

EQUIPO EDITORIAL**Dirección****Dr. Jorge Silveira**

Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

CONSEJO EDITORIAL**Dra. Sofía Barrios**

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ingeniería,
Instituto de Ingeniería Química, Uruguay

MBA. Ing. Mariela De Giuda

Gerente de Tecnología y Gestión,
Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

Dr. Andrés Dieste

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ingeniería,
Instituto de Ingeniería Química, Uruguay

Dr. Gustavo Domínguez

Gerente de Latitud - Fundación LATU, Uruguay

Dra. Gabriela Eguren

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ciencias,
Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Uruguay

PhD. Federico Harte

Profesor adjunto de Food Science,
Penn State University, Estados Unidos

MSc. Rosa Márquez

Latitud - Fundación LATU, Uruguay

Dr. Eduardo Méndez

Universidad de la República (UdelaR), Facultad de Ciencias,
Instituto de Química Biológica, Uruguay

PhD. Laura Moya Silva

Universidad ORT Uruguay,
Facultad de Arquitectura, Uruguay

Dr. Daniel Vázquez

INIA La Estanzuela,
Plataforma de Agroalimentos, Uruguay

MSc. Daniel Volpe

Gerente de Análisis, Ensayo y Metrología,
Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

EDICIÓN TÉCNICA**Carla Rizzotto**

Edición técnica revista INNOTEC, Centro de Información Técnica,
Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

ADMINISTRACIÓN DE OJS Y GESTIÓN DE INFORMACIÓN**Lic. Lorena Fiori**

Centro de Información Técnica.
Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Uruguay

EDITORIA ASOCIADA

Q.F. Cristina Álvarez

Área Toxicología, Departamento Estrella Campos,
Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR)

IMPLEMENTACIÓN, HOSTING Y SOPORTE DE OJS

Luis Ramírez Caldas

Bibliolatino

DISEÑO Y ARMADO

Manosanta desarrollo editorial

<https://manosanta.com.uy/>

ACERCA DE INNOTEC

INNOTEC es una publicación arbitrada en modalidad doble ciego por un comité independiente de revisores externos a su entidad editora, el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU).

Editada en Montevideo (Uruguay), bajo la modalidad de publicación continua, contiene artículos originales inéditos y su periodicidad es semestral (enero-junio y julio-diciembre).

El objetivo de la revista es la divulgación y transferencia del conocimiento en las áreas de Forestales, Medio Ambiente, Metrología y Tecnología Alimentaria. INNOTEC está dirigida a académicos, investigadores y técnicos de la comunidad científica uruguaya e internacional.

INNOTEC se encuentra indexada en las siguientes bases de datos: DOAJ, EBSCOhost Academica Premier, Latindex, Redalyc y REDIB.



Somos miembros de:

Asociación Uruguaya de Revistas Académicas AURA



La colección completa se puede consultar en línea
en <http://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/index>

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional.

Los conceptos y opiniones vertidas en los artículos aquí publicados, así como el uso que otros puedan hacer de ellos, son de responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan el punto de vista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay.

INNOTEC - NÚMERO 25

Enero-junio de 2023

ISSN electrónico: 1688-6593

Título clave: INNOTEC (En línea)

Título clave abreviado: Innotec (En línea)

Centro de Información Técnica, LATU

Av. Italia 6201. Tel. (598) 2601 3724,

internos 1314 y 1350

innotec@latu.org.uy

<http://www.latu.org.uy>

<http://ojs.latu.org.uy>

En esta edición se incluyen los artículos “Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de cadmio en cocoa en polvo y preparada con leche”, “Diseño de un caracterizador de medios isotermos basado en ESP32 y DS18B20 en el entorno de programación de Arduino”, y “Metodologías analíticas para la determinación de polonio y uranio en sistemas agrícolas uruguayos”, basados en trabajos presentados en el 7mo. Congreso Uruguayo de Química Analítica, que se realizó del 26 al 28 de octubre de 2022, en Montevideo.

SUMARIO

Artículos

- e635 **Validación de un método analítico para la determinación de arsénico total en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros**
Validation of the analytical method for the determination of total arsenic in soil samples by atomic absorption spectrophotometry with a hydride generation
Saori Nakagoe, José Chamorro Olivares, Lilian García, Fátima Yubero, Magna Monteiro, Laura Mereles, Diana Diez-Pérez Núñez
- e634 **Metodologías analíticas para la determinación de polonio y uranio en sistemas agrícolas uruguayos**
Analytical methodologies for the determination of polonium and uranium in Uruguayan agricultural systems
Cristina Bañobre, Ana Lía Noguera, Rodolfo Reboulaz, Heinkel Bentos-Pereira, Laura Fornaro
- e633 **Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de cadmio en cocoa en polvo y preparada con leche. Aplicación en productos del mercado local**
Development and validation of an analytical method for the determination of cadmium in cocoa powder and cocoa powder prepared with milk. Application to products of the local market
Nataly Rodríguez, Javier Silva, Fiorella Iaquina, Mariela Pistón
- e632 **Efecto del periodo de almacenamiento de oleogel de aceite de girasol común sobre su comportamiento térmico y deterioro oxidativo**
Effect of storage period of common sunflower oil oleogels on their thermal behaviour and oxidative deterioration
Jimena Lázaro, Nadia Segura, Natalia Martínez, Bruno Alejandro Irigaray González
- e628 **Estudio cinético de la cristalización de fases grasas con agregado de fitoesteroides mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)**
Kinetic study of the crystallization of fat blends with added phytosterols by differential scanning calorimetry (DSC)
Camila de Mello, Marcelo Barreiro, Yamandú Marin, Leonardo Ortega, Romina Trinchin, Gaston Manta
- e631 **Diseño de un caracterizador de medios isotermos basado en ESP32 y DS18B20 en el entorno de programación de Arduino**
Design of an isothermal media characterizer based on ESP32 and DS18B20 on the Arduino programming environment
Daniel Lorenzo

Revisiones

- e626 **Métodos potenciométricos y conductimétricos de bajo costo: una revisión**
Low-cost potentiometric and conductometric methods: a review
Javier Ernesto Vilasó Cadre, Javier Gonzalo González Fontanet, Juan Jesús Piña, María de los Ángeles Arada Pérez

POLÍTICA EDITORIAL DEL LATU

La actividad editorial del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) tiene como finalidad la difusión en la comunidad académica y profesional uruguaya de las investigaciones que apoyen el desarrollo de tecnologías y modelos de gestión que aporten valor a los procesos de innovación.

Misión

Nuestra misión es la publicación de trabajos originales, con un enfoque de rigor y calidad teórica y metodológica, que contribuyan a la producción sistemática de nuevo conocimiento científico tecnológico y al fortalecimiento de la presencia uruguaya en redes regionales e internacionales.

Es de interés del LATU consolidar el campo de la documentación científica a nivel local mediante la creación e innovación de productos editoriales.

Los objetivos específicos son:

- Promover la publicación de investigaciones de excelencia en las áreas de conocimiento estratégicas del LATU, alineadas a su misión como impulsor del desarrollo sustentable del país y su inserción internacional a través de la innovación.
- Posicionar a los autores, técnicos y colaboradores en las plataformas electrónicas internacionales, estimulando su participación en el marco de un proceso de edición arbitrado por especialistas.
- Contribuir al desarrollo y transferencia de tecnologías de innovación orientadas a la mejora de procesos industriales, empresariales y sociales.
- Aportar y divulgar conocimiento científico de calidad a los técnicos, académicos, investigadores y a la sociedad en su conjunto, tanto para la efectiva transmisión de las experiencias como para el crecimiento profesional.
- Facilitar el intercambio y la creación de nuevo conocimiento entre instituciones.

Invitamos a los autores interesados en publicar en INNOTEC a ingresar a nuestra página en la plataforma Open Journal Systems (<http://ojs.latu.org.uy>) o a contactarse con el Centro de Información Técnica del LATU a través del correo electrónico innotec@latu.org.uy para recibir instrucciones para el envío de artículos a nuestro proyecto editorial.

CÓDIGO ÉTICO DE INNOTEC

La revista INNOTEC adhiere a los principios publicados por COPE (Committee on Publication Ethics) en <https://publicationethics.org/resources/code-conduct> y promueve así la conducta ética de todos los participantes del proceso editorial: autores, revisores y equipo editorial.

Los autores se comprometen a:

- Enviar artículos originales, de su autoría y que no infrinjan derechos de propiedad intelectual y/o derecho de imagen y/o de datos personales de terceros, e inéditos, que no hayan sido presentados simultáneamente a otra publicación.
- Asegurar la veracidad de los datos presentados en su investigación.
- Asegurar la integridad de su investigación, evitando la publicación de resultados parciales.
- Consignar a los autores en base al nivel de responsabilidad intelectual que han tenido en la elaboración del artículo, en orden decreciente, sin que medien otros criterios jerárquicos.
- Designar un autor de correspondencia, que asume la responsabilidad de difundir entre todos los autores los avances y resultados del proceso editorial.
- Identificar debidamente las fuentes originales de los trabajos que cita en su artículo.
- Revisar los antecedentes de otras investigaciones del ámbito teórico inmediato de su trabajo para dar cuenta de la información más actualizada y relevante.
- Reconocer los apoyos académicos, financieros y logísticos que hicieron posible la investigación y/o la elaboración del artículo.

Los revisores se comprometen a:

- Declarar que no existe conflictos de interés para la evaluación de un artículo.
- Realizar su evaluación respondiendo a criterios objetivos y respetando su independencia académica.
- Asegurar la confidencialidad tanto del contenido del artículo como del resultado de su evaluación.
- Preservar el anonimato en todo el proceso, apelando al editor como intermediario de cualquier comunicación con los autores.
- Respetar los tiempos acordados con los editores de la revista para la realización de su trabajo.

El equipo editorial se compromete a:

- Asegurar la honestidad y transparencia de todo el proceso editorial, desde la presentación del artículo, evaluación por pares y publicación en las condiciones pautadas.
- Seleccionar los revisores idóneos para cada trabajo.
- Garantizar la independencia de criterio de los revisores en el ejercicio de su rol.
- Asegurar el anonimato de todas las partes involucradas en el proceso de arbitraje por pares.
- Mediar en posibles conflictos de interés con el apoyo del consejo editorial.
- Velar por el cumplimiento de los plazos acordados en cada fase del proceso.
- Difundir los números publicados en las redes académicas y bases bibliográficas de su entorno local y regional.
- Controlar el cumplimiento de los requisitos por parte de los autores y la actuación acorde de los árbitros.
- Identificar casos de incumplimiento de los compromisos éticos enumerados en este código y penalizar a sus responsables con sanciones que van de la suspensión del infractor en su rol en el proceso editorial a la difusión de una rectificación pública y la remoción del artículo.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA PUBLICAR EN INNOTEC

Ámbito de los artículos y proceso de revisión

INNOTEC publica artículos originales inéditos en español e inglés. Los campos temáticos que aborda responden a las áreas estratégicas de investigación del LATU: Forestales, Medio Ambiente, Metrología y Tecnología Alimentaria.

Esta publicación semestral arbitrada por un comité de revisores externos recopila las investigaciones realizadas en el marco de distintos proyectos y procesos de transferencia de conocimiento para el desarrollo de sistemas innovadores, productivos y de investigación.

Las publicaciones editadas por el Centro de Información Técnica son gestionadas en Open Journal Systems, software para la gestión del proceso editorial, desarrollado, soportado y libremente distribuido por el Public Knowledge Project bajo licencia pública general GNU.

INNOTEC no cobra cargos de ningún tipo por el envío de originales ni por su procesamiento.

El tiempo estimado para los procesos de evaluación y publicación es de 18 semanas.

El proceso de envío de artículos para la revista incluye los siguientes pasos:

- (a) Ingreso por parte del autor del artículo completo en el sistema utilizado por el Centro de Información Técnica para la edición de sus publicaciones en la web: <http://ojs.latu.org.uy>.
- (b) Por medio del sistema se notifica al autor la recepción del artículo y su eventual publicación. En este paso se considera la originalidad del trabajo y se priorizan aquellos de áreas estratégicas y temáticas nacionales.
- (c) Una vez aprobado por el Consejo editorial de la revista, el artículo es enviado a proceso de arbitraje.
- (d) Se asignan los árbitros, independientes y externos, quienes evaluarán el desarrollo específico del manuscrito, tanto en sus aspectos temáticos como metodológicos.
- (e) Devuelto el informe de arbitraje, el editor se comunica con el/los autor/es en respuesta de los comentarios que hace el evaluador del artículo. En caso de ser necesario habrá otras rondas de evaluación.
- (f) Se edita el artículo aplicando en el texto las normas del Manual de estilo del LATU y se envía la última versión diseñada al/los autor/es para su aprobación final.

Para poder incluir artículos completos, se debe considerar que estos no tengan derechos de autor otorgados a terceros a la fecha de envío y que no se hayan presentado a otras publicaciones simultáneamente. Los artículos son publicados en OJS y se distribuyen bajo la modalidad de acceso abierto. Los derechos autorales son protegidos por Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial 4.0 Unported. Al ingresar al sistema <https://ojs.latu.org.uy/inicio/> los autores deberán aceptar la nota de copyright en la que se asumen los términos de responsabilidad, se reconoce la licencia CC y se establece el compromiso a realizar la cita completa de la edición institucional de esta primera publicación del artículo en sus siguientes publicaciones –completas o parciales– efectuadas en cualquier otro medio de divulgación, impreso o electrónico.

Los autores están autorizados a realizar una publicación simultánea en sistemas de autoarchivo o repositorios institucionales.

Los conceptos y opiniones vertidos en los artículos publicados y el uso que otros puedan hacer de ellos son de responsabilidad de sus autores. Esta responsabilidad se asume con la sola publicación del artículo enviado. El LATU se reserva el derecho de publicar aquellos artículos que responden a las áreas estratégicas fijadas por la organización para cada edición y de realizar modificaciones que considere favorables a la óptima presentación de los contenidos en la revista.

PROCESO DE REVISIÓN

El arbitraje de esta revista se realiza por pares y bajo modalidad doble ciego, por lo que autores y árbitros permanecen anónimos a lo largo de todo el proceso. El arbitraje es el proceso de evaluación crítica especializada de un manuscrito por parte de pares idóneos que operan en el área temática que dicho texto desarrolla. Cada artículo es revisado por un mínimo de dos árbitros. Los comentarios y recomendaciones de los evaluadores son un insumo determinante para la aceptación o rechazo de un manuscrito en el proceso editorial de publicaciones técnicas del LATU; no obstante, el equipo editor es responsable de la decisión final de publicación o rechazo de un artículo y de la notificación al autor de contacto.

El comité técnico de arbitraje de INNOTEC es un cuerpo de especialistas técnicos seleccionados por su grado de especialización, prestigio académico y experiencia profesional y editorial. Nuestros árbitros cumplen la vital función de evaluar el desarrollo específico del contenido de las publicaciones, tanto en sus aspectos temáticos como metodológicos, guiados por un formulario de revisión que una vez completo es presentado a los autores del artículo.

Los autores cuentan con un plazo de siete días para la devolución del artículo corregido según las recomendaciones de los árbitros.

NORMAS DE PRESENTACIÓN Y ENVÍO DE LOS TEXTOS

Para que el artículo sea considerado para su publicación, debe cumplir con las siguientes normas de presentación. Ante cualquier consulta diríjase al correo electrónico de referencia innotec@latu.org.uy.

Para el correcto envío de su artículo, siga las instrucciones que se indican en OJS. Recuerde completar todos los datos del artículo, entre ellos: título, autores, filiación, resumen y palabras clave.

Nota: Los nombres completos de los autores deberán ser incluidos en los metadatos en la forma en la que se solicitan en OJS, pero omitidos en el documento Word del artículo, primera medida para asegurar la integridad de la revisión ciega.

DEFINICIONES:

Autor. Persona o colectividad responsable del contenido intelectual del documento.

Título. Refleja el contenido del texto con precisión, es neutro e informativo.

Resumen. Provee información específica. Sintetiza, anuncia y jerarquiza contenidos.

Introducción. Incluye antecedentes concretos y datos del proceso, enumeración de objetivos e importancia del tema.

Materiales y métodos. Relato de los métodos y procedimientos que permitieron obtener los resultados presentados. Obtención del material, condiciones y metodología. Análisis estadísticos, programas.

Resultados. Presentación y expresión de los hallazgos en tablas, gráficos y/o figuras.

Discusión y conclusiones. Síntesis de los avances y las contribuciones más relevantes de la investigación. En esta sección se discuten los resultados en el orden en el que fueron presentados. Asimismo, se define y diferencia claramente el aporte del trabajo con respecto al conocimiento previo. Si procede, se mencionan posibles líneas futuras de investigación y de aplicación de los resultados.

Agradecimientos. Breve agradecimiento a quienes colaboraron en la producción del artículo y/o que permitieron el desarrollo de la investigación.

Referencias. Referencias al material bibliográfico consultado para la elaboración del artículo.

LOS ARTÍCULOS DEBEN PRESENTAR:

Título del artículo en mayúsculas y minúsculas, en inglés, español y portugués.

Nombre completo de todos los autores (solo en metadatos de OJS), ingresados en orden decreciente según el grado de responsabilidad en el desarrollo del artículo, sin que medien jerarquías funcionales. Indicar la sección o departamento al que pertenecen y empresa de la que forman parte. Se debe señalar además el autor de contacto para las comunicaciones electrónicas subsiguientes. Los autores deberán contar con un número de registro en ORCID, que se consigna en OJS al ingresar los autores en metadatos. Para más información sobre ORCID y su relevancia para los autores puede consultar esta página: <https://orcid.org/>.

Resumen en inglés, español y portugués, de 200 palabras máximo en su versión castellana.

Palabras clave, en inglés, español y portugués, de dos a cinco, las cuales no deben repetir los términos ya utilizados en el título.

Texto de tres (3) a veinticinco (25) páginas de desarrollo (introducción, métodos, descripción de equipos, descripción de programas, desarrollo de teorías, resultados y discusión, conclusiones, referencias, tablas, figuras e imágenes, (ver sección Estilo y formato de citas y referencias en este documento). El texto deberá ser presentado en fuente Arial 11, a espacio doble y con numeración de líneas, con títulos en mayúsculas y minúsculas y en formato.doc, de cualquier versión de Microsoft Word. Evitar las notas al pie en el desarrollo del artículo. Las denominaciones en latín deben ir en cursiva.

Secciones. Los títulos de sección (que señalan Introducción, Materiales y Métodos, Discusión, etc.) deben ser escritos en mayúscula y minúsculas, estilo de fuente bold y centrados en el texto. Los subtítulos serán justificados a la izquierda, escritos en mayúscula y minúsculas, también en bold. Tanto la primera letra del título y la primera letra de los nombres propios deben ser escritas en mayúscula. Se debe dejar un espacio entre líneas antes y después de cada subtítulo.

Fórmulas, figuras, tablas e imágenes. Las figuras deben numerarse correlativamente en orden de aparición en el texto, y deben incluir un breve título explicativo en el margen inferior a las mismas. Si es necesario incluir fotos o imágenes, éstas se deben designar como figuras. Las fotos deben ser nítidas y enviadas en formato jpg (mínimo 300 px aseguran una buena calidad de impresión). Las tablas deben ser numeradas correlativamente

y en forma independiente de las figuras, y cada entrada debe ocupar su propia celda. Se deben numerar según el orden de aparición en el texto, incluyendo un título explicativo en la parte superior de la tabla. Evitar utilizar líneas verticales y en la medida de lo posible no incluir más de dos tablas por carilla, no dividir tablas en más de un folio o en forma perpendicular al texto. El texto presenta las tablas, no desarrolla su contenido, éstas deben explicarse en sí mismas. Además de estar insertadas en el artículo, cada figura y tabla debe ser remitida en su propio archivo como fichero complementario en OJS, con la referencia numérica correspondiente. Los números y símbolos empleados no deben ser menores al tamaño usado en el resto del texto (Arial 11).

ESTILO DE CITAS Y REFERENCIAS SEGÚN EL SISTEMA HARVARD

Si el texto está en inglés utilizar «and» en lugar de «y», «In:» en lugar de «En:», «[Accessed: day month year]» en lugar de «[Consulta: día mes año]» y «Available at:» en lugar de «Disponible en:»

Ejemplos usuales de citas

Registro de citas textuales

(López, 1985, p. 93)

(González y Rubio, 1990, pp. 110-111)

(Johnson et al., 1970, pp. 25-26)

Para más de una obra del mismo autor y año en citas textuales

(Alonso, 1988a, p. 126-128)

(Alonso, 1988b, p. 84)

Registro de cita ideológica o paráfrasis

Amor (2000) analiza los motivos para comenzar un negocio en línea...

Si el motivo para comenzar un negocio en línea es sólo para imitar a la competencia, se puede considerar que dicha razón no es la estrategia adecuada (Amor, 2000).

(Pérez y González, 2005)

(Rodríguez et al., 2011)

(Pérez, 2014a)

(Pérez, 2014b)

Ejemplos usuales de referencias monografías (libros)

Apellidos(s), Nombre o Inicial, año de edición. *Título del libro en cursiva*. N° de edición. Lugar de edición: editorial. (Serie; N°). ISBN (Este último si se posee) DOI (siempre que el libro lo posea)

Bobbio, Norberto, 1958. *Autobiografía*. Madrid: Taurus. ISBN: 84-306-0267-4.

Newman, R., Walter, C., 2008. *Barley for food and health: science, technology, and products*. Nueva York: John Wiley & Sons.

Revistas como un todo

Título de la publicación en cursiva. Responsabilidad. Edición. Identificación del fascículo. Lugar de edición: editorial, fecha del primer volumen-fecha del último volumen. ISSN.

Boletín Económico. Banco de España. 1998, (1). Madrid: Banco de España, Servicio de Publicaciones, 1979- . ISSN: 0210-3737.

Artículos de revistas

Apellido(s), Nombre o Inicial, año. Título del artículo. En: *Título de la publicación seriada*, Volumen (Número), páginas. DOI (siempre que el artículo lo posea).

Llosa, J., Smith, M., Moore, A. y Cave, K., 1998. Modulo scheduling with reduced register pressure. En: *IEEE Transactions on computers*, 47(6), pp. 625-638. DOI: 10.1109/12.689643

Álvarez, Begoña, Ballina, F. Javier de la y Vázquez, Rodolfo, 2000. La reacción del consumidor ante las promociones. En: *MK Marketing + Ventas*, (143), pp. 33-37.

Normas

Entidad responsable de la norma (País de la entidad), año de publicación. No. o código de la norma: *Título*. Lugar de publicación: editorial abreviada.

Asociación Española de Normalización y Certificación (España), 2010. UNE 166000 EX, UNE 166001 EX, UNE 166002 EX: *Gestión de la I+D+I*. Madrid: AENOR.

Instituto Uruguayo de Normas Técnicas (Uruguay), 2000. UNIT-ISO 9001: *Sistemas de gestión de calidad - requisitos*. Montevideo: UNIT.

Textos electrónicos, bases de datos y programas informáticos

Responsabilidad principal, año. *Título* [tipo de soporte]. Edición. Lugar de publicación: editor, [fecha de consulta]. Descripción física. (Colección). Notas. Disponibilidad y acceso. Número normalizado. DOI (siempre que el material lo posea)

Rapp, A. O., Augusta, U. y Peek, R. D., 2001. *Facts and ideas of testing wood durability above ground* [En línea]. Hamburgo: BFH. [Consulta: 25 de setiembre de 2008]. Disponible en: <http://www.bfah.de/inst4/43/pdf/3doublay.pdf>

Patentes

Mención de responsabilidad principal, Año de publicación del documento. *Denominación del elemento patentado*. Identificador del documento (país u oficina que lo registra). Clase internacional de documento de patente. Número.

Green, Daniel R., 2008. *Cereal flake with topical pieces*. United State Patent. 0101. D572,427.

Crosa, M. J., Harispe, R., Repiso, L., Silvera, C. y Wurtz, P, 2009. *Sistema que acelera el ingreso de solutos en alimentos porosos*. Uruguay. Dirección Nacional de la Propiedad Industrial. 31620.

Validación de un método analítico para la determinación de arsénico total en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros

Validation of the analytical method for the determination of total arsenic in soil samples by atomic absorption spectrophotometry with a hydride generation

Validação do método analítico para determinação de arsênio total em amostras de solo por espectrofotometria de absorção atômica com geração de hidretos

 SAORI NAKAGOE (1)

 JOSÉ CHAMORRO OLIVARES (2)

 LILIAN GARCÍA (1)

 FÁTIMA YUBERO (1)

 MAGNA MONTEIRO (3)

 LAURA MERELES (1)

 DIANA DIEZ-PÉREZ-NÚÑEZ (1)

(1) Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

(2) Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago, Chile.

