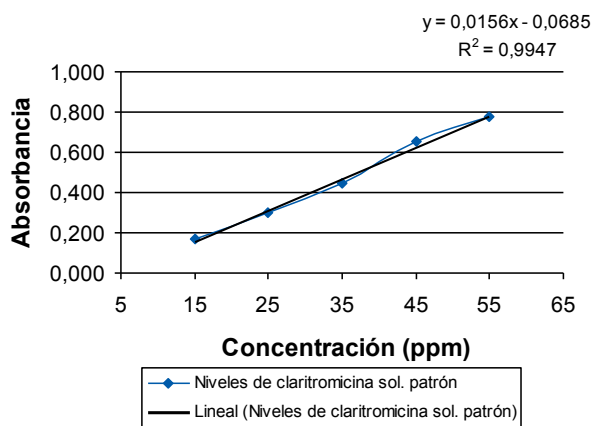
Se observó el valor de la longitud de onda en el que la claritromicina tiene un pico de absorción máxima en la región del visible, cuando se solubiliza en buffer acetato de sodio y se agrega diferentes volúmenes de ácido sulfúrico concentrado para evaluar el desarrollo máximo de color. Además se obtiene la respuesta del principio activo puro y de una muestra para evaluar las interferencias.

**Tabla 1.** Pico de absorción máxima Uv-Vis

Solventes	Volumen Reactivo, ml	$\lambda$	Abs. st	Abs. M
B. Acetato Sodio/ A. sulfúrico	10	481	0.604	0.610
B. Acetato Sodio/ A. sulfúrico	7.5	481	0.201	0.147
B. Acetato Sodio/ A. sulfúrico	5.0	481	0.158	0.060
B. Acetato Sodio/ A. sulfúrico	2.5	481	0.098	0.0054

#### 3.2. Intervalo óptimo de concentraciones y curva de calibración.

El gráfico 1 representa la relación entre la absorbancia y la concentración de claritromicina, cuando se cambia el volumen de ácido sulfúrico concentrado (reactivo que desarrolla color). Además se indica el valor del grado de correlación  $R^2$ , que es un parámetro que evalúa la linealidad.



**Gráfico 1.** Intervalo óptimo de concentraciones para claritromicina (reacción con 10.0 mL ácido sulfúrico)

El valor del grado de correlación  $R^2$  es 0.9947.

#### 3.3. Comparación del método cromatográfico y espectrofotométrico para cuantificación de claritromicina

##### 3.3.1. Método Cromatográfico [10]

Se observan los valores de las áreas de los picos cromatográficos y los valores de concentración en (mg/tab) correspondientes al estándar y a los materiales de referencia de un lote piloto de claritromicina rechazado. El estándar se repite tres veces al inicio y dos al final del análisis, mientras que cada medida independiente de un material de referencia se repite dos veces durante el análisis, todo esto para evaluar la idoneidad del sistema.

**Tabla 2.** Valoración de claritromicina por método cromatográfico

	Peso de polvo (mg)	Áreas	F Conversión	Conc. (mg/tab)
Estándar 1.1	-----	4,08346	62766,6	63,38
Estándar 1.2	-----	4,09918	62766,6	63,38
Estándar 1.3	-----	4,08899	62766,6	63,38
M. Referencia 1.1	139,91	4,09391	62766,6	448,98
M. Referencia 1.2	138,18	3,99580	62766,6	448,05
M. Referencia 2.1	139,78	4,08883	62766,6	448,85
M. Referencia 2.2	138,96	4,05721	62766,6	448,00
M. Referencia 3.1	140,46	4,10188	62766,6	448,98
M. Referencia 3.2	139,55	4,07778	62766,6	448,35
Estándar 1.4	-----	4,08736	62766,6	63,38
Estándar 1.5	-----	4,08580	62766,6	63,38

##### 3.3.2. Método Espectrofotométrico

En la tabla 3 se observan los valores de absorbancia y los valores de concentración en (mg/tab) correspondientes al estándar y a los materiales de referencia de un lote piloto de claritromicina rechazado, analizados por el método espectrofotométrico.

**Tabla 3.** Valoración de claritromicina por método espectrofotométrico

No. MR	Pesos M. referencia, mg	Abs.	Conc. (mg/tab)
1	945,5	0,269	449,364
2	945,3	0,268	447,788
3	945,6	0,270	450,986
4	945,8	0,269	449,221
5	945,6	0,268	447,646
6	945,7	0,269	449,269

### 3.3.3. Prueba t pareada

Se indican los valores de concentración de claritromicina (mg/tab) de seis repeticiones o tratamientos del material de referencia del mismo lote piloto rechazado de claritromicina analizados por el método cromatográfico HPLC y espectrofotométrico.

**Tabla 4.** Concentraciones de muestras de claritromicina de 500 mg cuantificados por método espectrofotométrico y HPLC.

Tratamientos	Concentración mg Claritromicina/ tab					
	Rep 1.	Rep. 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6
HPLC (H2)	448,98	448,05	448,85	448,00	448,98	448,35
Espectro (H1)	449,36	447,79	450,99	449,22	447,65	449,27

### 3.3.4. Establecimiento de diferencias significativas

Se observa el valor de t calculado y los valores de t de tablas, con los que hace una comparación así: la t calculada es menor a la t de tablas al 5%, por lo tanto no es significativo y se acepta la hipótesis nula. Ambos métodos son iguales.

**Tabla 5.** Valor de t calculado y de tablas: valor obtenido de una tabla de t student al 5% y al 1%.

	t calculado	t tablas*	
significancia		5%	1%
	1,032	2,571	4,032

### 3.3.5. Criterios de aceptación de validación [11]

Se detallan los criterios de aceptación para los parámetros de validación del método espectrofotométrico

co visible. Si el método cumple con estos criterios de aceptación se declarará validado.

**Tabla 6.** Criterios de aceptación en la validación

PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad/Especificidad	No existen interferencias
Linealidad/ Función respuesta	$R^2 \geq 0.99$
Límite de detección del método	A determinar
Límite de cuantificación del método	A determinar
Incertidumbre	$\%U(K=2) \leq 30 \%$
Exactitud/ Recuperación	100%R +/- 2s
Intervalo de trabajo	15-55 ppm
Precisión Repetibilidad	$\%Cv \leq 2.5 \%$
Precisión Reproducibilidad	$\%Cv \leq 2.5\%$
Robustez	$\%Cv: \leq 2.5\%$

### 3.3.6. Resultados de la validación

**Tabla 7.** Resultados de validación

Parámetro	Criterio Aceptación	Resultado	Cumple
Linealidad	$R^2 > 0.990$	0.9999	Sí
LDM	A determinar	0.44806 ppm	Sí
LCM	A determinar	1.2200 pm	Sí
Repetibilidad	$\% Cv < 2.5$	1.00	Sí
Reproducibilidad	$\% Cv < 2.5$	1.00	Sí
Exactitud	100 + 4s	101.0	Sí
Especificidad	Sin interferencias	Sin interferencias	Sí
Robustez (Reacción de color)	$\% Cv < 2.5$	0.40	Sí
Incertidumbre	$\% U (K=2) = 30\%$	26	Sí

## 4. Conclusiones

- En este estudio se desarrolló un método analítico espectrofotométrico, que resultó ser una alternativa analítica al método oficial HPLC para cuantificar claritromicina en comprimidos.
- La cantidad de claritromicina determinada por el método espectrofotométrico, se realizó por la formación de un cromóforo coloreado, que resultó de la reacción entre claritromicina (disuelta en buffer acetato de sodio y estabilizada a un pH de 4.5 con ácido clorhídrico) y 10.0 mL de ácido sulfúrico durante 75 min para desarrollar completamente el color; este

compuesto tiene un pico máximo de absorción a los 481 nm.

- El intervalo de concentraciones validado en que existe una relación lineal fue de 15 a 55 ppm.
- El límite de detección y el límite de cuantificación del método espectrofotométrico fueron de 0.44 ppm y 1.22 ppm, respectivamente.
- No existen diferencias significativas entre el método espectrofotométrico y el cromatográfico HPLC, ya que en la prueba de t pareada, se acepta la hipótesis nula, pues se obtuvo un valor de t calculado no significativo para 5% de t tablas.
- El método espectrofotométrico es selectivo o específico para claritromicina, pues en el estudio de muestras de tres casas comerciales no aparecen picos de absorción de interferentes en los barridos espectrales, lo que indica la no interferencia debida a excipientes.
- La curva de calibración o función respuesta instrumental resultó ser lineal, por el coeficiente de determinación que cumple con el criterio de aceptación mayor a 0.990.
- El método espectrofotométrico es preciso, ya que los coeficientes de variación de las medidas de concentración de claritromicina en comprimidos, obtenidos en repetibilidad y reproducibilidad fueron de 1.0 %, por tanto menores al criterio de aceptación establecido (2.5%).
- El método espectrofotométrico es exacto, ya que los porcentajes recobrados de claritromicina en muestras enriquecidas fue de 100.5% y cumple el criterio de aceptación establecido de  $100\% + 4s$ .
- Los factores estudiados en la robustez no influyeron significativamente en los resultados, excepto el tiempo de reacción, por lo que las medidas de absorbancia deben realizarse hasta los 5 minutos luego de que se ha completado la reacción de formación del cromóforo, y las medidas obtenidas tienen un %CV de 0.40%.
- El valor de incertidumbre al 95% de confianza obtenido para este método analítico fue 26%, por lo que cumple con el criterio de aceptación establecido, de modo que las fuentes que contribuyen a la medida de incertidumbre están controladas.
- Todos los parámetros de validación cumplen con los criterios de aceptación fijados. Por lo tanto, se declara al método espectrofotométrico validado y se garantiza la reproducibilidad y la confiabilidad de los resultados obtenidos por este método.

## Referencias

1. **USP United States Pharmacopeia Convention USP XXVII:** United States Pharmacopoeia, Easton Marck Printing, 1990.
2. **C. Avendaño,** Introducción a la Química Farmacéutica, segunda edición, Mac Graw Hill, España 2001.
3. **G. Almaraz,** Nuevos Macrólidos superan a Eritromicina, Servicio de Farmacia hospital Valencia, 1995.
4. **S. Budavari,** The Index Merck, Eleventh Edition, Merck Research Laboratorios, Merck and Co. New Jersey.
5. **W. Skoog,** Química Analítica Instrumental, Edt Mac Graw Hill, Séptima edición, México, 2000.
6. **G. Frederick,** Principios de Garantía de Calidad para laboratorios analíticos, Association of Oficial Analytical Chemists, España, 1993.
7. **B. Castillo,** Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos, Centro de Química Farmacéutica, Ave 200 y 21 Atabey, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba 2001.
8. **Norma COGUANOR NGR/ISO 9000:2000** Sistemas de Gestión de Calidad Fundamentos y Vocabulario.
9. **BIMP, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAC, OIMIL,** International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM: 1993) ISO.
10. **H. Ludwing Good Laboratory Practice,** Hewlett Packard, Germany, 1994.
11. **ICH. Harmonised Tripartite Guideline Q2A** Text on Validation of Analytical Procedures. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 1994.



## Optimización del Proceso de Adsorción de Plomo con Quitosano Modificado para ser Utilizado en el Tratamiento de Aguas

C. GISELA DÁVILA MOLINA<sup>a\*</sup>; PABLO BONILLA<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Control de Calidad Nefrocontrol S.A., Los Arupos E1-129 y Av. 10 de Agosto, Quito-Ecuador

<sup>b</sup> Laboratorio de Coloideoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador

\*Correspondencia: gise\_dm5@hotmail.com

Recibido: 7 diciembre 2010 / Aceptado: 18 abril 2011

### Resumen

En este estudio, el quitosano fue extraído y modificado a partir de caparazones de camarón *Penaeus Vannamei* con el cual se prepararon dos materiales adsorbentes: quitosano-glutaraldehído (QGD) y quitosano-nitrato férrico (QFe). En la primera etapa experimental fue seleccionado el material adsorbente (QGD) que presenta un mayor porcentaje de adsorción. En las etapas experimentales posteriores son analizadas las influencias de factores como el pH, la dosificación del adsorbente, velocidad de agitación, temperatura y tiempo de contacto en la adsorción de plomo en QGD; estableciéndose en la optimización que son determinantes: el pH, la dosificación del adsorbente y el tiempo de contacto en un rango de 6,75-7,00; 0,35-0,50 g y 151-175 min respectivamente. Teniéndose una eficiencia en remoción de plomo con QGD de 98,40% y encontrándose a partir del estudio isotérmico que la capacidad adsorbente de este material es de 282,61 mgPb<sup>2+</sup>/gQGD

**Palabras clave:** quitina, quitosano, quitosano-glutaraldehído, quitosano-hierro, adsorción, plomo.

### Optimization of the Lead Adsorption Process with Modified Chitosan for being used in the Treatment of Water

#### Abstract

In this study, chitosan extracted from *Penaeus Vannamei* shrimp was modified to prepare two adsorbent materials: chitosan-glutaraldehyde (QGD) and chitosan-ferric nitrate (QFe). Effects of the pH, dosage of adsorbent, stirring speed, temperature and contact time were evaluated. The best lead adsorption was found to occur onto QGD at pH 6,75-7,00; dosage of adsorbent 0,35-0,50g and time of contact 151-175min. The efficiency of lead remotion with QGD was 98,40% and the isothermal study of adsorptive capacity showed an absorption of 282,61mg of Pb<sup>2+</sup> per g of QGD.

**Key words:** chitosan, chitin, chitosan-glutaraldehyde, chitosan-iron, adsorption, lead.

## 1. Introducción

La contaminación de plomo proviene principalmente de fuentes como las soldaduras de tuberías, pilas y baterías, aparatos electrónicos, objetos de vidrio y cerámica, también en pinturas, en plásticos como el PVC que es utilizado en tuberías de distribución de agua

potable, en vertidos industriales y labores mineras. Generándose así, aguas con altas concentraciones de plomo que son perjudiciales para el medio ambiente, puesto que el plomo es causante de graves daños en los seres vivos y es capaz de permanecer largo

tiempo en el entorno, circulando o acumulándose en sedimentos y organismos vivos, de este modo es como se incorpora a las cadenas alimentarias [1].

Consecuentemente se vuelve necesario encontrar tecnologías no convencionales que eviten la entrada de plomo en medios acuáticos; además, concientizar a las industrias sobre la reducción de la concentración de plomo hasta niveles que no generen problemas de toxicidad.

Entre las técnicas convencionales usadas en la remoción de metales pesados se tiene: la precipitación química, intercambio iónico, tecnología de membranas y tratamiento electroquímico [2]; sin embargo, en estos días ha tomado gran importancia la biosorción ya que es una "tecnología limpia" que puede ser usada en los procesos de remediación ambiental, para recuperación de metales y descontaminación de aguas residuales contaminadas con iones de metales pesados. Se basa en la utilización de desechos orgánicos que evitan problemas de contaminación porque pueden regenerarse y no son costosos, ya que en general son procedentes de residuos de industrias alimenticias, como es el caso de este estudio, en el que fueron utilizados desechos de la industria camaronera, de donde es posible obtener quitosano como material adsorbente, cuyas propiedades acomplejantes con iones metálicos, en general, muestran alta eficiencia en la remoción de mercurio, cromo, cobre, zinc, entre otros; motivo por el cual fue considerado en este estudio, pretendiéndose la optimización del proceso de adsorción de plomo y al mismo tiempo la reutilización de los residuos provenientes de la industria camaronera, que en nuestro país es uno de los principales productos de exportación y que aún no se encuentra ampliamente difundida.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Materiales

Se utilizaron caparazones de camarón *Penaeus vannamei* del mercado América. Para la extracción de quitina se utilizaron soluciones de ácido clorhídrico 1N e hidróxido de sodio 1N. La desacetilación termoalcalina de quitina para su conversión a quitosano fue realizada con hidróxido de potasio 70%. En la síntesis de los materiales adsorbentes provenientes de

quitosano fue utilizado ácido acético 2%, glutaraldehído 2,5%, nitrato férrico nonahidratado 0,01 N. Para la optimización del proceso de adsorción se utilizó una solución estándar de 1.000 ppm de plomo.

### 2.2. Equipos

Se utilizó un espectrómetro de absorción atómica Thermo Electron S Series AA Spectrometer para la determinación de plomo en las soluciones acuosas ensayadas.

### 2.3. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos y el análisis estadístico en este estudio fue llevado a cabo usando el software estadístico Minitab 15 [6]. El diseño de experimentos comprendió tres etapas. Cribado, en el cual se determinó el adsorbente de mayor eficiencia, comparándolo con zeolita (clinoptilolita) que tiene buenas propiedades de adsorción para plomo, como criterio de selección; también se analizó la concentración de plomo con la cual se trabajaría en las siguientes etapas, tomándose en cuenta el bloqueo de las otras variables, teniéndose un diseño de dos factores y tres niveles que al ser replicado a un total de 18 experimentos. Fue utilizado un diseño de Plackett-Burman en el cual fueron analizados como factores: la dosificación del adsorbente, el pH, el tiempo de contacto, la velocidad de agitación y la temperatura [4], determinado así qué factores eran predominantes en la adsorción de plomo, incluyendo dos réplicas, teniéndose 24 experimentos. Finalmente, se llevó a cabo un diseño de optimización Box-Behnken, en el cual fueron analizados el pH, la dosificación del adsorbente y el tiempo de contacto.

### 2.4. Procedimiento experimental

#### 2.4.1. Extracción de quitina [3]

Se realizó la desmineralización con HCl 1 N durante tres horas, considerando que debe existir una relación 1:10 entre la cantidad de caparazones y el volumen de ácido, se neutralizó con abundante agua destilada. Posteriormente, se realizó la desproteinización utilizando NaOH 1N durante tres horas, considerando una relación 1:15, se neutralizó con abundante agua destilada. Se secó la quitina obtenida a una temperatura de 60°C.

### 2.4.2. Obtención de quitosano

La desacetilación fuertemente alcalina se realizó con KOH 2N durante cuatro horas a una temperatura de 105°C considerando una relación de 1:15 entre quitina y volumen de KOH 2N.

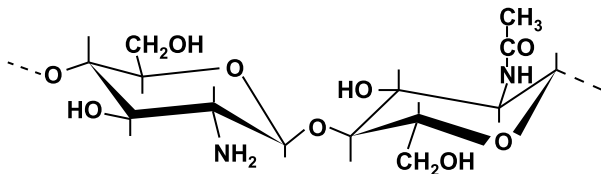


Figura 1. Unidad repetitiva de quitosano

### 2.4.3. Síntesis de materiales adsorbentes derivados de quitosano

#### 2.4.3.1. Reticulación de quitosano con glutaraldehído [5]

Se preparó una solución al 2% de quitosano en CH<sub>3</sub>COOH al 2% mediante agitación hasta formar una solución viscosa, esta es dosificada sobre una solución de KOH 2N, formándose así las esferas de quitosano las cuales después de ser lavadas con agua destilada hasta neutralización fueron colocadas en glutaraldehído 2,5% agitándose durante 6 horas.

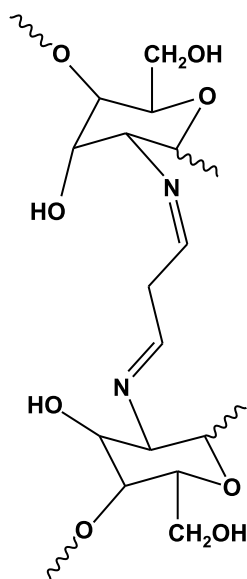


Figura 2. Quitosano-Glutaraldehído

### 2.4.3.2. Quitosano-nitrato férrico [5,7]

Se preparó una solución al 2% de quitosano en nitrato férrico nonahidratado 0,01N acidificado con ácido acético, obteniéndose una solución viscosa, la cual fue dosificada sobre una solución de hidróxido de potasio 2N, lavándose posteriormente con agua destilada hasta neutralización.

### 2.4.4. Optimización de la adsorción de plomo en quitosano

La optimización del proceso de adsorción de plomo sobre quitosano fue estructurada en las etapas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Estructuración de factores y niveles en el diseño de experimentos propuestos

Tipo de diseño	Factores	Niveles	Parámetro de medición
Cribado	Tipo de adsorbente	QGD, QFe, Zeolita	% Remoción de plomo
	Concentración óptima	10, 20 y 30 ppm	
Plackett-Burman	pH	5,0-7,0	
	Dosificación de adsorbente	0,10-0,30g	
	Tiempo de contacto	75-150 min	
	Temperatura	25-40 °C	
	Velocidad de agitación	100-200 rpm	
Box-Behnken	Dosificación adsorbente	0,30g; 0,45g; 0,60g	
	pH	6,50; 6,75; 7,00	
	Tiempo de contacto	150, 165 y 180 min	

### 2.4.5. Determinación de la capacidad de adsorción del material adsorbente y estudio cinético

Se determinó la capacidad de adsorción del material utilizando los modelos planteados por Langmuir y Freundlich, preparando una serie de soluciones de concentraciones de 10 a 100 ppm de plomo, las cuales fueron sometidas a las condiciones establecidas como óptimas para la adsorción.

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Extracción de quitina y obtención de quitosano

De acuerdo a la metodología utilizada para la extracción de quitina se tuvo un rendimiento del 7,08%. Posteriormente, se realizó la desacetilación termoalcalina de quitina, teniéndose un rendimiento del 68,18%; las propiedades del material obtenido se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Ensayos complementarios para caracterización de quitosano

Método de caracterización	Resultados obtenidos
Grado de desacetilación	83,34%
Pérdida por desecación	10,26%
Sólidos insolubles	0,62%
Cenizas	0,88%
Contenido de nitrógeno	6,74%

#### 3.2. Síntesis de materiales adsorbentes derivados de quitosano

Las propiedades de los materiales adsorbentes, objetos de este estudio, se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Características materiales adsorbentes derivados de quitosano

Material adsorbente	Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	%Humedad
Quitosano-Glutaraldehído	0,8421	83,98
Quitosano-Nitrato Férrico	0,8373	91,31



**Figura 3.** Quitosano-Nitrato Férrico



**Figura 4.** Quitosano-Glutaraldehído

#### 3.3. Optimización del proceso de adsorción de plomo

##### 3.3.1. Cribado

De acuerdo al análisis de varianza realizada, se tuvo que el factor determinante es el tipo de adsorbente y que existe una interacción importante entre

tipo de adsorbente y concentración. El tipo de adsorbente es seleccionado en función de su comportamiento similar al de la zeolita, es decir, el que presenta una mejor respuesta en el porcentaje de remoción de plomo, siendo quitosano-glutaraldehído frente a una concentración de 10 ppm de plomo; esta es la mejor combinación entre los factores analizados.