(3) Facultad Politécnica, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

RECIBIDO: 4/5/2023 → APROBADO: 5/6/2023 ✉ ddiezperez@qui.una.py

RESUMEN

En Paraguay, la investigación sobre la contaminación por arsénico (As) es aún incipiente. El objetivo del presente estudio fue validar un método analítico para la determinación de arsénico total en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros (EAA-GH). Para la validación se colectó una muestra blanco de un área de nula actividad antropogénica y, para su aplicación, diez muestras de la cuenca del río Tebicuary. El sistema de muestreo fue combinado por cuadrícula. Las muestras fueron secadas, tamizadas, homogeneizadas y digeridas mediante digestión asistida por microondas. La determinación se realizó por EAA-GH. Se evaluaron parámetros de desempeño analítico como selectividad, linealidad, sensibilidad, exactitud, LOD, LOQ,

robustez, incertidumbre y aplicabilidad. El método aplicado fue selectivo para As total y cumplió con los criterios de aceptación; linealidad 0,2 a 12 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r > 0,99$), sensibilidad ($m = 0,0395 \pm 0,005$), exactitud y precisión ($\%R > 95 \%$), repetibilidad ($\text{CV} = 4,26 \%$), reproducibilidad ($\text{CV} = 4,52 \%$), LOD ($0,11 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y LOQ ($0,21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). El método fue robusto ante variaciones de pH y tamaño de las partículas. De diez muestras analizadas, una tuvo concentración de As total superior a $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Palabras clave: digestión ácida, EAA-GH, Paraguay, contaminación.

ABSTRACT

In Paraguay, research on arsenic contamination is still incipient. This study aimed to validate the analytical method for the determination of total arsenic in soil samples by atomic absorption spectrophotometry with a hydride generation (HG-AAS). For its validation, a blank sample was collected from an area of null anthropogenic activity and, for its application, ten samples from the Tebicuary River basin. The samples were dried, sieved, homogenized, and digested by a microwave oven. The quantification was performed by HG-AAS. Analytical performance parameters such as selectivity, linearity, sensitivity, accuracy, LOD, LOQ, robustness, uncertainty, and applicability were evaluated. The method was selective for As and met the acceptance criteria. Linearity from 0.2 to $12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r > 0.99$), sensitivity ($m = 0.0395 \pm 0.005$), accuracy ($\%R > 95 \%$), repeatability ($\text{CV} = 4.26 \%$), reproducibility ($\text{CV} = 4.52 \%$), LOD ($0.11 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and LOQ ($0.21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). The method was robust to variations in pH and particle size. From the ten samples analyzed, one had a total As concentration higher than $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Keywords: acid digestion, HG-AAS, Paraguay, contamination.

RESUMO

No Paraguai, as pesquisas sobre a contaminação arsênico (As) ainda são incipientes. O objetivo deste estudo foi validar um método analítico para a determinação de arsênio total em amostras de solo por espectrofotometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS). Uma amostra-branco foi tomada de uma área de atividade antrópica nula para a validação do método e, outras dez amostras da bacia do rio Tebicuary, para sua aplicação. A amostragem foi combinada por grade. As amostras foram secas, peneiradas, homogeneizadas e digeridas em forno de micro-ondas. A quantificação foi realizada por HG-AAS. Além disso, os parâmetros de desempenho analítico como seletividade, linearidade, sensibilidade, precisão, LOD, LOQ, robustez, incerteza e aplicabilidade, foram avaliados. O método foi seletivo para As e atendeu aos critérios de aceitação. Linearidade de 0,2 a $12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($r > 0,99$), sensibilidade ($m = 0,0395 \pm 0,005$), exatidão ($R > 95 \%$), repetibilidade ($\text{CV} = 4,26 \%$), reprodutibilidade ($\text{CV} = 4,52 \%$), LOD ($0,11 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) e LOQ ($0,21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). O método foi robusto a variações de pH e tamanho de partícula. Das dez amostras analisadas, uma apresentou concentração do total As superior a $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Palavras-chave: digestão ácida, HG-AAS, Paraguai, contaminação.

INTRODUCCIÓN

El arsénico (As) es un elemento de gran distribución en la corteza terrestre; se encuentra naturalmente en el suelo y otros compartimentos ambientales como producto de la erosión de las rocas, la precipitación y la actividad volcánica (Reid et al., 2020; El Himri et al., 2022).

A nivel mundial, al menos 120 países se ven afectados por la presencia de As en las aguas subterráneas, mientras que en América Latina el problema afecta a países como Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Perú y Uruguay (Litter et al., 2019). La distribución espacial de arsénico en América del Sur presenta ciertos vacíos que se verifican en la región que abarca Paraguay.

En el suelo, el arsénico se encuentra generalmente entre 5 y 10 mg·kg⁻¹ como componente principal de más de 200 minerales (As nativo, arseniuros, sulfuros, óxidos, arseniatos y arsenitos). Las mayores concentraciones se hallan en sulfuros como piritita, calcopiritita, galena y marcasita (Litter et al., 2009). Las altas concentraciones en los suelos representan un riesgo importante para la calidad del agua, superficial o subterránea, el desarrollo animal y vegetal, la seguridad alimentaria y, por ende, la calidad de la salud humana (Gerdelidani et al., 2021). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), el nivel máximo permitido de arsénico total en suelo es de 20 mg·kg⁻¹ (Heikens, 2006; ATSDR, 2009).

En Paraguay, se han encontrado concentraciones elevadas de As en cauces hídricos de los departamentos de Canindeyú y Caazapá (Fariña et al., 2019); además se observaron niveles variables de As total en muestras de arroz (*Oryza sativa*) provenientes de cuencas productoras en la zona de Caapucú, Arazapé y Villa Oliva (Mereles et al., 2017).

Un método analítico confiable que permita la cuantificación del arsénico en muestras de suelo requiere ser validado para la confirmación de las aptitudes consistentes con las aplicaciones requeridas (Eurolab España, 2016). Además, es fundamental contar con un método que sea rápido, eficiente, reproducible y con reducción del uso de reactivos y muestras. La evaluación de parámetros de desempeño como linealidad, reproducibilidad, repetibilidad, límites de detección y cuantificación es importante para demostrar la correcta aplicación del método y los intervalos de variación posibles, que no afecten su desempeño ni la confiabilidad de los resultados (Duffau et al., 2010). El objetivo del presente trabajo fue validar el método analítico para la determinación de arsénico total en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y preparación de muestras

Para el estudio se colectaron, en 2021, muestras de suelo por el método de muestreo combinado por cuadrícula. Se extrajeron 500 g de cuatro excavaciones de una

profundidad de 0 – 25 cm y se mezclaron las submuestras para obtener una muestra de aproximadamente 2 kg de suelo en bolsas de polietileno selladas (Kebonye et al., 2021).

Para los ensayos de validación del método se utilizó una muestra blanco colectada en las proximidades del lago Ypoá, al norte de la cuenca del río Tebicuary; considerada un área de nula actividad antropogénica, donde no se ha encontrado contaminación de las aguas (Fretes López y Díaz Cubilla, 2014). Mientras tanto, para la aplicación del método con muestras analíticas se colectaron muestras de diez puntos seleccionados dentro de la cuenca del río Tebicuary (Figura 1).

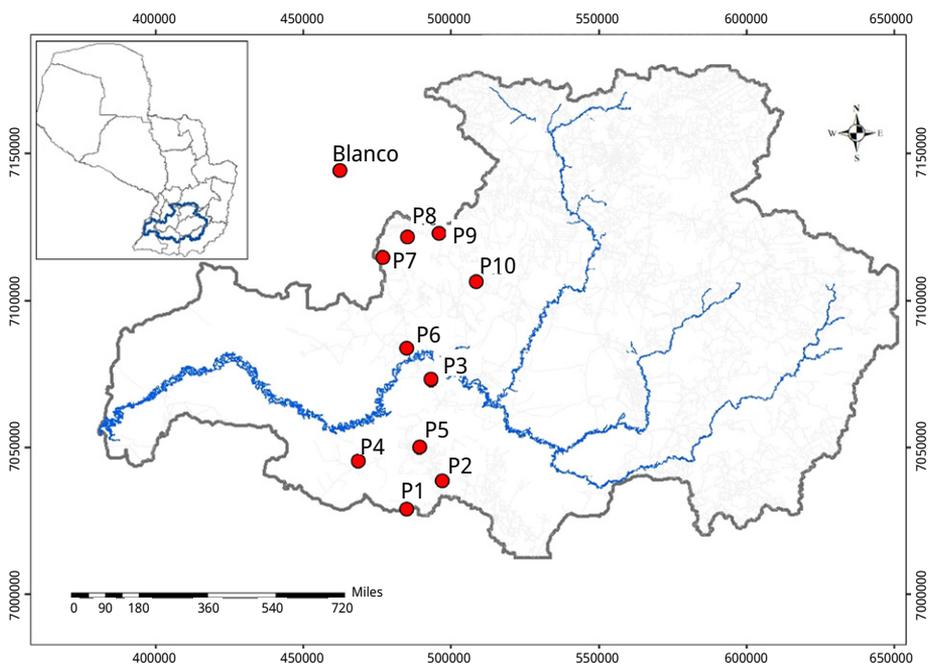


FIGURA 1. Puntos de muestreo de suelos colectados para la validación del método analítico.

Las muestras se secaron a temperatura ambiente ($23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) hasta una variación menor al 5 % de su peso, se tamizaron a través de un tamiz de 1 mm (los terrones de suelo se disgregaron en mortero), y se almacenaron en bolsas de polietileno selladas (Zagal y Sadzawka, 2007). La reducción de la masa se realizó por cuarteo, procediéndose a pulverizar la muestra mediante el uso de un mortero de ágata, y se tamizó con tamiz de $106 \text{ }\mu\text{m}$ (Litter et al., 2009).

Materiales, reactivos y equipos

La pulverización de las muestras se logró con tamices calibrados (ASTM E11, Gilson). Para pesar las muestras se utilizó una balanza analítica (Kern ALJ, 0,1 mg) y posteriormente se realizó la digestión ácida con la adición de ácido nítrico concentrado (Cicarelli, Argentina), ácido clorhídrico concentrado (Cicarelli, Argentina), ácido fluorhídrico concentrado (Biopack, Argentina) y ácido bórico (Merck, Alemania) mediante microondas (CEM, MARS2,

Estados Unidos) con ciclos de digestión según lo descrito en el artículo sobre optimización del método, previamente analizado por el grupo de investigación (Diez-Pérez-Núñez et al., 2021).

Luego, las muestras digeridas fueron calentadas con plancha calefactora (Cole-Parmer, Estados Unidos) hasta reducir su volumen, con posterior agregado de ioduro de potasio (TECHNO PHARMCHEM, India) y ácido ascórbico (CICARELLI, Argentina).

La cuantificación de arsénico total se llevó a cabo por el método de espectrofotometría de absorción atómica acoplada a generación de hidruros (Shimadzu AA-6300, HVG-1, Estados Unidos), previamente calificado por el representante de la marca (Certificado N° 1521, 05/05/2021). Los parámetros de operación del equipo fueron previamente ajustados (Diez-Pérez-Núñez et al., 2021). Se prepararon curvas de calibración de concentraciones entre 0,2 - 12 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a partir de la solución patrón de As (1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, trazable al NIST, SUPELCO; Alemania).

Para la generación de hidruros volátiles se preparó una solución al 0,4 % con borohidruro de sodio (MP BIOMEDICALS, Estados Unidos) y 0,5 % de hidróxido de sodio (Cicarelli, Argentina). Todas las soluciones utilizadas fueron preparadas con agua ultrapura (resistividad 18 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$).

Además, se utilizó el pHmetro (Oakton, Estados Unidos) y el agitador magnético (Cole-Parmer, Estados Unidos) para la medición del pH en muestras de suelo para el ensayo de robustez. La modificación del pH se realizó con la adición de carbonato de calcio sólido (Cicarelli, Argentina).

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el software IBM SPSS Statistics (Estados Unidos) (IBM Corp., 2015). Se aplicaron estadísticos descriptivos, pruebas de Pearson, Kruskal-Wallis, U-Mann Whitney y ANOVA con un nivel de confianza de 95 %. Para la elaboración del mapa del área de estudio se utilizó el software ArcGIS 10.8.

Procesamiento de las muestras

El tratamiento de la muestra consistió en pesar 0,2000 g de suelo pulverizado ($< 106 \mu\text{m}$) en los vasos del horno digestor y posteriormente adicionar 3,5 mL de ácido nítrico (65 %), 0,5 mL de ácido clorhídrico (36,5-38 %) y 1 mL de ácido fluorhídrico (40 %). El ácido fluorhídrico fue agregado para la disolución de silicatos presentes en la muestra, que requiere aplicar un segundo ciclo de digestión para su neutralización con 0,6 g de ácido bórico, cantidad que fue establecida según ensayos preliminares de optimización del método (Vieira et al., 2005; Diez-Pérez-Núñez et al., 2021).

Una vez finalizada la digestión se redujo el volumen por calentamiento (hasta 2 mL aproximadamente) para eliminar el exceso del oxidante. El extracto concentrado se llevó a volumen de 100 mL en un matraz aforado. Posteriormente se tomó una alícuota de 5 mL y se transfirió a un matraz aforado de 50 mL, al que se le agregaron 10 mL de ácido clorhídrico 4,5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0,5 g de ácido ascórbico y 0,5 g de ioduro de potasio para obtener la reducción del As (V) a As (III), para lo cual se dejó reposar durante al menos 1 hora.

Se prepararon blancos de reactivos, consistentes en una solución cuyo contenido estaba compuesto por todos los reactivos utilizados en el procesamiento de la muestra, con los mismos volúmenes y concentraciones. Los blancos de reactivos atravesaron el proceso analítico en las mismas condiciones que las muestras y se analizaron para determinar la contribución a la señal de la medida (Eurolab España, 2016).

Validación del método analítico

El desempeño del método se evaluó mediante la prueba de selectividad, que consistió en aplicar la prueba del efecto matriz (Senila et al., 2020, Miller y Miller, 2002). Se compararon las pendientes de tres curvas de calibración elaboradas a partir de estándares puros y tres curvas de calibración de los estándares en las muestras de suelo. Las curvas fueron obtenidas graficándose las concentraciones de arsénico de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 y 8,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ con sus correspondientes absorbancias. Se graficó la absorbancia obtenida (eje y) en función de la concentración de As (eje x) y se calculó la ecuación de la recta. La significancia estadística se evaluó mediante la prueba U de Mann-Whitney con un nivel de confianza de 95 %.

Para evaluar la linealidad se prepararon cuatro curvas de calibración de concentraciones 0,2; 0,6; 1,0; 4,0; 8,0; 10 y 12 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a partir de la solución patrón de As y se calculó el coeficiente de correlación (r). El criterio de aceptación para determinar la linealidad en análisis de trazas tiene un valor igual o mayor que 0,99 (Duffau et al., 2010), así como la confirmación por inspección visual del gráfico. Además, se calculó la pendiente de las cuatro curvas, su media y la desviación estándar para estimar la sensibilidad.

La prueba de recuperación se aplicó para evaluar la veracidad ya que al momento del estudio no se disponía de material de referencia certificado de suelo, por lo tanto, se procedió con la fortificación de las muestras. Se prepararon seis muestras de suelo sin fortificar y seis muestras de suelo fortificadas en tres niveles de concentración correspondientes a nivel bajo, medio y alto (Duffau et al., 2010). Las muestras fortificadas fueron preparadas mediante el agregado del patrón de As antes del proceso de digestión, de tal manera de obtener concentraciones de 3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Con los resultados, se calculó el porcentaje de recuperación mediante la Ecuación 1.

$$\%R = \left(\frac{C_e - C_o}{C_a} \right) \times 100 \quad (1)$$

Donde C_e corresponde a la concentración del analito de la muestra enriquecida, C_o a la concentración del analito medida en la muestra sin adicionar (muestra blanco) y C_a a la concentración del analito para la muestra enriquecida.

Para determinar el criterio de aceptación se calcularon los límites de control (LC) con el promedio y la desviación estándar (DS) de las recuperaciones obtenidas para distintos niveles y días ($\text{LC} \pm 2\text{DS}$) (Miller y Miller, 2002).

Con el fin de evaluar la precisión se realizó la prueba de repetibilidad (RSd) y reproducibilidad (RSD). Para la repetibilidad se analizaron ocho réplicas independientes de muestras blanco, manteniendo en todo momento las condiciones de repetibilidad durante el proceso (mismo operador, mismo equipo, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo), mientras que para el ensayo de reproducibilidad se analizaron ocho réplicas independientes con las mismas características descritas para el ensayo de repetibilidad. Sin embargo, fueron procesadas por un analista distinto y en un periodo de tiempo prolongado (Eurolab España, 2016). Posteriormente, se calculó la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación (CV %) para ambos ensayos y se evaluó mediante el coeficiente de variación de Horwitz (Duffau et al., 2010). El coeficiente

de variación de Horwitz (CV_h , %) fue calculado para una concentración de $6,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (concentración estimada para la muestra blanco) mediante la Ecuación 2.

$$CV_h \% = 2^{1 - 0.5\log(C)} \quad (2)$$

Donde C es el valor nominal del analito expresado en potencia de 10.

Como criterio de aceptación para la repetibilidad se considera que el CV % obtenido debe ser menor que $CV_h \% / 2$ y para la reproducibilidad intralaboratorio debe ser menor que $2CV_h \% / 3$ (Duffau et al., 2010). Además, con las muestras blanco leídas en diferentes días se evaluó la precisión entre grupos, la precisión dentro de los grupos y la precisión intermedia del método mediante la prueba de ANOVA.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se calcularon a partir de ocho réplicas de muestras fortificadas de concentración de $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con los resultados obtenidos se determinó la desviación estándar (DS) utilizada para ambos cálculos. El LOD se calculó mediante el enfoque "3S", donde $\text{LOD} = 3\text{DS}$, y el LOQ se calculó mediante la fórmula $\text{LOQ} = 10\text{DS}$ (Eurolab España, 2016). Cuando el límite máximo permisible (LMP) es $\geq 0,1 \text{ ppm}$, el criterio de aceptación para el LOD es $\leq 1/10 \text{ LMP}$ y para el LOQ, $\leq 1/5 \text{ LMP}$ (Duffau et al., 2010). Cabe mencionar que el LMP considerado fue $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, establecido por la FAO (El Himri et al., 2022).

Para el ensayo de robustez se aplicó la prueba de Youden y Steiner (Duffau et al., 2010). Se prepararon ocho muestras a fin de evaluar el efecto de la variable de pH y tamaño de partícula de suelo. Como criterio de aceptación se consideró que la diferencia entre el valor alto y el valor bajo de la variable evaluada sea superior a $\sqrt{2}$ de la desviación estándar (Duffau et al., 2010). Los ensayos correspondientes a las muestras de 1 al 4 se procesaron en muestras control a pH 4,5 mientras que las muestras del 5 al 8, a pH 7.

El pH fue determinado en suspensión de suelo seco a temperatura ambiente (fracción $< 1\text{mm}$) con agua destilada en proporción muestra:agua de 1:2,5; se agitó mediante agitador magnético durante 5 minutos y se dejó reposar al menos 2 horas. Posteriormente se agitó la suspensión y se realizó la lectura del pH (Zagal y Sadzawka, 2007). En cuanto al tamaño de partícula de suelo, para los ensayos 1, 2, 5 y 6 se utilizaron muestras pulverizadas y tamizadas con tamiz de $106 \mu\text{m}$ (Litter et al., 2009) y para los ensayos 3, 4, 7 y 8 se utilizaron muestras molidas y tamizadas con tamiz de 1 mm.

En el cálculo de incertidumbre se identificaron las fuentes que influyen en el método analítico, para ello se graficó el diagrama de Ishikawa (Martínez et al., 2018, Ishikawa, 2002). Se calcularon la incertidumbre estándar, incertidumbre estándar relativa e incertidumbre combinada (Cáñez Carrasco y García Alegría, 2015). Una vez obtenida la incertidumbre combinada se multiplicó por un factor de cobertura ($K = 2$) a fin de entregar un 95 % de confianza, y así establecer el intervalo en torno al resultado de la medición en el cual se espera que se incluya la mayor fracción de la distribución de los valores que se pueden atribuir al mensurando (Duffau et al., 2010; Cáñez Carrasco y García Alegría, 2015).

Para la aplicabilidad se determinó la concentración de As total en diez muestras de suelo provenientes de la cuenca del río Tebicuary, las cuales fueron georreferenciadas. Los resultados obtenidos fueron expresados $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y se compararon con el valor de referencia (El Himri et al., 2022).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base a los diferentes experimentos para la evaluación de los parámetros de desempeño, no se observó diferencia significativa para el efecto matriz ($p = 0,200$, U de Mann-Whitney) en la comparación de las curvas de calibración elaboradas a partir de estándares puros y curvas de calibración de los estándares en las muestras de suelo (Figura 2 a).

El método evaluado puede cuantificar el As en presencia de los interferentes que se encuentran en la matriz, confirmando que la espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros es una técnica sencilla y selectiva para la determinación de As (Fernández Rodríguez, 2020).

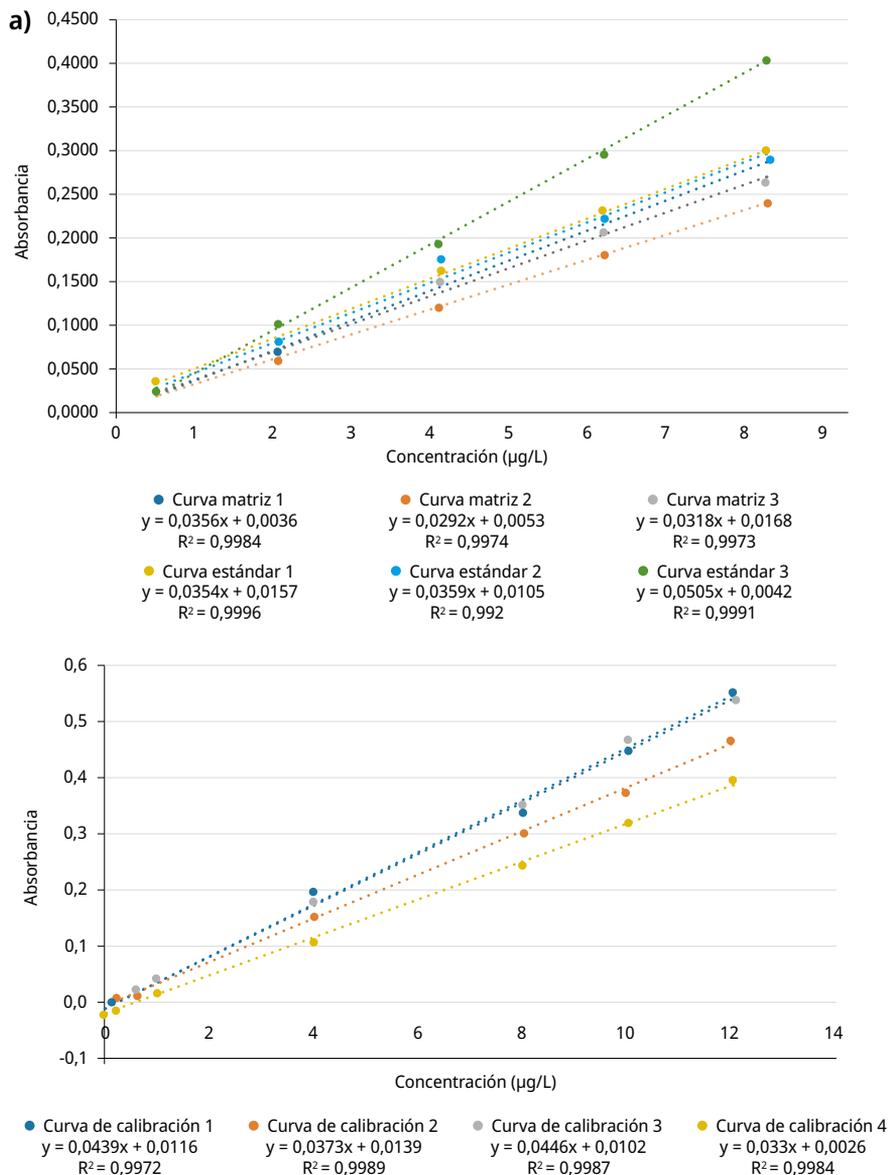


FIGURA 2. Evaluación del desempeño de (a) selectividad y (b) linealidad y sensibilidad.

Las curvas de calibración del estándar de As presentaron un comportamiento lineal con alto grado de correlación en el rango de concentración de $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con coeficientes de correlación (r) entre $0,9986 - 0,9994$ (Figura 2 b: el software presenta R^2 , por lo que se procedió a calcular $r = \sqrt{R^2}$).