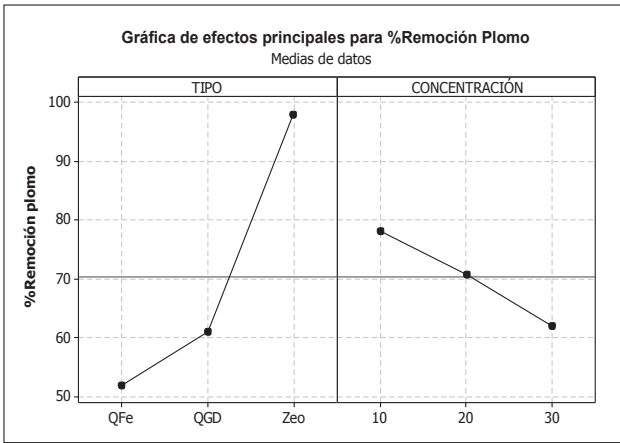


Figura 5. Gráfico de efectos principales-cribado

### 3.3.2. Plackett-Burman

Se estableció que el efecto principal de este diseño es la dosificación del adsorbente; sin embargo, por medio del análisis de varianza se determinó que este factor no puede explicar por sí solo el modelo de adsorción, siendo considerados como importantes también los efectos de pH y tiempo de contacto.

### 3.3.3. Box-Benhken

Por medio del software estadístico Minitab 15 se obtuvieron las siguientes gráficas de superficies que muestran las correspondientes interacciones por pares de los factores analizados:

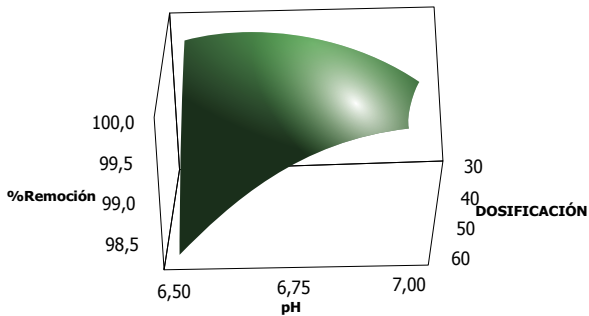


Figura 6. Superficie % Remoción Pb<sup>2+</sup> vs. pH. Dosificación

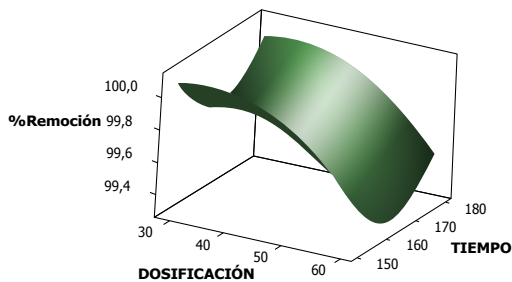


Figura 7. Superficie % Remoción Pb<sup>2+</sup> vs. tiempo

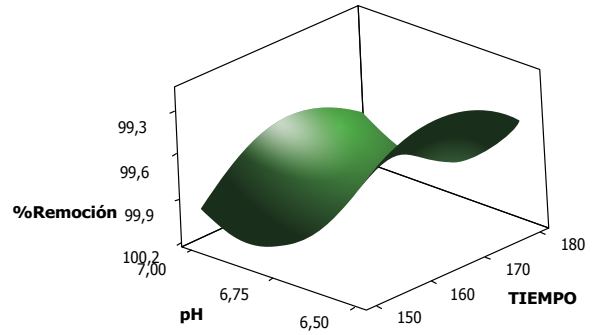


Figura 8. Superficie % Remoción Pb<sup>2+</sup> vs. tiempo. pH

Teniéndose áreas óptimas de adsorción en pH de 6,75-7,00; dosificación de 0,35g-0,50 g y un tiempo de contacto de 151<t<175 min.

Una de las herramientas del software estadístico Minitab 15 es el optimizador de respuesta, con el cual se obtuvo que los óptimos teóricos para el fenómeno de adsorción se tenían con una dosificación de 0,3279 g; un pH de 6,72 y un tiempo de 153,26 min; bajo estos óptimos teóricos fueron realizados ensayos; teniéndose que el porcentaje de adsorción de plomo es de 98,40% con lo cual se tiene un error versus optimización teórica (100%) de 1,598%.

### 3.4. Determinación de la capacidad de adsorción máxima y estudio cinético de adsorción

Se determinó que la adsorción de plomo en quitosano-glutaraldehído se rige bajo el modelo de Freundlich, asumiéndose con esto que se da la adsorción de moléculas formando una monocapa de superficie heterogénea, encontrándose que la capacidad de adsorción máxima es de 282,61 mgPb<sup>2+</sup>/gQGD

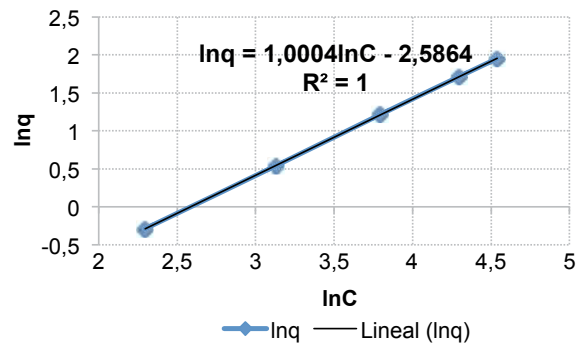
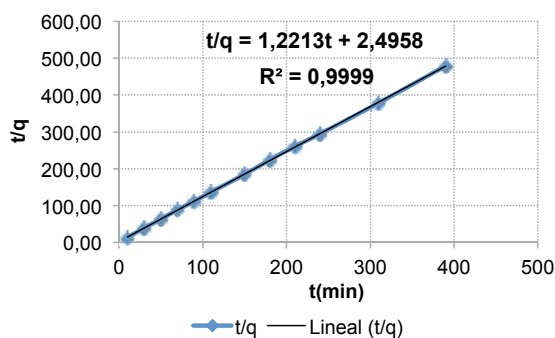


Figura 9. Isoterma de Freundlich para adsorción de plomo en QGD



El estudio cinético de la adsorción de plomo en quitosano-glutaraldehído, se ajusta al modelo cinético de pseudo segundo orden; esto supone entonces que el plomo es adsorbido en dos sitios activos, dados por el grupo imino y el grupo hidroxilo, presentes en la molécula; además, se denota que se da la adsorción hasta el tiempo estimado como óptimo.



**Figura 10.** Modelo cinético de pseudo segundo orden para adsorción de plomo en QGD

#### 4. Conclusiones

El porcentaje de remoción de plomo utilizando quitosano-glutaraldehído es de 98,40%, siendo entonces

un excelente material adsorbente para la eliminación de plomo en soluciones acuosas, pudiendo ser una alternativa eficiente y de paso que propone la reutilización de desechos de la industria camaronera en Ecuador. Además de eso, las condiciones de adsorción para la eliminación de plomo han sido optimizadas con éxito. Las condiciones óptimas encontradas son de 0,3279 g de quitosano-glutaraldehído; pH de 6,72 y tiempo de contacto de 153,26 min; bajo estas condiciones óptimas se obtuvo que la capacidad de adsorción máxima de plomo en QGD es de 282,61 mgPb<sup>2+</sup>/gQGD.

#### Agradecimientos

El presente estudio pudo ser realizado en las instalaciones de Nefrocontrol S.A.; agradezco el apoyo y ayuda brindados por la Dra. Lourdes Pazos G. De igual manera, mi agradecimiento al Ing. Daniel Pazos, pilar fundamental durante el desarrollo de este trabajo, por su amistad, guía y asesoría incondicional.

Asimismo, deseo agradecer la asistencia proporcionada por el Dr. Ronny Flores, profesor de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

#### Referencias

1. Aprovechame-Ministerio de Educación y Cultura de España. (s.f.). Reutilización de residuos de rapa para la eliminación de metales tóxicos en efluentes líquidos. (Scirus) Recuperado el 06 de marzo de 2009, de Aprovechamiento de residuos vegetales procedentes de procesos industriales para la concentración y separación de iones metálicos-Aprovechame: www.scirus.com
2. Volesky, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy. No.59, (2001), p. 203-216.
3. Peniche Cavas, C. A. (2006). Estudios sobre Quitina y Quitosano. La Habana.
4. Kabbashi, N., Nour, A. H., Muyibi, S., & Qudsieh, I. Y. (2009). Development of a wastewater treatment system for chromium removal using chitosan.
5. Díaz de Apodaca, E., Villarán Velasco, M. C., Río Pérez, F. R., & Ibarra, L. L. (2007). Utilizado de adsorbentes basados en quitosano y alginato sódico para la eliminación de iones metálicos: Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>.
6. Minitab Inc., "Minitab registrado", versión 15.120.0, Microsoft Windows XP, 2006
7. Vassireddy, D. (2005). Arsenic adsorption onto iron-chitosan composite from drinkin water. Missouri: Universidad Missouri-Columbia

## Remoción de Fósforo en un Sistema de Humedales Artificiales a Escala de Laboratorio

MARÍA IVONNE REYES LUZ, ALEJANDRO GUIDO ZÁRATE,  
SONIA GABRIELA CARRILLO NÚÑEZ, CARMEN DURÁN DE BAZÚA<sup>o\*</sup>

<sup>o</sup> Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, UNAM, Paseo de la Investigación Científica s/n, 04510 México D. F., México. Tel. 5622-5300 al 04, Fax: 5622-5303

\* Correspondencia: mcduran@unam.mx

Recibido: 15 marzo 2011 / Aceptado: 14 septiembre 2011

### Resumen

Se estudió la remoción de fósforo en cuatro reactores biológicos empacados con escoria volcánica (tezontle) que simulan la parte radicular de un humedal artificial. El diseño experimental incluyó el efecto de la planta y sus réplicas (reactores RA<sub>1</sub>, RB<sub>1</sub> con planta y RA<sub>2</sub>, RB<sub>2</sub> sin planta), así como la concentración inicial de contaminantes medida como demanda química de oxígeno (relación C:N:P de 30:1:0.04 equivalente a 450 mg DQO/L y 15:1:0.04 equivalente a 225 mg DQO/L) en la asimilación de fósforo. El agua residual sintética se elaboró con sacarosa como fuente de carbono, C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>; sulfato de amonio como fuente de nitrógeno, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y fosfato de sodio dodecahidratado como fuente de fósforo, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O. Para simular periodos de 16 h de luz y 8 h de oscuridad se emplearon 8 lámparas de tubos fluorescentes de 30 W. Se colocaron tres electrodos comerciales (Ag/AgCl-Pt) para medir potenciales de óxido-reducción, pOR, a diferentes profundidades (2, 10, 30 cm de la superficie de cada reactor). Se plantaron brotes de *Phragmites australis* (carrizo) en los reactores RA<sub>1</sub> y RB<sub>1</sub>. Al alcanzar la estabilidad se midieron los parámetros de fósforo total, DQO, potenciales redox, pH y temperatura. Los resultados muestran que en todos los reactores hubo remoción de fósforo y que fue significativamente mayor con planta (RA<sub>1</sub> y RB<sub>1</sub>, 93% en promedio para ambos reactores) (p<0.05, 0.01). No hubo una diferencia significativa (p<0.05, 0.01) entre la disminución de la DQO y la de P para las dos relaciones C:N:P. La remoción de la DQO para el diseño experimental del efecto de la presencia de la planta y de la concentración inicial de DQO sí fue estadísticamente diferente debido a la presencia de la hidrofita, así como a la concentración inicial de carbono (p<0.05 para la presencia de la planta y p<0.05, 0.01 para la concentración inicial de carbono), siendo ligeramente mayor en aquellos reactores con planta, indicando que ésta sí tiene un efecto depurador adicional a las comunidades microbiológicas que proliferan en los reactores.

**Palabras clave:** fósforo, humedales artificiales, escala de laboratorio.

### Removal of Phosphorus in a Laboratory Scale System of Artificial Wetlands

#### Abstract

Removal of phosphorus in four packed biological reactors simulating the root zone of an artificial wetlands was performed. Reactors packing was volcanic slag (tezontle in the Aztec language). The experimental design included the effect of the macrophytes (reactors RA<sub>1</sub> with plant, and RA<sub>2</sub> without plant), and its replicas (RB<sub>1</sub> with plant, and RB<sub>2</sub> without plant), as well as the initial concentration of pollutants measured as chemical oxygen demand (one with a C:N:P ratio of 30:1:0.04 equivalent to 450 mg COD/L, and the other one with a ratio 15:1:0.04 equivalent to 225 mg COD/L) in the phosphorus assimilation. Synthetic wastewater was made using sucrose as carbon source, C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>; ammonium sulfate as nitrogen source, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and dodecahydrated sodium phosphate as phosphorus source, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O. Light was obtained from 8 lamps of 30 W fluorescent tubes automatically controlled to simulate light periods of 16 h and 8 h darkness. Three commercial electrodes (Ag/AgCl-Pt) to measure oxidation-reduction potentials, pOR, at different depths were placed to evaluate the redox

potential differences (2, 10, 30 cm from the upper reactor surface). Shoots of a *Phragmites australis* macrophyte were planted in the reactors RA<sub>1</sub> and RB<sub>1</sub>. Once stability was reached total phosphorus, COD, redox potentials, pH, and temperature. Results show that all reactors had phosphorus removed, and the removal was significantly higher in the reactors with plant (RA<sub>1</sub> and RB<sub>1</sub>, 93% in average for both reactors) ( $p < 0.05$ , 0.01). No significant difference ( $p < 0.05$ , 0.01) was found between the COD reduction and phosphorus for the two experiments with 450 and 225 mg COD/L. Removal of COD for the experimental design carried out (effect of the macrophyte and the initial COD concentration) in both cases was statistically different due to the presence of the plant, as well as the initial carbon concentration ( $p < 0.05$  for the plant presence, and  $p < 0.05$ , 0.01 for the initial carbon concentration), being slightly higher for those reactors with plant, indicating that they do have an additional effect to the microbiological communities proliferating in the reactors.

**Key words:** phosphorus, artificial wetlands, laboratory scale.

## 1. Introducción

En México, el problema de la contaminación del agua y su disponibilidad para las diversas actividades económicas y productivas del país es cada vez más creciente (1), lo cual ha obligado a la búsqueda de alternativas de solución económicamente viables (16). Se estima que aproximadamente el 80% de las aguas residuales generadas son descargadas al ambiente sin ningún tratamiento adecuado (3).

A nivel mundial, la preocupación por los problemas de contaminación del agua se dio con mayor ahínco a partir de la década de los setenta del siglo XX en Europa y países como Estados Unidos de América, Canadá, Gran Bretaña y Japón, en donde la urbanización y la industrialización creciente se vieron acompañadas de graves problemas de contaminación del agua. En las regiones menos desarrolladas, los desechos de las poblaciones constituyen una amenaza para la salud pública y ponen en peligro el uso ininterrumpido de reservas de agua (4).

En el agua residual, el fósforo puede provenir de varias fuentes, principalmente por el uso de los detergentes a los que todavía se les adicionan fosfatos, generando problemas en los cuerpos de agua ya que el fósforo en grandes cantidades provoca daños al alterar el equilibrio de los mismos.

Debido a que el fósforo es un nutriente esencial para los seres vivos, los microorganismos presentes en los procesos de tratamiento pueden asimilarlo e incorporarlo a sus tejidos celulares. Cuando el fósforo no es removido de las aguas residuales y cuando éste llega

en concentraciones relativamente altas a los cuerpos de aguas, este nutriente permite el crecimiento y desarrollo de una gran cantidad de algas y otros microorganismos. Al morir, estos microorganismos tienden a flotar en la parte superficial del agua limitando el paso de la luz solar y, con ello, limitando que la fotosíntesis se lleve a cabo de manera normal, lo que da lugar a una disminución en la concentración de oxígeno dentro del cuerpo de agua, provocando la muerte de peces y otros organismos superiores. A este fenómeno se le conoce como "eutrofización".

Es necesario que el fósforo se elimine de las aguas residuales antes de que éstas se descarguen a los cuerpos de agua causando al fenómeno antes descrito. El empleo de tecnologías alternativas como los humedales artificiales puede ser la solución a este problema. Sin embargo, es necesario estudiar los mecanismos de remoción que se presentan dentro de estos sistemas para poder entender mejor su funcionamiento y aplicar criterios de diseño basados en la información generada.

Los humedales artificiales, HA, son sistemas de tratamiento de aguas residuales que imitan la actividad depuradora realizada por los humedales naturales. A grandes rasgos, un HA se construye haciendo una excavación de forma rectangular que es impermeabilizada y después rellena con uno o varios materiales de empaque como arena, grava o tezontle que funcionan como filtro para el agua y como soporte para las plantas que son sembradas en él. El material de empaque también funciona como soporte para la gran cantidad y diversidad de microorganismos (bacterias principal-

mente) que se desarrollan sobre él y sobre las raíces de las plantas y que contribuyen a la depuración del agua degradando la materia orgánica. Desde el punto de vista de la ingeniería, un humedal artificial puede conceptualizarse como un reactor empacado donde ocurren reacciones químicas y biológicas, así como procesos físicos sobre la superficie del empaque.

Los HA imitan los procesos que ocurren en los humedales naturales, con las variantes de que en los HA se regulan ciertos parámetros como la cantidad de agua a tratar, el régimen de flujo y la calidad de agua obtenida. Los contaminantes en los HA se remueven a través de una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos, incluyendo la sedimentación, precipitación, adsorción, asimilación por las plantas y transformaciones bioquímicas mediante los microorganismos presentes en forma de película sobre el material de soporte (5). Dentro de un HA, las áreas próximas a las raíces de las plantas son aerobias, especialmente durante el día cuando la actividad fotosintética de la planta favorece la generación de oxígeno, mientras que las más alejadas de ellas o durante la noche cuando las plantas respiran como cualquier organismo aerobio, consumen el oxígeno presente en sus alrededores y las condiciones de las áreas de todo el reactor son anaerobias, con excepción del área en contacto con el aire del ambiente, donde por difusión molecular este elemento se difunde al reactor, permitiéndose así que se desarrolle una gran variedad de microorganismos dentro del lecho, incluyendo no sólo bacterias, sino también protozoarios, rotíferos, nemátodos, etc., mismos que contribuyen a la remoción de los contaminantes (1).

Se ha encontrado que los humedales son efectivos para el tratamiento de la DBO, sólidos suspendidos, nitrógeno y fósforo, así como la disminución de la concentración de metales, compuestos químicos, orgánicos y patógenos ya que muchos de los grupos microbianos de los humedales son predadores de los organismos patógenos (6; 7).

Tomando en cuenta que los humedales construidos o artificiales son ecotecnologías económicamente viables, de gran capacidad para la remoción de contaminantes y que no necesitan de grandes costos en su operación y mantenimiento, los humedales son una buena opción para implementarse en comunidades pequeñas o rurales para el tratamiento de las aguas

residuales que éstas generan y que, después de ser tratadas, puedan utilizarse para riego en las zonas que no cuentan con el capital para suministrar agua potable para riego, además de que son estéticamente agradables a la vista.

Un humedal está compuesto por agua, "sustrato" o material de soporte, plantas vasculares, residuos de la planta, invertebrados (larvas y lombrices) y una gran variedad de microorganismos (en su mayoría bacterias), otro componente importante de un humedal artificial es la capa impermeable que evita que el agua contamine el subsuelo y las aguas subterráneas, quedando aislado de los alrededores. El humedal sólo cumple con la función de tratar el agua. La hidrología es el factor de diseño más importante en un humedal artificial porque es este factor el que determina en mayor medida muchos de los mecanismos por los cuales se remueven los contaminantes dentro de un HA. Se requiere un soporte debido a que las macrofitas no cuentan con un medio de soporte, el material de empaque utilizado es generalmente inerte como la arena, la escoria volcánica, piedras o materiales de las propias zonas que resulten económicas y viables para su utilización (8). El material de soporte es también muy importante para los microorganismos, los cuales juegan un papel muy importante en la degradación de la materia orgánica, ya que pueden existir transformaciones microbianas aerobias (es decir, requieren oxígeno libre o molecular) mientras otras transformaciones son llevadas a cabo en condiciones anaerobias (tienen lugar en ausencia de oxígeno libre o molecular). Los microorganismos presentes en el material de soporte de un humedal y en la zona de la rizosfera de las plantas son los responsables de llevar a cabo la degradación biológica de la materia orgánica. Estos consumen el C, N y P disueltos en el agua y parte de estos nutrientes los incorporan a su tejido celular (1), para llevar a cabo los procesos metabólicos, como su crecimiento y reproducción. El mayor beneficio de las plantas es la transferencia de oxígeno a la zona de la raíz. Su presencia física en el sistema (los tallos, raíces y rizomas) permite la penetración al medio de soporte y transporta el oxígeno de manera más profunda (7; 9; 10), de lo que llegaría naturalmente a través de la difusión.

Esta investigación tiene como objetivo probar en un sistema de humedales artificiales a escala de labora-

torio el efecto de las macrofitas en la eliminación del fósforo presente en aguas residuales.

A continuación se presenta la metodología seguida y los resultados obtenidos.

## 2. Materiales y Métodos

El sistema experimental a escala de laboratorio se montó en un laboratorio donde la temperatura se mantuvo relativamente constante ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). El sistema constó de cuatro reactores de 30 cm de diámetro y 35 cm de altura empacados con escoria volcánica (te-zontle) previamente lavada y esterilizada a  $121^\circ\text{C}$  por 30 min (1), sirviendo como soporte para las plantas y para los microorganismos. La escoria volcánica tiene un tamaño de partícula específico que permite un adecuado flujo del agua residual (2). Su granulometría estuvo distribuida como se muestra en la Tabla 1. El sistema experimental estuvo compuesto por los reactores  $RA_1$  (reactor con planta) y  $RA_2$  (reactor sin planta) y sus réplicas ( $RB_1$  con planta y  $RB_2$  sin planta), que funcionaron como humedales artificiales de flujo vertical descendente (HAFV). Las Figuras 1, 1a, 1b y 2 muestran a detalle el sistema experimental empleado. Estos reactores se alimentaron con agua residual sintética (11; 12), con un flujo de alimentación continua de 7 litros por día manteniendo condiciones de inundación (un cm debajo de la superficie). Se implementó un sistema para la iluminación de los reactores manteniéndose con 16 h de luz y 8 h de oscuridad, empleando ocho lámparas de tubos fluorescentes de 30 W cada una, con características similares a la luz de día. Las plantas que fueron utilizadas, *Phragmites australis* (carrizos) se extrajeron de una misma planta madre y con un sólo brote del mismo tamaño que fue tomado de un humedal de flujo horizontal ubicado en los Viveros de Coyoacán de la Ciudad de México. Un brote de 1.5 cm de altura se plantó a 10 cm de profundidad en el reactor  $RA_1$  y otro similar en el  $RB_1$ . Los reactores  $RA_2$  y  $RB_2$  se emplearon como control sin planta. Para la medición del pOR (potencial de óxido-reducción) se utilizaron electrodos comerciales de Ag/AgCl-Pt. Se colocaron a diferentes profundidades (2, 10 y 30 cm),

con respecto de la parte superior de los reactores y se tomaron mediciones con un sistema de adquisición de datos computarizado durante las 24 horas de cada día, siendo almacenados para su análisis posterior. En todos los reactores se midieron los parámetros de fósforo total, DQO, potenciales redox, pH y temperatura siguiendo las metodologías estandarizadas que se presentan en la literatura (13) y con un potenciómetro comercial ORIÓN, Modelo 720A, de acuerdo con las condiciones del fabricante. La temperatura del cuarto donde se encontraba el sistema fue medida con un termómetro de la marca "Brannan".

**Tabla 1.** Estratos de material de soporte en las columnas de estudio (11)

Díámetro granular (mm)	Grosor del estrato (cm)	Altura relativa a la parte inferior de la columna (mm)
4-8	20	110
0.5-4	60	90
4-8	10	30
12-16	20	20

### 2.1. Características del agua residual

La alimentación del sistema se llevó a cabo en dos etapas, la primera fase experimental se realizó con un agua residual sintética que tenía una  $DQO_{\text{soluble}} = 450 \text{ mg O}_2/\text{L}$  con una relación C:N:P de 30:1:0.04, empleando sacarosa como fuente de carbono,  $C_{12}H_{22}O_{11}$ ; sulfato de amonio como fuente de nitrógeno,  $(NH_4)_2SO_4$  y fosfato de sodio dodecahidratado como fuente de fósforo,  $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ . Para la segunda fase experimental se redujo la  $DQO_{\text{soluble}}$  a  $225 \text{ mg O}_2/\text{L}$  empleando los mismos reactivos. El agua sintética se preparó diariamente disolviendo 18 g de sacarosa, 1.2 g de sulfato de amonio y 0.12 g de fosfato de sodio dodecahidratado en 40 L de agua de la llave para evitar problemas de descomposición en el tanque de almacenamiento y en las tuberías de alimentación. Para la segunda etapa, sólo se varió la cantidad de sacarosa pesando 9 g de este elemento, dando una relación C:N:P de 15:1:0.04.



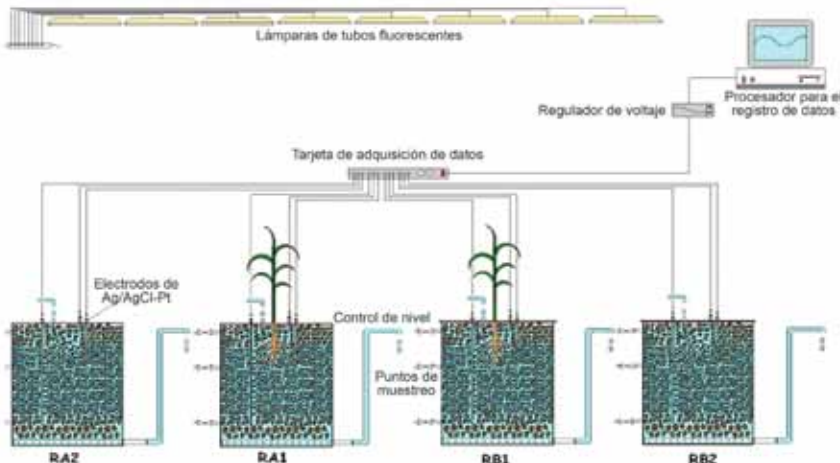


Figura 1. Diagrama del sistema experimental completo (1)

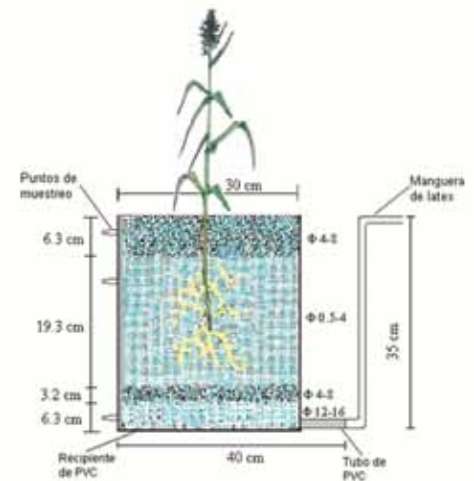


Figura 2. Detalle de la construcción de los reactores (1)



Figura 1a. Sistema experimental



Figura 1b. Sistema experimental con iluminación

## 2.2. Diseño experimental

De acuerdo con lo señalado arriba, el diseño experimental fue el siguiente:

Efecto de las macrofitas en la remoción de fósforo:

	Presencia de macrofitas	Ausencia de macrofitas
Reactor RA <sub>1</sub> , RB <sub>1</sub>	X	
Reactor RA <sub>2</sub> , RB <sub>2</sub>		X
Concentración alta de carbono	X	X
Concentración baja de carbono	X	X

Efecto de las macrofitas en la remoción de carbono medido como DQO:

	Presencia de macrofitas	Ausencia de macrofitas
Reactor RA <sub>1</sub> , RB <sub>1</sub>	X	
Reactor RA <sub>2</sub> , RB <sub>2</sub>		X
Concentración alta de carbono	X	X
Concentración baja de carbono	X	X

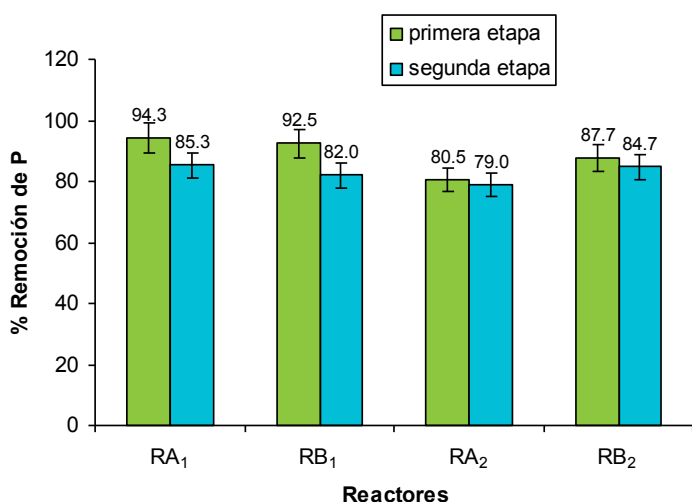
## 2.3. Metodología para el seguimiento del sistema a escala de laboratorio

Se evaluaron los parámetros mencionados en el agua residual del influente y del efluente de cada uno de los reactores del sistema a escala de laboratorio, los cuales fueron promedios de mediciones hechas por triplicado. La evaluación estadística del diseño experimental se realizó empleando el paquete Statgraphics versión 5.

### 3. Resultados y Discusión

La Figura 3 muestra el comportamiento de la disminución de fósforo en las dos etapas (para contenidos iniciales de materia orgánica medidos como demanda química de oxígeno, DQO soluble, en el agua residual sintética de 450 y 225 mg O<sub>2</sub>/L) empleando las eficiencias de remoción. Debido a algunos problemas de operación (fallas eléctricas, estancamientos de agua en los reactores), que se tuvieron en algunos días de la segunda etapa, esos valores no reflejan un comportamiento claro, por lo que no se tomaron en cuenta para el análisis, empleándose solamente los de los primeros días donde los reactores tuvieron una tendencia estable (días de operación 15 al 28).

Los valores de fósforo obtenidos indican que hay una disminución de este elemento en forma de fosfatos en todos los efluentes de los reactores. Es claro que tanto la biopelícula como las propias plantas están haciendo uso de esta fuente como macronutriente esencial para su crecimiento y desarrollo. En el caso de los microorganismos que están presentes en el material de soporte como biopelícula, este nutriente es esencial ya que lo asimilan para así poder llevar a cabo los procesos metabólicos para su desarrollo y su reproducción incorporándolo a sus tejidos y como la tasa de crecimiento de los mismos se lleva a cabo muy rápido los microorganismos juegan un papel muy importante en la remoción de este elemento.



**Figura 3.** Porcentajes de remoción de fósforo promedio de cada reactor durante las dos etapas en estudio

Como se observa, los reactores con planta (RA<sub>1</sub> y RB<sub>1</sub>) muestran claramente una remoción mayor que los reac-

tores que no la tienen (RA<sub>2</sub> y RB<sub>2</sub>) (debido justamente a la presencia de la macrófita), por lo que se puede observar que la planta juega un papel importante en la remoción de fósforo, ya que los cuatro reactores tienen el mismo material de soporte y también biopelículas microbiológicas similares. Sin embargo, dentro de los reactores se llevan a cabo otros mecanismos de remoción de fósforo además de la toma de este nutriente por la biopelícula y las propias plantas. Estos mecanismos son de tipo químico, tales como la formación de complejos con aluminio y con hierro a valores de pH ligeramente ácidos. El fósforo puede ser adsorbido en los hidróxidos de Fe y Al de la roca volcánica en condiciones ácidas y pueden precipitar como fosfatos de Fe y Al (14). El fósforo forma comúnmente complejos insolubles con el hierro oxidado (15). Se esperaba que en los reactores con planta se viera una diferencia notable en la remoción de fósforo con respecto de los reactores que no la tenían, debido a una mayor disponibilidad de oxígeno disuelto aportado por la raíz de la plantas en la zona de la rizosfera. Esto permitiría una buena oxigenación para los microorganismos aerobios que se encuentran en los alrededores de la raíz, por lo que habría una buena eficiencia en la remoción de fósforo por la planta y por microorganismos. Sin embargo, el aporte de la planta es todavía muy bajo, ya que es una sola y se encuentra en su primera etapa de crecimiento. El comportamiento es muy similar, tanto en los reactores que tienen planta como en los que no la tienen.

También se esperaba que la diferencia de C;N;P mostrara una mayor eficiencia en la remoción de fósforo total, particularmente para la etapa de 450 mgO<sub>2</sub>/L, ya que los microorganismos y la planta deberían tener el suficiente sustrato para su crecimiento y así una mejor asimilación del fósforo. Sin embargo, como una mayor concentración de materia orgánica (DQO) incrementó el consumo de oxígeno necesario para oxidarla y, por ende, se crearon condiciones más reductoras en los reactores, esto afectó la presencia de especies oxidadas de Fe para la formación de complejos insolubles de fósforo.

Estos resultados muestran, en primer término, que en todos los reactores hubo una remoción de fósforo y que esta remoción fue significativamente mayor en los reactores con planta (RA<sub>1</sub> y RB<sub>1</sub>, 93% en promedio para ambos reactores) (p<0.05, 0.01). Como se ob-

serva en la Figura 3, el porcentaje de remoción de fósforo en los reactores que tienen planta es 5% mayor que en los controles. Esto significa que entre el 80 y el 87% del fósforo se elimina por mecanismos ajenos a la planta. Estos mecanismos pueden ser bioquímicos, físicos o químicos. La cantidad de fósforo removido por medio de las plantas parece haber sido inferior al que se alcanza por precipitación (7). Esto deberá probarse a futuro con experimentos sin microorganismos ni plantas (sistema estéril).

La Tabla 2 muestra los valores promedio del pOR para el reactor con planta RA<sub>1</sub>. Los valores del potencial redox en la zona de la rizosfera (a la profundidad de 10 cm) son positivos a diferencia de los obtenidos a 2 y a 30 cm, lo que indica que el oxígeno generado en esta zona fue el suficiente para elevar los potenciales. Este fenómeno puede ser exclusivo de este reactor ya que en el reactor sin planta (RA<sub>2</sub>) se obtuvieron pOR negativos en todos los casos.

**Tabla 2.** Valores promedio del pOR para las diferentes profundidades (sistema RA)

Profundidad	Reactor RA <sub>1</sub> (con planta)	Reactor RA <sub>2</sub> (sin planta)
2 cm	- 151 mV	- 171 mV
10 cm	+ 213 mV	- 191 mV
30 cm	- 91 mV	- 141 mV

La Tabla 3 muestra el porcentaje de la remoción en la DQO, la cual en los reactores con planta fue ligeramente mayor. Los resultados obtenidos muestran cambios similares entre las dos etapas estudiadas (DQO diferente), dado que las plantas necesitan el fósforo como macronutriente para llevar a cabo sus procesos metabólicos independientemente de la fuente de carbono. Debe recordarse que los reactores sin planta tienen microorganismos adheridos al material de empaque formando una biopelícula, que es la responsable de la mayor parte de la degradación de la materia biodegradable, aún cuando los microorganismos remueven material orgánico en los reactores sin planta.

Respecto de la remoción de carbono medido como DQO, hubo diferencias estadísticamente significativas debido a la presencia de la macrofita, así como a la concentración inicial de carbono ( $p < 0.05$  para la presencia de la planta y  $p < 0.05$ ,  $0.01$  para la concen-

tración inicial de carbono), siendo ligeramente mayor en aquellos reactores con planta, indicando que ésta sí tiene un efecto depurador adicional a las comunidades microbiológicas que proliferan en los reactores.

**Tabla 3.** Valores promedio de la remoción de la DQO promedio de cada reactor durante las dos etapas (450 y 225 mg/L, respectivamente)

% de remoción	RA <sub>1</sub>	RB <sub>1</sub>	RA <sub>2</sub>	RB <sub>2</sub>
	Con planta		Sin planta	
Etapas 1	62.19	64.15	51.26	57.54
Etapas 2	66.24	67.84	65.11	64.81

Aunque el aporte de la planta es mínimo en la remoción de fósforo, no deja de ser importante su aporte en un humedal, como se observa con los pOR y la remoción de DQO.

#### 4. Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, para alcanzar el objetivo planteado de evaluar la eliminación de fósforo en reactores biológicos de flujo vertical a escala de laboratorio empacados con escoria volcánica que simulan un humedal artificial, se puede concluir lo siguiente:

Se obtuvo una remoción de fósforo en todos los reactores con y sin planta con una eficiencia promedio de aproximadamente el 90%. Los reactores con planta alcanzaron un 93% aproximadamente y los reactores sin planta un 86% aproximadamente, lo que significa que los reactores con una planta joven aportan un 7% más en la remoción.

Se observó que el efecto en la variación de la concentración de la materia orgánica medida como DQO no influyó en la remoción de fósforo (450 versus 225 mg DQO<sub>soluble</sub> L<sup>-1</sup>), lo que sugiere que los mecanismos principales en la vía de remoción de fósforo podría estar llevando a cabo principalmente por reacciones de adsorción, formación de complejos y precipitación con aluminio y hierro o con otros metales que estén en el medio.

La presencia de la planta y su aporte de oxígeno en la zona de la rizosfera elevaron los potenciales vol-

viéndolos positivos, lo cual disminuyó las condiciones reductoras (potenciales redox negativos) que se observaron a los 2 y 30 cm.

## Reconocimientos

Este proyecto fue financiado con fondos del CONACYT, Proyecto UNAM-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, DACB) "Depuración de aguas residuales

domésticas usando humedales artificiales", Dirección Adjunta de Desarrollo Regional, Sistema de Investigación Golfo de México, SIGOLFO, Proyecto Clave 00-06-016-V. El segundo autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología la beca de maestría otorgada. Los autores agradecen al personal del entonces Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental de la UNAM por su valioso apoyo logístico y técnico.

## Referencias

- 1 **Guido-Zárate, A. 2006.** Estudio de los potenciales de óxido-reducción en reactores biológicos que simulan un humedal artificial. Tesis de Maestría en Ingeniería. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería (Ingeniería Ambiental), UNAM. México D.F. México.
- 2 **Durán-Domínguez-de-Bazúa, C., Luna-Pabello, V.M. 1998.** Humedales artificiales de flujo horizontal o vertical, procedimiento para tratar aguas residuales. Solicitud de Registro de Patente: Diciembre 15, 1998. Patente Núm. 210924 otorgada el 21 de octubre de 2002. Cesión irrestricta de derechos a la UNAM. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Dirección Divisional de Patentes. México, D.F. México.
- 3 **SEMARNAT. 2006.** Página de redes internacionales. [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx)
- 4 **Luna-Pabello, V.M., Miranda-Ríos, M. 2001.** Estado del arte y perspectivas de aplicación de los humedales artificiales de flujo horizontal en México. Serie: Tratamiento biológico de aguas residuales. UNAM. México, D.F. México.
- 5 **Metcalf y Eddy, Inc. 1991.** Wastewater Engineering. Treatment, disposal, and reuse. 3ª. Edición. McGraw Hill. Nueva York, EEUA.
- 6 **Hammer, D. A., Bastian R. K. 1991.** Wetlands ecosystems: Natural water purifiers? Constructed wetlands for wastewater treatment. Municipal, industrial and agricultural. Tercera edición. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, EEUA.
- 7 **IWA. 2001.** Constructed wetlands for pollution control. Processes, performance, design and operation. IWA Specialist Group on Use of Macrophytes in Water in Water Pollution Control. Scientific and Technical Report Series. International Water Association, IWA Pub. Londres, Inglaterra.
- 8 **Rodríguez-Cruz, A., Varela-Montellano, E. 2003.** Comportamiento dinámico de dos sistemas de tratamiento de aguas residuales de tipo humedal artificial de flujo horizontal y vertical. Tesis profesional (Ingeniería Química). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México D.F. México.
- 9 **Lara-Borrero, J.A. 1999.** Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales. Tesis de Maestría en Ingeniería y Gestión Ambiental. Instituto Catalán de Tecnología, Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona, España.
- 10 **Soto-Esquivel, M.G. 2003.** Efecto de la generación de oxígeno fotosintético en un sistema sólido-líquido-gas. Tesis de Maestría en Ingeniería. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería (Ingeniería Ambiental). UNAM. México, D.F. México.
- 11 **Fenoglio-Limón, F.E. 2000.** Bases para la construcción de un reactor biológico experimental basado en los sistemas de humedales artificiales de flujo vertical. Tesis profesional (Ingeniería Química), Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- 12 **Fenoglio-Limón, F.E. 2003.** Fenómenos de transferencia de oxígeno por convección en sistemas que simulan humedales artificiales utilizando columnas empacadas. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas (Orientación: Química Ambiental). UNAM. México, D.F. México.
- 13 **Reyes-Luz, M. I. 2006.** Remoción de fósforo en un sistema de humedales artificiales a escala de laboratorio. Tesis profesional (Ingeniería Química). Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.
- 14 **Faulkner, S.P., Richardson, C.J. 1991.** Physical and chemical characteristics of freshwater wetland soils. Wetlands for wastewater treatment. Municipal, industrial and agricultural. Tercera edición. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, EEUA.
- 15 **Kadlec, R.H., Knight, R.L. 1996.** Treatment Wetlands. Lewis-CRC Press. Boca Raton, FL, EEUA.
- 16 **Durán-de-Bazúa, C. (responsable), Haberl, R., Kreiner, I., Krishnan-Ranjani, Luna-Pabello, V.M., Ramírez-Burgos, L.I. (Profesores); Bernal-González, M., Esponda-Aguilar, P.L., Fenoglio-Limón, F.E., García-Gómez, R.S., García-Vázquez, L., Guzmán-Aguirre, S., Guzmán-López, P., Juárez-Méndez, C.H., Kneidinger, Ch., Millán-Hernández, S.E., Miranda-Ríos, M., Ramírez-Carrillo, H.F., Mejía-Chávez, A.G., Padrón-López, R.M., Ramírez-Burgos, L.I., Rodríguez-Cruz, A., Rodríguez-Monroy, J., Salinas-Castillo, N.V., Schaller, P., Soto-Esquivel, M.G., Varela-Montellano, E. (Estudiantes). 1999.** Humedales artificiales en México: Desarrollo, situación actual y aplicaciones potenciales. VOL. 6, SERIE: QUÍMICA AMBIENTAL DEL AGUA. Pub. Prog. Ing. Quim. Amb. y Quim. Amb. ISBN 968-36-9443-8. Facultad de Química, UNAM. 185 pags. 200 ejemplares, 1a. Ed. (1999), 194 pags. 500 ejemplares, 2a. Ed. (2001), 205 pags. 500 ejemplares, 3a. Ed. (2012). En prensa (Versión corregida y aumentada). México, D.F. México.

## Estudio Electroquímico de Monocapas Autoensambladas de Cisteamina Funcionalizadas con 6-metil-2-piridincarboxaldehído

IBETH RENDÓN ENRÍQUEZ <sup>a\*</sup>, JULIO CÉSAR AGUILAR CORDERO <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Ciudadela Universitaria, Av. América, Quito, Ecuador.

<sup>b</sup> Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM, Circuito Escolar s/n, Ciudad Universitaria, México, D.F.

\* Correspondencia: lunariel\_ibe@hotmail.com

Recibido: 2 enero 2011 / Aceptado: 10 julio 2011

### Resumen

En este trabajo se presenta un estudio sistemático de la formación de una Monocapa Autoensamblada (MAE) de Cisteamina (CA) sobre electrodos de oro. Esta monocapa fue funcionalizada con 6-metil-2-piridincarboxaldehído (MPC) mediante la formación de una base de Schiff capaz de fijar iones metálicos a fin de cuantificarlos en solución acuosa. Para analizar las propiedades electroquímicas de las superficies de oro modificadas en presencia de un mediador redox se realizaron estudios de Voltamperometría Cíclica (VC) y Espectroscopía Electroquímica de Impedancia (EIS). La respuesta de esta modificación depende de la interacción con el analito (CA, MPC o ión metálico) pero también se tomaron en cuenta las interacciones del medio acuoso de fosfatos (solución amortiguadora) en el que se llevó a cabo los estudios. Mediante dicho estudio se pudo determinar si la monocapa utilizada es apta para ser empleada como un sensor impedimétrico, llegando a establecerse que la base de Schiff no logra estabilizarse en la solución de fosfatos por lo que no es posible utilizar dicho electrodo modificado como un sensor impedimétrico.