Los valores de r se encontraron dentro del criterio de aceptación para el análisis de trazas -igual o mayor que $0,99-$, lo cual demuestra una buena linealidad para el intervalo de trabajo mencionado (Duffau et al., 2010). Además, las pendientes de las cuatro curvas de calibración realizadas presentaron valores entre $0,0330$ y $0,0446$, con una media de $0,0395 \pm 0,005$. Los resultados de sensibilidad obtenidos fueron superiores a los reportados por Rada et al. (2012) con pendientes entre $0,00361$ y $0,00429$ y por Tafur Yépez (2014) con una pendiente de $0,008$; en ambos casos la cuantificación de As se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros pero en matrices distintas.

Cabe resaltar que la sensibilidad puede encontrarse afectada por el tiempo transcurrido entre la preparación de la curva de calibración y su lectura, el tiempo de estabilización previa de la señal del equipo de espectrofotometría de absorción atómica y el tiempo que transcurre desde la aspiración de la muestra hasta el registro de la señal, por lo que este proceso debería estar estandarizado de manera de tener resultados óptimos, no solo respecto a la sensibilidad sino también a la reproducibilidad del método analítico (Diez-Pérez-Núñez et al., 2021).

En el ensayo de recuperación, en tres niveles de concentración de As correspondientes a $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, el porcentaje de recuperación de las muestras de suelo fortificadas obtenidas fue de $101,44 \%$, $95,99 \%$ y $108,99 \%$, respectivamente. Todos los resultados obtenidos se encontraron dentro del criterio de aceptación calculado $89,08 - 115,20 \%$. Se comprueba que, para los tres niveles de concentración analizados, el rendimiento del método analítico es satisfactorio para el fin propuesto.

El coeficiente de variación (CV, expresado como %) del ensayo de repetibilidad fue de $4,26 \%$ y el de reproducibilidad, de $4,52 \%$. Ambos valores fueron aceptados debido a que cumplieron con el criterio de aceptabilidad correspondiente al coeficiente de variación de Horwitz, ya que para la repetibilidad el CV obtenido debe ser menor que $CV_h \% / 2$ ($6,04 \%$) y para la reproducibilidad intralaboratorio debe ser menor que $2CV_h \% / 3$ ($8,06 \%$). La precisión entre grupos fue igual a $7,35$, la precisión dentro del grupo $8,89$ y la precisión intermedia del método $11,54$. Como la F calc ($2,36$) $\ll F$ crítico ($3,86$) no hay significancia estadística en los resultados obtenidos de las muestras analizadas ($p = 0,142$, ANOVA).

Los límites de detección y cuantificación fueron de $0,11$ y $0,21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectivamente. Ambos resultados resultaron adecuados considerando que los criterios de aceptación para LOD y LOQ corresponden a $\text{LOD} \leq 2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $\text{LOQ} \leq 4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Mediante los valores obtenidos para la prueba de Youden y Steiner se evidenció la robustez del método en estudio frente a las variables analíticas pH y tamaño de las partículas. La diferencia entre los promedios del valor alto y del valor bajo fue inferior a $\sqrt{2}$ DS de las determinaciones realizadas (Tabla 1), por lo que se afirma que los resultados obtenidos no se ven afectados frente a dichas modificaciones e indican la fiabilidad del método durante su uso (Eurolab España, 2016).

TABLA 1. Resultados del ensayo para la prueba de Youden y Steiner.

Condición variable		Resultados (mg·kg ⁻¹)		Diferencia	Comparación
Valor alto	Valor bajo	Promedio \bar{X}	Promedio \bar{x}	$(\bar{X}-\bar{x})$	$(\bar{X}-\bar{x}) < \sqrt{2} \cdot DS (0,7611)$
7 UpH	4,5 UpH	6,2835	6,2723	0,0112	No sensible a variable
1 mm	0,106 mm	6,3449	6,2110	0,1339	No sensible a variable

Entre las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico se encontraron la incertidumbre del material volumétrico, la masa de suelo, el factor de dilución, la solución de trabajo de As, la curva de calibración y la lectura del mensurando en el espectrofotómetro de absorción atómica con generación de hidruros (Figura 3). Los valores obtenidos de la incertidumbre expandida se encuentran incluidos en los resultados de aplicabilidad, junto con las respectivas concentraciones de As total en las muestras de suelo. El criterio de aceptación para una incertidumbre expandida aceptable corresponde a un valor < 30 % del mensurando, por lo que las incertidumbres de todas las muestras fueron aceptadas (Mencias Recalde, 2018). Además, se demuestra que la metodología propuesta permite estimar la incertidumbre del mensurando, un requisito de la ISO 17025 (International Organization for Standardization, 2017) vigente para todos los laboratorios de ensayo y calibración.

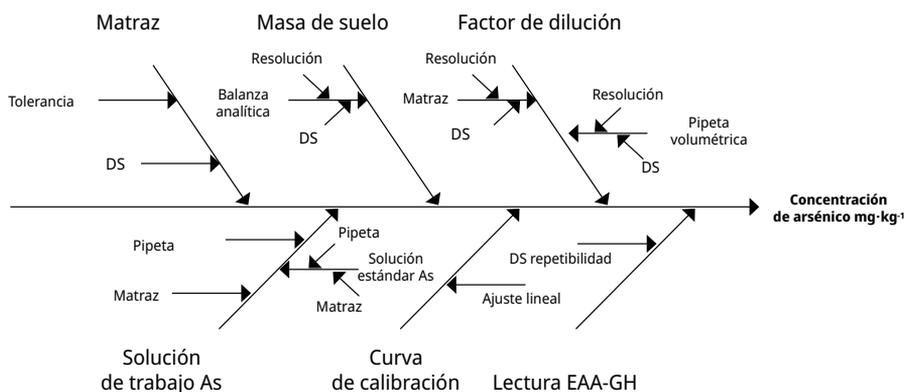


FIGURA 3. Diagrama de Ishikawa (2002) elaborado para el análisis de las fuentes de incertidumbre.

Una vez culminada la evaluación de todos los parámetros de validación, se procedió a sintetizarlos en la Tabla 2.

TABLA 2. Resumen de resultados obtenidos para la validación del método analítico.

Parámetro	Resultado obtenido	Criterio de aceptación
Efecto matriz	p = 0,200, U de Mann-Whitney	Sin diferencia significativa en la comparación de las curvas de calibración elaboradas a partir de estándares puros y curvas de calibración de los estándares en las muestras de suelo
Linealidad	Rango 0,2 a 12 µg·L ⁻¹ r = 0,9986 - 0,9994	r ≥ 0,99
Sensibilidad	m = 0,0395 ± 0,005	Comparación con pendientes reportadas por otros autores Rada et al. (2012) m = 0,00361 m = 0,00429 Tafur Yépez (2014) m = 0,008
Recuperación	101,44 % para 3 µg·L ⁻¹ 95,99 % para 10 µg·L ⁻¹ 108,99 % para 25 µg·L ⁻¹	89,08 – 115,20 %
Repetibilidad	CV = 4,26 %	< CV _h % / 2 (6,04 %)
Reproducibilidad	CV = 4,52 %	< 2CV _h % / 3 (8,06 %)
LOD	0,11	≤ 1/10 LMP (2 mg·kg ⁻¹)
LOQ	0,21 mg·kg ⁻¹	≤ 1/5 LMP (4 mg·kg ⁻¹)
Robustez pH tamaño partículas	$\bar{X}-\bar{x}$ = 0,0112 $\bar{X}-\bar{x}$ = 0,1339	$\bar{X}-\bar{x}$ < √2 DS (0,7611)
Incertidumbre	U = 0,1479; k = 2	< 30 % del mensurado

Los resultados de la concentración de As total en la muestra blanco proveniente de la zona del lago Ypoá fue de 6,5 ± 0,96 mg·kg⁻¹, mientras que las muestras de suelo provenientes de la cuenca del río Tebicuary presentaron concentraciones entre 6,22 ± 0,92 mg·kg⁻¹ y 31,98 ± 4,73 mg·kg⁻¹ (Tabla 3).

TABLA 3. Concentraciones de arsénico total en muestras de suelo.

Muestra	Latitud	Longitud	Altitud (m)	As total (mg·kg ⁻¹)
Blanco	S 25° 49,991'	W 57° 23,305'	57	6,52 ± 0,96
Punto 1	S 26° 51,606'	W 57° 09,096'	118	14,60 ± 2,16
Punto 2	S 26° 52,229'	W 57° 01,971'	132	14,78 ± 2,18
Punto 3	S 26° 28,923'	W 57° 04,237'	70	10,35 ± 1,53
Punto 4	S 26° 43,888'	W 57° 19,562'	83	8,38 ± 1,24
Punto 5	S 26° 40,471'	W 57° 06,545'	123	11,72 ± 1,73
Punto 6	S 26° 22,456'	W 57° 09,380'	78	6,22 ± 0,92
Punto 7	S 26° 05,181'	W 57° 14,581'	185	9,80 ± 1,45
Punto 8	S 26° 01,402'	W 57° 08,812'	122	7,58 ± 1,12
Punto 9	S 26° 00,768'	W 57° 03,477'	147	31,98 ± 4,73
Punto 10	S 26° 12,241'	W 56° 53,946'	86	15,43 ± 2,81

CONCLUSIONES

Los parámetros de desempeño evaluados para la determinación de arsénico total en muestras de suelo por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros cumplieron con todos los criterios de aceptación establecidos, por lo que el método es adecuado para el fin propuesto.

Según las concentraciones de As total de las diez muestras de suelo provenientes de la cuenca del río Tebicuary, una de ellas se encontró por encima de 20 mg·kg⁻¹, en un punto de mayor altitud (147 m sobre el nivel del mar) y aproximadamente a 2 km del distrito de Ybycuí, Departamento de Paraguarí; por lo que se estima que el origen podría ser geogénico. Sin embargo, esto debe ser investigado en futuros estudios.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue elaborado en el marco del proyecto PINV18-1061 "Distribución de arsénico total en la biosfera de la cuenca del río Tebicuary, Paraguay", cofinanciado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con apoyo del FEEI.

REFERENCIAS

- ATSDR, 2009. *Health consultation: evaluation of environmental data* [En línea].
Atlanta: ATSDR. [Consulta: 02 de junio de 2023].
Disponible en: bit.ly/441PLzt
- Cáñez Carrasco, M. G. y García Alegría, A. M., 2015. Estimación de la incertidumbre en la cuantificación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible.
En: *Biotecnía*, 17(3), pp. 34–41.
- Díez-Pérez-Núñez, D.; Colmán, D.; García, L.; Nakagoe, S.; Ramírez, K.; Torres, O.; Olivares, J. C. y Mereles, L., 2021. Optimización del método de digestión por microondas y espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruro para la cuantificación de arsénico en diferentes matrices. En: *South Florida Journal of Development*, 2(5), pp. 7102–7110. DOI: <https://doi.org/10.46932/sfjdv2n5-057>.
- Duffau, Boris; Rojas, Fabiola; Guerrero, Isabel; Roa, Luis; Rodríguez, Luis; Soto, Marcelo; Aguilera, Marisol y Sandoval, Soraya, 2010. *Guía Técnica. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*. Santiago: Instituto de Salud Pública de Chile. pp. 70.
- Eurolab España, 2016. *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados* [En línea].
Gembloux: Eurolab. [Consulta: 28 de octubre de 2020]. Disponible en: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- Fariña, S.; Larroza, F.; Báez Pressner, J., Cabral, N.; Pereira, M.; Romero, O.; Mallen, G. y Avalos, E., 2019. *Caracterización de los Recursos Hídricos para la Gestión de la Protección de la Biósfera del Bosque del Bosque Mbaracayu (Departamento Canindeyú) y de la Reserva Natural de Tapytá (Departamento de Caazapá) Paraguay. Asunción* [En línea]. [s.l.]: CONACYT. [Consulta: 03 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://repositorio.conacyt.gov.py/xmlui/bitstream/handle/20.500.14066/2447/14-INV-197.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Fernández Rodríguez, E. M., 2020. *Métodos analíticos para la determinación de arsénico en arroz*. [s.l.]: Universidad Nacional de Educación a Distancia. [Consulta: 29 de julio de 2021] Disponible en: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Emfernandez/Fernandez_Rodriguez_Elena_MariaTFM.pdf
- Fretes López, J. C. D. y Díaz Cubilla, F. M. 2014. *Estudio de la calidad del agua del Parque Nacional Lago Ypoa y su área de amortiguación*. San Lorenzo: Universidad Nacional de Asunción.
- Gerdelidani, A. F.; Towfighi, H.; Shahbazi, K.; Lamb, D.T.; Choppala, G.; Abbasi, S.; Fazle Bari, A.S.M.; Naidu, R. y Rahman, M. M. 2021. Arsenic geochemistry and mineralogy as a function of particle-size in naturally arsenic-enriched soils. En: *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123931. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123931>
- El Himri, M.; Errasfa, M.; El Kassimi, A.; Naboulsi, A.; El Himri, A. y El Haddad, M., 2022. Method validation for arsenic speciation in contaminated soil by HPLC-ICP-MS coupling method. En: *Journal of the Indian Chemical Society*, 99(10), 100684. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jics.2022.100684>.
- Kebyonye, N. M.; John, K.; Chakraborty, S.; Agyeman, P. C.; Ahado, S.K.; Eze, P.N.; Němeček, K.; Drábek, O. y Borůvka, L., 2021. Comparison of multivariate methods for arsenic estimation and mapping in floodplain soil via portable X-ray fluorescence

- spectroscopy. En: *Geoderma*, 384, 114792.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114792>
- Heikens, A., 2006. *Arsenic contamination of irrigation water, soil and crops in Bangladesh: risk implications for sustainable agriculture and food safety in Asia* [En línea]. Bangkok: FAO. [Consulta: 01 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.fao.org/publications/card/es/c/c6936a3e-2998-53d4-830b-f55c91c9887e/>
- IBM Corp, 2015. *IBM SPSS Statistics for Windows*. Vers. 2015.23.0. New York: IBM Corp.
- International Organization for Standardization, 2017. *ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. Ginebra: ISO.
- Ishikawa, K., 2002. *Qué es el control total de calidad? La modalidad japonesa*. Bogotá: Editorial Norma. ISBN: 958-04-7040-5
- Litter, M. I.; Ingallinella, A. M.; Olmos, V.; Savio, M.; Difeo, G.; Botto, L.; Farfán Torres, E. M.; Taylor, S.; Frangie, S.; Herkovits, J.; Schalamuk, I.; González, M. J.; Berardozi, E.; García Einschlag, F. S.; Bhattacharya, P. y Ahmad, A., 2019. Arsenic in Argentina: occurrence, human health, legislation and determination. En: *Science of the Total Environment*, 676, pp. 756–766. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.262>.
- Litter, M. I.; Armienta, M. A. y Farías, S. S., 2009. *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos* [En línea]. Buenos Aires: IBEROARSEN, CYTED. [Consulta: 05 de octubre de 2020].
Disponible en: https://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2_000.pdf
- Martínez, N. D.; Rodríguez, A. M.; Gutiérrez, A. R.; Di Carlo, M. D. y Durán, A. Á., 2018. Determinación de la incertidumbre del método de análisis de aflatoxinas por HPLC en pasa de uva. En: *Tecnura*, 22(58), pp. 25–36.
DOI: <https://doi.org/10.14483/22487638.12896>.
- Mencias Recalde, D. C., 2018. *Validación de métodos de ensayo para la determinación de fósforo total, cromo hexavalente y sólidos totales en agua, en el laboratorio ambiental y consultoría ENVIRONOVALAB CÍA. LTDA*. Quito: Universidad Central del Ecuador.
- Mereles, L., 2017. *Validación de un método para la determinación de arsénico inorgánico en muestras de arroz (Oryza sativa) pulido y descascarillado, basada en la detección por espectroscopia de absorción atómica con generador de hidruros, 2017*. San Lorenzo: Universidad Nacional de Asunción.
- Miller, J. y Miller, J., 2002. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4 ed. Madrid: Pearson Educación S.A. ISBN:84-205-3514-1.
- Rada Mendoza, Maite del Pilar; Alvira, Leydi Fernanda; Hoyos, Olga Lucia y Villada Castillo, Héctor Samuel, 2012. Cuantificación de arsénico por absorción atómica en termoformados y películas flexibles biodegradables. En: *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), pp. 157–165.
- Reid, M. S.; Hoy, K. S.; Schofield, J. R. M.; Uppal, J. S.; Lin, Y.; Lu, X.; Peng, H. y Le, X.C., 2020. Arsenic speciation analysis: A review with an emphasis on chromatographic separations. En: *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 123, 115770.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115770>
- Senila, M.; Cadar, O. y Miu, I., 2020. Development and validation of a spectrometric method for Cd and Pb determination in zeolites and safety evaluation. En: *Molecules*, 25(11), 2591. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25112591>

- Tafur Yépez, C. D., 2014. *Validación de un método para análisis de arsénico en agua potable por absorción atómica mediante generación de hidruros*. Ambato: Universidad Técnica de Ambato.
- Vieira, E. C.; Kamogawa, M. Y.; Guimarães Lemos, S.; Nóbrega, J. y Nogueira R., 2005. Decomposição de amostras de solos assistida por radiação microondas: estratégia para evitar a formação de fluoretos insolúveis. En: *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29(4), pp. 547-553. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000400007>
- Zagal, E. y Sadzawka, A. R., 2007. *Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos* [En línea]. Chillán: Universidad de Concepción. [Consulta: 22 de marzo de 2018]. Disponible en: http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/4_jornada/Protocolos_suelos_y_lodos_Sadzawka.pdf

Metodologías analíticas para la determinación de polonio y uranio en sistemas agrícolas uruguayos

Analytical methodologies for the determination of polonium and uranium in Uruguayan agricultural systems

Metodologias analíticas para a determinação de polônio e urânio em sistemas agrícolas uruguaios

 **CRISTINA BAÑOBRE** (1)

 **ANA LÍA NOGUERA** (1)

 **RODOLFO REBOULAZ** (1)

 **HEINKEL BENTOS-PEREIRA** (1)

 **LAURA FORNARO** (1)

(1) Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro Universitario Regional del Este, Universidad de la República, Rocha, Uruguay.

RECIBIDO: 29/3/2023 → APROBADO: 26/5/2023 ✉ crisbmiguel@gmail.com

RESUMEN

La roca fosfórica, materia prima utilizada para producir fertilizantes, puede ser fuente de metales, radionucleidos y otras trazas debido a su composición. La aplicación de fertilizantes fosfatados puede redistribuir y elevar las concentraciones tanto de metales como de radionucleidos en los perfiles del suelo y en aguas, influyendo en su disponibilidad y posterior transferencia a la cadena alimentaria. Conocer la proporción de dicha transferencia es fundamental por las implicaciones que puede tener sobre la salud humana y animal. Este trabajo estudia las condiciones de tratamiento de muestra, separación radioquímica y deposición o electrodeposición para la cuantificación de polonio-210, uranio-238 y uranio-234 por espectrometría alfa para un sistema agrícola uruguayo. Ambos procesos requieren optimización para cada tipo de matriz a fin de evitar el efecto de autoabsorción, así como posibles interferencias de otros radionucleidos presentes en la muestra. El método fue verificado mediante la cuantificación de polonio-210, uranio-238 y uranio-234 en materiales de referencia del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA): suelo IAEA-447, fosfoyeso IAEA-434, espinaca IAEA-330. Los radionucleidos fueron cuantificados en matrices ambientales y los resultados se compararon con los obtenidos por Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS), mostrando resultados comparables e indicando

que la separación radioquímica desarrollada es adecuada para la determinación de los radionucleidos de uranio y polonio por espectrometría alfa en las matrices estudiadas.

Palabras clave: fertilizantes fosfatados, transferencia de radionucleidos naturales, espectrometría alfa.

ABSTRACT

Phosphate rock, raw material used to produce fertilizers, due to its composition can be a source of metals, radionuclides and other traces. The application of phosphate fertilizers can redistribute and increase the concentrations of both metals and radionuclides in soil and water profiles, influencing their availability and subsequent transfer to the food chain. Knowing the proportion of this transfer is essential due to the implications it can have on human and animal health. This work studies the sample treatment, radiochemical separation and deposition/electrodeposition conditions for the quantification of polonium-210, uranium-238 and uranium-234 by alpha spectrometry for a Uruguayan agricultural system. Both processes require optimization for each type of matrix, to avoid the self-absorption effect as well as possible interference from other radionuclides present in the sample. The method was verified by quantifying polonium-210, uranium-238 and uranium-234 in International Atomic Energy Agency (IAEA) reference materials: IAEA-447 soil, IAEA-434 phosphogypsum, IAEA-330 spinach. These radionuclides were quantified in environmental matrices and the results were compared with those obtained by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), showing comparable results and indicating that the developed radiochemical separation is suitable for the determination of uranium and polonium radionuclides by alpha spectrometry in the studied matrices.

Keywords: phosphate fertilizers, natural radionuclides transfer, alpha spectrometry.

RESUMO

A rocha fosfática, matéria-prima utilizada na produção de fertilizantes, pode ser fonte de metais, radionuclídeos e outros vestígios devido a sua composição. A aplicação de fertilizantes fosfatados pode redistribuir e aumentar as concentrações de metais e radionuclídeos nos perfis do solo e da água, influenciando sua disponibilidade e posterior transferência para a cadeia alimentar. Conhecer a proporção dessa transferência é essencial devido às implicações que pode ter na saúde humana e animal. Este trabalho estuda o tratamento de amostras, separação radioquímica e condições de deposição/eletrodeposição para a quantificação de polônio-210, urânio-238 e urânio-234 por espectrometria alfa para um sistema agrícola uruguaio. Ambos os processos requerem otimização para cada tipo de matriz, para evitar o efeito de autoabsorção, bem como possíveis interferências de outros radionuclídeos presentes na amostra. O método foi verificado pela quantificação de polônio-210, urânio-238 e urânio-234 em materiais de referência da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA): IAEA-447 solo, IAEA-434 fosfogesso, IAEA-330 espinafre. Esses radionuclídeos foram quantificados em matrizes ambientais e os resultados

foram comparados com os obtidos por Espectrometria de Massa por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS), mostrando resultados comparáveis e indicando que a separação radioquímica desenvolvida é adequada para a determinação dos radionuclídeos de urânio e polônio por espectrometria alfa nas matrizes estudadas.

Palavras-chave: fertilizantes fosfatados, transferência de radionuclídeos naturais, espectrometria alfa.

INTRODUCCIÓN

Actualmente está fuera de discusión la relevancia del análisis de radionucleidos en estudios ambientales, en evaluaciones de dosis tanto de seres humanos como de biota, en el establecimiento de estándares o guías regulatorias y en la toma de decisiones con implicaciones sociales, económicas, legales y sanitarias (Vianna et al., 1995; IAEA, 2017).

En las últimas décadas, la comunidad científica ha realizado numerosos estudios de distribución de radionucleidos naturales en el ambiente y su incidencia en poblaciones (Nisti et al., 2015; Caridi et al., 2016; IAEA, 2017; Šoštarić et al., 2017; Davies et al., 2018; Ba et al., 2019; Luiz do Carmo Leal et al., 2020). Dentro de los radionucleidos naturales, el ^{210}Po , radionucleido natural perteneciente a la serie radiactiva natural del ^{238}U , ha jugado un papel fundamental por su radiotoxicidad y su comportamiento ambiental como producto de decaimiento del ^{222}Rn (radionucleido gaseoso). Una fracción considerable de estos estudios se centra en la protección radiológica teniendo en cuenta que el ^{210}Po es un emisor alfa puro con una radiotoxicidad muy alta, con gran capacidad de bioacumulación y fuerte afinidad por unirse a ciertos tejidos internos de los organismos (Shaheed et al., 1997; Alam y Mohamed, 2011; Carvalho, 2011, 2018; Fowler, 2011; Díaz-Francés, 2014; Bañobre et al., 2020). Los isótopos de uranio ^{238}U y ^{234}U también han sido objeto de diversas investigaciones en matrices ambientales, aunque con afinidades y distribuciones muy diferentes (Guillén y Gómez, 2020; Galhardi et al., 2020; Kumar et al., 2020; Balaram et al., 2022), con gran impacto en algunos ecosistemas y en materiales naturalmente radiactivos, NORM (naturally occurring radioactive material, por su sigla en inglés) (Tagami y Uchida, 2020; Dinis y Fiúza, 2021).

Dentro de los materiales naturalmente radiactivos se encuentran los fertilizantes fosfatados, los cuales utilizan la roca fosfórica como materia prima para su producción y cuya aplicación puede aportar indirectamente metales (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn), metales pesados (Cd, Hg, Pb), radionucleidos de las series radiactivas del ^{238}U y ^{232}Th y sus descendientes, así como otros componentes (Kratz et al., 2011; Smidt, G. A., 2012).

La aplicación prolongada de fertilizantes fosfatados y sus derivados puede redistribuir y elevar las concentraciones de metales pesados y radionucleidos en los perfiles del suelo y en aguas de lixiviado y escorrentía de riego de las tierras fertilizadas. Eso influye en la disponibilidad de estos elementos y radionucleidos, y en su posterior transferencia a la cadena alimentaria humana. Por eso resulta de gran importancia conocer la proporción de dicha transferencia debido a las implicaciones para la salud humana y animal.