**Palabras clave:** monocapas Autoensambladas (MAEs), Voltamperometría Cíclica (VC), Espectroscopía Electroquímica de Impedancia (EIS), Microscopía Electroquímica de Barrido (SECM).

## Electrochemical Study of Self-assembled Monolayer of Cysteamine Functionalized with 6-methyl-2-pyridincarboxaldehyde

### Abstract

This paper presents a systematic study of the Self-Assembled Monolayer (SAM) of Cysteamine (CA) on gold electrodes functionalized with 6-Methyl-2 Pyridinecarboxaldehyde (MPC) in order to quantitate its binding capacity with metal ions in aqueous solution. The electrochemical properties of gold surfaces modified in the presence of a redox mediator were studied with Cyclic Voltammetry (CV) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). The effect of the analyte (CA, MPC or metal ions) and the buffer solution was also evaluated. The Schiff base formed with MPC can not stabilize in the buffer solution, and it is not possible to use the modified electrode as an impedimetric sensor.

**Key words:** self-Assembled Monolayers (SAMs), Cyclic Voltammetry (CV), Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS), Scanning Electrochemical Microscopy (SECM).



## 1. Introducción

La formación de MAEs ha ganado interés debido al orden y la facilidad con la que estas se forman sobre la superficie; varios estudios se han llevado a cabo, el más cercano a la experimentación actual detalla la formación de una monocapa de CA funcionalizada con salicilaldehído para el desarrollo de un sensor capaz de cuantificar cobre en concentraciones de hasta  $1 \times 10^{-11}$  M [1]. En la mayor parte de estudios, se elige al oro para la formación de monocapas de tioles, debido a la elevada afinidad entre el azufre del grupo tiol y el oro [2] [3]. Además, el oro es un metal noble, que no reaccionará con el oxígeno ambiental ni con la mayor parte de productos químicos; además, es un metal no tóxico para las células.

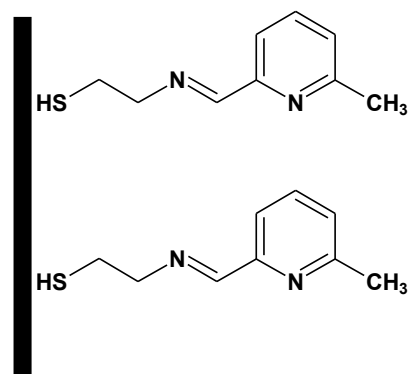
## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Formación de la monocapa

Para obtener electrodos modificados, se emplearon electrodos de oro de 1.8 mm de diámetro (CHI Instruments, Austin Texas, USA) sometidos a una limpieza mecánica y electroquímica.

La limpieza mecánica se llevó a cabo mediante un pulido de los electrodos en paños especiales y con alúmina (Buehler) de  $0,3 \mu\text{m}$  y  $0,05 \mu\text{m}$  sucesivamente. Posteriormente los electrodos se lavaron con agua desionizada tipo I (Milli Q Gradient, Millipore). Inmediatamente se realizó una limpieza electroquímica que consiste en un ciclo de voltamperometría cíclica en ácido sulfúrico (J.T. Baker, RA.) 0.5 M desde 0.4V a 1.8V a una velocidad de 1 V/s, hasta que los voltamperogramas sean reproducibles.

A continuación se sumergieron dichos electrodos en una solución de CA 20 mM (Aldrich 99%) preparada en agua desionizada tipo I en ausencia de luz. Una vez adherida la monocapa se lavó con agua desionizada y se procedió a funcionalizar la CA. La funcionalización consiste en una reacción orgánica de formación de una base de Schiff, para lo cual el sistema se sumergió en una solución 0.1M de MPC (Aldrich 99%) en etanol absoluto (Mallinckrodt), a  $40^\circ\text{C}$ . En la Figura 1 puede apreciarse la formación de la monocapa de CA y su funcionalización con MPC.



**Figura 1.** Representación de la formación de la monocapa con CA y su respectiva funcionalización con MPC sobre el electrodo de oro.

Mediante este tratamiento se obtuvo una monocapa con posibilidades de formar complejos con el ion  $\text{Cu}^{2+}$ .

Es importante que previo a la inmersión en las soluciones del metal a identificar, el electrodo permanezca en un medio húmedo, para lo cual se lo mantuvo en una solución Buffer de fosfatos (PBS) 0.05 M de pH 7 para lo cual se utilizará dihidrógeno fosfato de sodio y monohidrógeno fosfato de sodio (ambos J.T. Baker, R.A.) y además se agregará cloruro de sodio (Aldrich R.A.) a una concentración 50 mM como electrolito soporte.

### 2.2. Voltamperometría cíclica

Para realizar los experimentos de VC es necesario el uso de un mediador. Para la experimentación actual se usó hexocianoferrato (III) de potasio (Aldrich R.A.) 5 mM en solución de PBS.

Para evitar cualquier efecto del oxígeno sobre las determinaciones, se burbujea nitrógeno durante quince minutos en el mediador antes y luego se mantiene una corriente de nitrógeno sobre la solución del mediador mientras se realiza cada medición. Para cada experimento, el electrodo se lavó previamente con agua desionizada tipo I; se armó una celda utilizando tres electrodos, el de referencia (Ag/AgCl), el contra electrodo que consiste en un electrodo de platino y el electrodo de trabajo, que para este caso es el electrodo de oro modificado, todos inmersos en la solución del mediador.

El barrido de VC es de  $-0.3$  V a  $0.6$  V a una velocidad de barrido de  $50$  mV/s, valores que deben mantenerse en todos los experimentos. Para los experimentos que implican la formación de la monocapa con CA y la funcionalización con MPC, se procede a colocar los electrodos en cada sustancia durante 5, 15, 30, 60, 90 y 120 min, bajo las condiciones antes especificadas; después de cada uno de estos tiempos se hace un barrido de VC.

Utilizando electrodos de oro modificados y funcionalizados se procedió a preparar soluciones de cobre y mercurio de concentraciones en un rango de  $1 \times 10^{-12}$  hasta  $1 \times 10^{-5}$  M en solución amortiguadora de p-Benzoquinona (PBQ); los electrodos se sumergieron en cada solución durante 30 minutos, se lavaron con agua desionizada y luego se realizaron barridos de VC.

Para descartar los efectos que presenta la solución amortiguadora en cada una de estas mediciones, se realizaron voltamperogramas dejando los electrodos de oro modificados y funcionalizados en la solución buffer durante tiempos equivalentes a los que pasa el electrodo en las soluciones de cobre, es decir, tiempos de 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos.

Las soluciones de cobre se prepararon a partir de sulfato de cobre (II) pentahidratado (Aldrich 99.99%). Para todos los experimentos de VC, se utilizó un potenciostato Solartron 1287.

### 2.3. Espectroscopía electroquímica de impedancia

Luego de culminar con cada experimento de VC se procede a realizar un experimento de EIS, para lo cual es necesario determinar el potencial de media onda, potencial al que se llevan a cabo los barridos de EIS. Además, debe fijarse la frecuencia a la que se realizarán todos los experimentos, para lo cual se eligió un rango de  $0.1$  Hz hasta  $0.1$  MHz.

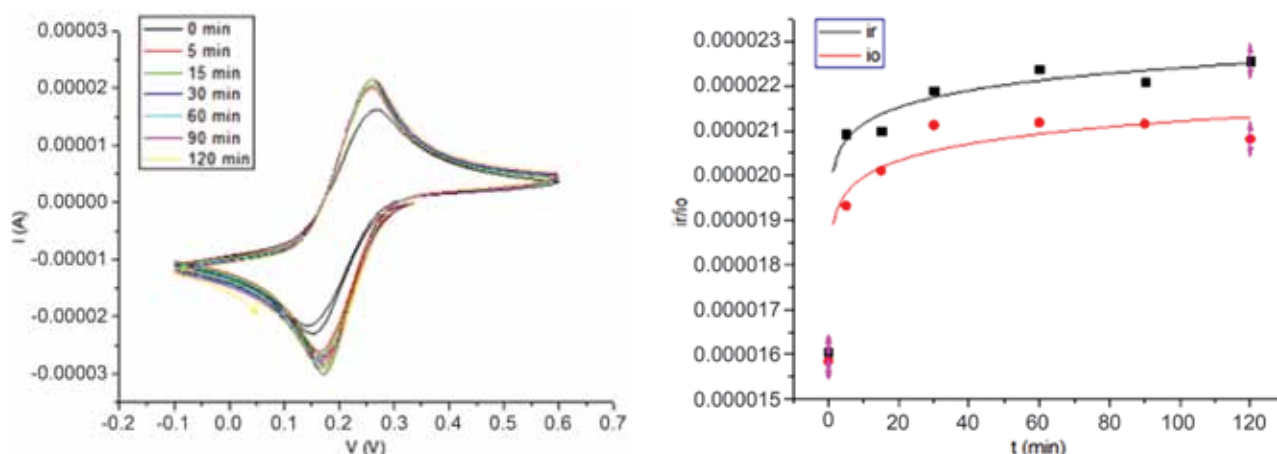
Es importante que durante el ensayo se mantenga, al igual que en voltamperometría, una corriente de nitrógeno sobre el mediador, con un burbujeo previo de este gas en el interior del mediador a utilizarse.

En el caso de los experimentos de EIS, se utilizó el potenciostato Solartron 1287 acoplado a un analizador de frecuencias Solartron 1260.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Formación de la monocapa

De los experimentos en VC puede apreciarse un ligero aumento en los valores absolutos de corriente de pico de los procesos de oxidación y reducción que presentan el mediador y su reductor conjugado (ilustración 2). Este fenómeno se debe a que el par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  exhibe una mejor reversibilidad en el electrodo modificado con CA debido a las fuerzas de atracción electrostáticas entre el grupo amino protonado de la CA ( $\text{pK}_a$  superficial cercano a  $6.7$ ) y  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ .

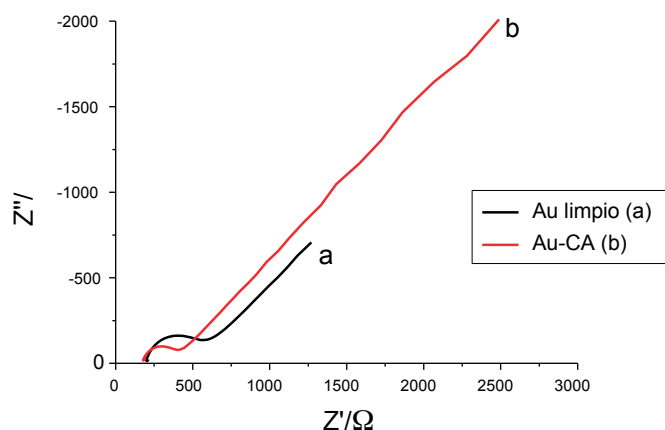


**Figura 2. Izquierda:** Voltamperogramas cuando el electrodo es mantenido en CA. **Derecha:** Valores de corrientes de pico de oxidación ( $i_o$ ) y reducción ( $i_r$ ) obtenidos de los voltamperogramas del lado izquierdo.

Ambas corrientes de pico, la anódica y la catódica, se comportan cualitativamente del mismo modo, y tienden a estabilizarse como se muestra en la figura 2 (derecha).

La adsorción de la CA produce cambios en la respuesta de impedancia de los electrodos modificados que se muestran en la figura 3. Resulta notorio que la resistencia a la transferencia de carga para el par

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  disminuye cuando se ha modificado la superficie del electrodo de oro con CA. Se observó que después de un tiempo más largo de tratamiento con CA esta resistencia aumenta, quizás por un efecto de bloqueo de la superficie aunado a una modificación del valor de pH en la superficie del electrodo, que probablemente no es posible compensar localmente con la presencia del amortiguador de fosfatos.



**Figura 3.** Diagrama de Nyquist para cuando el electrodo de oro está limpio (a) y cuando ha sido sumergido en CA durante 60 minutos (b), el barrido fue realizado en ferricianuro como mediador a un potencial de media onda de 0.21 V.

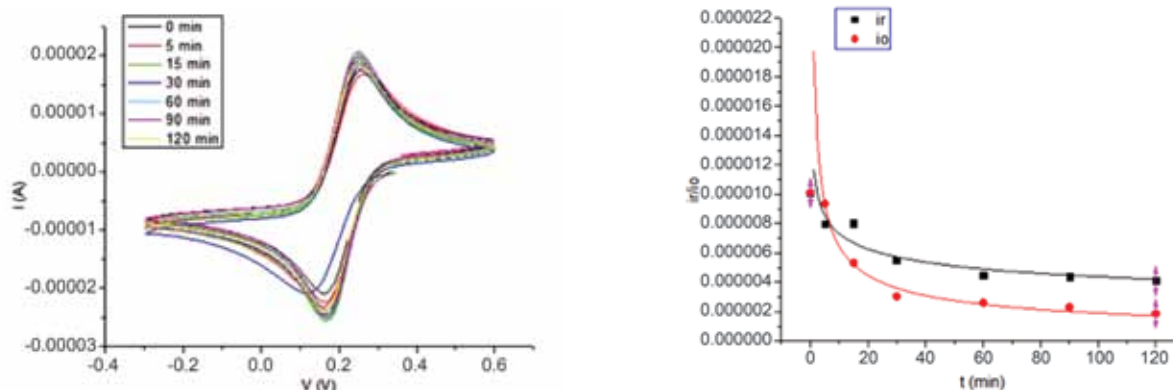
### 3.2. Funcionalización de la CA

De los experimentos en VC puede apreciarse una disminución en los valores absolutos de corriente de pico en los procesos de oxidación y reducción que presentan el mediador y su reductor conjugado (Figura 4).

Una capa se ha formado sobre la superficie del electrodo; dicha capa tendrá características específicas que impedirán el ingreso del mediador hacia la superficie de oro que pudo haber quedado libre, este

impedimento será el responsable en la disminución de las corrientes absolutas de pico que se aprecia en los voltamperogramas.

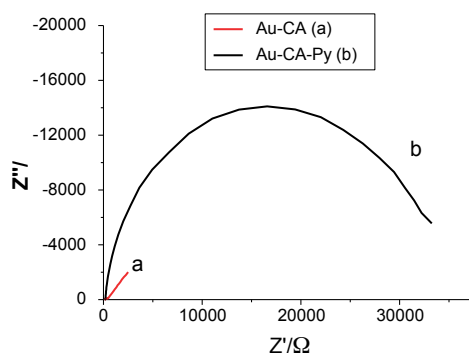
La disminución en la capacidad del electrodo para reducir u oxidar una sustancia es más notorio cuando este ha sido funcionalizado, ya que el grupo orgánico que ingresa en dicha funcionalización es mucho más voluminoso y ejercerá un efecto impedimétrico y de repulsión mucho más evidente que cuando el electrodo ha sido tratado con CA.



**Figura 4.** Izquierda: Voltamperogramas realizados cuando el electrodo es mantenido en solución de MPC a 40°C. Derecha: Valores de corrientes de pico de oxidación ( $i_{ox}$ ) y reducción ( $i_r$ ) obtenidos de los voltamperogramas del lado izquierdo.

El hecho de que al hacer reaccionar la capa de CA con MPC a 40 °C, la electrólisis de hexacianoferrato(III/II) se vuelva más lenta puede demostrarse mediante EIS, como puede verse en la Figura 5. Esto puede deberse a la mayor distancia que se establece entre la superficie del electrodo y las moléculas electroactivas; si bien aún falta llevar a cabo más estudios para establecer la razón

verdadera de este comportamiento. En la Figura 5 puede observarse claramente que, a frecuencias bajas, la respuesta electroquímica del par del mediador deja de estar controlada por difusión para mantenerse bajo un control cinético, pues la contribución tipo Warburg que se ve en la curva a de la Figura 5 desaparece al modificar el electrodo cubierto con CA con el MPC.



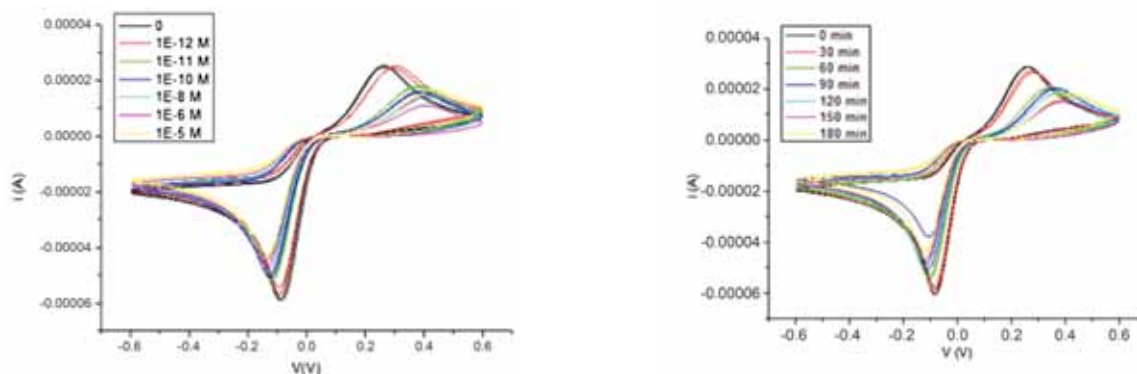
**Figura 5.** Diagramas de Nyquist para demostrar la funcionalización con MPC. (a) Modificación de electrodo de oro con CA y (b) Funcionalización de dicho electrodo con MPC (Py) durante 60 minutos. Dichos experimentos se llevaron a cabo a un potencial de media onda (0.21 V) en ferricianuro.

### 3.3. Evolución de la respuesta electroquímica de los electrodos modificados en función del tiempo de residencia en una disolución amortiguadora

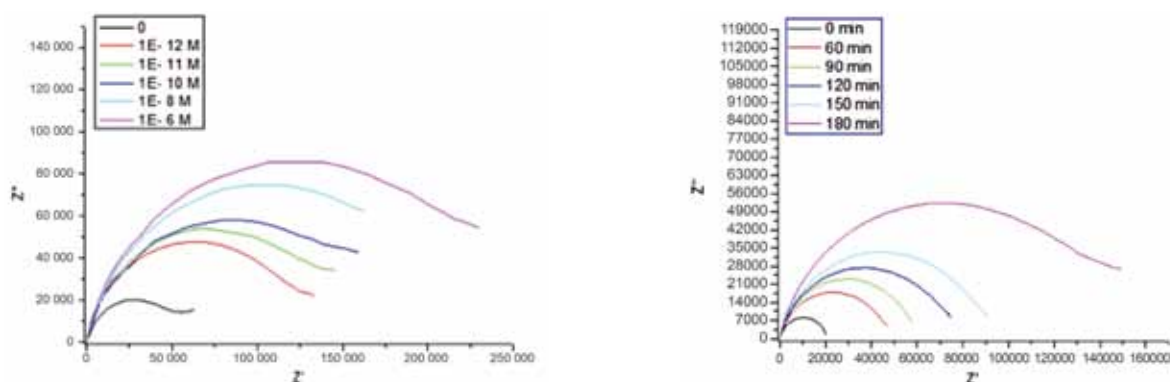
Como se mencionó anteriormente, es necesario evaluar el comportamiento de los electrodos comparando su comportamiento frente a las soluciones de cobre y también cuando estos son mantenidos en la solución de fosfatos. Esta parte del trabajo se llevó a cabo para determinar si la monocapa formada sobre el electrodo de oro modificaba su comportamiento respecto del mediador, cuando se le permite evolucionar libremente, manteniéndola inmersa en un medio controlado. En

las ilustraciones siguientes se muestran los resultados de este estudio, que se obtuvieron de mediciones de VC y EIS, los cuales implican que la interfase electrodo modificado-disolución se estabiliza muy lentamente, posiblemente por una alteración de la conformación de la monocapa, lo cual dificulta que estos electrodos puedan utilizarse como sensores.

Para dichos experimentos se utilizó como mediador PBQ debido a que el ferricianuro tiende a formar complejos con el cobre. El barrido en este caso se realizó desde un valor de -0.6 V a 0.6 V y el potencial de media onda al que se realizaron los barridos de EIS fue de 0.09 V.



**Figura 6. Izquierda:** Voltamperogramas realizados cuando el electrodo de oro es mantenido en soluciones de cobre de varias concentraciones 30 minutos en cada una. **Derecha:** Voltamperogramas cuando el electrodo de oro es mantenido en solución de fosfatos en tiempos equivalentes a los que pasa en las soluciones de cobre.



**Figura 6. Izquierda:** Voltamperogramas realizados cuando el electrodo de oro es mantenido en soluciones de cobre de varias concentraciones 30 minutos en cada una. **Derecha:** Voltamperogramas cuando el electrodo de oro es mantenido en solución de fosfatos en tiempos equivalentes a los que pasa en las soluciones de cobre.

Como puede apreciarse en las figuras, el electrodo cambia su comportamiento cuando está inmerso en la solución de cobre; pero, también cambia su respuesta cuando está expuesto a la solución de fosfatos, por lo que nos es posible tener una medición solo de la interacción con el metal, lo que dificulta la cuantificación del mismo.

#### 4. Conclusiones

- Se estudiaron las propiedades electroquímicas de superficies de oro modificadas con cisteamina y funcionalizadas con 6-metil-2-piridincarboxaldehído, encontrándose que las capas adsorbidas sobre los electrodos de oro se estabilizan muy lentamente en la solución buffer, por lo que no es posible la utilización de este tipo de electrodos de oro modificados como un sensor para cobre o mercurio.
- La formación de la monocapa autoensamblada de cisteamina fue estudiada utilizando técnicas de Voltamperometría Cíclica y Espectroscopia Electroquímica de Impedancia, y en base a dicho estudio pudo determinarse que el tiempo mínimo requerido

para la formación de la monocapa de cisteamina sobre los electrodos de oro era de 80 min, y para asegurarnos que la monocapa se ordene espacialmente, se procedió a dejar los electrodos inmersos en CA por 3 horas.

- Es posible estudiar la funcionalización de la monocapa con 6-metil-2-piridincarboxaldehído, utilizando técnicas de Voltamperometría Cíclica y Espectroscopia Electroquímica de Impedancia y en base a dicho estudio pudo determinarse que el tiempo mínimo requerido para que la funcionalización concluya de forma óptima es de 60 min, y para asegurarnos una reacción total se mantuvo los electrodos en solución de MPC durante 2 horas.
- Cuando el sensor se somete a la acción de soluciones de cobre y mercurio de varias concentraciones es posible apreciar cambios eléctricos tanto en los voltamperogramas cuanto en los diagramas de Nyquist; pero, no es posible compensar dichos cambios frente a las respuestas que provoca la solución buffer en la que se preparan las soluciones de los metales.

#### Referencias

1. Reza, Karimi, Seyed, Ahmad, "Cooper (II) Nanosensor Base on a Gold Cysteamine Self-Assembled Monolayer Functionalized with Salicylaldehyde" Anal. Chem, 2006, 4957-4963.
2. Love, Christopher; Estroff, Lara; Kriebel, Jennah; Nuzzo, Ralph; Whitesides, George "Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology", Chem. Rev. 2005.
3. Godínez, Luis "Substratos modificados con monocapas autoensambladas: dispositivos para fabricar sensores y estudiar procesos químicos y fisicoquímicos interfaciales" Revista de la Sociedad Química de México, Vol. 43, Núm. 6 (1999).



## Cristalización y Plastificación de Margarina Industrial para Panificación

YOLANDA SALAS SOTAMINGA<sup>a\*</sup>, IVÁN TAPIA<sup>a</sup>, MARCELO GARZÓN<sup>b</sup>

<sup>a</sup>. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito - Ecuador

<sup>b</sup>. Investigación y Desarrollo, Industrial Danec S.A., Sangolquí

\*Correspondencia: [salasyola@hotmail.com](mailto:salasyola@hotmail.com)

Recibido: 15 diciembre 2010 / Aceptado: 17 julio 2011

### Resumen

La margarina es una de las materias primas utilizadas en la elaboración del pan, producto de consumo diario para alrededor de 13 millones de habitantes del Ecuador. Tomando en cuenta que la calidad del pan depende de la margarina, y ésta a su vez de las estructuras cristalinas  $\beta'$  que proporcionan a la margarina consistencia homogénea, brillo y color, se estudió la influencia de los parámetros de producción estándar en las características de la margarina. Once condiciones de producción con cuatro variables: caudal, temperatura de emulsión, temperatura de enfriamiento y velocidad de cristalización, se investigaron y las diferencias estructurales se analizaron utilizando microscopía de luz polarizada, análisis reológico, análisis calorimétrico diferencial y evaluación sensorial. Los parámetros óptimos de producción que influyen directamente en la formación de estructuras cristalinas  $\beta'$ , fueron: temperatura de enfriamiento de 14°C a 16°C, caudal de emulsión de 1590 Kg/h a 1690 Kg/h, velocidad de cristalización de 220 a 240 rpm. La temperatura de emulsión fue un parámetro que no influyó en la formación de los cristales.

**Palabras clave:** análisis de alimentos – margarina – aceite de palma – aceite de soya.

## Crystallization and Plasticity of Industrial Margarine for Bakery

### Abstract

The margarine is a raw material used in the preparation of bread; a product consumed daily by around 13 million of people in Ecuador. Considering that the bread's quality depends on margarine, and this characteristic is a consequence of the presence of  $\beta'$ -crystals, which give the margarine an homogeneous consistence, shine and color, we investigated the influence of the standard production parameters on the margarine's characteristics. Flow, emulsion temperature, cooling temperature and crystallization speed were tested, and the structural differences were analyzed using Polarized Light Microscopy, rheological analysis, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and sensorial evaluation. The optimal parameters found for the formation of  $\beta'$ - crystals were: flow 1590 - 1690 kg/h, cooling temperature 14 - 16 °C and crystallization speed 220 - 240 rpm. The emulsion temperature was a parameter that no influenced the formation of crystals.

**Key words:** food analysis – margarine – palm oil – soybean oil.

## 1. Introducción

La margarina fue desarrollada en el año 1869 por H. Mège Mouriés, quien patentó un procedimiento para obtener una grasa untable (plástica) a partir del sebo de vacuno, que podía utilizarse como sustituto de la mantequilla, que era cara y escasa. El nombre de "margarina" se propuso a causa de la creencia de que en el sebo predominaba el ácido margárico.[2]

Hoy en día, se producen grandes cantidades y tipos de margarinas; pero, con diferentes condiciones. Con el avance de la ciencia y de la tecnología se ha logrado obtener materia prima de origen vegetal que sustituye casi en su totalidad a la grasa animal en la elaboración de margarina; pero, se incrementaron las dificultades para mantener la calidad, haciendo que cada industria cree parámetros de control de calidad.

Este estudio está dedicado a investigar los factores que influyen en la calidad de la margarina para panificación como son la presencia de grumos que ocasionan la falta de brillo y color, que se considera son consecuencia de una mala plastificación y cristalización.

### 1.1. Margarina

Es una emulsión de agua en aceite, cuya estabilidad se consigue elevando la viscosidad de la fase continua como consecuencia de una cristalización parcial mediante emulsionantes.

Las materias primas para la margarina son aceites, grasas vegetales o animales, cuyas características se modifican por fraccionamiento y transesterificación.

La margarina está compuesta de: 80% de grasa y 18% de agua estabilizada con mono y diglicéridos (aprox. el 0.5%), lecitina bruta (aprox. el 0.25%). Para tipos de consumo doméstico con mayor valor nutritivo se añade leche descremada o en polvo; otros componentes son: sustancias aromáticas naturales o sintéticas (diacetilo, ácido butírico), sal común, vitaminas A y D<sub>2</sub>; la coloración se la realiza con β-caroteno o aceite de palma sin blanquear.

La margarina se obtiene en instalaciones de producción continua en tres fases: emulsión de la fase acuosa en la fase oleosa; enfriamiento de la emulsión y tratamiento mecánico; cristalización, conservando el tipo

de emulsión y eliminación del calor de cristalización liberado.[2]

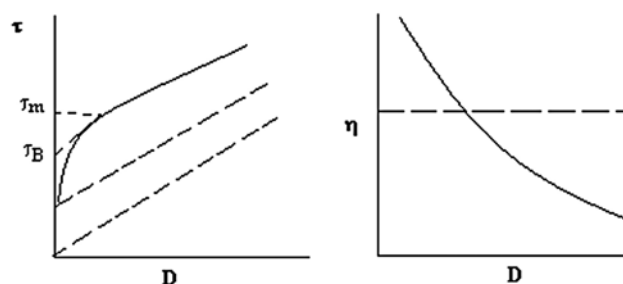
### 1.2. Plasticidad

Es la propiedad de comportarse como sólidos resistiendo a la acción de pequeñas fuerzas y, en cambio, ser dúctiles y fluir como un líquido cuando se aplica una fuerza de deformación superior a un valor límite mínimo.

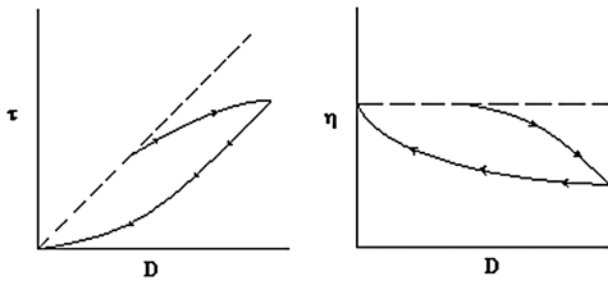
Las condiciones esenciales para que exista plasticidad son:

- Estar constituido por dos fases.
- La fase sólida debe estar finamente dispersa.
- Debe haber la debida proporción entre las dos fases.[3]

Las grasas para repostería tienen la apariencia de sólidos blandos más o menos homogéneos, y observadas al microscopio aparecen como una masa de pequeños cristales, empapada de una gran cantidad de aceite líquido. Tienen la estructura característica de un sólido plástico (gráfico 1); pero, con frecuencia sufren fenómenos de tixotropía (gráfico 2) cuando se aplica sobre ellas trabajo mecánico y se hacen temporalmente más suaves, no se precisa su causa; pero, puede ser el resultado de una ligera deformación de las partículas cristalinas durante el trabajo, una tendencia de los cristales a unirse y crecer, o una orientación de los cristales cuando se someten a fuerzas de deslizamiento.[3]



**Gráfico 1.** Conducta reológica del sistema plástico. [4]  
 $\tau$ : esfuerzo cortante,  $D$ : gradiente de deslizamiento y  $\eta$ : viscosidad.



**Gráfico 2.** Conducta reológica del sistema tixotrópico.

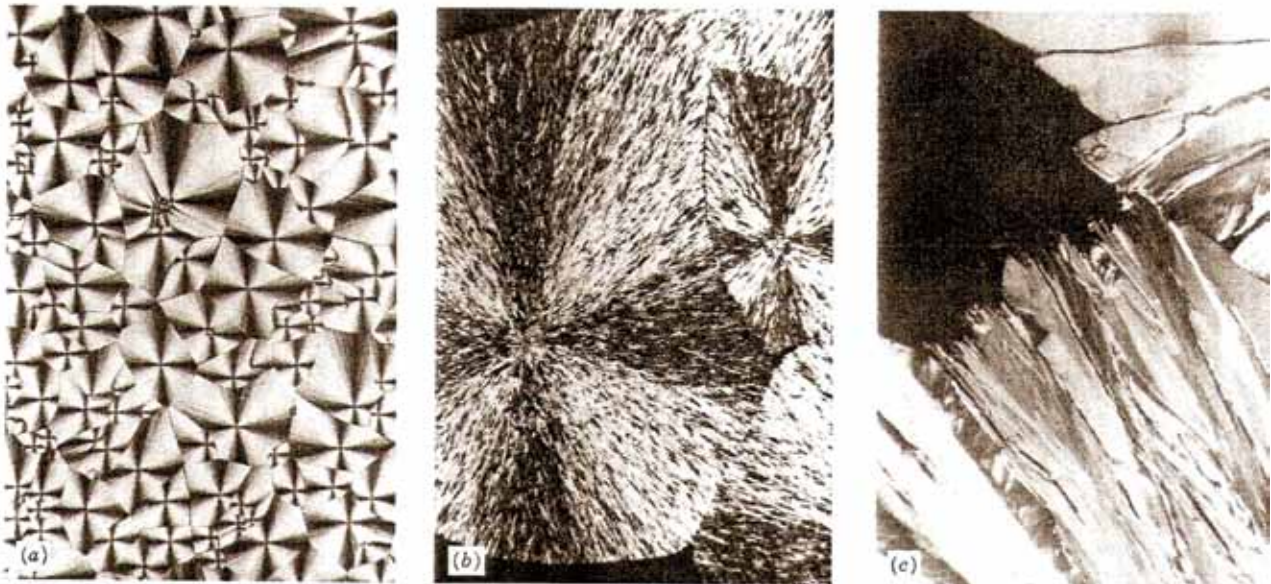
[4]  $\tau$ : esfuerzo cortante,  $D$ : gradiente de deslizamiento y  $\eta$ : viscosidad.

### 1.3. Cristalización

Es el proceso de enfriamiento de mezclas de lípidos que conduce a la formación de cristales líquidos que conforman una grasa sólida.

El tipo de cristal aparece de acuerdo a la conformación molecular de los ácidos grasos, cantidad de sólidos grasos y condiciones de enfriamiento. [2], [5], [6] y [7]

La forma cristalina primaria de los triglicéridos son  $\alpha$ ,  $\beta'$  y  $\beta$  que corresponden a los principales arreglos de las cadenas de ácidos grasos (ver gráfico 3), [8].



**Gráfico 3.** Microfotografías de cristales de grasa tomadas con luz polarizada: Derecha a izquierda; a) cristales  $\alpha$ , b) cristales  $\beta'$ , c) cristales  $\beta$  [8]

Existen transformaciones entre los cristales líquidos que se dirigen a la forma polimórfica más estable  $\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \beta'$ ; estos cambios son irreversibles excepto por una fusión y recristalización.[5]

A continuación se mencionan algunas características de los cristales:

**$\beta$  (Hexagonal).**- Menos estable, bajo punto de fusión, aparece inicialmente durante condiciones de rápido enfriamiento, se transforma a la forma  $\beta'$  relativamente más estable. Tamaño cerca de 5  $\mu\text{m}$ .

**$\beta'$  (Ortorrómico Perpendicular).**- Pequeños cristales como agujas juntos dentro de una densa estructura cristalina. Tamaño cerca de 1  $\mu\text{m}$ .

**$\beta$  (Triclínico Paralelo).**- Aparece en condiciones extremas de almacenamiento, son cristales largos rústicos estables y alto punto de fusión, el tamaño varía de 25-50  $\mu\text{m}$  o 100  $\mu\text{m}$ . [8], [9] y [10].

Los cristales son diferenciados por difracción de rayos X y transición de calor observado en estudios calorimétricos, en los cuales se determina la conducta de

fusión de las margarinas graficando la energía en función de la temperatura, cuya curva presenta un pico fino sobre los 4 o 5°C del punto de ablandamiento, lo que indica productos cristalizados como polimorfos β', mientras que la configuración β no presenta picos en ese intervalo. [8]

Margarinas con estructuras cristalinas β, no poseen propiedades plásticas, ya que la red cristalina es muy resistente y al estar expuesta a una fuerza de deformación se destruye, a menudo presentan la deficiencia llamada "oiling out". A diferencia de margarinas con estructura cristalina β' de apariencia plástica que tienen la propiedad de reestablecer la red. [5]

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Análisis de la materia prima

Se trabajó con muestras de aceite de palma, palmiste, soya, estearina de palma y fase oleosa.

#### 2.1.1. Determinación del punto de fusión

**Método:** Deslizamiento [11]

Se utilizó un termómetro digital EXTECH 39240 y una fuente calorífica CORNING PC 420 D.

#### 2.1.2. Determinación del índice de yodo

**Método:** Wijs [11]

El índice de yodo (IY) se calculó con la fórmula:

$$I.Y. = \frac{(V_b - V_m) * 1.269}{pm} \quad (1)$$

$V_b = \text{Volumen gastado del blanco}$

$V_m = \text{Volumen gastado de la muestra}$

$N_{Na_2S_2O_3} = 0.1N$

#### 2.1.3. Determinación del contenido de sólidos grasos

**Método:** Resonancia magnética nuclear [11]

Se utilizó el equipo THE MINISPEC mq 20 NMR Analyzar Bruker y Tubos para RMN (15 cm. x 0.5cm).

### 2.2. Elaboración de la margarina

La combinación de las variables que se emplearon en los diferentes tratamientos se detalla en la tabla 1.

**Tabla 1.** Combinación de variables para cada tratamiento

Trat.	Temperatura de emulsión (°C)	Temperatura de enfriamiento (°C)	Caudal (kg /h)	Velocidad de cristalización (rpm)
1	47 - 49	16 - 17	1630 - 1650	210 - 220 290 - 310
2	49.5 - 51.5	16 - 17	1630 - 1650	210 - 220 290 - 310
3	52 - 54	16 - 17	1630 - 1650	210 - 220 290 - 310
4	49.5 - 51.5	14 - 16	1630 - 1650	210 - 220 290 - 310
5	49.5 - 51.5	18 - 19	1630 - 1650	210 - 220 290 - 310
6	49.5 - 51.5	16 - 17	1590 - 1610	210 - 220 290 - 310
7	49.5 - 51.5	16 - 17	1670 - 1690	210 - 220 290 - 310
8	49.5 - 51.5	16 - 17	1630 - 1650	190 - 210 290 - 310
9	49.5 - 51.5	16 - 17	1630 - 1650	220 - 240 290 - 310
10	49.5 - 51.5	16 - 17	1630 - 1650	210 - 220 270 - 290
11	49.5 - 51.5	16 - 17	1630 - 1650	210 - 220 310 - 330

#### 2.2.1 Aceptabilidad de la margarina

**Método:** Sensorial [12]

El análisis se realizó con jueces no entrenados (panaderos) quienes elaboraron pan utilizando como insu-

mo la margarina. Cada juez comparó la muestra con la de referencia, las características evaluadas fueron: olor, consistencia, untabilidad, aroma del pan y aspecto graso del pan.

### 2.2.2. Determinación del tipo de cristal de la margarina

**Método:** Microscópico [13]

Se trabajó con un microscopio de luz polarizada CARL ZEISS JENA.

### 2.2.3. Determinación del coeficiente de deslizamiento, esfuerzo de cizalla y viscosidad

**Método:** Reológico

Se utilizó un Rheotest 2 mlw

### 2.2.4. Determinación de las zonas de cristalización y zonas de fusión de la margarina

**Método:** Calorimetría diferencial de barrido [8]

Se analizó en un calorímetro diferencial SHIMADZU DSC-50.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Análisis de las materias primas

Los datos fueron evaluados estadísticamente por comparación de medias con diseño completamente al azar, empleando la prueba F (una cola) y prueba t (dos colas).

#### 3.1.1. Punto de fusión e índice de yodo

El punto de fusión y el índice de yodo de las diferentes materias primas estadísticamente no presentan diferencias como se observa en la tabla 2.

**Tabla 2:** Resultados del ANOVA

Muestra	PUNTO DE FUSIÓN °C				ÍNDICE DE YODO g/100g			
	Media Muestras		Prueba Fc*	Prueba tc**	Media Muestras		Prueba Fc*	Prueba tc**
	A	B			A	B		
Aceite de palma	33,75	34,75	1,0	-2,83	56,05	53,53	0,64	7,87
Estearina de palma	49,75	48,85	0,51	2,09	38,92	41,75	0,55	-7,00
Aceite de palmaste	28,25	27,05	25,0	4,71	18,41	19,73	1,57	-9,62
Aceite de soya	-	-	-	-	129,18	129,69	0,02	-7,63
(F. oleosa)	36,75	35,60	6,25	4,27	54,45	54,33	0,63	0,71

\* F<sub>T</sub> 95% 164,45

\*\* t<sub>T</sub> 99% 9,92

#### 3.1.2. Contenido de sólidos grasos

Los valores obtenidos por resonancia magnética nuclear son resultados directos del % SFC (solid fat con-

tent). La tabla 3 presenta el resumen del análisis estadístico en el cual se comprueba que existe diferencia significativa entre las materias primas estearina de palma y por ende en la mezcla.

**Tabla 3:** Resultados del ANOVA del contenido de sólidos grasos a 25°C

Muestra	Media de las muestras %		Prueba Fc*	Prueba tc**
	A	B		
Aceite de palma	14,580	15,643	2,014	-6,933
Estearina de palma	52,481	50,441	6,876	32,315
Aceite de palmiste	21,335	22,451	0,952	-5,584
Mezcla (fase oleosa)	16,082	17,623	8,905	-15,549

\* F<sub>T</sub> 95% 164,45

\*\* t<sub>T</sub> 99% 9,92



### 3.2. Análisis de la margarina

#### 3.2.1. Análisis sensorial de la margarina

Los datos obtenidos de la evaluación sensorial (Tabla 4) fueron tratados por análisis de varianza cuyos resultados se presentan en la tabla 5.

**Tabla 4.** Datos de las muestras evaluadas

Trat.	Olor			Consistencia			Untabilidad			Aceitosidad			Aroma del pan			Aspecto graso del pan		
	R1	R2	X	R1	R2	X	R1	R2	X	R1	R2	X	R1	R2	X	R1	R2	X
1	5	4	4,5	4	6	5,0	6	5	5,5	4	4	4,0	5	3	4,0	5	4	4,5
2	5	4	4,5	4	6	5,0	6	5	5,5	4	4	4,0	7	5	6,0	6	4	5,0
3	5	4	4,5	4	6	5,0	3	5	4,0	6	5	5,5	2	5	3,5	1	5	3,0
4	5	5	5,0	6	6	6,0	6	4	5,0	4	4	4,0	7	4	5,5	5	6	5,5
5	5	5	5,0	5	6	5,5	5	4	4,5	4	4	4,0	6	4	5,0	6	5	5,5
6	5	4	4,5	4	6	5,0	5	4	4,5	4	3	3,5	3	5	4,0	2	5	3,5
7	4	4	4,0	5	5	5,0	4	4	4,0	4	4	4,0	5	5	5,0	5	4	4,5
8	5	4	4,5	5	6	5,5	5	5	5,0	4	4	4,0	5	4	4,5	5	5	5,0
9	5	4	4,5	5	6	5,5	5	5	5,0	4	4	4,0	6	5	5,5	6	5	5,5
10	5	4	4,5	5	6	5,5	5	4	4,5	4	4	4,0	5	4	4,5	5	4	4,5
11	5	4	4,5	5	6	5,5	5	5	5,0	4	4	4,0	5	3	4,0	5	4	4,5

R= Repetición

X= Promedio

**Tabla 5.** Resumen de los resultados estadísticos del análisis sensorial

Características						
Fuente de Variación	Olor	Consistencia	Untabilidad	Aceitosidad	Aroma del pan	Aspecto graso del pan
Muestras Fc*	1,33	0,81	1,00	5,89	0,73	0,73
Jueces Fc**	26,67	27,26	2,12	2,22	2,19	0,00

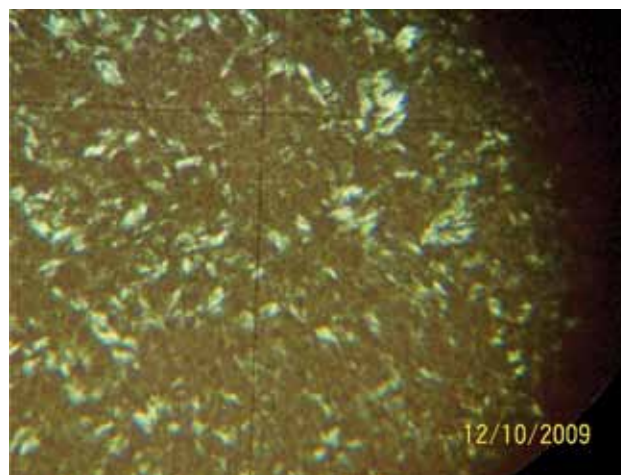
\*F<sub>T</sub> muestras 99% 4,85

\*\*F<sub>T</sub> jueces 99% 10.04

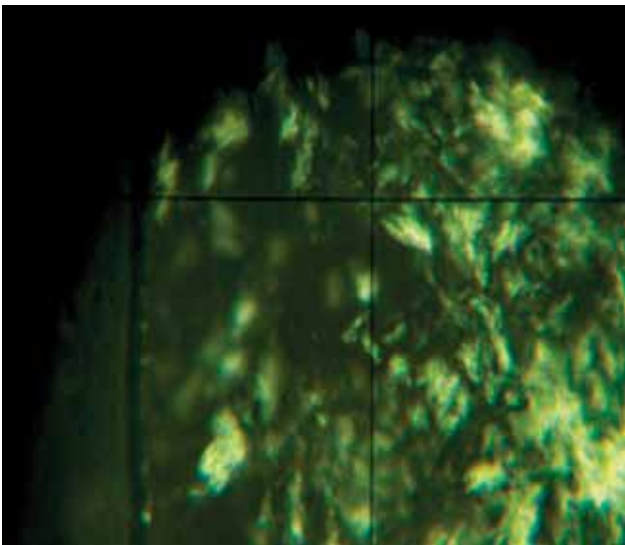
De acuerdo a la comparación del F calculado y tabulado, la característica de la margarina descartada fue la aceitosidad; empleando la prueba de Tukey se verificó que el tratamiento 11 cuya variable fue la velocidad de cristalización, es diferente a los demás que fueron aceptados.