Los resultados internacionales muestran una enorme variación de la concentración de actividad de los radionucleidos naturales en los fertilizantes fosfatados, dependiendo de la formulación y del origen del fertilizante, y revelan también un impacto variado en suelos, agricultura y poblaciones. Las variaciones se deben, entre otros factores, al tipo de

suelo y a su manejo (Abbady et al., 2005; Attallah et al., 2019; Boumala et al., 2018; Bramki et al., 2018; Dutra Garcêz et al., 2018).

En Uruguay, los suelos son deficitarios en fósforo, por lo que para obtener rendimientos altos de cualquier cultivo se deben enriquecer con fertilizantes fosfatados. Según datos de la Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA) del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) y publicados por el Ministerio de Desarrollo Social (MIDES), en 2019 se importaron aproximadamente 97 mil toneladas de fosfato de amonio (DPA), 90 mil toneladas de fosfato monoamónico (MAP), 21 mil toneladas de superfosfato triple, 323 mil toneladas de urea y 605 mil toneladas de otros fertilizantes, totalizando más de un millón de toneladas de fertilizantes (Uruguay. Ministerio de Desarrollo Social, s.d.). Debido al elevado uso de los fertilizantes fosfatados en Uruguay, es necesario estudiar la concentración de radionucleidos naturales, en especial ^{210}Po y uranio (^{238}U y ^{234}U) en los fertilizantes, así como también el posible impacto en sistemas agrícolas. Para ello es imprescindible contar con una técnica analítica confiable en las diferentes matrices. Este trabajo sintetiza la implementación y optimización de la técnica radioquímica para la evaluación de elementos emisores alfa (U y Po) en algunas matrices de sistemas agrícolas nacionales: fertilizantes, suelo, agua de lixiviado y espinaca, por primera vez en un laboratorio de Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

El patrón de ^{209}Po se preparó a partir de una disolución certificada de ^{209}Po (National Physical Laboratory, Teddington, UK), de concentración de actividad = $10,49 \pm 0,08$ Bq/g y utilizando ácido clorhídrico (HCl) 2 mol L⁻¹ preparado a partir de HCl 37% v/v (Carlo Erba, Val-de-Reuil, Francia).

El patrón de ^{232}U se preparó a partir de una disolución estándar certificada de ^{232}U (National Physical Laboratory, Teddington, UK), de concentración de actividad = $10,18 \pm 0,08$ Bq/g y utilizando ácido nítrico (HNO₃) 2 mol L⁻¹ preparado a partir de HNO₃ 69,5 % v/v (Carlo Erba, Val-de-Reuil, Francia).

Para la calibración en energías se utilizó una fuente triple certificada de ^{241}Am (100 Bq, $t_{1/2}$: 432,6 años, 5485,7 keV (84,8 %), 5442,8 keV (13,1 %)), ^{237}Np (150 Bq, $t_{1/2}$: $2,14 \times 10^6$ años, 4788,1 keV (47 %), 4771,4 keV (23 %)) y ^{244}Cm (100 Bq, $t_{1/2}$: 18,1 años, 5804,7 keV (76,9 %), 5762,6 keV (23,1 %)). Eckert & Ziegler. Fecha de referencia 21/07/2015.

Se utilizó una disolución de FeCl₃ (5 mg L⁻¹ Fe⁺³) preparada a partir de reactivo de hierro en agua tipo 1, y HCl 1.5 mol L⁻¹ preparado a partir de HCl 37 % v/v (Carlo Erba, Val-de-Reuil, Francia).

Además se emplearon los siguientes reactivos: ácido fluorhídrico (HF, 40 %), ácido sulfúrico (H₂SO₄, 96 %), ácido L(+) ascórbico y amoniaco (NH₄OH, 30 %), todos de la marca Carlo Erba (Val-de-Reuil, Francia); tributilfosfato (TBP) (Acros Organics, Alemania) y xileno (Sigma Aldrich, St Louis, Estados Unidos).

Se empleó agua ultrapura de resistividad 18,2 MΩcm (ASTM Tipo I), obtenida mediante un purificador Thermo Scientific Barnstead Smart2Pure.

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica o superior. El material empleado se descontaminó previamente utilizando ácido nítrico 8 mL⁻¹ y luego se enjuagó exhaustivamente con agua ultrapura.

Equipos utilizados

En la etapa de pretratamiento de muestras sólidas se utilizó un molino de bolas (Planetary Ball Mill BM6 Pro) para la molienda, y un horno microondas AnalytikJena TOPWAVE para la digestión ácida de las muestras, provisto con 8 vasos del tipo CX100.

Para la preparación de la fuente de ²¹⁰Po se utilizó el sistema de autodeposición descrito por Díaz-Francés (Díaz-Francés, 2014).

Para la preparación de la fuente de uranio fue necesario implementar el sistema de electrodeposición. Para ello se realizó el diseño y la construcción de las celdas de electrodeposición en base a referencias presentes en la literatura (Hallstadius, 1984; Jobbágy et al., 2012; Díaz-Francés, 2014). En la Figura 1 se muestra el sistema de electrodeposición de forma detallada. El sistema consta de un soporte con contacto eléctrico para las planchetas de acero inoxidable, impreso en 3D en PETG (dicho polímero fue seleccionado debido a su resistencia térmica), conectores a la fuente de voltaje y el vaso o la celda de electrodeposición con la tapa soporte de electrodo, mecanizados en teflón ya que dicho vaso debe ser inerte al ataque de los reactivos utilizados y además el teflón presenta buena resistencia térmica a la temperatura de trabajo. El electrodo es de platino 95 % 22GA (0,635 mm), de aproximadamente 400 mm², el cual se construyó en forma de espiral de 25 mm de diámetro, de acuerdo con lo recomendado en la literatura (Jobbágy et al., 2012).

Para la medida de la actividad radiactiva de uranio y polonio (fuentes) se utilizó un espectrómetro Alpha Duo de Ortec, equipado con detectores de silicio tipo PIPS (área activa de 900 y 450 mm²).

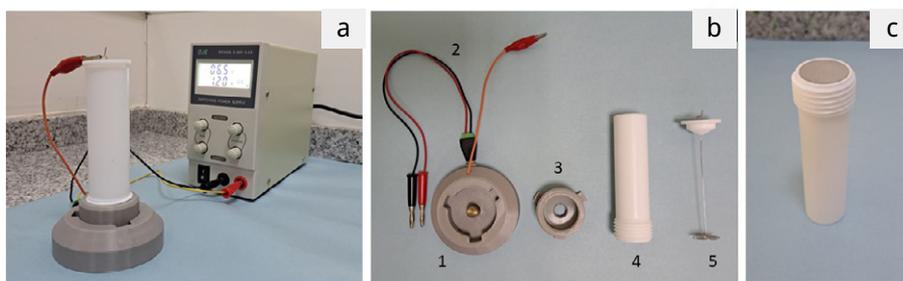


FIGURA 1. Imagen del sistema de electrodeposición, a) sistema de electrodeposición completo formado por la fuente de voltaje y la celda de electrodeposición; b) componentes del sistema de electrodeposición formado por: (1) base con conectores (2), (3) tapa inferior, (4) cuerpo de la celda de electrodeposición, (5) tapa/soporte del electrodo; c) Vista de la plancheta situada en la base de la celda.

Materiales de referencia

El método utilizado en este trabajo fue verificado mediante el análisis de materiales de referencia certificados del Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA).

El IAEA-447 es un material de referencia diseñado para la determinación de radionucleidos antropogénicos y naturales en suelo, entre ellos ^{210}Po (valor medio 423 ± 10 Bq/kg), ^{238}U (valor medio $22,2 \pm 0,8$ Bq/kg) y ^{234}U (valor medio $21,8 \pm 0,8$ Bq/kg). El IAEA-330 es un material de referencia certificado para radionucleidos en espinaca en polvo con un valor medio para ^{238}U de $0,95 \pm 0,05$ Bq/kg, y de $1,02 \pm 0,07$ Bq/kg para ^{234}U . Por último, el IAEA-434 es un material de referencia de radionucleidos presentes en fosfoyeso, certificado para ^{210}Pb (con un valor medio de 680 ± 58 Bq/kg), ^{238}U (con un valor medio de 120 ± 11 Bq/kg) y ^{234}U (con un valor medio de 120 ± 9 Bq/kg).

Muestras ambientales de un sistema agrícola

El método optimizado y verificado se aplicó a algunas de las matrices que pueden conformar un sistema agrícola: fertilizantes utilizados en Uruguay, agua gravitacional con lixiviado (o agua de lixiviado), suelo tratado con fertilizante para su posterior cultivo, y cultivos de espinaca.

Se analizaron 8 muestras de fertilizantes disponibles en el mercado con diferentes composiciones químicas: fosforita, fosfato de amonio, NPK y super triple. Las muestras de suelo analizadas, un total de 8, se obtuvieron en 2 zonas con características fisicoquímicas diferentes. El muestreo de una parte de las muestras se realizó en suelos de una zona agrícola (hortofrutícola) de Canelones, mientras que otras muestras de suelo proceden de una zona con poca producción agrícola en el Departamento de Rocha. Para la obtención de las muestras se utilizó un muestreador manual de suelo, con una profundidad de 20 cm.

También se analizaron 8 muestras de agua de lixiviado procedentes de suelos previamente fertilizados y donde se sembró espinaca, que posteriormente fue cosechada.

Las muestras de agua de lixiviado fueron colectadas en bidones de 5 L de polietileno tereftalato (PET), filtradas a través de un filtro de $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro para eliminar sólidos en suspensión, y acidificadas con ácido clorhídrico (HCl 37 % v/v) hasta obtener un pH entre 1 y 2.

Las muestras de suelo, fertilizantes y espinaca se secaron en estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, hasta obtener una masa constante. Posteriormente, se molieron, tamizaron y guardaron en bolsas herméticas debidamente etiquetadas. La masa de las muestras fue registrada antes y después del secado, para poder calcular el porcentaje de humedad.

Procedimiento analítico

Las concentraciones de actividad de ^{210}Po , ^{234}U y ^{238}U fueron determinadas por espectrometría alfa, y adicionalmente para las muestras de fertilizantes fue realizada la caracterización elemental mediante Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) en un laboratorio externo.

Para la determinación por espectrometría alfa es necesario aplicar un procedimiento radioquímico específico para cada matriz, que permita separar y aislar químicamente

los radionucleidos de interés y depositarlos (en caso del polonio) o electrodepositarlos (para el uranio) en finas capas a fin de evitar la autoabsorción y la interferencia con otros radionucleidos con energías de emisión similares. En general, se puede resumir el procedimiento radioquímico en las siguientes etapas: a) pretratamiento de la muestra, b) separación radioquímica, c) preparación de la fuente alfa de medida, y d) medida de la fuente mediante espectrometría alfa.

Dependiendo del tipo de matriz, la etapa de pretratamiento de la muestra difiere mientras que la separación radioquímica y la preparación de la fuente alfa siguen el mismo método para todas las matrices. A continuación, se detalla cada una de las etapas aplicadas a diferentes matrices:

a) Pretratamiento de la muestra

Esta etapa tiene como objetivo la concentración (en caso de muestras líquidas) o disolución (para muestras sólidas) de los radionucleidos de interés, que suelen ir acompañados de otros radionucleidos que posteriormente serán eliminados.

Además, en esta primera etapa se añade una actividad conocida de ^{232}U y ^{209}Po , que son los trazadores internos de los isótopos de uranio y polonio respectivamente, y permiten calcular el rendimiento químico del proceso.

En las muestras de agua se tomó un volumen entre 0,5 y 1 L, se añadió una cantidad conocida de los trazadores ^{232}U y ^{209}Po , y se llevó a cabo la coprecipitación de los actínidos (U, Th) y Po con hidróxido de hierro en medio básico (Holm y Fukai, 1977; Bolivar, 1995). El precipitado se separó de la fase acuosa mediante centrifugación.

En el caso de las muestras de agua de lixiviado, fue necesario optimizar esta etapa debido al elevado contenido de materia orgánica ya que genera interferencias y reduce el rendimiento químico del proceso. Una vez añadidos los trazadores, las muestras se concentraron mediante evaporación en plancha a 80 °C, y se digirieron utilizando H_2O_2 (200 vol). Una vez eliminada la materia orgánica, se añadieron 4 mL de FeCl_3 (5 mg L^{-1} Fe^{+3}) y se ajustó el pH entre 8-9 mediante la adición de amoníaco concentrado (NH_4OH , 30 %), produciéndose la precipitación del $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y la coprecipitación de polonio y actínidos.

En el caso de las muestras sólidas, se llevó a cabo una digestión ácida asistida por microondas utilizando un equipo digestor AnalytikJena TOPWAVE. Se pesaron 0,5 g de muestra (fertilizante, suelo o espinaca) en los vasos de reacción del equipo de microondas y se agregaron 5 mL HCl (37 %), 2 mL de HNO_3 y 1 mL de HF (40 %). La digestión total de las muestras se realizó aplicando programas específicos para cada matriz. Después de la digestión, la solución obtenida se llevó casi a sequedad y finalmente se diluyó con agua tipo 1, realizando la coprecipitación de los actínidos y polonio con hidróxido de hierro en medio básico. Esta última etapa es similar a la realizada en las muestras de agua de lixiviado.

En las muestras de suelo con alto contenido en materia orgánica y en las muestras de fertilizante fue necesario añadir H_2O_2 (200 % vol) antes de llevar a cabo la coprecipitación de U y Po.

b) Separación radioquímica

La separación y el aislamiento de los radionucleidos presentes en las muestras se realizó mediante la técnica de extracción líquido-líquido (Vera et al., 2002), empleando diferentes solventes como tributilfosfato (TBP), xileno + ácido clorhídrico (HCl, 37 % v/v) y agua tipo 1, para conseguir la separación secuencial de polonio, torio y uranio respectivamente (Holm y Fukai, 1977). En la Figura 2 se muestra un esquema del método de separación secuencial aplicado. La fracción de torio, a pesar de no ser de interés en este trabajo, debió ser separada porque algunas zonas de su espectro alfa podían solaparse al espectro alfa del uranio.

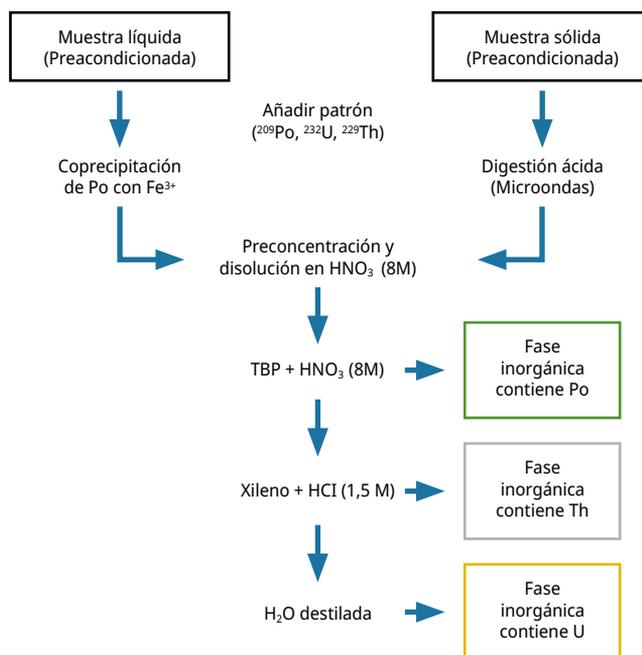


FIGURA 2. Esquema de la separación secuencial de Po, Th y U en diferentes matrices.

c) Preparación de la fuente alfa

La fracción que contiene polonio se evaporó hasta sequedad y el residuo obtenido se disolvió en 5 mL de HCl (37 %) para pasar a medio clorhídrico. Este paso de evaporación se repitió dos veces más y el residuo final se redisolvió en 50 mL de HCl 1,5 M (preparado a partir del HCl concentrado 37 % v/v). Se añadió 0,1 g de ácido ascórbico para la reducción de Fe^{+3} y Cr^{+6} , evitando así posibles interferencias.

Se utilizaron planchetas de plata para la autodeposición de polonio durante 4 horas en HCl 1,5 M, y a una temperatura máxima de 80 °C siguiendo la técnica de Flynn (Flynn, 1968). La adición de ácido ascórbico evita el recubrimiento de hierro sobre la hoja de plata. Además, el proceso de autodeposición también aísla el polonio de otras interferencias potenciales y lo prepara para ser medido mediante espectrometría de partículas alfa.

La fracción de uranio, una vez aislada, se llevó a residuo seco y se redisolvió en H_2SO_4 (96 %) para su electrodeposición en planchetas de acero inoxidable siguiendo

el método de García-Tenorio y Hallstadius (Hallstadius, 1984; García-Tenorio, 1986). La electrodeposición se basa en la deposición forzada de uranio gracias a la electrólisis sobre una plancheta de acero inoxidable.

La electrólisis se realizó en medio sulfúrico añadiendo 1 mL de sulfato sódico para evitar la adsorción de los actínidos en las paredes de la celda de electrodeposición. La inducción de corriente por la disolución se produce creando una diferencia de potencial entre la plancheta metálica (cátodo) donde se depositan los radionucleidos que se van a medir y un alambre de platino (ánodo) que se sitúa a una distancia de aproximadamente 5 mm de la plancheta. La corriente provoca la deposición de los radionucleidos de interés sobre la superficie de la plancheta que queda expuesta a la disolución (electrolito) en la celda de electrodeposición (Díaz-Francés, 2014).

Las condiciones optimizadas para la electrodeposición del uranio fueron las siguientes: voltaje 7 V, intensidad 1,2 A y 5 mm de separación entre la plancheta y el alambre de platino. La electrodeposición se llevó a cabo durante 1 hora.

d) Medidas de las fuentes de polonio y uranio

Se definieron los siguientes parámetros para el correcto funcionamiento del espectrómetro alfa Alpha Duo, Ortec: voltaje aplicado de 50 V, vacío generado en la cámara de 500 mTorr, rango de energía empleado aproximado de 3 a 8 MeV.

Para determinar la actividad mediante espectrometría alfa fue necesario realizar una calibración del sistema en energía y eficiencia. Para la calibración en energía se utilizó una fuente triple certificada de ^{241}Am , ^{237}Np y ^{244}Cm , cuyas energías están en el rango de interés de los isótopos de uranio y polonio estudiados. Para la calibración en eficiencia de cada detector se preparó una fuente de ^{209}Po con la misma geometría que las muestras a medir, depositando 200 μL de ^{209}Po (concentración de actividad = $10,49 \pm 0,08$ Bq/g) en una plancheta de plata y dejando evaporar a temperatura ambiente.

Las fuentes preparadas se midieron en el espectrómetro alfa ente 3 y 5 días, dependiendo de la actividad de las muestras, hasta obtener un error relativo menor al 10 %.

La actividad mínima detectable (MDA) para una medida realizada por espectrometría alfa se calcula a partir del límite de detección en cuentas (L_D), la eficiencia de recuento de detección (ϵ), el tiempo de conteo por muestra (t) y el rendimiento químico (R_Q), siguiendo la expresión (Mantero, 2013):

$$MDA = \frac{L_D}{I \cdot \epsilon \cdot \tau \cdot R_Q} \quad (1)$$

Suponiendo una recuperación química media del 50 %, la actividad mínima detectable (MDA) con un nivel de confianza del 95 % fue alrededor de 0,5 mBq/kg para los diferentes radionucleidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización del método

Para comprobar la idoneidad del método se evaluó el rendimiento químico en cada muestra mediante la técnica de dilución isotópica, determinando la recuperación del trazador añadido al comienzo del procedimiento. La Figura 3 refleja la frecuencia (número de muestras) frente al rendimiento químico (agrupado en incrementos del 10 %) para el polonio y uranio en las muestras analizadas.

Los promedios del rendimiento químico fueron de $69 \pm 7 \%$ para el análisis de polonio y $46 \pm 10 \%$ para el uranio, obteniendo el mejor desempeño para la determinación de polonio. Los resultados obtenidos son similares a los reportados en la bibliografía (Hurtado-Bermúdez, et al., 2017; Mantero et al., 2019).

Podemos confirmar que las modificaciones realizadas en la etapa de pretratamiento de muestras permiten aplicar el método en muestras complejas. Sin estas modificaciones, el alto contenido en materia orgánica dificulta la separación de los radionucleidos, obteniéndose rendimientos químicos muy bajos.

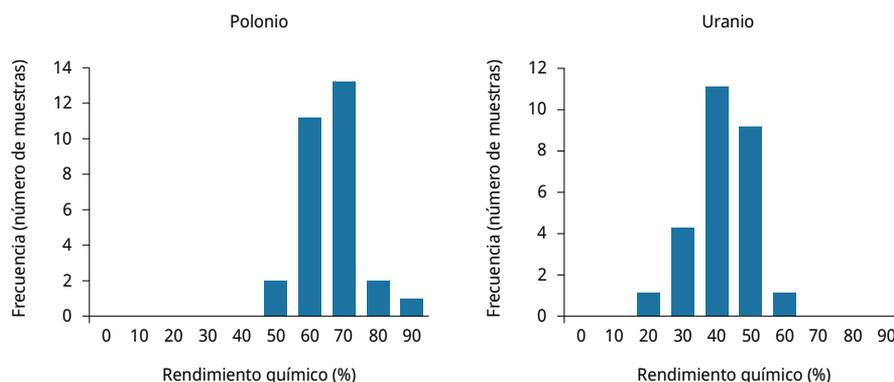


FIGURA 3. Histograma con rendimientos químicos (%) para los elementos Po (izquierda) y U (derecha) en muestras pertenecientes a un sistema agrícola.

Verificación del método

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de materiales de referencia certificados de la IAEA, permitiendo la verificación del método. Los resultados están de acuerdo con los certificados dentro de la incertidumbre calculada.

TABLA 1. Resultados obtenidos al analizar tres materiales de referencia de la IAEA, siendo "A Lab" los valores de concentración de actividad (Bq/kg) obtenidos en el laboratorio al aplicar el método verificado y "A Referencia", los valores de concentración de actividad (Bq/kg) reportados en el material de certificado.

Material de referencia	Matriz	Radionucleido	A Lab (Bq/kg)	A Referencia (Bq/kg)
IAEA-447	Suelo	^{210}Po	$285,1 \pm 7,3$	289 ± 20
		^{238}U	$21,7 \pm 1,1$	$22,2 \pm 0,8$
		^{234}U	$20,6 \pm 1,1$	$21,8 \pm 0,8$
IAEA- 434	Fosfoyeso	^{210}Po	$611,7 \pm 18,1$	680 ± 58
		^{238}U	$116,9 \pm 4,5$	120 ± 11
		^{234}U	$117,3 \pm 4,6$	120 ± 9
IAEA - 330	Espinaca	^{238}U	$0,98 \pm 0,09$	$0,95 \pm 0,05$
		^{234}U	$1,05 \pm 0,11$	$1,02 \pm 0,07$

Determinación de polonio y uranio en muestras de un sistema agrícola

Después de la verificación del procedimiento, el método de separación secuencial de radionucleidos que se describe en este trabajo fue aplicado a diferentes matrices de un sistema agrícola: fertilizantes, suelos de cultivo, agua gravitacional con lixiviado y espinacas.

En la Tabla 2 se muestran las concentraciones de actividad de polonio y uranio obtenidas en 8 muestras de fertilizantes utilizados en Uruguay. Los resultados obtenidos se encuentran por encima de la MDA para los tres radionucleidos de interés, y la amplitud del rango depende principalmente del tipo y origen del fertilizante. Los valores encontrados son del mismo orden que los reportados en la bibliografía (Plaza et al., 2006).

TABLA 2. Concentración de actividad de ^{210}Po (Bq/kg), ^{238}U (Bq/kg) y ^{234}U (Bq/kg) en muestras de fertilizantes comercializados en Uruguay, en peso seco.

Fertilizante	^{210}Po (Bq/kg)	^{238}U (Bq/kg)	^{234}U (Bq/kg)
Fert-1	$332,5 \pm 11,3$	$555,6 \pm 20,7$	$593,9 \pm 22,0$
Fert-2	$425,2 \pm 10,2$	$1922,9 \pm 45,5$	$1938,9 \pm 45,9$
Fert-3	$152,6 \pm 4,2$	$662,4 \pm 18,0$	$686,1 \pm 18,6$
Fert-4	$37,3 \pm 1,9$	$80,0 \pm 2,5$	$84,7 \pm 2,7$
Fert-5	$7,8 \pm 0,9$	$732,6 \pm 19,4$	$748,2 \pm 19,8$
Fert-6	$11,8 \pm 0,9$	$195,0 \pm 5,6$	$212,5 \pm 6,0$
Fert-7	$434,4 \pm 10,0$	$646,8 \pm 16,8$	$650,3 \pm 16,9$
Fert-8	$368,5 \pm 8,9$	$489,4 \pm 11,4$	$482,8 \pm 11,3$

Los resultados de ^{238}U (Bq/kg) obtenidos en fertilizantes por espectrometría alfa fueron comparados con los valores de U en ppm obtenidos por Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS). Estos valores se pueden comparar ya que, dada la abundancia isotópica del uranio natural, casi el 100 % del uranio reportado por la técnica de ICP-MS es de hecho ^{238}U , pudiendo convertir los ppm de uranio a Bq/kg.

La Figura 4 muestra esta comparación en un conjunto de 8 fertilizantes, mostrando una buena concordancia entre técnicas (con $r^2 = 0,9982$), aunque es evidente que para asegurar esta correlación se necesita una muestra de mayor número de fertilizantes y un más profundo tratamiento estadístico.

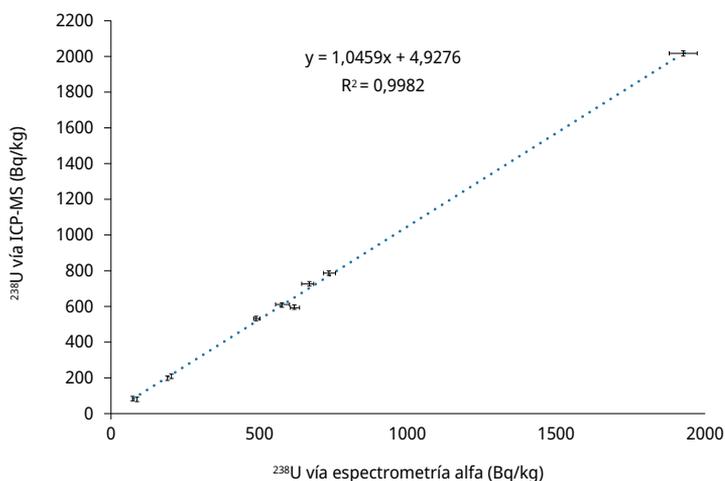


FIGURA 4. Comparación de la actividad de ^{238}U determinada mediante espectrometría alfa y con ICP-MS en muestras de fertilizantes.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para las muestras de agua de lixiviado, suelos y espinacas.

Los valores más bajos de concentración de actividad se obtuvieron en las muestras de agua, con rangos desde $0,68 \pm 0,10$ a $11,3 \pm 0,5$ mBq/kg para el ^{210}Po , $0,94 \pm 0,15$ a $29,7 \pm 4,3$ para el ^{238}U y entre $1,2 \pm 0,2$ y $36,7 \pm 5,1$ mBq/kg para el ^{234}U , encontrándose un desequilibrio entre el ^{234}U y ^{238}U , lo que suele reportarse en la literatura (Ivanovich y Harmon, 1992; Mantero et al., 2019).

Los valores de concentración de actividad obtenidos en las muestras de suelo en peso seco oscilaron entre $33,2 \pm 3,8$ y 214 ± 14 Bq/kg para el ^{210}Po , $9,5 \pm 1,1$ y $14,6 \pm 1,1$ Bq/kg para el ^{238}U y $11,3 \pm 1,0$ y $14,9 \pm 1,3$ Bq/kg para el ^{234}U , dependiendo del tipo de suelo y la concentración y el fertilizante aplicado, siendo del mismo orden que los reportados por Al-Masri et al. (2008).

En el caso de las hojas de espinaca, los valores de ^{210}Po variaron entre $11,4 \pm 0,8$ y $17,1 \pm 0,8$ Bq/kg de peso seco. Para el uranio, las concentraciones oscilaron entre $0,3 \pm 0,1$ y $0,4 \pm 0,1$ Bq/kg de peso seco de ^{238}U y $0,4 \pm 0,1$ y $0,6 \pm 0,1$ Bq/kg de peso seco de ^{234}U . En todos los casos, los valores obtenidos son superiores al MDA y coinciden con otros estudios publicados en espinaca (Díaz-Francés, 2014). En este caso, el aumento de las concentraciones de ^{210}Po se debió al hecho de que la principal fuente de ^{210}Po

es atmosférica como fruto de la descomposición del gas radón y de sus productos de descomposición como ^{210}Po y ^{210}Pb (Al-Masri et al., 2008; IAEA, 2017).

TABLA 3. Concentración de actividad de ^{210}Po , ^{238}U y ^{234}U en muestras de agua de lixiviado (mBq/kg), suelo (Bq/kg, peso seco) y espinaca (Bq/kg, peso seco).

Matriz	^{210}Po (Bq/kg)	^{238}U (Bq/kg)	^{234}U (Bq/kg)
Agua de lixiviado (mBq/kg)	2,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2
	3,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,2
	11,3 ± 0,5	3,8 ± 0,3	4,5 ± 0,3
	4,3 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,2
	0,7 ± 0,1	5,8 ± 0,6	5,7 ± 0,5
	5,2 ± 0,3	29,7 ± 4,3	36,7 ± 5,1
	1,0 ± 0,1	5,7 ± 0,6	5,9 ± 0,6
	5,9 ± 0,4	5,1 ± 0,3	4,7 ± 0,3
Suelo (Bq/kg)	33,3 ± 1,6	9,5 ± 1,1	12,3 ± 1,2
	214,0 ± 6,0	11,2 ± 0,9	13,9 ± 1,1
	35,9 ± 2,1	11,7 ± 1,0	11,3 ± 1,0
	39,6 ± 1,9	12,1 ± 1,1	11,9 ± 1,1
	38,3 ± 1,4	12,8 ± 1,2	14,9 ± 1,3
	37,7 ± 2,3	14,6 ± 1,1	14,0 ± 1,0
	33,2 ± 3,8	13,2 ± 0,9	11,4 ± 0,9
	40,7 ± 1,9	16,7 ± 1,3	11,9 ± 1,2
Espinaca (Bq/kg)	11,4 ± 0,8	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1
	17,1 ± 0,8	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
	12,4 ± 1,3	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1

CONCLUSIONES

Se optimizó e implementó la separación radioquímica de radionucleidos en matrices complejas.

Los resultados obtenidos en los patrones certificados de la IAEA son comparables con los valores certificados, indicando que la separación radioquímica desarrollada es adecuada para la determinación de los radionucleidos de uranio y polonio por espectrometría alfa en las matrices estudiadas. Como trabajo futuro se espera aplicar estas metodologías a otras matrices de interés.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la financiación del Proyecto CSIC I+D 217: "Impacto radiológico del uso de fertilizantes fosfatados en Uruguay".

REFERENCIAS

- Abbady, A. G. E.; Uosif M. A. M. y El-Taher, A., 2005. Natural radioactivity and dose assessment for phosphate rocks from Wadi El-Mashash and El-Mahamid Mines, Egypt. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 84, pp. 65–78.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2005.04.003>
- Al-Masri, M. S.; Al-Akel, B.; Nashawani, A.; Amin, Y.; Khalifa, K. H. y Al-Ain, F., 2008. Transfer of 40K, 238U, 210Pb, y 210Po from soil to plant in various locations in south of Syria. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 99(2), pp. 322–331.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2007.08.021>
- Alam, L. y Mohamed, C. A. R., 2011. A mini review on bioaccumulation of 210Po by marine organisms. En: *International Food Research Journal*, 18(1), pp. 1–10.
- Attallah, M. F.; Metwallya, S. S.; Moussaa, S. I. y Solimanb, M. A., 2019. Environmental impact assessment of phosphate fertilizers and phosphogypsum waste: Elemental and radiological effects. En: *Microchemical Journal*, 146, pp. 789-797.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.001>
- Ba, V. N.; Van Thang, N.; Dao, N. Q.; Thu, H. N. P. y Loan, T. T. H., 2019. Study on the characteristics of natural radionuclides in surface soil in Ho Chi Minh City, Vietnam and radiological health hazard. En: *Environmental Earth Sciences*, 78(1).
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12665-018-8026-x>
- Balaram, V.; Rani, A. y Rathore, D. P. S., 2022. Uranium in groundwater in parts of India and world: A comprehensive review of sources, impact to the environment and human health, analytical techniques, and mitigation technologies. En: *Geosystems and Geoenvironment*, 1(2). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geogeo.2022.100043>
- Bañobre, C.; Diaz-Francés, I.; Scarabino, F.; Fornaro, L. y García-Tenorio, R., 2020. 210Po levels and distribution in different environmental compartments from a coastal lagoon. The case of Briozzo lagoon, Uruguay. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 222, 106352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106352>
- Bolívar, J. P., 1995. *Aplicaciones de la espectrometría gamma y alfa al estudio del impacto radiactivo producido por industrias no nucleares*. Sevilla: Universidad de Sevilla. (Tesis de Doctorado).
- Boumala, D.; Mavon, C.; Belafrites, A.; Tedjani, A. y Groetz, J. E., 2018. Evaluation of radionuclide concentrations and external gamma radiation levels in phosphate ores and fertilizers commonly used in Algeria. En: *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 317, pp. 501-510. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10967-018-5871-8>
- Bramki, A.; Randhane, M. y Benrachi, F., 2018. Natural radioelement concentrations in fertilizers and the soil of the Mila region of Algeria. En: *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 11(1), pp. 49-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2017.08.002>

- Caridi, F.; Marguccio, S.; Belvedere, A.; Belmusto, G.; Marcianò, G.; Sabatino, G. y Mottese, A., 2016. Natural radioactivity and elemental composition of beach sands in the Calabria region, south of Italy. En: *Environmental Earth Sciences*, 75(7).
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5393-z>
- Carvalho, F. P., 2018. Radionuclide concentration processes in marine organisms: A comprehensive review. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 186, pp. 124–130.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2017.11.002>
- Carvalho, F. P., 2011. Polonium (210Po) and lead (210Pb) in marine organisms and their transfer in marine food chains. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 102(5), pp. 462–472. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.10.011>
- Davies, H. S.; Rosas-Moreno, J.; Cox, F.; Lythgoe, P.; Bewsher, A.; Livens, F. R.; Robinson, C. H., y Pittman, J. K., 2018. Multiple environmental factors influence 238U, 232Th and 226Ra bioaccumulation in arbuscular mycorrhizal-associated plants. En: *Science of the Total Environment*, 640–641, pp. 921–934.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.370>
- Díaz-Francés, I., 2014. *El 210Po en la cadena alimenticia humana*. Sevilla: Universidad de Sevilla. (Tesis de Doctorado).
- Dinis, M. de L. y Fiúza, A., 2021. Mitigation of uranium mining impacts. A review on groundwater remediation technologies. En: *Geosciences*, 11(6).
DOI: <https://doi.org/10.3390/geosciences11060250>
- Dutra Garcêz, R. W.; Marques Lopes, J.; Frota Lima, M. A. y Xavier da Silva, A., 2018. Determination of Ra-226, Ra-228 and K-40 specific activities in samples of mineral fertilizers marketed in the city of Rio de Janeiro, Brazil. En: *Applied Radiation and Isotopes*, 141, pp. 199–202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2018.04.013>
- Flynn, W., 1968. The determination of low levels of polonium-210 in environmental materials. En: *Analytica Chimica Acta*, 43(2), pp. 221–227.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)89210-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)89210-7)
- Fowler, S. W., 2011. 210Po in the marine environment with emphasis on its behaviour within the biosphere. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 102(5), pp. 448–461.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.10.008>
- Galhardi, J. A.; Bonotto, D. M.; Eismann, C. E.; Jacques, Y.; Da Silva, A. B.; Balaram, V.; Rani, A., y Rathore, D. P. S., 2020. Uranium in Plants and the Environment. En: *Geosystems and Geoenvironment*, 1(2), pp. 91–111. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-14961-1>
- García-Tenorio, R., 1986. *Estudios sobre el método de fechado por 210Pb y su aplicación a sedimentos*. Sevilla: Universidad de Sevilla. (Tesis de Doctorado).
- Guillén, J. y Gómez-Polo F. M., 2020. Factors influencing the soil to plant transfer of uranium. En: Gupta, D., Walther, C., eds. *Uranium in plants and the environment. Radionuclides and heavy metals in the environment*. pp. 137–147. Berlín: Springer. ISBN: 978-3-030-14960-4. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-14961-1_6
- Hallstadius, L., 1984. A method for the electrodeposition of actinides. En: *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 223(2–3), pp. 266–267.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0167-5087\(84\)90659-8](https://doi.org/10.1016/0167-5087(84)90659-8)
- Holm, E. y Fukai, R., 1977. Method for multi-element alpha-spectrometry of actinides and its application to environmental radioactivity studies. En: *Talanta*, 24(11), pp. 659–664.

- Hurtado-Bermúdez, S.; Mas, J. L. y Villa-Alfageme, M., 2017. A sequential determination of ^{90}Sr and ^{210}Po in food samples. En: *Food Chemistry*, 229, pp. 159–164.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.077>
- IAEA, 2017. *The environmental behaviour of polonium* [En línea]. Vienna: IAEA. (Technical Reports Series, 484). [Consulta: 24 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.iaea.org/publications/10845/the-environmental-behaviour-of-polonium>
- Ivanovich, M. y Harmon, R. S., eds., 1992. *Uranium-series disequilibrium: applications to earth, marine, and environmental sciences*. 2a ed. Oxford: Clarendon Press.
- Jobbágy, V.; Ammel, R. V. y Marouli, M., 2012. *Electrodeposition source preparation for U-238 alpha source: parameter settings*. Geel: European Commission.
DOI: <https://doi.org/10.2787/61226>
- Kratz, S.; Godlinski, F. y Schnug, E., 2011. Heavy metal loads to agricultural soils in Germany from the application of commercial phosphorus fertilizers and their contribution to background concentration in soils. En: Merkel, B. y Schipek, M., eds. *The new uranium mining boom*. Berlin: Springer. pp. 755-762.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-22122-4_86
- Kumar, D.; Singh, A.; Kumar, P.; Jha, R. K.; Sahoo, S. K. y Jha, V., 2020. Sobol sensitivity analysis for risk assessment of uranium in groundwater. En: *Environmental Geochemistry and Health*, 42(6), pp. 1789–1801.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00522-5>
- Luiz do Carmo Leal, A.; da Costa Lauria, D.; Ribeiro, F. C. A.; Viglio, E. P.; Franzen, M. y de Albuquerque Medeiros Lima, E., 2020. Spatial distributions of natural radionuclides in soils of the state of Pernambuco, Brazil: Influence of bedrocks, soils types and climates. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 211, 106046.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.106046>
- Mantero, J., 2013. *Avances en espectrometría alfa y gamma para su aplicación en la evaluación del impacto radiactivo de una industria NORM*. Sevilla: Universidad de Sevilla. (Tesis de Doctorado).
- Mantero, J.; Thomas, R.; Isaksson, M.; Forssell-Aronsson, E.; Holm, E., y García-Tenorio, R., 2019. Quality assurance via internal tests in a newly setup laboratory for environmental radioactivity. En: *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 322(2), pp. 891–900. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10967-019-06769-2>
- Nisti, M. B.; Saueia, C. R.; Malheiro, L. H.; Groppo, G. H. y Mazzilli, B. P., 2015. Lixiviation of natural radionuclides and heavy metals in tropical soils amended with phosphogypsum. En: *Journal of Environmental Radioactivity*, 144, pp. 120–126.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2015.03.013>
- Plaza, S.; Moyano, A.; Charro, E. y Ciria, P., 2006. Estudio de los contenidos en Po-210 y otros radionúclidos en fertilizantes químicos y ecológicos [En línea]. En: SEAE. *Actas del VII Congreso de SEAE: Agricultura y Alimentación Ecológica*. Zaragoza: SEAE. ISBN: 978-84-942437-2-0. [Consulta: 24 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2006/CD%20Congreso%20Zaragoza/Ponencias/69%20Plaza%20Com-%20Estudio.pdf>
- Shaheed, K.; Somasundaram, S. S. N.; Hameed, P. S. y Iyengar, M. A. R., 1997. A study of polonium-210 distribution aspects in the riverine ecosystem of Kaveri, Tiruchirappalli,

- India. En: *Environmental Pollution*, 95(3), pp. 371–377.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(96\)00131-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(96)00131-5)
- Smidt, G. A., 2012. *Mobility of fertiliser-derived uranium in arable soils and its contribution to uranium concentrations in groundwater and tap water*. Bremen: Universidad Jacobs de Bremen. (Tesis de Doctorado).
- Šoštarić, M.; Zgorelec, Ž.; Babić, D.; Šestak, I.; Kisić, I.; Mesić, M. y Perčin, A., 2017. Radioactivity of selected agricultural soils in Croatia: effects of soil properties, soil management, and geological parameters. En: *Water, Air and Soil Pollution*, 228(6).
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3398-1>
- Tagami, K. y Uchida, S., 2020. Soil-to-crop transfer factor: consideration on excess uranium from phosphate fertilizer. En: Gupta, D., Walther, C., eds. *Uranium in Plants and the environment. Radionuclides and heavy metals in the environment*. Berlin: Springer. ISBN: 978-3-030-14960-4. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-14961-1_8
- Uruguay. Ministerio de Desarrollo Social, s.d. *Importaciones de fertilizantes. Total país* [En línea]. Montevideo: MIDES. [Consulta: 24 de mayo de 2023].
Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-desarrollo-social/indicador/importaciones-fertilizantes-total-pais>
- Vera Tomé, F.; Blanco Rodríguez, M. P. y Lozano, J. C., 2002. Study of the representativity of uranium and thorium assays in soil and sediment samples by alpha spectrometry. En: *Appl. Radiat. Isot.*, 56, pp. 393–398.
- Vianna, M. E.; Tauhata, L.; Oliveira, J. P.; Oliveira, A. E.; Garcia, L. C.; da Conceição, C. S., y Clai, A. F., 1995. Quality of radionuclide analysis in environmental samples. En: *Science of the Total Environment*, 173–174, pp. 15–18.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)04745-X](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04745-X)

Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de cadmio en cocoa en polvo y preparada con leche. Aplicación en productos del mercado local

Development and validation of an analytical method for the determination of cadmium in cocoa powder and cocoa powder prepared with milk. Application to products of the local market

Desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica para a determinação de cadmio em cacau em pó e preparado com leite. Aplicação em produtos do mercado local

 NATALY RODRÍGUEZ (1)

 JAVIER SILVA (1)

 FIORELLA IAQUINTA (1)

 MARIELA PISTÓN (1)

(1) Química Analítica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

RECIBIDO: 14/3/2023 → APROBADO: 14/4/2023 ✉ natalyr@fq.edu.uy

RESUMEN

Existe una creciente preocupación respecto al contenido de cadmio (Cd) en los productos derivados del cacao, como la cocoa en polvo; lo que ha llevado al establecimiento de valores de ingesta máxima tolerable de este metal y a la disminución de los niveles máximos (NM) aceptados. En este sentido, es necesario realizar un control sobre los niveles de Cd en estos alimentos, contando con métodos analíticos confiables y amigables con el medio ambiente. Con ese objetivo se desarrolló y validó un método analítico para la determinación de Cd en cocoas puras y en su preparación con leche, la forma de consumo más popular en nuestro país. El método resultó adecuado para el fin definido y presentó como ventaja un menor consumo de ácidos concentrados que el método de referencia de la AOAC International (2016b). Se aplicó para un sondeo del contenido de Cd en muestras disponibles en el mercado local de Montevideo, Uruguay. Si bien todas las muestras tuvieron concentraciones detectables de Cd, resultaron inferiores al NM establecido.

Palabras clave: contaminantes inorgánicos, espectrometría atómica, seguridad alimentaria.

ABSTRACT

There is a growing concern regarding the cadmium (Cd) levels in cacao products and cocoa derivatives. This concern led to the establishment of a tolerable intake and to decrease of the maximum levels (ML). For this reason, levels of Cd on these foods need to be monitored and it is necessary to have reliable and environmentally friendly analytical methods. To fit with this purpose, an analytical method for the determination of Cd in cocoa powder and its preparation with milk was developed and validated. The method turned out to be adequate for the objectives, with the advantage of a minor consumption of acid during the sample preparation that the AOAC International (2016b). This method was applied for the determination of Cd concentration in samples from the local market in Montevideo, Uruguay. Although all samples have a detectable Cd concentration, all were below the maximum levels accepted.

Keywords: inorganic contaminants, atomic spectrometry, food safety.

RESUMO

Nos últimos anos tem aumentado a preocupação respeito ao conteúdo de cádmio (Cd) nos produtos derivados do cacau, como por exemplo, o cacau em pó. Essa preocupação levou a fixar uma ingestão máxima tolerável do metal e a diminuir os níveis máximos (NM) aceitos. Por esses motivos, torna-se necessária a realização de controles dos níveis de Cd nos alimentos mencionados, e para isto, contar com metodologias analíticas de confiança e amigáveis com o meio ambiente. Com esse objetivo se desenvolveu e validou uma metodologia para a determinação de Cd em cacau em pó puro e preparado com leite, principal forma de consumo no nosso país. A metodologia provou-se adequada para o fim proposto e apresentou como vantagem um menor consumo de ácidos concentrados em comparação com a metodologia oficial da AOAC International (2016b). A metodologia foi aplicada na realização de uma sondagem da quantidade de Cd em amostras do mercado local da cidade de Montevideo, Uruguai. Embora todas as amostras tiveram concentrações detectáveis de Cd, todas foram inferiores ao NM estabelecido.

Palavras-chave: contaminantes inorgânicos, espectrometria atômica, segurança alimentar.

INTRODUCCIÓN

El cacao (fruto de la planta *Theobroma cacao L.*) y sus productos derivados son ampliamente consumidos a nivel mundial. El cultivo del cacao es una práctica tradicional y de suma relevancia para el comercio en varios países de América Latina y el Caribe (LAC) (Alcívar et al., 2022). Esta práctica se realiza desde Brasil hasta México y ocupa cerca de 1,8 millones de hectáreas en la región (Sánchez Arizo et. al, 2019).

El consumo regular y moderado de cacao o sus derivados ha sido relacionado con beneficios para la salud debido a su alto contenido de polifenoles, como los flavonoides. Se ha reportado que su ingestión tiene un papel relevante en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, y sobre la resistencia a la insulina, entre otros efectos

benéficos (Hooper et al., 2012). Sin embargo, existe preocupación respecto al aporte a la dieta humana de metales potencialmente tóxicos que podrían contener estos alimentos, ya que la planta de donde se obtiene el cacao es capaz de acumular diversos metales (Chavez et al., 2016). Un contaminante inorgánico que ha ganado relevancia en los últimos años es el cadmio (Cd), cuya presencia en las distintas partes de la planta ocurre en mayor o menor medida, dependiendo de factores como el tipo de suelo y la utilización de fertilizantes fosforados, entre otros (Gramlich et al., 2017).

El Cd es un metal que no tiene ninguna función biológica en los seres vivos. Está presente en el ambiente debido al aporte de fuentes naturales, como la actividad volcánica, y fuentes antropogénicas, como la quema de combustibles, la minería, la manufactura y el uso de fertilizantes que contienen Cd (World Health Organization, 2019). También se utiliza en la industria de pinturas, plásticos, soldaduras y compone las baterías de níquel-cadmio (Alcívar et al., 2022).

La ingesta es la principal vía de exposición al Cd. Y si bien la absorción gastrointestinal de este elemento es baja -aproximadamente 5 % (Godt et al., 2006; Vanderschueren et al., 2022)-, la preocupación respecto a este contaminante ha crecido en los últimos años. La exposición crónica al metal puede causar daños en los riñones, huesos y pulmones debido a su similitud con otros metales como zinc y calcio, pudiendo afectar sus metabolismos (Godt et al., 2006).

Desde hace algunos años existe una gran controversia respecto a la contribución de la cocoa en polvo y otros productos derivados del cacao a la exposición alimentaria al Cd, sobre todo en niños, quienes son los principales consumidores de este tipo de productos. Mientras que en 2013 el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (World Health Organization y FAO, 2013) concluyó que los productos derivados del cacao no tienen una contribución relevante de Cd a la dieta, otro organismo europeo como la European Food Safety Authority (EFSA) publicó el año anterior un informe donde se afirma que sí lo hacen (European Food Safety Authority, 2012; World Health Organization y FAO, 2013).

Debido a esto, la EFSA estableció una ingesta semanal tolerable de 2,5 $\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ de peso corporal. Por otra parte, el JECFA instauró un valor provisional mensual mucho menos severo de 25 $\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ de peso corporal (resultando una ingesta semanal tolerable de aproximadamente 6 $\mu\text{g Cd kg}^{-1}$ de peso corporal).

En 2014, la Comisión Reguladora de la Unión Europea estableció niveles máximos (NM) permitidos de Cd en productos derivados del cacao (European Commission, 2014). Estos NM fueron adoptados por el Codex Alimentarius algunos años más tarde (Codex Alimentarius Commission, 2018).