#### 3.2.2. Tipo de cristal de la margarina, resultados de microscopía

En los gráficos 4 y 5 se presentan las fotografías tomadas de los cristales líquidos de las margarinas, utilizando un microscopio de luz polarizada con un aumento de 50 x 0.8.



**Gráfico 4.** Microfotografía de cristales  $\beta'$  de margarina, tratamiento 3



**Gráfico 5.** Microfotografía de cristales  $\beta$  de margarina, tratamiento 6

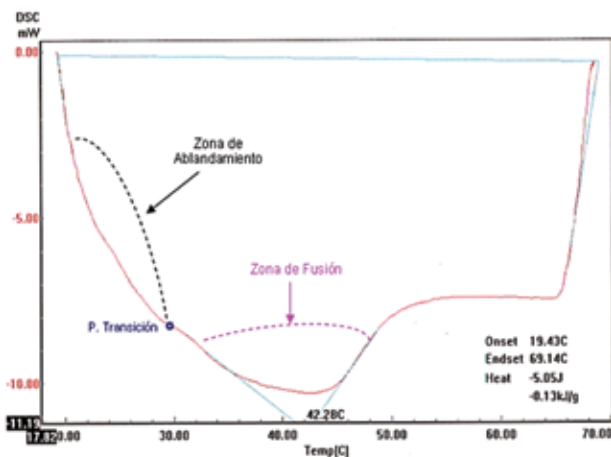
En base al gráfico 3 se agrupó los tratamientos según el tipo de cristal y los resultados constan en la tabla 6.

**Tabla 6.** Tipo de cristal de los tratamientos

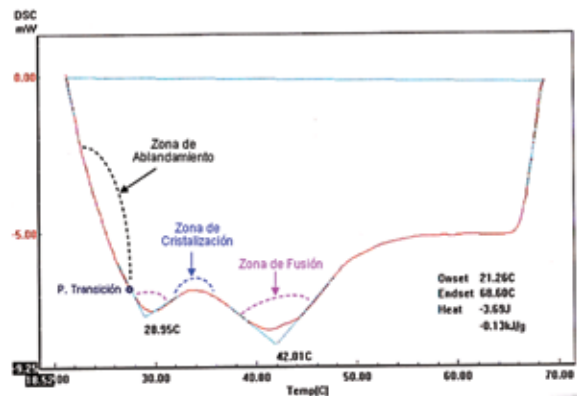
Tipo de cristal	Tratamientos
$\beta$	6, 9, 11
$\beta'$	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10

### 3.2.3. Calorimetría diferencial de barrido

El análisis se realizó a seis muestras de margarina para determinar estructuras cristalinas de forma  $\beta'$  que confirmen los resultados anteriores. Para el análisis de los termogramas se tomó en cuenta la presencia de picos sobre los 5°C del punto de ablandamiento.



**Gráfico 6.** Termograma, Tratamiento 3 no existen picos, presenta cristales  $\beta$



**Gráfico 7.** Termograma, Tratamiento 7 estructura cristalina  $\beta'$

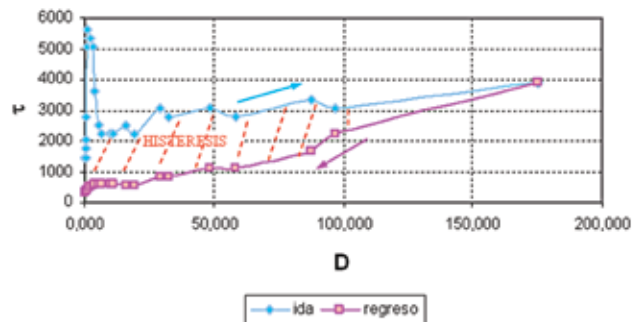
El análisis de los termogramas condujo a los resultados de la tabla 7. Cabe señalar que el tratamiento 3 no presenta zona de cristalización, por lo tanto, existen únicamente cristales  $\beta$ .

**Tabla 7.** Resultados de los termogramas de calorimetría diferencial

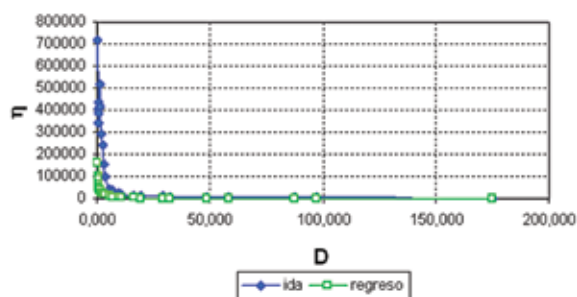
Treat.	Cristal	Punto de fusión °C
1	$\beta'$	40,24
3	$\beta$	42,28
4	$\beta'$	40.07
6	$\beta'$	41.27
7	$\beta'$	42.01
9	$\beta'$	42.64

### 3.2.4. Resultados del análisis reológico

Las curvas experimentales se analizaron en base a las curvas teóricas (Gráficos 1 y 2) para establecer similitudes y así comprobar cuál margarina tiene características plásticas.



**Gráfico 8.** Reología: Curva del esfuerzo cortante vs. gradiente de deslizamiento, Tratamiento 4



**Gráfico 9:** Reología: Curva de viscosidad vs. gradiente de deslizamiento. Tratamiento 4

**Tabla 8.** Resultados de las curvas de reología

Trat.	Sistema	Valores de las curvas $\tau$ -D		
		Punto inicial curva	Punto final curva	$\Delta\tau$
		mPa	mPa	mPa
1	Plástico con tixotropía	2842,1	527,4	2314,7
2	Plástico con tixotropía	1992,4	615,3	1377,1
3	Dilatante con tixotropía	2607,7	498,1	2109,4
4	Plástico con tixotropía	1435,7	322,3	1113,4
5	Plástico con tixotropía	2242,4	322,3	1920,1
6	Plástico con tixotropía	1670,1	322,3	1347,8
7	Plástico con tixotropía	1728,7	322,3	1406,4
8	Plástico con tixotropía	2226,8	380,9	1845,9
9	Plástico con tixotropía	2519,8	410,2	2109,6
10	Plástico con tixotropía	2754,2	586,0	2168,2
11	Plástico con tixotropía	3364,8	673,9	2690,9

La tabla 8 es el resumen de los resultados de reología e indica el sistema reológico al que pertenece cada tratamiento; además, la diferencia entre los puntos inicial y final de las curvas, permite observar que el tratamiento 4 es más plástico por tener un valor menor, es decir, tiende a recuperar su estructura luego de ser sometida a la fuerza de deformación.

#### 4. Conclusiones

- De acuerdo al análisis estadístico presentado en las tablas 2 y 3 se determinó que las materias primas

que presentan similares características en punto de fusión, índice de yodo y contenido de sólidos grasos, son aceite de palma, palmiste y soya. La estearina de palma presenta diferencias en el contenido de sólidos grasos como se comprobó en la prueba t en la que se obtuvo un valor experimental de 32,315; en tanto que la t tabulada al 99% es de 9.92. Por lo cual se aceptó la hipótesis alterna, que indica que la estearina ha cambiado en su composición química e influye en la mezcla para la fase oleosa.

- La evaluación sensorial determinó que de las once muestras de margarina, diez alcanzaron un buen grado de aceptación. En tanto que una fue catalogada como defectuosa por perder su consistencia al momento de ser usada en panificación; ésta fue producida bajo la condición de temperatura de emulsión elevada aproximadamente 52°C.
- El análisis reológico de las margarinas, comprueba que se trata de sistemas tixotrópicos, como ya lo afirmó Bailey "las grasas tienen la estructura característica de un sólido plástico, pero, con frecuencia sufren fenómenos de tixotropía cuando se aplica sobre ellas trabajo mecánico" [3]. Tomando en cuenta los resultados de la tabla 7, la muestra del tratamiento 4 presenta mayor estabilidad a la deformación ya que la variación entre los puntos iniciales y finales fue de 1113,4 mPa, un valor inferior a los demás tratamientos.
- Utilizando el microscopio de luz polarizada y mediante la comparación de las microfotografías experimentales con las del gráfico 3, se identificó algunas formas cristalinas, y se clasificó según su tamaño en posibles cristales  $\beta$  tratamientos 6, 9 y 11; posibles cristales  $\beta'$  tratamientos, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 y 10.
- El análisis de calorimetría diferencial de barrido permitió establecer los tipos de cristales en las muestras. Tratamiento 3 sistemas cristalinos  $\beta$ ; tratamiento 4 dos tipos de cristales  $\beta'$ ; tratamientos 1, 6, 7 y 9 únicamente cristales  $\beta'$ . Por lo tanto, las condiciones adecuadas para procesar margarina y obtener cristales  $\beta'$  son los tratamientos 4, 6, 7 y 9 (Tabla 8); además, estos tratamientos cuentan con la aceptación mediante las pruebas de evaluación sensorial.

**Tabla 9.** Parámetros óptimos de producción

PARÁMETROS	Unidad	Tratamientos			
		4	6	7	9
Caudal	kg/h	1670	1614	1670	1670
Temperatura de emulsión	°C	50,3	50,73	50,83	51,73
Temperatura de enfriamiento	°C	15,33	17,03	17,68	17,35
Velocidad cristalizador 1	rpm	231	231	231	230
Velocidad cristalizador 2	rpm	315	315	315	301
Temperatura de empaque	°C	25,88	27,0	27,15	27,4

## Referencias

1. **Inec.** "Censo poblacional". [en línea]. [consulta: 10 de mayo del 2009], Disponible en Web: [www.inec.gov.ec/c/document\\_library/get\\_file?...&name=DLFE-5137.pdf](http://www.inec.gov.ec/c/document_library/get_file?...&name=DLFE-5137.pdf)
2. **Belitz, Hans-Dieter; Grosch, Werner.** "Química de los alimentos". 2 ed., Zaragoza (España), Acribia, 1997 imp.
3. **Bailey, Alton.** "Aceites y grasas industriales". Traducido de la 2 ed. en inglés, Buenos Aires, Reverte, 1979.
4. **Romo, Luis.** "Coloideofísica, coloideoquímica: Fenómenos de superficie". 1 ed., Quito, UCE, Editorial Universitaria, 1981.
5. **Gerstenberg Schröder.** "Crystallization technology Shortening-General Information". [en línea], Revisión Abril 2009, [Consulta: 9 de octubre del 2009], Disponible en web:[http://www.gs-as.com/Art%C3%ADculos\\_de\\_investigaci%C3%B3n\\_y\\_desarrollo\\_.aspx?ID=1490](http://www.gs-as.com/Art%C3%ADculos_de_investigaci%C3%B3n_y_desarrollo_.aspx?ID=1490)
6. **BDN Food Technology.** "Margarinas". [en línea], Publicación 2001, [Consulta: 12 de noviembre del 2009], Disponible en web: <http://bdnhome.com/tecnologia/temas/margarinas.pdf>
7. **Garti, Nissim. Sato, Kiyotaka.** "Crystallization processes in fats and lipid system". New York, Marcel Dekker cop. 2001
8. **Bailey's.** "Industrial oil & fat products". 5 ed., Y.H.HUI. Technology and commerce International, 1996. Vol 3.
9. **Palsgaard A/S.** "Margarinas/ Shortenings líquidas & bombeables: Principales ingredientes en dichos productos". [en línea], MOLBAK, Anders, Publicación 21 julio 2009, [Consulta: 28 agosto del 2009], Disponible en web: [www.palsgaard.com](http://www.palsgaard.com)
10. **Kaletunç, Gönül.** "Calorimetry in food processing: analysis and design of food system". 1 ed., USA, Wiley-Blackwell and the Institute of Food Technologists, 2009.
11. **DANEC, S.A.** "Procedimientos de ensayo para Analistas / Auxiliares". basados en los Métodos Analíticos de la AOCS y en NTE INEN, Ecuador, 1998,
12. **Anzaldúa-Morales, Antonio.** "La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica". Zaragoza (España), Acribia, 1998.
13. **Flint, Olga.** "Microscopia de los alimentos, Manual de métodos prácticos utilizando la microscopia óptica". Zaragoza (España), Acribia, 1996.





## Utilización de Residuos de Café Tostado y Molido como Bioadsorbente para la Remoción de Arsénico (V) en Agua

ERIKA TINGO PROAÑO <sup>a\*</sup> RAMIRO ACOSTA<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito

\*Correspondencia: erika\_098@hotmail.com

Recibido: 29 marzo 2011 / Aceptado: 14 septiembre 2011

### Resumen

La contaminación por arsénico causa serios problemas en la salud humana y el agua de bebida es una importante fuente de exposición. Este trabajo de investigación presenta una solución tentativa al problema de contaminación de agua con arsénico en los pozos del sector de Tumbaco que, por el alto costo que demanda su tratamiento, fueron cerrados y otros usados como agua de riego para canchas de fútbol, como es el caso del agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional". Se describe el estudio del efecto del pH y la dosis de residuos de café tostado y molido, previamente activado, en la adsorción de arsénico (V) en solución acuosa. Los valores óptimos para tratar 100 ml de agua con 43,21  $\mu\text{g As (V) / L}$ , fueron pH 4,697 y dosificación de residuos de café 1,4067 g a 25°C y tiempo de contacto de 2 horas. Los residuos de café presentaron una eficiencia de remoción del 65,26 % y una capacidad de adsorción de 2  $\mu\text{g de arsénico (V) / g de residuos de café}$ , al tratar el agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional".

**Palabras clave:** residuos de café, activación, remoción, arsénico (V), agua de pozo.

### Wasted Roast and Ground Coffee as Bioadsorbent to Removal Arsenic (V) in Water

#### Abstract

Arsenic contamination causes serious problems in human health and drinking water is a major source of exposure. This research presents a tentative solution to the problem of arsenic contamination of water wells in the area of Tumbaco that were closed for the high cost its treatment, and others are used for irrigation water in soccer fields, like is in "Club Deportivo El Nacional". The study the effect of pH and amount of wasted roast and ground coffee, previously activated, in the adsorption of Arsenic (V) from aqueous solution is described. The optimal values using 100 ml of water 43,21  $\mu\text{g As (V) / L}$ , of pH and dosage of coffee were 4.697 and 1.4067 g respectively at 25°C for a 2 hours period of contact time. Residues of coffee were used to remove Arsenic (V) from well water ("Club Deportivo El Nacional") showing a removal efficiency of 65.26% and an adsorption capacity of 2  $\mu\text{g Arsenic (V) / g wasted coffee}$ .

**Key words:** wasted coffee, activation, removal, arsenic (V), well water.

### 1. Introducción

En el Ecuador el café se consume, generalmente, de varias formas, ya sea como café soluble, que se solubiliza por completo en agua caliente y como café pasado, aquel que se obtiene al hacer pasar agua hir-

viendo a través de un filtro que contiene en su interior café tostado y molido. Otra forma de consumir café es aquella que nos proporcionan las cafeterías como Juan Valdez, Sweet & Coffee, Coffee Tree, Café Libro

y Sutra, lugares en los que el café a consumirse se encuentra tan solo tostado y el momento que se realiza el pedido es molido, colocado en un filtro. Se extrae la bebida con agua o leche según sea el tipo de café que se desea beber. Una de las cafeterías antes mencionadas, genera alrededor de 520 kg de residuos de café por semana, los mismos que se eliminan colocándolos en fundas de basura y son recogidos por el servicio de recolección municipal.

Ecuador exportó 24 137 190,35 toneladas de café, de las cuales 15 562 toneladas métricas corresponden a exportaciones de café soluble o extractos de café, todo esto durante el periodo enero-noviembre de 2010 (1). Si se conoce que tan solo el 9,5% del peso del fruto seco es usado en la industrialización del café (2), el 90,5% queda en forma de desechos, siendo el 10% de los residuos de la industrialización del café, residuos de café tostado y molido. Entonces, en el año 2010 en el Ecuador se generaron 16 381,05 toneladas métricas de residuos de café tostado y molido.

Los residuos de café podrían ser reciclados, existen varios estudios sobre los usos que se les podría dar, lamentablemente, ninguno de ellos se han realizado en nuestro país. En Colombia se los utiliza para generar biocombustible y bioetanol, también, como biomasa para el compostaje (3), en Estados Unidos se han publicado artículos en los que se utilizan los residuos de café para transformarlo en un gel que puede remover metales (4), en Japón, los residuos de café son utilizados para remover metales como el cobre (II) y cadmio (II) con remociones superiores al 90% (5). Se podrían generar 340 millones de galones de biodiésel a partir de los residuos de café que se generan en todo el mundo (6).

El envenenamiento agudo con arsénico se produce con la ingesta de más de 100 mg del elemento; además, hay evidencias de que es, también, carcinogénico. Como el mercurio, el arsénico puede ser convertido por las bacterias en derivados metílicos más móviles y tóxicos. Así también, las condiciones geoquímicas que resultan en la contaminación del agua con arsénico están asociadas comúnmente con la presencia de hierro, azufre y materia orgánica en depósitos producidos por el agua. El hierro que se libera de las rocas erosionadas por el agua de río forma depósitos

de óxido de hierro en las superficies de las partículas de rocas. Este óxido de hierro acumula arsénico y lo concentra a partir del agua de río. Estas partículas son enterradas junto con la materia orgánica biodegradable en los sedimentos y el hierro (III) insoluble de los óxidos férricos se convierte en hierro (II) soluble por las condiciones reductoras anaerobias bajo las cuales se biodegrada a la materia orgánica. Esto finalmente libera el arsénico enlazado que puede entrar en el agua de los pozos (7).

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Procedimiento para activar los residuos de café

Se secaron los residuos de café recolectado, por dos horas a 110°C, para evitar el crecimiento de microorganismos. Se colocaron los residuos en capuchones, con capacidad de alrededor de 60 g cada uno, se trataron, vía Soxhlet, con agua destilada a pH 7 como solvente, por 5 horas y se secaron en estufa con corriente de aire a 110°C por 24 horas, se repitió éste procedimiento por tres ocasiones. Los residuos de café tostado y molido tratado se almacenaron en un desecador. Ver tablas 1 y 2.

### 2.2. Procedimiento para analizar la química de los residuos de café

Se mezcló 1 mg de residuos de café con 100 mg de KBr (para espectroscopia), en un mortero de ágata. La muestra homogenizada y seca, se colocó en el portamuestra del espectroscopio infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR), marca Perkin Elmer; modelo RX1 y se registró el espectro en la región de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , con cuatro barridos por minuto. Se repitió por tres ocasiones el procedimiento anterior para obtener un espectro de los residuos de café, de los residuos de café activados y de los residuos de café después del proceso de remoción del arsénico (V). Ver figuras 1, 2 y 3.

### 2.3. Contenido de cenizas de los residuos de café

El contenido de ceniza de los residuos de café se determinó de acuerdo al método estándar ASTM CC14. Se tomó alrededor de 1 g de muestra seca de residuos, se carbonizó a 500°C durante 24 horas, el porcentaje de residuo determinó el contenido de ceniza

de los desechos de café. Se determinó el contenido de cenizas de los residuos de café: sin tratamiento, después del tratamiento de activación y luego de la remoción de arsénico (V). Ver tabla 3.

#### 2.4. Clase de café tostado y molido

Se colocaron 10 g de residuos de café, en un tamizador con tamices con luz de malla de 710  $\mu\text{m}$ , 500  $\mu\text{m}$  y 355  $\mu\text{m}$ , por 10 minutos. En base a los porcentajes de residuos retenidos en cada uno de los tamices (ver tabla 4) se determinó la clase de café del que proceden los residuos usados en este trabajo de investigación. Ver tabla 5.

#### 2.5. Ensayos del diseño experimental

Para determinar las mejores condiciones de extracción de arsénico en medio acuoso empleando desechos de café se utilizó un análisis de superficie de respuesta.

##### 2.5.1. Muestra de agua previamente contaminada

Se tomó 1 mg de  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Fisher Scientific Company, LOT 791236), y se aforó a 5 L con agua destilada, se preservó la muestra a pH menor a 2 con  $\text{HNO}_3$  libre de metales, basado en la sección 1060 Collection and Preservation of Samples, Tabla 1060 I (8). Esta agua se utilizó a lo largo del diseño experimental hasta optimizar el proceso. Ver tabla 6.

##### 2.5.2. Muestra de agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional"

Se tomaron 500 mL de muestra representativa del agua de pozo y se preservó la muestra a pH menor a 2 (8).

##### 2.5.3. Procedimiento general de los ensayos de remoción

De acuerdo al diseño experimental (ver Tabla 9) se ajustó el pH de la muestra de agua, con ácido nítrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N. En un erlenmeyer se colocó la cantidad de gramos de café requeridos, luego se añadió 100 mL de agua a un pH determinado. El erlenmeyer se colocó en un equipo de agitación mecánica con regulación de temperatura.