Recientemente, el Codex Alimentarius, mediante el Comité de Contaminantes en Alimentos, disminuyó aún más los NM de Cd en productos derivados del cacao, entre ellos la cocoa en polvo. Se fijó un límite máximo de 2 mg Cd kg^{-1} en cocoa que contenga o declare 100 % del total de sólidos de cacao sobre la base de materia seca (Codex Alimentarius Commission, 2021a). Esta reducción en el NM causó nuevamente controversia debido al aumento en la tasa de rechazo de las exportaciones, y sus consecuencias para el mercado y para los países productores de cacao, principalmente para los exportadores de LAC (Codex Alimentarius Commission, 2021b).

La discusión generada en torno a los nuevos niveles evidenció la falta de datos científicos sobre el contenido de Cd en productos derivados del cacao y su aporte a la ingesta total. La necesidad de contar con estos datos demuestra la relevancia del desarrollo de métodos analíticos confiables para estas determinaciones.

Este trabajo presenta el desarrollo y la validación de un método analítico para la determinación de Cd en cocoa en polvo y una evaluación preliminar de la concentración de Cd en cocoas presentes en el mercado local de la ciudad de Montevideo, Uruguay. Por otra parte, teniendo en cuenta que la cocoa en polvo no es consumida directamente y que su principal forma de consumo es en preparaciones con leche, se realizó la determinación de Cd en una mezcla de cocoa con leche para realizar una estimación primaria de la transferencia de Cd a una preparación de leche chocolatada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Los patrones de calibración se prepararon a partir de una disolución estándar de Cd comercial para absorción atómica de 1000 mg L⁻¹ (Fluka, NY, USA) y utilizando ácido nítrico (HNO₃) 4,5 mol L⁻¹, preparado a partir de HNO₃ 67 % v/v (Merck, Darmstadt, Alemania).

Se utilizó una disolución de Pd(NO₃)₂ 500 mg L⁻¹ como modificador de matriz, preparada a partir de una disolución comercial de Pd(NO₃)₂ 10 g L⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemania).

Se empleó agua ultrapura de resistividad 18,2 MΩcm (ASTM Tipo I), obtenida mediante un purificador Millipore Direct-Q 3 U (Millipore, Bedford, MA, USA).

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica o superior. El material empleado se descontaminó previamente utilizando ácido nítrico 10 % v/v y se enjuagó exhaustivamente con agua ultrapura.

Muestras

Se analizaron 5 muestras de cocoa en polvo que cumplían con la definición de "cocoa en polvo que contiene o declara el 100 % del total de sólidos de cacao sobre la base de materia seca, lista para el consumo", disponibles en el mercado local de la ciudad de Montevideo, Uruguay.

Tratamiento de muestras

Cocoa preparada con leche

La leche chocolatada se preparó siguiendo las indicaciones de preparación sugeridas en los paquetes de las muestras, 3 g de polvo de cocoa se disolvieron en 50 mL de leche entera a 60 °C, se homogeneizó y se dejó llegar a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó la toma en peso correspondiente para la digestión.

Digestión

Se realizó una digestión ácida asistida por microondas utilizando un equipo digester CEM, Mars 6, provisto con 12 vasos del tipo Easy Prep Plus® (Matthews, NC, USA). Se pesaron 0,5 g de muestra (cocoa en polvo en base tal cual o cocoa preparada como leche chocolatada) en los vasos de reacción del equipo de microondas y se agregaron 10 mL de HNO₃ (4,5 mol L⁻¹). La digestión de muestras complejas utilizando ácido diluido ha sido previamente reportada por nuestro grupo de investigación, como una alternativa al uso de reactivos concentrados, disminuyendo así la cantidad y peligrosidad de los residuos (Machado et al., 2016, Pistón et al., 2019, Iaquinta et al., 2021).

Se utilizó un método de digestión diseñado para alimentos provisto por el equipo. Consiste en una rampa de calentamiento que alcanzó una temperatura de 210 °C y luego se mantuvo a esta temperatura durante 15 min. Después del enfriado se realizó un transvase cuantitativo del producto de la digestión y se llevó a un volumen final de 13,00 mL con agua ultrapura.

Determinación de cadmio

Las determinaciones analíticas se realizaron mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS), utilizando un equipo Thermo Scientific iCE 3500 equipado con módulo atomizador de horno de grafito calefaccionado transversalmente (GFS35Z) y un módulo automuestreador (GFS33) (Cambridge, Reino Unido). Se usó 5 µg de paladio como modificador de matriz, la longitud de onda de medida fue de 228,8 nm. En la Figura 1 se presenta el programa de optimización de las temperaturas de pirólisis y atomización obtenidos.

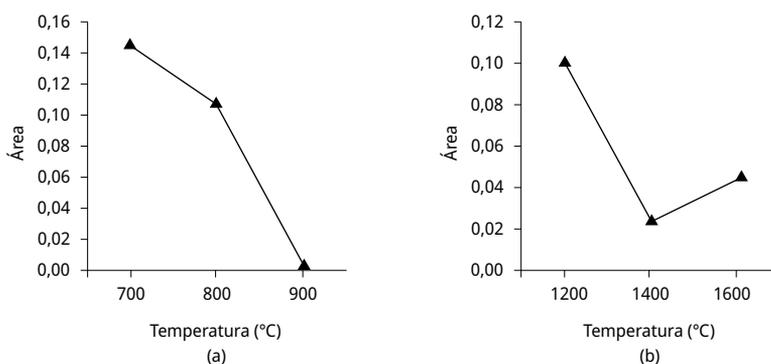


FIGURA 1. Programas de optimización de las temperaturas de pirólisis (a) y atomización (b).

De acuerdo con esta optimización se seleccionan las condiciones experimentales que se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1. Programa de temperatura para la determinación de cadmio.

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Flujo de gas (L min ⁻¹)
Secado	110 °C	40	0,3
Pirólisis	700 °C	12	0,3
Atomización	1200 °C	3	Apagado
Limpieza	2500 °C	5	0,3

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y se determinaron en simultáneo los blancos de reactivos.

Validación del método analítico

Para la evaluación de la metodología desarrollada se determinaron las principales cifras de mérito recomendadas por la guía europea de validación Eurachem: linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y veracidad (Magnusson y Örnemark, 2014).

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) fueron expresados como el contenido del analito correspondiente a 3 y 10 veces la desviación estándar de la concentración del blanco (criterio 3s y 10s). La linealidad fue evaluada mediante inspección visual de las curvas de calibración, el valor del coeficiente de determinación (R^2) y el estudio de aleatoriedad de los residuales. La precisión fue estudiada como desviación estándar relativa porcentual (RSD %) utilizando réplicas de muestra ($n = 5$). La veracidad fue evaluada como porcentaje de recuperación a partir de material de referencia certificado de leche descremada en polvo para elementos traza (ERM-BD150, valor certificado $0,0114 \pm 0,0029$ mg Cd kg⁻¹) y de harina de arroz (1568a NIST, valor certificado $0,022 \pm 0,002$ mg Cd kg⁻¹) y a partir de fortificaciones sobre muestra ($3 \mu\text{g L}^{-1}$ o $78 \mu\text{g kg}^{-1}$, $n = 4$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método analítico

Los resultados de la validación se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2. Cifras de mérito obtenidas.

Límite de detección (mg kg ⁻¹ en base húmeda / $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,003 / 0,103
Límite de cuantificación (mg kg ⁻¹ en base húmeda / $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,009 / 0,342
Veracidad (% recuperación) ($n = 4$)*	69 – 106
Precisión (RSD %) ($n = 5$)	2,3 %
Linealidad (0 - $4 \mu\text{g L}^{-1}$)	$R^2 > 0,99$

*Rango obtenido considerando análisis de CRM ERM-BD150, CRM 1568a NIST y fortificaciones sobre muestra a $3 \mu\text{g L}^{-1}$

Si bien las cifras de mérito estarían indicando que el método analítico es adecuado para el fin propuesto, en análisis de alimentos se deben considerar los criterios de calidad fijados por la AOAC. Estos criterios se establecen para métodos de rutina destinados a la vigilancia de metales pesados en alimentos y bebidas, según la monografía AOAC 2012.007 (AOAC International, 2016a).

Respecto a la detectabilidad, la AOAC establece que el límite de detección debe ser menor a $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ expresado en la matriz sólida, criterio que el método propuesto cumple ampliamente. Además, considerando el NM establecido para Cd (2 mg kg^{-1}), es de destacar que los límites de detección y cuantificación del método propuesto son inferiores por varios órdenes, por lo que la detectabilidad resultó adecuada para esta aplicación. Asimismo, son del orden de los obtenidos por reportes anteriores, como el de Lo Dico et al. (2018), para un estudio similar.

Para la evaluación de la precisión, se establece que el RSD % en condiciones de repetibilidad debe ser menor al 15 % para los niveles de concentración considerados, una exigencia mayor a la que surge de la distribución de Horwitz, cercana al 20 % para la concentración de trabajo (Rivera y Rodríguez, 2010). El método propuesto presenta una precisión superior, considerando cualquiera de los criterios. Por último, según la AOAC, la veracidad evaluada como porcentaje de recuperación (ya sea de materiales de referencia o de muestras fortificadas) se debe encontrar entre 60 y 115 %; los valores obtenidos por el método propuesto están dentro de ese rango, por lo que se consideran adecuados para nuestros niveles de trabajo.

Es así que el método desarrollado cuenta con las características de desempeño adecuadas para el objetivo planteado. Además, se utiliza solamente ácido nítrico diluido como reactivo para la digestión, lo que ofrece una ventaja respecto al método de referencia de la AOAC 999.10:2005 (AOAC International, 2016b).

Determinación de Cd en muestras

En esta evaluación se encontró gran variabilidad en las concentraciones de Cd en las distintas muestras, que puede deberse a sus diferencias de origen. Factores como el pH del suelo, la cantidad de materia orgánica, el contenido de iones como zinc y calcio -que dependiendo de sus niveles compiten con la absorción de Cd- también pueden afectar la cantidad y distribución del Cd en la planta. Además, las condiciones de plantación y manejo del cacao, así como el uso de fertilizantes, también generan variabilidad (Gramlich et al., 2017). Solamente dos de las muestras analizadas indicaban su origen, siendo una de ellas de Brasil y la otra de Perú.

Por otra parte, para todas las muestras analizadas el contenido de Cd hallado fue menor al NM establecido por el Codex Alimentarius (2 mg kg^{-1}) (Codex Alimentarius Commission, 2021a). No obstante, todas las muestras contenían Cd en valores cuantificables, lo que justifica ampliamente el monitoreo de este alimento para recopilar datos y realizar estudios sobre cómo afectaría a la salud el consumo habitual del metal durante un largo periodo de tiempo, aunque sea en muy pequeñas cantidades. Resulta muy importante también considerar la forma en que se consume este producto, generalmente en otras preparaciones derivadas, lo que puede disminuir su verdadero acceso a los organismos vivos.

Respecto a la evaluación de la transferencia del Cd desde la cocoa hacia una preparación como una leche chocolatada, se realizó un ensayo simple en el que la transferencia resultó ser menor al 21 %. Si bien es necesario tener en cuenta que pueden existir variaciones en la transferencia debido a otros factores, como el tipo de leche o la cocoa utilizada, esto muestra que el contenido del elemento realmente ingerido es bastante inferior al contenido total. Cabe aclarar que la leche utilizada en la preparación fue analizada en forma independiente para determinar el posible aporte de Cd, y el metal no fue detectado.

Estos estudios de transferencia no suelen ser reportados, pero son una primera aproximación de relevancia ya que estiman de mejor manera la cantidad que efectivamente es ingerida. Es claro que si la materia prima de partida está dentro de los NM admitidos se espera que los derivados sean seguros, pero hay que tener presente también los intereses comerciales de los países productores, quienes se verán muy afectados por las tasas de rechazo de sus productos.

Los resultados obtenidos a partir de las muestras analizadas se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3. Concentración de cadmio en muestras del mercado local.

Muestra	Concentración \pm s (mg kg ⁻¹)
1	0,086 \pm 0,001
2	0,240 \pm 0,006
3	0,052 \pm 0,006
4	0,364 \pm 0,011
5	0,418 \pm 0,016
Cocoa preparada con leche (n = 6)	<0,003

s: desviación estándar de duplicados de muestra.

Concentración: valor promedio de duplicados de muestra.

Aproximación a la contribución a la ingesta semanal tolerable

A modo de ejemplo, solamente para reafirmar la importancia de los monitoreos, los cuales se pueden realizar utilizando el método propuesto, se consideró una situación hipotética: el consumo de cocoa preparada con leche entera siguiendo la preparación sugerida por los fabricantes (2 cucharadas o 12 g de cocoa en polvo por taza de preparación); considerando que el polvo de cocoa tuviese una concentración media de Cd, como la de los resultados obtenidos (0,240 mg kg⁻¹), y suponiendo un consumo semanal de 7 tazas de leche preparada con esta cocoa (1 taza al día). El consumo de Cd en estas condiciones sería de 20 μ g, lo que representaría un 40 % de la ingesta semanal tolerable establecida por la EFSA (2,5 μ g Cd kg⁻¹ de peso corporal) para un niño promedio de 6 años y 20 kg de peso corporal. Esta situación hipotética consideró un 100 % de transferencia del Cd desde la cocoa a la leche chocolatada consumida, lo cual es una situación conservadora.

En el sondeo realizado, la transferencia de Cd desde una de las cochas hacia la preparación resultó ser muy inferior; este hallazgo sugiere una menor contribución a la ingesta semanal tolerable. Sin embargo, no hay estudios que indiquen como afectará este consumo en pequeñas cantidades a lo largo de la vida, ya que el Cd está presente en estos alimentos y seguramente en otros que se consumen en la dieta total.

Cabe destacar que la ingesta semanal tolerable es la máxima cantidad, en este caso de Cd, que puede ingerir una persona semanalmente, durante toda su vida, sin manifestar efectos adversos (European Food Safety Authority, s.d.). Además, para el establecimiento de este valor es necesario realizar estudios que contemplen variables que van desde el contenido total de Cd en los distintos alimentos hasta los hábitos de consumo regionales y por edades, y considerando factores como la transferencia o pérdida de elemento durante la preparación o la absorción del elemento al organismo luego de todos los procesos gastrointestinales. Los factores mencionados ponen de manifiesto que se necesitan más estudios para evaluar la contribución de Cd a través de la dieta en las personas, y sus consecuencias a la salud.

Es claro que estos estudios deben realizarse con mayor número de muestras para confirmar tendencias y obtener conclusiones que aporten en la toma de decisiones.

CONCLUSIONES

Se desarrolló y validó un método analítico para la determinación de Cd en cocoa en polvo y su preparación con leche que cumplió con todas las especificaciones requeridas para ser considerado una alternativa confiable de análisis de estos alimentos. Además, el método desarrollado es más amigable con el ambiente dado que disminuye el consumo de ácido concentrado respecto al método de referencia de la AOAC para análisis de alimentos.

Se realizó una evaluación preliminar del contenido de Cd en cochas en polvo disponibles en el mercado local de Montevideo, constatándose una variación importante en las concentraciones halladas y encontrándose todos los valores muy por debajo del nivel máximo establecido por el Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 2021a). Complementariamente, se discutió sobre el posible aporte de Cd de este alimento a la ingesta semanal tolerable. En este sentido, es importante que se realicen monitoreos de los niveles de este contaminante en productos derivados del cacao, ya que el producto estudiado contiene niveles detectables del metal. Si bien las cantidades halladas son pequeñas, es un producto de consumo a largo plazo. El monitoreo colaboraría a la generación de una base de datos para evaluar el posible efecto de una ingesta prolongada.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Programa de Ciencias Básicas por la financiación recibida.

REFERENCIAS

- Alcívar, L. E. A.; Demera, M. H. D. y Macías, C. J. G., 2022. Cadmio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) y sus efectos ambientales. En: *La Técnica*, 91.
DOI: https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i0.4324
- AOAC International, 2016a. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20a ed. Gaithersburg: AOAC. Official Method 2012.007.
- AOAC International, 2016b. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20a ed. Gaithersburg: AOAC. Official Method 999.10.
- Chavez, E.; He, Z.; Stoffella, P.; Mylavarapu, R.; Li, Y. y Baligar, V., 2016. Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. En: *Chemosphere*, 150, pp. 57-62.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>
- Codex Alimentarius Commission, 2018. *Report of the 12th session of the Codex Committee on Contaminants in Foods*. Roma: FAO.
- Codex Alimentarius Commission, 2021a. *Maximum levels for cadmium in chocolates and cocoa-derived products* [En línea]. Roma: FAO. [Consulta: 14 de mayo de 2023]. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-14%252FWDs-2021%252Fcf14_06e.pdf
- Codex Alimentarius Commission, 2021b. *Informe de la 14ª reunión del comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos* [En línea]. Roma: FAO. [Consulta: 14 de marzo de 2023]. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-14%252FREPORT%252FFinalReport%252FREP21_CFs.pdf
- European Commission, 2014. *Commission Regulation (EU) No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs* [En línea]. [s.l.]: European Commission. [Consulta: 14 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32014R0488>
- European Food Safety Authority, 2012. Cadmium dietary exposure in the European population. En: *EFSA Journal*, 10(1), pp. 2551.
DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>
- European Food Safety Authority, s.d. *TWI* [En línea]. [s.l.]: European Food Safety Authority. [Consulta: 14 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary/twi>
- Gramlich, A.; Tandy, S.; Andrés, C. R.; Paniagua, J. C.; Armengot, L.; Schneider, M. y Schulin, R., 2017. Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. En: *Science of The Total Environment*, 580, pp. 677-686. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>
- Godt, J.; Scheidig, F.; Grosse-Siestrup, C.; Esche, V.; Brandenburg, P.; Reich, A. y Groneberg, D. A., 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. En: *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1(1).
DOI: <https://doi.org/10.1186/1745-6673-1-22>
- Hooper, L.; Kay, C. D.; Abdelhamid, A.; Kroon, P. A.; Cohn, J. F.; Rimm, E. B. y Cassidy, A., 2012. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a

- systematic review and meta-analysis of randomized trials. En: *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(3), pp. 740-751. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.023457>
- Iaquinta, F.; Lopes Fialho, L.; Nóbrega, J.A.; Pistón, M. y Machado, I., 2021. Determination of Cd, Pb and Se in beef samples using aerosol dilution by ICP-MS. En: *Food Measurement and Characterization*, 15, pp. 4105-4111. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00999-3>
- Lo Dico, G. M. L., Galvano, F., Dugo, G., D'ascenzi, C., Macaluso, A., Vella, A. y Ferrantelli, V., 2018. Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. En: *Food Chemistry*, 245, pp. 1163-1168. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.052>
- Machado, I.; Dol, I.; Rodríguez-Arce, E.; Cecio, V. y Pistón, M., 2016. Comparison of different sample treatments for the determination of As, Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. subsp. *Cardunculus*). En: *Microchemical Journal*, 128, pp. 128-133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.04.016>
- Magnusson, B. y Örnemark, U., 2014. *Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods - a laboratory guide to method validation and related topics*. 2a ed. Torino: Eurachem. ISBN: 978-91-87461-59-0
- Pistón Pedreira, M.M., Silva, J., Suárez, A., Belluzzi, M., Iaquinta, F., Panizzolo, L., Méndez, C. y Cerminara, M., 2019. Estudio del contenido de selenio en carne vacuna luego del proceso de cocción. En: *INNOTEC*, (19), pp.37-51. DOI: <https://doi.org/10.26461/19.05>
- Rivera, C.A. y Rodríguez, M.R., 2010. *Uso de la ecuación de Horwitz en laboratorios de ensayo NMX-EC-17025-IMNC-2006* [En línea]. En: CENAM. *Simposio de metrología 2010*. Santiago de Querétaro, México (27-29 de octubre de 2010). Santiago de Querétaro: CENAM. [Consulta: 6 de setiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.cenam.mx/sm2010/info/pviernes/sm2010-vp03c.pdf>
- Sánchez Arizo, V. H.; Zambrano Mendoza, J. L. e Iglesias, C., 2019. *La cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe*. Quito: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina. ISBN: 978-9942-36-465-4.
- Vanderschueren, R.; Doevenspeck, J.; Goethals, L.; Andjelkovic, M.; Waegeneers, N. y Smolders, E., 2022. The contribution of cacao consumption to the bioaccessible dietary cadmium exposure in the Belgian population. En: *Food and Chemical Toxicology*, 172, 113599. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113599>
- World Health Organization y FAO, 2013. *Evaluation of certain food additives and contaminants: 77th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Roma: FAO.
- World Health Organization, 2019. *Preventing disease through healthy environments: exposure to cadmium: a major public health concern* [En línea]. Ginebra: WHO. (No. WHO/CED/PHE/EPE/19.4.3). [Consulta: 14 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-EPE-19-4-3>

Efecto del periodo de almacenamiento de oleogeles de aceite de girasol común sobre su comportamiento térmico y deterioro oxidativo

Effect of storage period of common sunflower oil oleogels on their thermal behaviour and oxidative deterioration

Efeito do período de armazenamento dos oleogeles comuns de óleo de girassol no seu comportamento térmico e deterioração oxidativa

 **JIMENA LÁZARO** (1)

 **NADIA SEGURA** (1)

 **NATALIA MARTÍNEZ** (1)

 **BRUNO IRIGARAY** (1)

(1) Área Grasas y Aceites, Departamento Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

RECIBIDO: 9/3/2023 → APROBADO: 18/4/2023  birig@fq.edu.uy

RESUMEN

Los oleogeles son especialmente importantes ya que pueden ser empleados como reemplazo de materiales grasos para uso alimentario, aunque su utilización queda condicionada por su vida útil. En este marco, se estudiaron las propiedades térmicas de los oleogeles de aceite de girasol común (AG) con ceras de abeja (CA) y de carnauba (CC) como estructurantes, a distintas concentraciones, por calorimetría diferencial de barrido, y el deterioro oxidativo a temperatura ambiente en función del tiempo de almacenamiento. De acuerdo con los termogramas de fusión de los oleogeles, el aumento de la concentración de estructurante provocó un incremento en las temperaturas de pico. Los rangos asociados a la temperatura de desestructuración variaron entre 26.3 y 60.8 °C, y 35.9 y 86.1 °C, mientras que las entalpías correspondientes variaron desde 1.5 a 6.5 J/g y 3.3 a 13.3 J/g para CA y CC, respectivamente. Los resultados de los parámetros asociados al deterioro oxidativo de los oleogeles con CC fueron los más elevados. Ello indica que los oleogeles con CA tienen una mayor resistencia a la oxidación y, por ende, mayor estabilidad oxidativa. En conclusión, los oleogeles estudiados solo podrían ser utilizados en alimentos con una vida útil menor a 6 meses.

Palabras clave: ceras, estructuración, estabilidad.

ABSTRACT

Oleogels are particularly important as they can be used as a replacement for fatty materials for food use, although their use is conditioned by their shelf life. In this context, thermal properties of sunflower oil (AG) oleogels with beeswax (CA) and carnauba wax (CC) as structurants at different concentrations were studied by differential scanning calorimetry, and their oxidative deterioration at room temperature as a function of storage time. According to oleogels melting thermograms, the increase of the structurant concentration caused an increase in the peak temperatures. The ranges associated with the destructuring temperature were between 26.3 and 60.8 °C and 35.9 and 86.1 °C while the corresponding enthalpies ranged from 1.5 to 6.5 J/g and 3.3 to 13.3 J/g for CA and CC, respectively. The results for oxidative deterioration were higher for the CC oleogels. This indicates that CA oleogels have a higher resistance to oxidation and thus higher oxidative stability. In conclusion, the oleogels studied could only be used in foods with a shelf life of less than 6 months.

Keywords: waxes, structuring, stability.

RESUMO

Os oleogeles são particularmente importantes porque podem ser utilizados como substitutos de materiais gordos para uso alimentar, embora a sua utilização esteja condicionada pelo seu prazo de validade. Neste contexto, as propriedades térmicas dos oleogeles de óleo de girassol (AG) com cera de abelha (CA) e cera de carnaúba (CC) como estruturantes em diferentes concentrações foram estudadas por calorimetria diferencial de varrimento, e a sua deterioração oxidativa à temperatura ambiente (20 °C) em função do tempo de armazenamento. De acordo com os termogramas de fusão dos oleogeles, o aumento da concentração estruturante provocou um aumento das temperaturas de pico. Os intervalos associados à temperatura de desestruturação situavam-se entre 26,3 e 60,8 °C, e 35,9 e 86,1 °C enquanto as entalpias correspondentes variaram de 1,5 a 6,5 J/g e 3,3 a 13,3 J/g para CA e CC, respectivamente. Os resultados para a deterioração oxidativa foram mais elevados para os oleogeles CC. Isto indica que os oleogeles CA têm uma maior resistência à oxidação e, portanto, uma maior estabilidade oxidativa. Em conclusão, os oleogeles formados só poderiam ser utilizados em alimentos com prazo de validade inferior a 6 meses.

Palavras-chave: cera, estruturação, estabilidade.

INTRODUCCIÓN

Los geles son formulaciones semisólidas conformadas por dos componentes básicos, un componente líquido (solvente) y un agente gelificante (o estructurante) que se caracteriza por su capacidad para generar una red tridimensional en el seno del líquido. Los geles se forman típicamente mediante el "atrapamiento" de la fase de solvente dentro de la red 3D del agente gelificante. Se denomina organogel al gel donde el líquido es un

solvente orgánico apolar (Shakeel et al., 2019), y oleogel a un tipo de organogel donde el líquido es un aceite. Por lo tanto, los oleogeles son materiales que parecen sólidos y que reológicamente se comportan como tales, aunque una gran parte de su contenido permanece líquido (más del 90 % es aceite). Son anhidros, termorreversibles, mantienen su forma y son materiales viscoelásticos estructurados por redes supramoleculares tridimensionales de moléculas de oleogelante unidas entre sí (Doan et al., 2015). La oleogelación se genera mediante la dispersión del oleogelante en el aceite en caliente hasta obtener su solubilidad total, seguida por el enfriamiento del sistema por debajo de cierta temperatura a la cual el oleogelante desarrolla una fase sólida en el aceite (Dassanayake et al., 2011).

Conocer el comportamiento de los oleogeles desde el punto de vista de la estabilidad oxidativa es de gran importancia cuando se plantea su uso en productos alimentarios, ya que se debe asegurar la calidad de los alimentos. Es de esperar que los oleogeles se oxiden a menor velocidad que un aceite almacenado debido a que el aceite contenido se encuentra atrapado en una red de estructurante (Hwang et al., 2018). En este sentido, Sobolev et al. (2022) reportaron que el uso de cera de abeja como estructurante para la preparación de oleogeles puede mejorar su estabilidad oxidativa. Otros autores han reportado que los compuestos minoritarios presentes en los agentes estructurantes pueden ser promotores de un incremento en la estabilidad oxidativa de los oleogeles (Luo et al., 2019; Giacintucci et al., 2018). Además, algunos de estos componentes minoritarios contribuyen a la estabilidad estructural durante la formación de los oleogeles (Martins et al., 2022; Gaudino et al., 2019).

De esa manera, en este trabajo se propone como objetivo el estudio de las propiedades térmicas y oxidativas de los oleogeles formulados con aceite de girasol común y ceras de abeja y carnauba utilizadas a diferentes concentraciones, en función del tiempo de almacenamiento (6 meses) a temperatura ambiente (20 °C).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de oleogeles y determinación de la concentración crítica de oleogelante

Se prepararon 10 gramos de mezclas de aceite de girasol común refinado (AG) de origen comercial (COUSA) con ceras de abeja (CA) y carnauba (CC) suministradas por Sigma-Aldrich, Alemania. Para ello se pesó una cantidad de aceite en un tubo de 22 mL sellado y luego se agregó la cantidad necesaria de cera, de tal forma de alcanzar porcentajes máxicos desde 1.0 % hasta 5.0 %. Se colocó en estufa a 90 °C y se agitó para homogeneizar la mezcla hasta la completa disolución de la cera. La mezcla homogeneizada se dejó en reposo a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) durante 24 horas. Luego de transcurrido el tiempo de reposo, el tubo se invirtió para observar si su contenido deslizaba por la pared o no (Sagiri et al., 2015; Blake y Marangoni, 2014). La concentración crítica es la mínima concentración de cera a la cual la mezcla no desliza por las paredes del tubo.

Preparación de oleogeles para el estudio de las propiedades térmicas y oxidativas

Una vez determinada la concentración crítica del agente estructurante, se establecieron distintas concentraciones de CA y CC para la preparación de los oleogeles.

La preparación se realizó mediante el método descrito anteriormente, agregando cantidades de agente estructurante al aceite en concentraciones de 2.0, 4.0 y 6.0 % m/m para CA, y 3.0, 5.0 y 7.0 % para CC. Posteriormente, se retiró de la estufa y se dejó en reposo a 20 ± 2 °C durante un período de tiempo de 6 meses.

Propiedades térmicas

Para el análisis térmico se pesaron aproximadamente 35 mg de oleogel fundidos en cápsulas de aluminio y posteriormente se analizaron en un DSC Shimadzu 60A Plus. Las muestras se fundieron en el DSC a 100 °C para borrar la memoria cristalina. Luego fueron enfriadas hasta 5 °C a -10 °/min para después llegar a los -50 °C a la máxima velocidad alcanzada por el DSC, permaneciendo a dicha temperatura durante 30 minutos. Finalmente se calentaron a una velocidad de 5 °/min hasta los 100 °C.

Composición en ácidos grasos

El aceite se derivatizó a sus ésteres metílicos según la técnica IUPAC 2.301 (IUPAC, 1987) mediante metilación a temperatura ambiente con KOH-metanol 2 N. Posteriormente, los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo marca Shimadzu, modelo 2014, equipado con una columna SP2560 (100 metros de largo, 0.25 mm de diámetro y 0.20 μ m de espesor de film), y con un detector de ionización de llama. La identificación de los ácidos grasos se realizó utilizando una mezcla estándar de 37 ésteres metílicos de ácidos grasos suministrada por Sigma-Aldrich (FAME mix, C4-C24). El programa de temperatura utilizado fue el siguiente: un plateau inicial de 90 °C durante 2 minutos, seguido por un calentamiento empleando una rampa lineal de 20 °/min hasta alcanzar 175 °C, permaneciendo a dicha temperatura durante 35 minutos; y finalmente un calentamiento utilizando una rampa lineal de 15 °/min hasta alcanzar los 240 °C, permaneciendo a dicha temperatura durante 25 minutos. La inyección fue de 1 μ L en modalidad split (relación 1:50), el gas portador fue nitrógeno, la temperatura del inyector fue de 260 °C, y el detector de ionización de llama (FID) se termostató a 340 °C.

Valor de peróxidos

El valor de peróxidos se determinó utilizando el método oficial de AOCS Cd 8-53 (American Oil Chemists' Society, 1990). Las determinaciones se realizaron por triplicado y se informó el promedio correspondiente.

Coeficientes de extinción en el UV (K232 y K270)

Los coeficientes de extinción se determinaron con un espectrofotómetro Shimadzu UVmini-1240 a las longitudes de onda de 232 nm y 270 nm mediante el método oficial COI/T20 Doc N° 19 (Consejo Oleícola Internacional, 2019). Las determinaciones se realizaron por triplicado y se informó el promedio correspondiente.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos correspondientes al valor de peróxidos y a los coeficientes de extinción en el UV fueron analizados mediante el programa Infostat versión 2020 (Di Rienzo et al., 2020) para el cálculo del valor medio y el análisis de varianza (LSD Fischer) con un nivel de confianza de 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Tabla 1, el aceite de girasol estudiado presentó un contenido elevado en ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, por lo que se esperaba que tuviera un bajo punto de fusión.

TABLA 1. Composición en ácidos grasos del aceite de girasol.

Ácido graso	Contenido (%)
14:0	0.1
16:0	5.7
16:1 n-7 <i>cis</i>	0.1
18:0	3.5
18:1 n-9 <i>cis</i>	42.1
18:2 n-6 <i>cis</i>	46.7
20:0	0.3
18:3 n-3 <i>cis</i>	0.3
20:1 n-11 <i>cis</i>	0.2
22:0	0.8
24:0	0.2
Ácidos grasos saturados (SFA)	10.6
Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA)	42.4
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)	47.0

La Figura 1 muestra los termogramas de cristalización y fusión para AG, CA y CC. El termograma de fusión obtenido para AG se presenta en la Figura 1a, donde se observa un pico a la temperatura de $-22.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (T_{peak}) correspondiente a la fusión de varios tipos de triglicéridos, en su gran mayoría del tipo U3 (formado por tres ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados) (Firestone, 2006) ya que contiene una elevada cantidad en MUFA y PUFA (Tabla 1). Se observó que el aceite a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ se encuentra completamente líquido, lo cual era de esperar debido a su composición rica en triglicéridos del tipo U3. Ello concuerda con lo esperado para un aceite que fue winterizado, ya que en dicho proceso fueron removidos compuestos de alto punto de fusión (ceras, triglicéridos saturados, etcétera).

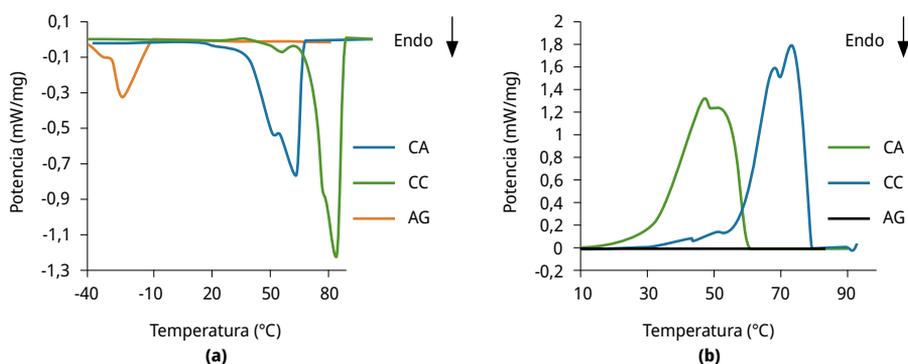


FIGURA 1. Termogramas de fusión (a) y cristalización (b) para CA, CC y AG.

Por otra parte, los termogramas de fusión de ambas ceras no presentaron picos a temperaturas por debajo de los $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, por lo que se encuentran completamente sólidas a temperaturas inferiores. La temperatura de comienzo de fusión para CA fue de $23.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, presentando un primer pico a $53.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y otro de mayor intensidad a $62.8\text{ }^{\circ}\text{C}$. En el caso de CC se observó que comienza a fundir a $48.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, presentando un pico a $83.4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A su vez, la temperatura de finalización de fusión para CA y CC fue de $67.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $86.8\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. En consecuencia, los rangos de fusión se encuentran alrededor de $23.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $67.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para CA, y entre $48.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $86.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ para CC. Blake y Marangoni (2014) mencionan para la cera de carnauba un punto de fusión de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que Buchwald et al. (2008) refieren para la cera de abeja un punto de fusión de $63\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $68\text{ }^{\circ}\text{C}$. Es importante tener en cuenta que las diferencias en la composición que existen entre las ceras de un mismo origen pueden modificar los valores mencionados. Asimismo, los resultados obtenidos se encuentran en los rangos mencionados o muy cercanos a ellos.

Las entalpías de fusión para CA y CC fueron de $158.5 \pm 4.7\text{ J/g}$ y $167.4 \pm 5.0\text{ J/g}$, respectivamente; por lo que no mostraron diferencias significativas entre sí. Yilmaz y Öğütçü (2014) reportaron valores de entalpías de fusión para la cera de carnauba de 199.7 J/g . Estos valores son marcadamente diferentes al obtenido para el aceite de girasol ($57.5 \pm 2.4\text{ J/g}$). Ello evidencia que las estructuras cristalinas formadas luego del enfriamiento de las ceras son notoriamente más estables que las formadas en el caso del aceite, ya que requieren de una mayor energía por unidad de masa para su fusión.

El comportamiento térmico durante el enfriamiento desde 90 °C a 10 °C (Figura 1b) mostró que CA y CC comenzaron a cristalizar a una temperatura de 61,7 °C y 78,6 °C, respectivamente. Yilmaz y Öğütçü (2014) reportaron un valor de 77.9 °C para la temperatura de comienzo de cristalización de la cera de carnauba. Tal como era de esperar, el aceite no presentó ningún pico vinculado a un proceso de cristalización en dicho rango.

Con respecto a la formación de los oleogeles, se encontró que la concentración crítica de los oleogeles de SFO fue de 2.0 % para CA y de 3.0 % para CC a 20 °C. Para el estudio de las propiedades térmicas de los oleogeles de AG, con CA y CC como oleogelantes, se utilizaron las concentraciones críticas obtenidas anteriormente, así como también concentraciones superiores, 4.0 y 6.0 % de CA, y 5.0 y 7.0 % de CC.

La Figura 2 muestra los termogramas de fusión y cristalización de los oleogeles estructurados con CA y CC a las concentraciones de 2.0, 4.0 y 6.0 %, y 3.0, 5.0 y 7.0 %, respectivamente, a tiempo inicial (t0) y luego de 6 meses (t6) de almacenamiento a 20 °C.

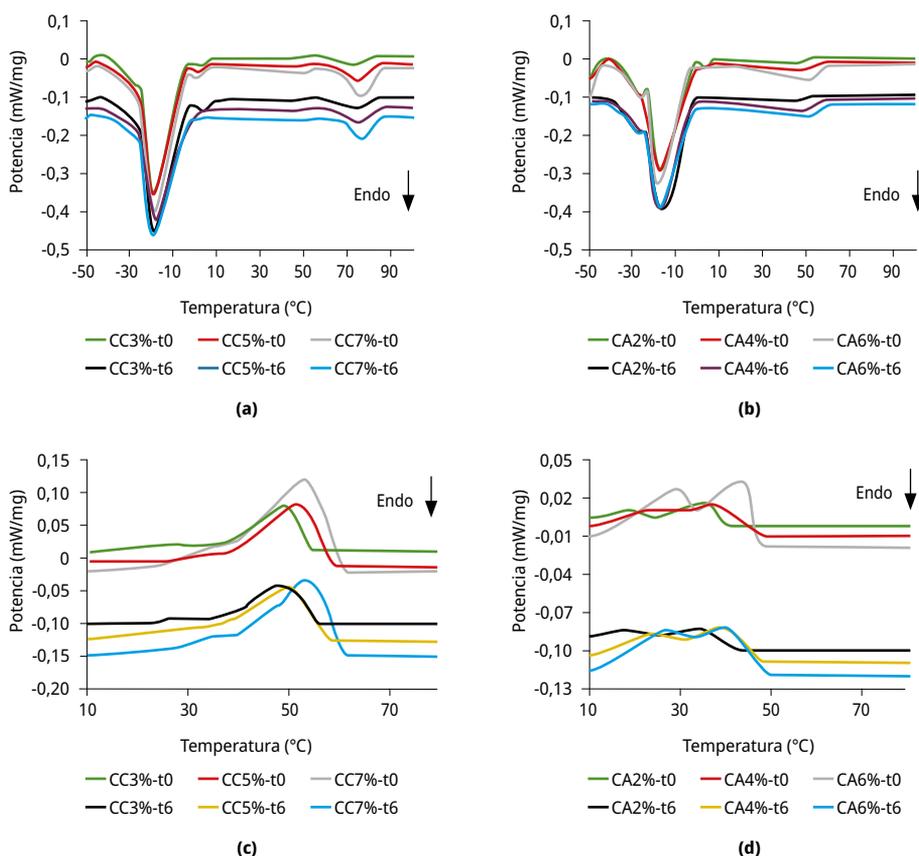


FIGURA 2. Termogramas de fusión (a y b) y cristalización (c y d) para los oleogeles estructurados con CA y CC a tiempo 0 y 6 meses.

Se observó que los termogramas de fusión (Figura 2a y b) presentaron dos zonas: una primera zona entre -43 y 10 °C, correspondiente a la fusión del aceite, y otra zona

a temperaturas por encima de los 10 °C, asociada a la desestructuración del oleogel formado como consecuencia del agregado de cera. La zona de desestructuración del oleogel es característica del tipo de estructurante utilizado. La Tabla 2 muestra las temperaturas de pico y los rangos de desestructuración de los oleogeles de AG preparados con cera de carnauba y abeja a tiempo inicial. En el caso de la CA, se observó una zona de fusión asociada a la desestructuración del oleogel que presentó un rango aproximado entre 26 y 61 °C, mientras que para la CC fue entre 36 y 86 °C. Estos rangos se aproximaron a los rangos de fusión que presentaron las ceras puras, tal como se vio en la Figura 1a. Por otra parte, se observó que a medida que disminuyó el contenido de cera en el oleogel, las temperaturas de pico (T_{peak}) y los rangos de temperatura asociados a la desestructuración se desplazaron hacia temperaturas menores.

TABLA 2. Temperatura de pico y rangos de desestructuración para los oleogeles de AG formados con CC y CA a tiempo 0.

		Fracción en masa (%)		
CC (%)		3.0	5.0	7.0
Rango de fusión (°C)		(35.9-84.4) ± 0.2	(37,6-85.0) ± 0.2	(38.2-86.1) ± 0.2
T_{peak} (°C)	I	42.7 ± 0.1	46.7 ± 0.1	49.9 ± 0.1
	II	73.7 ± 0.1	75.1 ± 0.1	76.6 ± 0.1
CA (%)		2.0	4.0	6.0
Rango de fusión (°C)		(26.3-56.8) ± 0.2	(27.9-59.6) ± 0.2	(28.4-60.8) ± 0.2
T_{peak} (°C)		44.8 ± 0.1	47.7 ± 0.1	50.0 ± 0.1

A su vez, se observó que los rangos de temperatura para la desestructuración de los oleogeles no se vieron afectados apreciablemente luego de transcurridos los 6 meses de almacenamiento (Figura 2a y b). La Figura 3 muestra las entalpías de fusión para los oleogeles de AG estructurados con CA y CC a tiempo inicial y a los 6 meses de almacenamiento. Se comprobó que la entalpía de fusión para los oleogeles a lo largo del tiempo no se vio drásticamente modificada en la mayoría de los casos. Solo el oleogel estructurado con CC al 7.0 % presentó una disminución importante en la entalpía de fusión. Este resultado evidencia que existe un marcado cambio en la estructura del oleogel que podría deberse a un incremento en su deterioro oxidativo (Hwang, 2020).

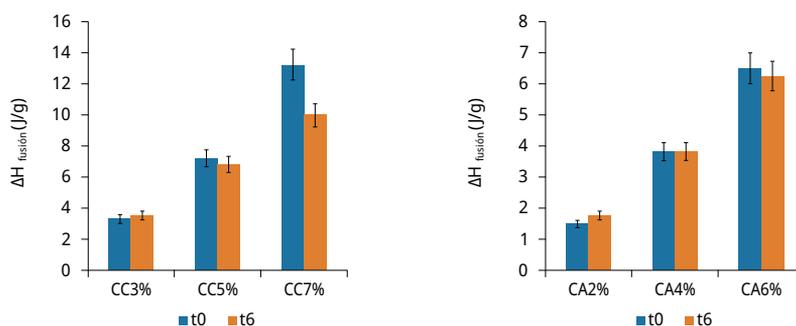


FIGURA 3. Entalpías de fusión para los oleogeles de AG preparados con CC y CA a tiempo 0 y a los 6 meses de almacenamiento.

Los termogramas de cristalización de los oleogeles estructurados con CA y CC (Figura 2c y d) presentaron diferentes perfiles térmicos que variaron según el tipo y la concentración de cera utilizada. La Figura 4 muestra cómo varió la temperatura onset (T_{onset}) de cristalización para los oleogeles preparados con ambas ceras en concentraciones diferentes en función del tiempo de almacenamiento. Esta temperatura refleja el inicio de la formación del oleogel, lo cual depende del tipo y la concentración de cera utilizada. El incremento de la concentración de cera provocó un aumento de la T_{onset} de cristalización, lo cual es concordante con lo reportado por Toro-Vazquez et al. (2007). Durante el enfriamiento a temperaturas muy inferiores a las de fusión de la cera (superenfriamiento), los componentes se separan en fases cristalinas que forman agregados y se interconectan para conformar una red tridimensional que atrapa físicamente el aceite en una estructura de gel (Patel et al., 2015). Entonces un aumento en la concentración de ceras genera más interacciones entre las moléculas del oleogelante, lo que conlleva a la formación temprana de la estructura del gel con respecto a los geles que contienen una concentración menor.

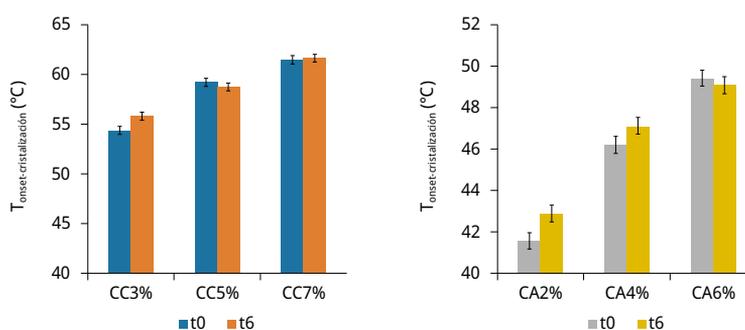


FIGURA 4. Temperaturas onset para la cristalización de los oleogeles estructurados con CA y CC a tiempo 0 y 6 meses.

La Figura 5 muestra las entalpías de cristalización de los oleogeles de CA y CC a tiempo 0 y 6 meses. La entalpía o calor de cristalización representa el área comprendida en una zona de temperatura, que puede involucrar uno o más picos exotérmicos,

obtenida del termograma de cristalización. Para ello se consideró el rango de temperatura entre el inicio de la cristalización del oleogel y 10 °C. En la Figura 2c y d se observa que concentraciones mayores de ceras mostraron áreas más grandes debajo de la curva del termograma, lo que implica que las entalpías de cristalización durante la formación del oleogel fueron mayores a mayor concentración de cera (Figura 5). Este comportamiento es concordante con la tendencia de la entalpía de fusión en función de la concentración de oleogelante (Figuras 3 y 5). Luego de 6 meses de almacenamiento, la entalpía de cristalización no presentó cambios para la mayoría de los oleogeles.

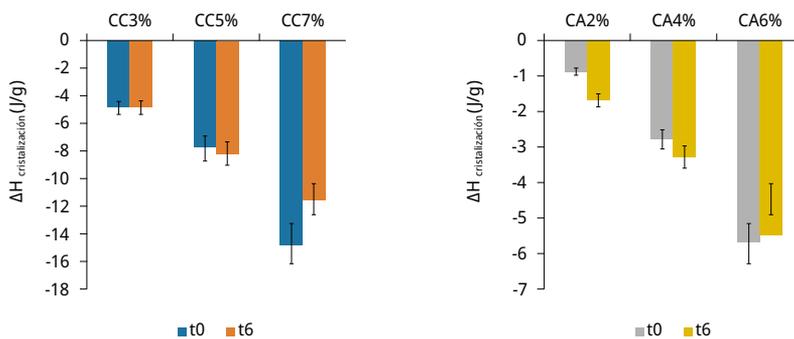


FIGURA 5. Entalpías de cristalización de los oleogeles estructurados con CA y CC a tiempo 0 y 6 meses.

Por otro lado, se evaluó el deterioro oxidativo de los oleogeles en función del tiempo de almacenamiento, para lo cual se determinaron el valor de peróxidos (VP) y los coeficientes de extinción al UV (Tabla 3).

TABLA 3. Valores de índice de peróxidos y coeficiente de extinción para los oleogeles estructurados con CA y CC con sus correspondientes desviaciones estándar.

		AG sin estructurar	CC3%	CC5%	CC7%	CA2%	CA4%	CA6%
VP	t0	1.9 ± 0.1 ^h	4.8 ± 0.1 ^a	4.9 ± 0.1 ^a	5.5 ± 0.2 ^a	8.6 ± 0.3 ^c	7.1 ± 0.2 ^b	7.0 ± 0.2 ^b
	t6	Nd	32.3 ± 0.8 ^e	42.1 ± 0.6 ^g	37.7 ± 1.5 ^f	37.4 ± 0.3 ^f	28.8 ± 1.3 ^d	36.7 ± 0.3 ^f
K ₂₃₂	t0	3.14 ± 0.03 ^a	7.75 ± 0.09 ^e	6.17 ± 0.35 ^c	8.23 ± 0.94 ^f	3.63 ± 0.02 ^b	3.77 ± 0.01 ^b	3.52 ± 0.06 ^{ab}
	t6	Nd	8.25 ± 0.08 ^f	8.80 ± 0.08 ^g	9.35 ± 0.20 ^h	6.69 ± 0.02 ^d	6.08 ± 0.04 ^c	7.29 ± 0.08 ^e
K ₂₇₀	t0	2.10 ± 0.01 ^b	2.31 ± 0.05 ^c	2.31 ± 0.04 ^c	3.24 ± 0.44 ^f	1.01 ± 0.02 ^a	1.08 ± 0.01 ^a	0.99 ± 0.02 ^a
	t6	Nd	2.05 ± 0.02 ^b	2.60 ± 0.02 ^d	2.99 ± 0.05 ^e	1.03 ± 0.01 ^a	1.02 ± 0.01 ^a	1.05 ± 0.03 ^a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Nd: no fue determinado.