#### 2.6. Cuantificación del arsénico

Se utilizó el Método Estándar APHA AWWA 3114B. Generación manual de hidruros / Método Espectrometría de Absorción Atómica. El equipo utilizado fue espectrofotómetro de absorción atómica con generación de hidruros, marca Perkin Elmer; Modelo: AA-NAYST 100.

#### 2.7. Evaluación de la capacidad de adsorción de los residuos de café

La capacidad de adsorción ( $q$ ) se define como la masa de sorbato adsorbida por unidad de masa de adsorbente. El cálculo de la capacidad de biosorción se realizó utilizando la ecuación [1] (9):

$$q = \frac{V(C_0 - C_f)}{m} \quad [1]$$

**Donde:** V: Volumen de la solución que contiene el sorbato (L),  $C_0$ : Concentración inicial del sorbato (mg L<sup>-1</sup>),  $C_f$ : Concentración en equilibrio del metal (sorbato) en solución (mg L<sup>-1</sup>) y m: Masa del adsorbente seco agregado (g).

La eficiencia del proceso de biosorción se puede calcular por medio del % de remoción, con la ecuación [2]:

$$\% = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100 \quad [2]$$

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Activación de los residuos de café tostado y molido

La Tabla 1 indica los resultados obtenidos después del proceso de lavado y secado (activación) de los residuos de café.

**Tabla 1.** Masa de residuos de café tratados

Capuchón	W1 (g)	W2 (g)	W (g)
1	3,88	61,72	59,71
2	3,04	59,40	56,65

$W_1$  es la masa capuchón,  $W_2$  representa la masa del capuchón más los residuos de café y W es la masa del capuchón más los residuos de café tostado y molido des-

pués de la activación.  $\Delta W$ , la variación de masa de los residuos de café tostado y molido. En la Tabla 2 se aprecia que durante el proceso de activación se elimina la porción soluble de los residuos de café tostado y molido.

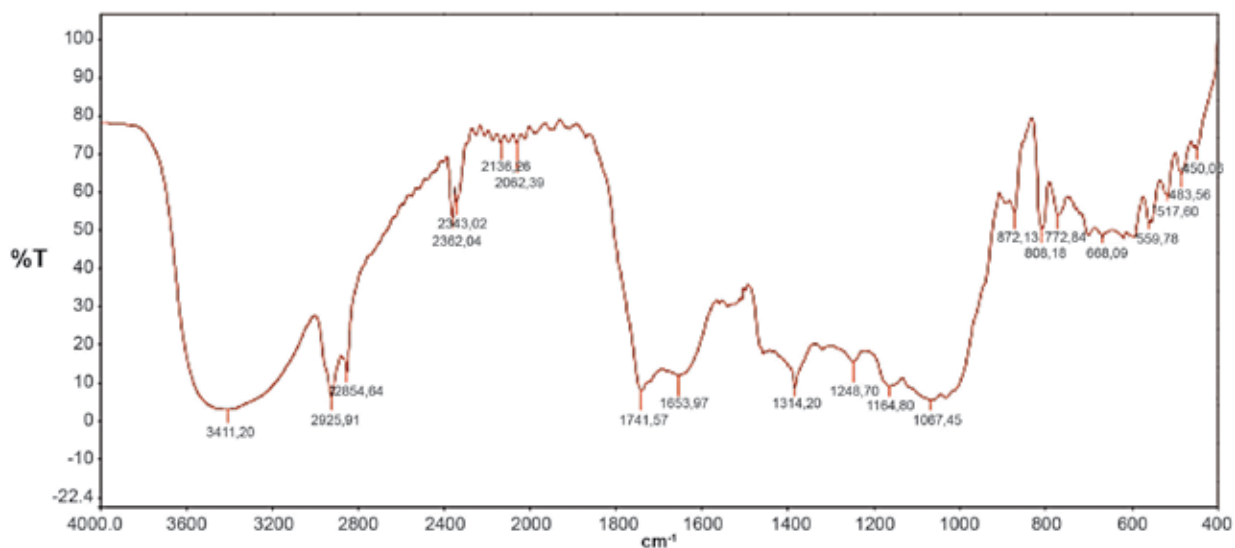
**Tabla 2.** Variación de la masa de residuos de café tratados

Capuchón	W2 (g)	W (g)	$\Delta W$ (g)
1	61,72	59,71	-2,01
2	59,40	56,65	-2,75

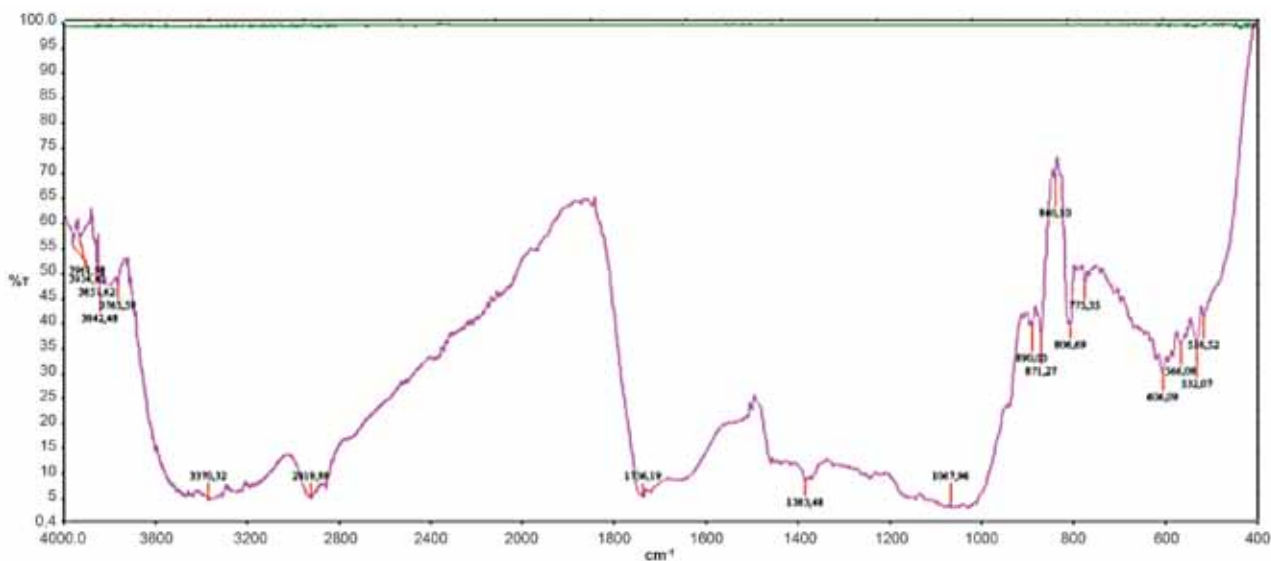
### 3.2. Análisis de la química de los residuos de café

En las figuras 1, 2 y 3 se indican los cambios químicos que sufrieron los residuos de café recolectados, activados y utilizados en el proceso de adsorción.

**Abreviaturas:** tensión (t), deformación (d)



**Figura 1.** Espectro IR de los residuos de café



**Figura 2.** Espectro IR de los residuos de café activados

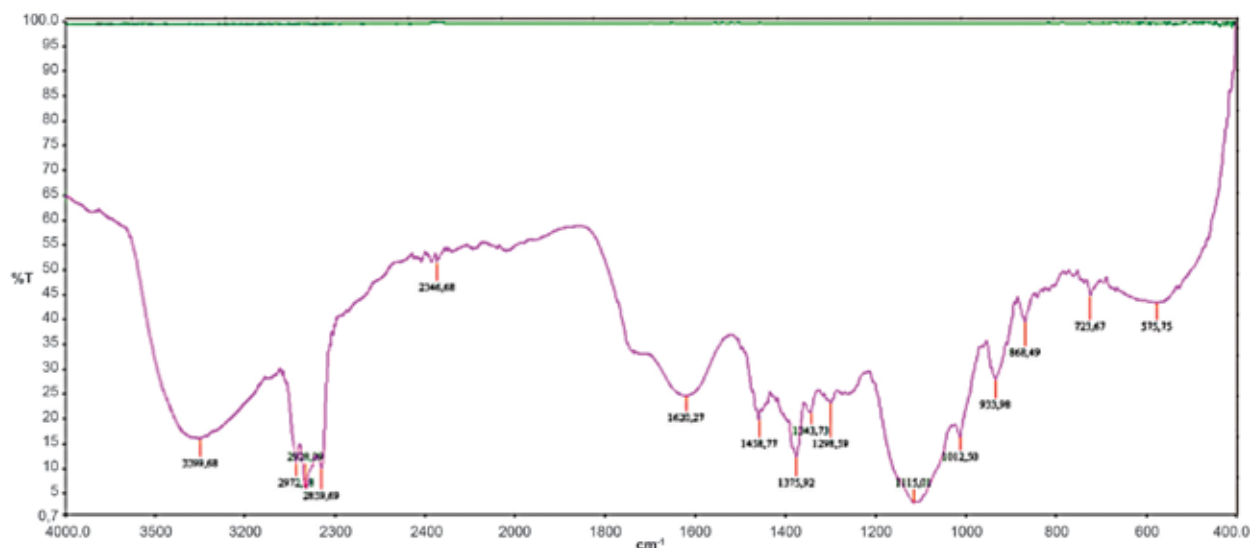


Figura 3. Espectro IR de los residuos de café después de la remoción de As (V)

#### a) Interpretación Figura 1:

**Residuos de café:** O–H alcoholes con puentes de hidrógeno (t),  $3411.20\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{Csp}^3\text{-H}$  asimétricos (d),  $2925.91\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{Csp}^3\text{-H}$  asimétricos (d),  $2854.64\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{O}=\text{C}=\text{O}$  asimétrico (d),  $2343.02\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-N}=\text{C}=\text{S}$  isotiocianatos (d),  $2136.26\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-C}$  (d),  $2062.39\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C}=\text{O}$  (e)  $\alpha, \beta$  insaturados,  $1741.57\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{N-H}$  primaria (d),  $1653.97\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-CH}_3$  simétricos (d),  $1384.20\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{Csp}^2\text{-C-N}$  (d),  $1248.70\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-N}$  (d),  $1164.80\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-O}$  fenol (t),  $1067.45\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C=C}$  trans (d),  $872.13\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C-Cl}$  (d),  $808.18\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C=S}$  (d),  $772.24\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-(CH}_2)_n\text{-C}$  simétricos (d),  $668.09\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{CH}_2\text{-Cl}$  (d),  $559.78\text{-}517.60\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{Mg-O}$  (d),  $489.63\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{P-OH}$  asimétrica (d),  $450.09\text{ cm}^{-1}$ .

**Observaciones:** El pico que corresponde al número de onda  $3411.20\text{ cm}^{-1}$  se sugiere que corresponde al enlace O–H de alcoholes con puentes de hidrógeno, pues este tipo de enlace presenta bandas entre  $3650\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$  (10). El café proporciona oligoelementos como el fósforo, magnesio, manganeso, zinc, sodio, calcio y hierro (11) mismos que después de la extracción pueden quedar en los residuos de café, es por ello que se sugiere la interpretación de los picos  $489.63\text{ cm}^{-1}$  y  $450.09\text{ cm}^{-1}$  como los debidos a los enlaces  $\text{Mg-O}$  y  $\text{P-OH}$  (12). Se sugiere la presencia de al menos un halógeno en los residuos de café [ $\text{CH}_2\text{-Cl}$  (d),  $559.78\text{ cm}^{-1}$ ], que por los datos obtenidos se piensa es el cloro, ya que éste se encuentra en varios picos del espectro infrarrojo, descartando la presencia de yodo y bromo, además, a los picos cuyo número de onda está comprendido entre  $550\text{-}450\text{ cm}^{-1}$ , se sos-

pecha se deben a la presencia de magnesio y fósforo que son constituyentes del café.

#### b) Interpretación Figura 2:

**Residuos de café activados:**  $\text{CH}_3\text{-C=O}$  (d),  $3961.58\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{OH}$  carboxilo (d),  $3934.40\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{N-H}$  cuaternaria (d),  $3842.48\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{OH}$  fenol (d),  $3765.59\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-(CH}_2)_n\text{-OH}$  (t),  $3370.32\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{Csp}^3\text{-H}$  asimétricos (d),  $2919.88\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C=O}$  (d)  $\alpha, \beta$  insaturados,  $1736.19\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-CH}_3$  simétricos (d),  $1383.48\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C-O}$  (t),  $1067.96\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C=C}$  trans (d)\*,  $890.03\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{C=C}$  trans (d),  $871.27\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C-Cl}$  (d),  $840.10\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-C-(CH}_2)_n\text{-C}$  simétricos (d),  $775.35\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{-CH}_2\text{-C-Cl}$  (d),  $606.09\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{CH}_2\text{-Cl}$  (d),  $566.08\text{ cm}^{-1}$ . (10).

**Observaciones:** En el enlace  $\text{C=C}$  ( $890.03\text{ cm}^{-1}$ ), los carbonos pueden estar unidos o sustituidos por radicales distintos, esa puede ser la posible explicación de por qué se marcan de forma distinta. En las bandas  $516.52$  a  $532.07\text{ cm}^{-1}$  se puede pensar en la presencia de otros halógenos distintos al cloro, sin embargo, en la bibliografía no se menciona a otros halógenos como constituyentes del café, es por ello que se sugiere que estos picos son sobretonos del enlace  $\text{CH}_2\text{-Cl}$  (d). Los enlaces encontrados cuyo número de onda ésta en el rango de:  $3961.58$  hasta  $3765.59\text{ cm}^{-1}$ , pueden ser sobretonos del enlace  $\text{N-H}$  cuaternarios, o como en las arcillas (13) que cuando se hinchan por hidratación existe la presencia de varios picos cuyo número de onda se encuentra en el rango comprendido entre  $3700\text{ cm}^{-1}$  y  $3900\text{ cm}^{-1}$  que se debe a la presencia de grupos  $\text{OH}$  del



agua adsorbida. Los residuos de café pudieron adsorber agua en el proceso de activación.

**c) Interpretación Figura 3:**

**Residuos de café después de la remoción de arsénico (V):**  $-(CH_2)_n-OH$  (t),  $3399.48\text{ cm}^{-1}$ .  $Csp^3-H$  asimétricos (d),  $2972.08\text{ cm}^{-1}$ .  $Csp^2-H$  cíclico asimétrico (d),  $2928.09\text{ cm}^{-1}$ .  $Csp^3-H$  asimétricos (d),  $2859.69\text{ cm}^{-1}$ .  $O=C=O$  asimétrico (d),  $2346.68\text{ cm}^{-1}$ .  $N-H$  primaria (d)  $1620.27\text{ cm}^{-1}$ .  $C-CH_2$  asimétricos (d),  $1458.77\text{ cm}^{-1}$ .  $C-CH_3$  simétricos (d),  $1375.92\text{ cm}^{-1}$ .  $C=C-N$  (e),  $1298.59\text{ cm}^{-1}$ .  $C-N$  (e),  $1115.08\text{ cm}^{-1}$ .  $C-O$  (t),  $1012.50\text{ cm}^{-1}$ .  $C=C$  trans (d)  $933.98\text{ cm}^{-1}$ .  $C=C$  trans (d),  $868.49\text{ cm}^{-1}$ .  $C-(CH_2)_n-C$  simétricos (d),  $723.67\text{ cm}^{-1}$ .  $CH_2-Cl$  (d),  $575.72\text{ cm}^{-1}$ .

**Observaciones:** El estiramiento de las aminas primarias ( $3500-3400\text{ cm}^{-1}$ ) se encuentra cubierto por el alcohol primario. Los picos cuyo número de onda es de:  $868.49$  y  $933.98\text{ cm}^{-1}$ , pueden corresponder a sobretonos de  $C-CH_2$  y de  $C-Cl$  respectivamente. El pico cuyo número de onda es  $575.72\text{ cm}^{-1}$  puede también corresponder a una alquilarilarsina y el de  $933.98$  puede corresponder a una tensión simétrica del enlace  $As-O$  (14). Existe un pequeño pico en  $3900\text{ cm}^{-1}$ , menos intenso que el del espectro anterior, que sugiere puede corresponder a un enlace  $N-H$  cuaternaria. No se encuentran picos con números de onda menores a  $500\text{ cm}^{-1}$ , lo que permite suponer que el magnesio y el fósforo ya no se encuentren en los residuos de café, ésta observación también se extiende para el espectro de los residuos de café activados.

**3.3. Contenido de cenizas de los residuos de café**

La Tabla 3 presenta el contenido de cenizas de los residuos de café recolectados, activados y utilizados en el proceso de adsorción. La activación no varía significativamente el contenido de cenizas.

**Tabla 3.** Contenido de cenizas

Muestra	Masa (g)	% Cenizas
Residuos de café	0,7104	2,04
Residuos de café activados	0,7352	1,99
Residuos de café después de la remoción de As (V)	0,7201	3,01

**3.4. Clase de café tostado y molido**

Se caracterizaron los residuos de café en base a su tamaño de partícula, ver Tablas 4 y 5.

**Tabla 4.** Distribución de tamaño de partícula

Masa inicial de café (g)	Materia retenida (g) tamiz de 710 $\mu\text{m}$	Materia retenida (g) tamiz de 500 $\mu\text{m}$	Materia retenida (g) tamiz de 355 $\mu\text{m}$
10,0180	0,4524	0,9762	4,5162

**Tabla 5.** Clase de café tostado y molido

Clase de café tostado y molido	%Materia retenida tamiz de 710 $\mu\text{m}$	%Materia retenida tamiz de 500 $\mu\text{m}$	%Materia retenida tamiz de 355 $\mu\text{m}$
Extra fino	4,5	9,7	45,1

**3.5. Cuantificación del arsénico**

La Tabla 6 indica la concentración de arsénico en el agua previamente contaminada que se utilizó a lo largo del estudio. No se detectó presencia de arsénico en los residuos de café.

**Tabla 6.** Concentración inicial de arsénico

Co Arsénico en el café ( $\mu\text{g/L}$ )	Co As(V) en el agua contaminada ( $\mu\text{g/L}$ )
Menor al límite de detección	43,21

**3.6. Evaluación del proceso de adsorción As (V) con residuos de café en el agua de pozo del Club Deportivo El Nacional**

La tabla 7 indica la capacidad de adsorción de los residuos de café al tratar 100 mL de agua con una concentración inicial  $43,12\text{ }\mu\text{g As (V) /L}$ .

**Tabla 7.** Capacidad de adsorción de los residuos de café. Datos por triplicado.

Residuos de café (g)	1,4068	1,4067	1,4068
% de Eficiencia del proceso	62,66	68,76	64,37
Capacidad de adsorción ( $\mu\text{g/g}$ )	1,92	2,11	1,97

Los residuos de café tienen una eficiencia de adsorción de arsénico (V) del 65,26% y una capacidad de adsorción de 2 µg As (V)/g de residuo de café seco. El agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional" disminuyó la concentración de arsénico de 43,12µg/L a 14,98µg/L.

### 3.7. Demanda de cloro

Este ensayo se basó en el método 2350 del Standard Methods (8). Se realizó para determinar la cantidad de cloro necesario para decolorar el agua tratada con los residuos de café que a pH 4 colorean el agua. 25 mL agua se decoloraron con 1,5 mL de cloro de concentración 57,45 mg Cl<sub>2</sub> / L.

### 3.8. Análisis estadístico

#### 3.8.1. Variables significativas

La Tabla 9 presenta la combinación de los factores del diseño 2<sup>4</sup> no replicado con dos niveles. La tabla 10 indica la estimación y distribución normal de los efectos, en base a la cual se graficó la figura 5.

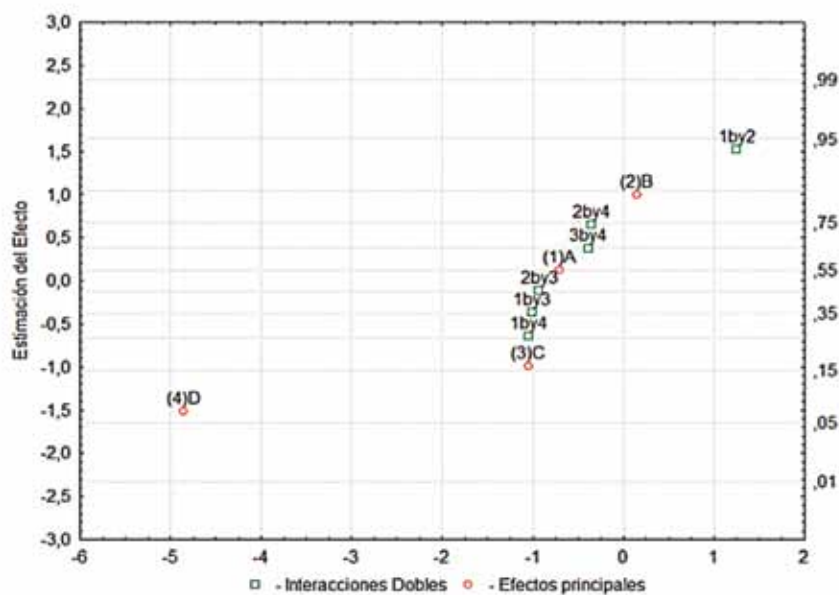
**Tabla 8.** Diseño 2<sup>4</sup> no replicado

Número de ensayo	Factor				Combinación de Tratamientos	%Remoción de Arsénico
	A	B	C	D		
1	-	-	-	-	(1)	29,04
2	+	-	-	-	a	45,13
3	-	+	-	-	b	45,24
4	+	+	-	-	ab	47,95
5	-	-	+	-	c	47,08
6	+	-	+	-	ac	34,76
7	-	+	+	-	bc	36,15
8	+	+	+	-	abc	36,39
9	-	-	-	+	d	33,57
10	+	-	-	+	ad	5,16
11	-	+	-	+	bd	12,56
12	+	+	-	+	abd	28,22
13	-	-	+	+	cd	21,25
14	+	-	+	+	acd	7,52
15	-	+	+	+	bcd	15,20
16	+	+	+	+	abcd	7,46

Donde: A es temperatura, B es tiempo de contacto, C es dosificación de residuos de café y D es pH de la solución; el signo + es el nivel alto y el signo - el nivel bajo. Para A= 50 y 25°C, B= 4 y 2 horas, C= 5 y 2.5 g y D= 8,2 y 2 de pH.