El VP es una medida del contenido de hidroperóxidos totales presentes en la muestra. La absorbancia a 232 nm (K232) determina fundamentalmente la presencia de hidroperóxidos del ácido linoleico (dienos conjugados). La absorbancia a 270 nm (K270) determina la presencia de productos obtenidos de la oxidación secundaria y de trienos conjugados presentes en aceites refinados. De acuerdo con la Tabla 3, los oleogeles estructurados con CA presentaron valores de VP significativamente superiores a los de CC a t₀, y a su vez al del aceite sin estructurar. Ello indica que los oleogeles presentaron mayor grado de deterioro oxidativo como consecuencia de su proceso de obtención.

Los valores iniciales de peróxidos para los oleogeles se encontraron entre 4.8 y 8.6 meq O₂ activo/kg de muestra, mientras que luego de 6 meses alcanzaron valores significativamente más elevados, comprendidos entre 28.8 y 42.1 meq O₂ activo/kg de muestra. Los oleogeles estructurados con CC presentaron un incremento mayor del contenido de hidroperóxidos totales que los estructurados con CA en función del tiempo de almacenamiento, lo que indica un mayor grado de deterioro oxidativo para los oleogeles de CC. A su vez, no se observó una tendencia definida en la variación de los valores de VP con la concentración de estructurante, sino que estarían relacionados más con el tipo de estructurante utilizado como se discutió anteriormente.

Todos los oleogeles a t₆ superaron el máximo valor de VP establecido por la normativa bromatológica vigente para aceites comestibles refinados (10 meq O₂/Kg) (Uruguay. Ministerio de Salud Pública, 1994). Los valores del coeficiente de extinción a 232 nm (K₂₃₂) también presentaron un incremento significativo luego de 6 meses de almacenamiento para todos los oleogeles, siendo mayor para los de CA. Esto es consistente con la tendencia general en los valores de VP, aunque se esperaba que tal incremento fuera mayor para los oleogeles estructurados con CC. El comportamiento de los coeficientes de extinción (K232) resulta llamativo ya que desde el inicio (t₀) los oleogeles de CC mostraron valores de K232 más altos que los oleogeles de CA, siendo que estos últimos fueron los que presentaron los valores de hidroperóxidos totales más elevados. Por lo que es posible que existan algunos componentes característicos de la CC que absorban a 232 nm, interfiriendo principalmente con la medida de los hidroperóxidos del linoleico.

Por otra parte, los coeficientes de extinción a 270 nm de los oleogeles estructurados con CA permanecieron constantes durante el período de almacenamiento e independientes de la concentración de cera, a diferencia de los oleogeles estructurados con CC. De todas maneras, los valores de los coeficientes de extinción no pueden ser comparables entre oleogeles estructurados con diferentes tipos de oleogelantes, debido a que es una medida dependiente de la composición del material graso completo. Si bien el aceite es el mismo las ceras son de distinta naturaleza, por lo que presentan una composición química diferente. Por lo tanto, a diferencia de los VP, no sería correcto considerar los resultados de K232 y K270 para obtener una conclusión válida.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, los oleogeles estructurados con CC presentaron un grado de deterioro oxidativo más alto que los estructurados con CA en función del tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, se podría decir que los oleogeles estructurados con CA evidenciaron mayor resistencia a la oxidación y, por lo tanto, mayor estabilidad oxidativa.

Frolova et al. (2021) aseguran que los oleogeles presentan una estabilidad menor a los aceites de partida, habiendo encontrado valores de periodo de inducción a 90 °C menores

para los oleogeles preparados que para el aceite de partida. También mencionan que seguramente la menor estabilidad oxidativa puede deberse a componentes minoritarios presentes en las ceras. Estos comentarios son razonables debido a que las ceras poseen una alta complejidad en diversos compuestos químicos.

CONCLUSIONES

Todos los oleogeles preparados mostraron un marcado deterioro oxidativo luego de 6 meses de almacenamiento, el cual está más vinculado con el tipo de estructurante que con su concentración. Los oleogeles estructurados con CC presentaron un grado de deterioro oxidativo más alto que los estructurados con CA en función del tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, se podría decir que los oleogeles estructurados con CA presentaron mayor resistencia a la oxidación, y por lo tanto mayor estabilidad oxidativa.

El periodo de almacenamiento no afectó el comportamiento térmico de los oleogeles, ya que se mantuvieron las características térmicas propias de acuerdo con el tipo y la concentración de estructurante utilizado; con lo cual seguramente los oleogeles conserven su utilidad desde el punto de vista térmico. Sin embargo, los parámetros oxidativos estudiados estarían indicando la necesidad de un estricto control y seguimiento de las materias primas utilizadas, así como de los oleogeles preparados, a los efectos de asegurar su calidad con el propósito final de su consumo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) y al Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA) por el apoyo económico.

REFERENCIAS

- American Oil Chemists' Society, 1990. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4a ed. Champaign: AOCS. Official method Cd 8-53.
- Blake, A. I. y Marangoni, A. G., 2014. Structure and physical properties of plant wax crystal networks and their relationship to oil binding capacity. En: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 91(6), pp. 885-903. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2435-0>
- Buchwald, R.; Breed, M. D. y Greenberg, A. R., 2008. The thermal properties of beeswaxes: unexpected findings. En: *Journal of Experimental Biology*, 211(1), pp. 121-127. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.007583>
- Consejo Oleícola Internacional, 2019. *Method of analysis. Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. COI/T.20/Doc. No 19*. [En línea]. Madrid: COI. [Consulta: 16 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-19-Rev.-5-2019-2.pdf>

- Dassanayake, L. S. K.; Kodali, D. R. y Ueno, S., 2011. Formation of oleogels based on edible lipid materials. En: *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16(5), pp. 432-439.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.05.005>
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C. W., 2020. *InfoStat* [En línea]. Versión 2020. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. [Consulta: 20 de febrero de 2023]. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- Doan, C. D.; Van der Walle, D.; Dwettinck, K. y Patel, A. R., 2015. Evaluating the oil-gelling properties of natural waxes in rice bran oil: Rheological, thermal and microstructural study. En: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 92(86), pp. 801-811.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2645-0>
- Firestone, D., 2006. *Physical and chemical characteristics of oils, fats, and waxes*. 2a. ed. Champaign: AOCS Press.
- Frolova, Y. V.; Sobolev, R. V.; Sarkisyan, V. A. y Kochetkova, A. A., 2021. Approaches to study the oxidative stability of oleogels. En: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677(3), 032045. DOI: 10.1088/1755-1315/677/3/032045
- Gaudino, N., Ghazani, S. M.; Clark, S.; Marangoni, A.G. y Acevedo, N.C., 2019. Development of lecithin and stearic acid based oleogels and oleogel emulsions for edible semisolid applications. En: *Food Res. Int.*, 116, pp. 79-89.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.021>
- Giacintucci, V., Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Flamminii, F., Gravelle, A. J., Baylis, B., Dutcher, J. R., Marangoni, A. G. y Pittia, P., 2018. Ethylcellulose oleogels with extra virgin olive oil: the role of oil minor components on microstructure and mechanical strength. En: *Food Hydrocolloids*, 84, pp. 508-514.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.030>
- Hwang, H. S.; Fhaner, M.; Winkler-Moser, J. K. y Liu, S. X., 2018. Oxidation of fish oil oleogels formed by natural waxes in comparison with bulk oil. En: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 120(5), 1700378. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700378>
- Hwang, H. S., 2020. A critical review on structures, health effects, oxidative stability, and sensory properties of oleogels. En: *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101657. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101657>
- IUPAC, 1987. *Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives*. 7ma ed. Oxford: Blackwell. Method 2.301.
- Luo, S. Z.; Hu, X. F.; Jia, Y. J.; Pan, L. H.; Zheng, Z.; Zhao, Y. Y.; Mu, D. D.; Zhong, X. Y.; Jiang, S. T., 2019. Camellia oil-based oleogels structuring with tea polyphenol-palmitate particles and citrus pectin by emulsion-templated method: Preparation, characterization and potential application. En: *Food Hydrocoll.*, 95, pp. 76-87.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.016>
- Martins, A. J., Cerqueira, F., Vicente, A. A., Cunha, R. L., Pastrana, L. M. y Cerqueira, M. A., 2022. Gelation behavior and stability of multicomponent sterol-based oleogels. En: *Gels*, 8(37), pp. 1-15, DOI: <https://doi.org/10.3390/gels8010037>
- Patel, A. R.; Babaahmadi, M.; Lesaffer, A. y Dewettinck, K., 2015. Rheological profiling of organogels prepared at critical gelling concentrations of natural waxes in a triacylglycerol solvent. En: *J. Agric. Food Chem.*, 63, pp. 4862-4869.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01548>

- Sagiri, S. S.; Singh, V. K.; Pal, K.; Banerjee, I. y Basak, P., 2015. Stearic acid based oleogels: a study on the molecular, thermal and mechanical properties. En: *Mater Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, 48, pp. 688-699, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.018>
- Shakeel, A.; Farooq, U.; Iqbal, T.; Yasin, S. y Lupi, F. R., 2019. Key characteristics and modeling of bigels systems: A review. En: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*, 97, pp. 932-953, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.075>
- Sobolev, R.; Frolova, Yu.; Sarkisyan, V.; Makarenko, M. y Kochetkova A., 2022. Effect of beeswax and combinations of its fractions on the oxidative stability of oleogels. En: *Food Bioscience*, 48, 101744. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101744>
- Toro-Vazquez, J. F.; Morales-Rueda, J. A.; Dibildox-Alvarado, E.; Charó-Alonso M.; Alonzo-Macias M. y González-Chávez, M. M., 2007. Thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. En: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 84(11), pp. 989-1000. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1139-0>
- Uruguay. Ministerio de Salud Pública, 1994. *Reglamento bromatológico nacional, decreto 315/994* [En línea]. Cap. 17. Montevideo: IMPO. pp. 147-151. [Consulta: 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994>
- Yılmaz, E. y Öğütçü, M., 2014. Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. En: *Grasas y Aceites*, 65(3). DOI: <https://doi.org/10.3989/gya.0349141>

Estudio cinético de la cristalización de fases grasas con agregado de fitoesteroles mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Kinetic study of the crystallization of fat blends with added phytosterols by differential scanning calorimetry (DSC)

Estudo cinético da cristalização de misturas graxas com adição de fitoesteróis por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

 **AGUSTÍN RUBBO** (1)

 **GABRIELA MARTÍNEZ** (1)

 **YAMILA PAEZ** (1)

 **JUAN MIHALIK** (1)

 **BRUNO IRIGARAY** (1)

 **NATALIA MARTÍNEZ** (1)

 **NICOLÁS CALLEJAS** (1)

(1) Área Grasas y Aceites, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

RECIBIDO: 21/12/2022 → APROBADO: 8/3/2023 ✉ ncallejas@fq.edu.uy

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el estudio de los parámetros cinéticos de la cristalización isotérmica de fases grasas a distintas temperaturas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC, por su sigla en inglés). Las fases grasas consistieron en mezclas de aceite de salvado de arroz completamente hidrogenado (FHRBO) y aceite de soja (SBO) en diferentes proporciones (20, 25, 30, 35 y 40 % de FHRBO), siendo ambos materiales previamente purificados. Además, se seleccionaron algunas de las mezclas y se les adicionó una cantidad conocida de fitoesteroles. Los parámetros cinéticos fueron obtenidos aplicando el modelo de Avrami, el cual determina el periodo de inducción (generación de núcleos cristalinos, t_i), el mecanismo de nucleación (exponente de Avrami, n) y el grado de crecimiento cristalino (constante cinética de velocidad, k). Se observó que a mayor contenido de FHRBO y menor temperatura de cristalización, t_i se reduce y k aumenta, llevando a una cinética más rápida, lo cual era esperable por el aporte de

triglicéridos tri-saturados y un mayor grado de sobreenfriamiento. En la mezcla con 35 % de FHRBO, el agregado de fitoesteroles enlenteció la cinética (aumento de t_i y reducción de k); sin embargo, en la de 20 % de FHRBO aumentó tanto t_i como k .

Palabras clave: modelo de Avrami, sobreenfriamiento, composición lipídica, componentes menores.

ABSTRACT

The aim of the work was to study the kinetic parameters of the isothermal crystallization of fat blends at different temperatures by differential scanning calorimetry (DSC). The fat blends are composed of fully hydrogenated rice bran oil (FHRBO) and soybean oil (SBO) at different proportions (20, 25, 30, 30, 35 and 40 % FHRBO), being both materials previously purified. In addition, some blends were selected and added a known amount of phytosterols. Kinetic parameters were quantified by applying the Avrami model that determines the induction period (generation of crystal nuclei, t_i), nucleation mechanism (Avrami exponent, n) and crystal growth (kinetic constant, k). It was observed that higher percentage of FHRBO and lower crystallization temperature t_i decrease and k increase. The faster kinetics observed is due to the contribution of tri-saturated triglycerides and a higher degree of supercooling. In the blend with 35 % of FHRBO, the addition of phytosterols at the concentrations studied promoted an increase in t_i and a reduction in k , prolonging nucleation and generating a slow crystal growth. However, for the blend with 20 % of FHRBO an increase in t_i and k was observed.

Keywords: Avrami model, supercooling, lipid composition, minor components.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar os parâmetros cinéticos da cristalização isotérmica de misturas graxas em diferentes temperaturas por calorimetria diferencial de varredura (DSC). As misturas graxas consistiam em óleo de farelo de arroz totalmente hidrogenado (FHRBO) e óleo de soja (SBO) em diferentes proporções (20, 25, 30, 30, 35 e 40 % FHRBO), sendo ambos os materiais previamente purificados. Além disso, algumas das misturas foram selecionadas e uma quantidade conhecida de fitoesteróis foi adicionada a elas. Os parâmetros cinéticos foram quantificados pela aplicação do modelo de Avrami que determina o período de indução (geração de núcleos cristalinos, t_i), o mecanismo de nucleação (expoente de Avrami, n) e o grau de crescimento do cristal (constante cinética, k). Observou-se que quanto maior e a proporção de FHRBO e menor a temperatura de cristalização t_i diminui e k aumenta, levando a uma cinética mais rápida, o que é consistente com a contribuição de triglicéridos tri-saturados e maior grau de super-resfriamento. Na mistura com 35 % de FHRBO, a adição de fitoesteróis promoveu um aumento de t_i e redução de k , prolongando a nucleação e retardando o crescimento dos cristais. Por outro lado, na mistura com 20 % de FHRBO observou-se aumento de t_i e k .

Palavras-chave: modelo do Avrami, super-resfriamento, composição lipídica, componentes menores.

INTRODUCCIÓN

Las grasas y los aceites comestibles son básicamente mezclas complejas de triglicéridos (TAG), compuestos mayoritarios constituyentes de estos materiales en aproximadamente un 95 % (Marangoni, 2013a). Por este motivo, la composición en ácidos grasos y la manera en la que se distribuyen en los TAG son el factor determinante sobre sus propiedades de cristalización (Marangoni, 2013a). Cuando un material graso cristaliza, se lleva a cabo un proceso complejo que implica la formación de una red cristalina. Las características de esa red cristalina dependen del comportamiento de cristalización, el cual está influenciado por los tipos de TAG presentes, y por cómo interactúan y se empaquetan espacialmente (Basso et al., 2010).

Antes del comienzo de la cristalización de un TAG en el material graso, este último debe estar en una condición termodinámica favorable para promover la generación de un sólido a partir de una fase líquida (Toro-Vazquez et al., 2002). Esta condición es conocida como sobreenfriamiento, la cual ocurre a partir de temperaturas por debajo de la temperatura de cristalización del material graso sin que la cristalización se haya iniciado. En esa condición, los TAG forman pequeños agregados cristalinos no estables en equilibrio con la fase líquida (Marangoni, 2013b). Para que se promueva la obtención de agregados estables (núcleos cristalinos) se requiere tiempo, siendo por lo general un proceso lento. Una vez que se obtienen los agregados estables, el proceso de cristalización ocurre de forma espontánea (Marangoni, 2013b). Estos agregados continúan creciendo, formando así los cristales. Los cristales formados pueden generar interacciones entre ellos, conduciendo a la conformación de la red cristalina (Basso et al., 2010).

La cristalización cumple un rol muy importante en productos como el chocolate, las cremas para untar y las margarinas (Sato, 2001; Hubbes et al., 2018). Si bien las características de la red cristalina obtenida en este tipo de productos influyen en la textura y las propiedades viscoelásticas, estudiar la cinética de la cristalización permite conocer más en detalle los fenómenos anteriormente mencionados que ocurren durante el desarrollo de dicha red.

Por lo general, los materiales grasos que se destinan para su uso en alimentos suelen presentar características particulares. La más importante es que no presenten ácidos grasos trans de origen industrial, ya que diversos estudios nutricionales han demostrado la relación directa entre el consumo de estos ácidos grasos y el incremento en los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL), provocando un aumento en el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular (Oteng y Kersten, 2020). La industria alimentaria ha tenido que recurrir a cambios en los materiales grasos para cumplir con este aspecto. En términos generales, alternativas tecnológicas como la hidrogenación completa, el mezclado y la interesterificación han mostrado ser convenientes y versátiles para el diseño de materiales grasos comestibles cero-trans (Ribeiro et al., 2009; Zuher et al., 2018; Segura y Jachmanián, 2020; Callejas et al., 2021).

Las mezclas suelen estar constituidas por materiales grasos en diferentes proporciones, generalmente un aceite y otro material que aporte un contenido de ácidos grasos saturados, de modo tal que les confiera estructura y consistencia. De esta forma la mezcla resultante presenta el suficiente contenido de sólidos para dar estabilidad a la red cristalina formada. Dentro de los aceites se destaca el aceite de soja (SBO) por ser

económico, por estar disponible en grandes cantidades, por sus cualidades nutricionales (alto aporte de ácidos grasos linoleico y linolénico) y por su alta funcionalidad, lo que lo convierte en una materia prima interesante (Ribeiro et al., 2009).

Dentro de los materiales grasos con alto grado de saturación, el aceite de palma, la grasa vacuna y los aceites vegetales completamente hidrogenados han funcionado exitosamente como materia prima (Zuher et al., 2018; Segura y Jachmanián, 2020; Callejas et al., 2021). Estos últimos, a diferencia de los aceites parcialmente hidrogenados, no contienen ácidos grasos trans.

La cinética de la cristalización es característica de cada material graso y depende de las propiedades fisicoquímicas del material y del tratamiento de enfriamiento aplicado (Mursalin et al., 2016). Mediante el análisis de la cinética de cristalización es posible obtener parámetros cinéticos importantes tales como el mecanismo de nucleación y la velocidad de crecimiento cristalino (Mursalin et al., 2016).

El proceso de cristalización en materiales grasos puede ser estudiado a través de diferentes modelos (Toro-Vazquez et al., 2002). Sin embargo, el que se utiliza más frecuentemente es el modelo de Avrami (Narine et al., 2006). El modelo de Avrami fue desarrollado originalmente para describir la cinética de transición de líquido a sólido en metales (Avrami, 1941). Luego se aplicó a la cristalización de polímeros (Sharples, 1966); mientras que en lípidos, los primeros estudios se realizaron para describir la nucleación y cristalización del aceite de palma (Kawamura, 1980).

La expresión básica en condiciones isotérmicas de la ecuación del modelo de Avrami está dada por:

$$F_t = 1 - e^{-k \cdot t^n} \quad (1)$$

Donde F_t es la cristalización relativa y representa la fracción de una variable vinculada al estado sólido de la muestra, definida generalmente como la relación entre la variable a tiempo "t" y su valor máximo a la temperatura de cristalización. La constante k representa la velocidad de crecimiento cristalino y es función de la temperatura. El exponente de Avrami (n), también referido como índice de cristalización, indica el mecanismo de crecimiento cristalino. Dicho parámetro es una función combinada que depende del tiempo, el tipo de nucleación (esporádica o instantánea) y el número de dimensiones en el cual tiene lugar el crecimiento cristalino (Hubbes et al., 2018).

Los parámetros cinéticos del modelo se obtienen por medio de datos experimentales a lo largo del tiempo. Según Mursalin et al. (2016), los datos experimentales que se utilizan para ajustar el modelo son obtenidos por medio del contenido de sólidos (SFC), determinado por resonancia magnética nuclear de pulsos (p-RMN); o por la entalpía de cristalización, determinada por calorimetría diferencial de barrido (DSC). La técnica más adecuada para caracterizar el proceso de cristalización es p-RMN (Foubert et al., 2003). Sin embargo, la técnica de DSC presenta como ventajas un estricto control de temperatura y un pequeño tamaño de muestra que reduce la influencia de agentes externos en la cristalización (Foubert et al., 2003). Por lo mencionado anteriormente, la técnica de DSC, muy utilizada en el área de los lípidos, es capaz de proporcionar datos cinéticos confiables y reproducibles a partir de los termogramas de cristalización isotérmica (MacNaughtan

et al., 2006). Sumado a lo anterior, permite determinar propiedades asociadas con la fusión del material graso (Supaphol y Spruiell, 2000).

Si bien la presencia de compuestos minoritarios (fosfolípidos, glicéridos parciales y compuestos con carácter antioxidante) en los materiales grasos es baja, presentan una mayor polaridad y en algunos casos un comportamiento anfífilo con respecto a los triglicéridos. Estos compuestos han sido considerados agentes que afectan la cristalización (Metin y Hartel, 2005; Smith et al., 2011; Buscato et al., 2018).

Los fitoesteroleos muestran un gran interés comercial debido a las implicancias positivas en la salud humana (reducción del LDL) y se encuentran presentes, en contenidos muy bajos, en los aceites vegetales, granos y frutos (Daels et al., 2018). Katan et al. (2003) reportó que los fitoesteroleos son responsables de la disminución de aproximadamente un 10 % del LDL en la sangre humana. Debido a eso, resulta atractiva la adición de esta clase de compuestos en los materiales grasos como ingrediente para formulaciones de alimentos funcionales. En la industria alimentaria, los fitoesteroleos se agregan en formulaciones de margarinas (Belitz et al., 2009). Sin embargo, su adición podría influenciar el comportamiento de la cristalización y generar problemas durante el proceso de producción o en las propiedades mecánicas (Daels et al., 2017).

En este estudio, las mezclas preparadas fueron enfriadas rápidamente hasta alcanzar diferentes temperaturas de cristalización a los efectos de promover su cristalización isotérmica. El objetivo fue determinar el efecto de la temperatura de cristalización, la composición química de las mezclas y el agregado de diferentes contenidos de fitoesteroleos sobre la cinética de cristalización. La ecuación del modelo de Avrami fue utilizado para obtener los parámetros cinéticos asociados al mecanismo de nucleación y al crecimiento cristalino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos materiales grasos: aceite de soja refinado (SBO), marca Río de la Plata (Uruguay), el cual fue adquirido en un comercio local; y aceite de salvado de arroz completamente hidrogenado (FHRBO), obtenido previamente mediante un proceso de hidrogenación completa en un reactor Parr de 250 mL (4570HP/HT Parr Instrument Company, Illinois, USA), montado y puesto a punto en el Área Grasas y Aceites del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Química (Udelar), para dicho fin (Callejas et al., 2021). La hidrogenación fue realizada bajo 15 bar de presión de H₂ y 120 °C, utilizando un 5 % en peso de un catalizador comercial (PRICAT 9910, de Johnson Matthey, London, UK). Luego de 3 horas de reacción el FHRBO fue obtenido, verificándose que la reacción fuera completa por análisis de la composición en ácidos grasos (método descrito más adelante), que muestra la ausencia de ácidos grasos trans en el material graso. Los fitoesteroleos consistieron en una mezcla de Brassicasterol (11 %), Campesterol (39 %) y β -sitoesterol (51 %), provistos por Sigma-Aldrich.

Previo a la obtención de las mezclas, ambos materiales grasos fueron purificados con el propósito de remover el contenido de compuestos minoritarios como tocoferoles, fitoesteroleos, ácidos grasos libres, monoglicéridos y diglicéridos. Para esto, se hizo fluir por gravedad cada material graso por una columna con alúmina neutra activada según el

método AOCS (American Oil Chemist's Society, 2009a). Como resultado de la purificación se verificó la remoción de un 99 % de tocoles totales (tocoferoles + tocotrienoles). Este análisis indirecto permitió inferir que la columna con alúmina fue capaz de remover en gran medida otros compuestos con grupos químicos de similares características a las de los tocoferoles (como los fitoesteres y glicéridos parciales).

Preparación de las mezclas

Cinco mezclas con contenidos de FHRBO desde 20 hasta 40 %, en incrementos del 5 % en peso, fueron preparadas mezclando cada material graso en viales de 4 mL hasta alcanzar una masa final próxima a los 2 gramos de mezcla. Luego fueron venteadas con nitrógeno y cerradas herméticamente para ser transferidas a un agitador orbital a 200 rpm durante 15 minutos a 70 °C para su completa homogenización.

Mezclas con agregado de fitoesteres

A las mezclas con 20 y 35 % de FHRBO se les agregaron diferentes contenidos de fitoesteres (1 %, 2 % y 4 % en peso). Para esto se prepararon 8 gramos de mezcla, luego se separaron 2 gramos a los cuales