**Tabla 9.** Distribución normal de la estimación de los efectos

Orden (j)	Efecto	Estimación	(j-0,5)/15
15	ABD	6,36	0,9667
14	AB	6,16	0,9000
13	ACD	2,77	0,8333
12	BCD	2,52	0,7667
11	B	0,71	0,7000
10	ABC	-1,52	0,6333
9	BD	-1,72	0,5667
8	CD	-1,89	0,5000
7	A	-3,44	0,4333
6	BC	-4,56	0,3667
5	AC	-4,95	0,3000
4	AD	-5,12	0,2333
3	C	-5,13	0,1667
2	ABCD	-8,00	0,1000
1	D	-23,85	0,0333



**Figura 4.** Estimación de los efectos del diseño  $2^4$  no replicado. Elaborado por Erika Tingo

De la Figura 5 se determinan como variables significativas, a las variable C y D por encontrarse muy alejados de la línea recta que forman los otros valores de la estimación de los efectos.

### 3.8.2. Proyección del diseño $2^4$ a un diseño $2^2$ con cuatro réplicas

Al ser 2 de las 4 variables estudiadas no significativas, el diseño  $2^4$ , propuesto en un inicio se transforma en un diseño  $2^2$  con cuatro réplicas, ver Tabla 11 (15).

**Tabla 10.** Diseño  $2^2$  con 4 réplicas

Notación Yates	C	D	% Remoción de Arsénico				Sumatoria
(1)	-	-	29,04	45,13	45,24	46,95	167,36
a	+	-	47,08	34,76	36,15	36,39	154,38
b	-	+	33,57	5,16	12,56	28,22	79,51
ab	+	+	21,25	7,52	15,20	7,46	51,43

### 3.8.3. Determinación de un máximo relativo

En el diseño  $2^2$  se adicionan tres puntos centrales, cuyos valores y resultados se indican en la Tabla 12. Dado que el valor de suma de cuadrados de la curvatura es distinto de cero y, además, es mucho mayor que el valor de F (ver tabla 13), se detecta que el diseño  $2^2$  con tres puntos centrales se encuentra en una zona de curvatura.

**Tabla 11.** Adición de 3 puntos centrales al diseño  $2^2$  con 4 réplicas

Notación Yates	C	D	% Remoción de Arsénico				Sumatoria
(1)	-	-	29,04	45,13	45,24	46,95	167,36
a	+	-	47,08	34,76	36,15	36,39	154,38
b	-	+	33,57	5,16	12,56	28,22	79,51
ab	+	+	21,25	7,52	15,20	7,46	51,43
Puntos al centro	0	0	80,28	79,92	91,71		

**Tabla 12.** ANOVA del diseño  $2^2$  con 4 réplicas y 3 puntos centrales

Factor	SS	df	MS	F	p
Curvatura	7831,54	1	7831,539	102,2966	0,000000
C	105,37	1	105,370	1,3764	0,260297
D	2275,29	1	2275,290	29,7201	0,000085
CD	14,25	1	14,251	0,1861	0,672716
Error	1071,80	14	76,557	-	-
Total SS	11298,25	18	-	-	-

### 3.8.4. Superficie de respuesta

Para calcular las condiciones óptimas de extracción de arsénico, se utilizó el método estadístico de Superficie de Respuesta con un diseño compuesto central  $2^2$  con cuatro réplicas y tres puntos centrales. Con los datos de la Tabla 14 se construyeron las Figuras 6 y 7.

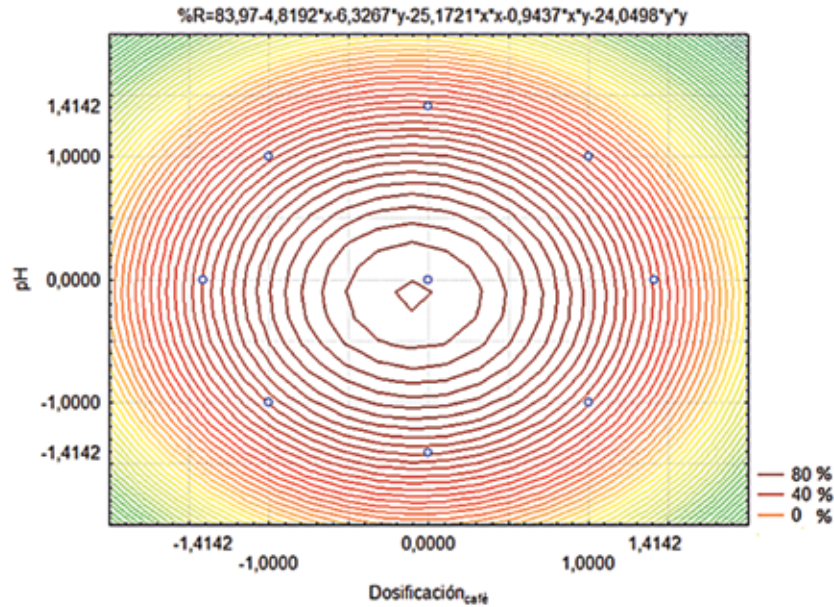


Figura 5. Superficie de respuesta, vista superior 2D, en unidades codificadas. Elaborado por Erika Tingo

Tabla 13. Diseño compuesto central 2<sup>2</sup> con 4 réplicas y 3 puntos al centro

Variables naturales		Variables codificadas		Respuesta
Residuos café (g)	pH	C	D	%Remoción As
0,5	2	-1	-1	29,04
0,5	2	-1	-1	43,13
0,5	2	-1	-1	45,24
0,5	2	-1	-1	47,95
0,5	8,2	-1	1	33,57
0,5	8,2	-1	1	5,16
0,5	8,2	-1	1	12,56
0,5	8,2	-1	1	28,22
2,5	2	1	-1	47,08
2,5	2	1	-1	34,76
2,5	2	1	-1	36,15
2,5	2	1	-1	36,39
2,5	8,2	1	1	21,25
2,5	8,2	1	1	7,52
2,5	8,2	1	1	15,20
2,5	8,2	1	1	7,46
1,5	5,1	0	0	80,28
1,5	5,1	0	0	79,92
1,5	5,1	0	0	91,71
2,9	5,1	1,414	0	15,83
2,9	5,1	1,414	0	6,03
0,1	5,1	-1,414	0	52,52
0,1	5,1	-1,414	0	57,09
1,5	9,5	0	1,414	23,59
1,5	9,5	0	1,414	14,43
1,5	0,7	0	-1,414	69,70
1,5	0,7	0	-1,414	67,03

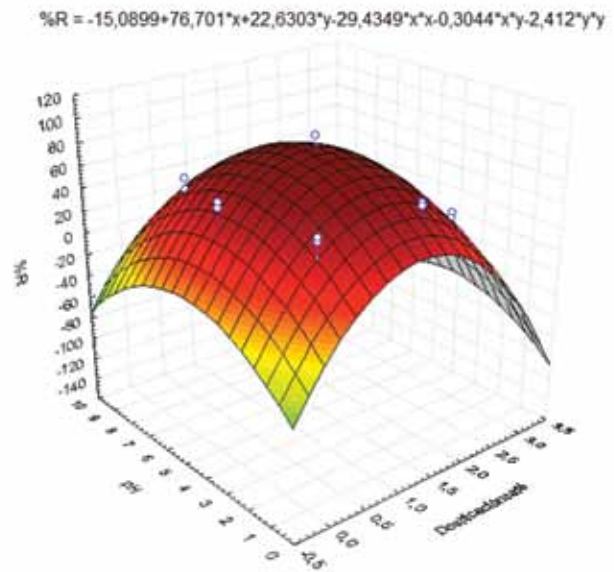


Figura 6. Superficie de respuesta vista 3D, en unidades naturales. Elaborado por Erika Tingo

La ecuación para la superficie de respuesta: % Remoción de arsénico (V) (%R) en función de dosificación de café (x) y de pH (y) es:

$$\%R=83,97- 4,8192x - 6,3267y - 25,1721x^2 - 0,9437xy - 24,0498y^2 \quad [3]$$

Para determinar los valores de las variables que maximizan el proceso de remoción se resuelven las ecuaciones [4] y [5]:

$$(d\%R)/dx = -4,8192 - 2(25,1721)x - 0,9437y \quad [4]$$

$$(d\%R)/dy = -6,3267 - 2(24,0498)y - 0,9437x \quad [5]$$

$$y = -0,1297$$

$$x = -0,0932$$

que en unidades naturales da:

$$\text{pH} = 4,6979$$

$$\text{Residuos}_{\text{café}} = 1,4067\text{g}$$

que son los valores que deben tener la variables para obtener un máximo de remoción de arsénico.

#### 4. Conclusiones

- Los residuos de café tostado y molido recolectados fueron de producción nacional, variedad arábigo, clase de molido extra fino, con un porcentaje original de cenizas de 2,04%. El proceso de activación (lavado y secado) de los residuos mejoró la superficie de contacto ya que originalmente estaban en forma de pequeños aglomerados y pasaron a formar un polvo fino.
- Las condiciones óptimas, para las variables significativas, para la remoción de arsénico (V) usando el método estadístico de Superficie de Respuesta

fueron: pH = 4,679 y 1,4067 g para los residuos de café tostado y molido para tratar 100 mL de agua con 43,21 µg As (V) / L. Las variables no significativas se mantuvieron en sus niveles bajos de 25°C y 2 horas de tiempo de contacto con agitación mecánica.

- En el agua previamente contaminada se llegó a remover el arsénico hasta 91,71% (39,63 µg/L) con una capacidad de adsorción de los residuos de café de 2,6 µg As (V)/g de residuo de café seco. En el agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional" los residuos de café tuvieron una eficiencia de adsorción de arsénico (V) de 65,26% (28,14µg/L) y una capacidad de adsorción de 2 µg As (V)/g de residuo de café seco. El agua de pozo del "Club Deportivo El Nacional" disminuyó la concentración de arsénico de 43,12µg/L a 14,98µg/L. La diferencia de porcentaje de remoción puede ser debida a la presencia de otros elementos en el agua de pozo.
- Con carbón activado se puede remover arsénico, de una concentración 4629 veces más concentrado que la utilizada en esta investigación, con un 75,37% de eficiencia (16). Los residuos de café son de bajo costo y pueden remover arsénico (V) de soluciones muy diluidas con una eficiencia de adsorción del 91,71%.

#### Referencias

1. Banco Central de Ecuador. (s.f.). Recuperado el 21 de Enero de 2011, de <http://www.portal.bce.fin.ec>
2. Rodríguez, N. (1977). Manejo de los Residuos en la Industria Cafetera. En H. Calle, Subproductos del Café (pág. 84). Chinchiná: Cenicafé.
3. Farfán, F. (2002). Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Recuperado el 28 de Diciembre de 2010, de Cenicafé, Centro Nacional de Investigaciones del Café: [www.cenicafé.com](http://www.cenicafé.com)
4. Minamisawa, M., Minamisawa, H., Yoshida, S., & Takai, N. (2005). Characterization of adsorption gels prepared from plant biomaterials. *Green Chemistry* 7, 595–601. Recuperado el 31 de Diciembre de 2010 de: [www.rsc.org/greenchem](http://www.rsc.org/greenchem).
5. Minamisawa, M., Nakajima, S., Mitsue, Y., Yoshida, S. Takai, N. (2002). Removal of Copper (II) and Cadmium (II) in Water by Use of Roasted Coffee Beans. *Nihon Kagaku Kaishi* 3, 459 - 461.
6. Kondamudi, N., Mohapatra, S. K., & Misra, M. (2008). Spent Coffee Grounds as a Versatile Source of Green Energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 11757–11760.
7. Manahan, S. E. (2007). Introducción a la Química Ambiental. México D.F.: Reverté S.A.
8. Clesceri, L. S., & Greenberg A, T. R. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, DC: Port City Press, Baltimore, Maryland.



9. **Muñoz, M. C. (2007).** Remoción de metales pesados en aguas residuales Utilizando una macrófita acuática (eleocharis Acicularis) muerta. Tesis de maestría en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México.
10. **Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005).** Spectrometric Identification of Organic Compounds. New York: John Wiley & Sons, INC.
11. **Wikipedia. Café Ecuatoriano. (14 de Marzo de 2010).** Wikipedia La Enciclopedia Libre. Recuperado el 25 de Enero de 2011 de: <http://www.wikipedia.org>
12. **Caicedo, R. S. (2010).** Análisis de la estructura molecular de materiales poliméricos usando la técnica de Espectrometría Infrarroja. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.
13. **Adams, M. (1995).** Fundamentos de Química de Suelos. Anauco, Anzóategui, Venezuela: Talleres de Anauco Ediciones C.A.
14. **Shagidurlin, R. R., & Pavlova, T. E. (1963).** Vibrational Spectra of Organic Arsenic Compounds. *Khimicheskaya Tekhnologiya*, 2117-2124.
15. **Gutiérrez, H., & Salazar, R. (2004).** Análisis y Diseño de Experimentos. México, D.F.: Mc Graw Hill.
16. **Lavado, C., Recuay, N., BendeZú, S., García, R., & Mu, Y. (2002).** Remoción de arsénico desde soluciones Acuosa por medio de Carbones Activos. *Boletín de la Sociedad Química del Perú*, LXVIII (3), 150-167.



# Instrucciones para los autores

La revista **QUÍMICA CENTRAL** publica artículos originales en todos los campos de la química que contengan resultados de investigaciones experimentales, teóricas o aplicadas, que no hayan sido publicados anteriormente ni que estén bajo consideración en otras revistas.

## Recepción de manuscritos

Los manuscritos se recibirán solamente por vía electrónica, en formato de Microsoft Office Word u Open Office Writer para Windows, al correo del Consejo Editorial (*revista.fcq@uce.edu.ec*) con un máximo de 5 MB por archivo. Los manuscritos para ser evaluados no deben haber sido anteriormente publicados en ningún medio físico o electrónico. El manuscrito debe ir acompañado de una carta o un texto de correo electrónico solicitando al Consejo Editorial su publicación e indicando que el mismo no ha sido publicado previamente, ni está siendo evaluado para su publicación en otra revista y que todos los autores que aparecen en el manuscrito conocen y aceptan el contenido del mismo.

## Revisión y publicación

Cada manuscrito recibido será sometido a un proceso de evaluación por revisores calificados. La identidad de los revisores es confidencial y sus nombres no serán revelados al autor. La decisión sobre la publicación del manuscrito se notificará por correo electrónico a la persona de contacto junto con el informe de los revisores.

## Formato del manuscrito

El manuscrito debe ser redactado en tamaño de papel A4 (21x29.7 cm), márgenes derecho, izquierdo, superior e inferior de 2.0 cm. Todo el texto debe estar escrito a doble espacio y alineado a la izquierda. El tamaño de letra debe ser 12 Times, estilo de fuente normal, usar cursiva para los nombres en latín de organismos vivos. No sangrar la primera línea de cada párrafo luego de punto aparte o de un título. No van espacios en blanco entre los párrafos. Deberá emplearse el Sistema Internacional de Unidades (SI), tanto en el texto, cuanto en las figuras y tablas. No utilizar división automática de palabras para separar sílabas. En lo posible no emplear notas al pie de página. Los subtítulos van numerados en negrita Times 12, alineados a la izquierda. Después del número va punto y espacio, la primera letra con mayúscula. El límite del manuscrito es de 5000 palabras.

## Organización del manuscrito

Las secciones del manuscrito son:

- Título
- Nombre(s) del autor(es) y afiliación(es)
- Resumen y palabras claves
- Title
- Abstract y key words
- 1. Introducción
- 2. Parte experimental
- 3. Resultados y Discusión
- 4. Conclusiones
- Agradecimientos (opcional)
- Referencias

## Título

El título debe ser claro, conciso y escogido cuidadosamente para reflejar el contenido del trabajo reportado. No utilizar abreviaturas.

## Nombre(s) del autor(es) y afiliación(es)

Para listar los autores del trabajo, poner el primer nombre y el/los apellido(s) de todos los investigadores que han hecho una sustancial contribución al trabajo. El nombre del autor principal irá en primer

lugar y al final el nombre del tutor, jefe de laboratorio o director de proyecto. Deben omitirse todos los títulos, ocupaciones y grados académicos como: Prof., Coord., Dr., Lcdo., MSc, PhD. Después de los autores poner la afiliación (nombre y dirección de la institución) de cada uno y con letras superíndices relacionar la afiliación con los autores. Señalar el contacto o a quien va dirigida la correspondencia con un asterisco (\*) sobre el apellido y agregar el correo electrónico. Si el autor a quien va dirigida la correspondencia ya no está en la institución donde el trabajo fue realizado, colocar la dirección actual como una nota al pie de página marcada con un asterisco (\*).

## Resumen

Todos los manuscritos deben tener un resumen del trabajo realizado. Contiene una clara indicación del objetivo, los resultados más importantes y las conclusiones para que los lectores puedan determinar si el texto completo será de su interés. Debe estructurarse en un sólo párrafo, no debe exceder las 200 palabras y no debe incluir ecuaciones ni referencias.

**Palabras claves:** Colocar de tres a cinco palabras claves.

## Title

Poner el título del manuscrito en inglés.

A continuación colocar la palabra "**Abstract.**" y escribir el contenido del resumen en inglés. Después, escribir "**Key words:**" y poner las palabras claves en inglés.

## Introducción

En la introducción debe indicarse claramente el propósito y los objetivos de la investigación. No debe incluirse una revisión extensa de trabajos previos, solamente una revisión bibliográfica relevante. La introducción no debe extenderse más de dos páginas a doble espacio.

## Parte experimental

El reporte del trabajo experimental debe incluirse en la sección experimental. Esta sección debe presentar una descripción clara y sin ambigüedades de los materiales, métodos y equipos utilizados con suficiente detalle que permita la reproducción del trabajo por otros investigadores. Debe evitarse descripciones repetitivas de un procedimiento general. La sección debe estar dividida en subsecciones. Debe indicarse explícitamente las precauciones de manejo de material peligroso o de procedimientos peligrosos y, en caso de uso de animales, la aprobación correspondiente por el comité bioético local.

## Resultados y discusión

La función de esta sección es presentar objetivamente los principales resultados y su interpretación en una secuencia lógica. No debe incluirse detalles experimentales y debe redactarse en tiempo pasado. Se recomienda utilizar material ilustrado como tablas y figuras para mostrar los resultados. No debe presentarse el mismo resultado en tablas y en figuras. Debe indicarse el procedimiento estadístico empleado para analizar los resultados y reportar el nivel de significancia utilizado. Debe relacionarse los resultados del artículo con lo encontrado en otros estudios similares.

## Conclusiones

Esta sección resume brevemente las principales conclusiones del trabajo y no debe ser un duplicado de la información del resumen (abstract) ni repetir puntos de la discusión. La conclusión debe estar basada en la evidencia presentada.

### Agradecimientos (opcional)

Esta sección puede usarse para agradecer discusiones de otros investigadores o asistencia técnica de personas que no son coautores del trabajo. También, puede agradecerse la asistencia económica o donación de reactivos.

### Referencias

Deben listarse y enumerarse todas las referencias bibliográficas en el orden que aparecen en el manuscrito. En el texto del manuscrito, la referencia se cita usando números arábigos entre corchetes [1]. No deberá incluirse en la referencia material bibliográfico que no haya sido señalado explícitamente con un número en el texto. Los nombres de revistas deben ir completos y no abreviados. Para el formato de las referencias utilizar el Administrador Automático de Fuentes de Microsoft Office Word, versión 2007 o superior. En el administrador de fuentes seleccionar el estilo APA (American Psychological Association).

### Ecuaciones

Las ecuaciones deben estar enumeradas consecutivamente, con el número entre paréntesis (1) y alineado a la derecha.

### Estructuras químicas

Las estructuras químicas deben dibujarse usando cualquier programa para el efecto como: ChemDraw, ISIS/Draw, ChemSketch u otros. Deben utilizarse los parámetros establecidos para publicaciones ACS.

### Caracterización de compuestos

Para todos los compuestos nuevos, debe proveerse evidencia que permita establecer su identidad y grado de pureza. La evidencia de la identidad de compuestos nuevos debe incluir espectros de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN, HRMS o datos de análisis elemental. Para compuestos sintetizados y que han sido previamente reportados en la literatura, debe citarse el método de preparación y los datos de la bibliografía usados para confirmar la identidad del compuesto y debe indicarse las técnicas empleadas para determinar su pureza.

### Figuras, esquemas y tablas

Todas las figuras, esquemas y tablas deben mencionarse en el texto en orden consecutivo y numeradas independientemente con números arábigos. Los títulos van en negrita y con mayúscula la primera letra, después del número va punto (**Tabla 1.**). Luego, sin negrita, la descripción de la figura, esquema o tabla. Las descripciones deben ir justificadas, por debajo de las figuras y esquemas y por encima de las tablas. Los títulos y descripciones deben ser auto-comprensibles, es decir, que expliquen adecuadamente lo que representan. Las figuras, esquemas y tablas se intercalarán en el texto después de su primera mención. Las figuras pueden ser gráficos realizados en Microsoft Office Word, Excel o similares o fotografías en blanco y negro o a color digitalizadas en alta resolución (300 dpi). Los esquemas son las secuencias de una reacción y se realizarán usando cualquier programa para dibujar estructuras químicas (ver Estructuras Químicas). Las tablas estarán en formato de Word o similar y no insertadas como imagen. Para las Tablas utilizar sólo bordes horizontales (superior, inferior y títulos). Diseñar las tablas, esquemas y figuras para que se ajusten al ancho de una (aprox. 8 cm) o dos (aprox. 17 cm) columnas de la revista y comprobar que las leyendas sean legibles.

### Bibliografía recomendada:

- Anderson, G. (2004). How to write a paper in scientific journal style and format. Recuperado el 15 de enero de 2010, de sitio Web de Bates College: <http://abacus.bates.edu/~ganderso/biology/resources/writing/HTWtoc.html>
- Coghill, A. M., & Garson, L. R. (Edits.). (2006). The ACS Style Guide: Effective Communication of Scientific Information (Third ed.). New York: Oxford University Press.
- Day, R. A. (2005). Cómo escribir y publicar trabajos científicos (Tercera ed., Vol. 598). (M. Sáenz, Trad.) Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud.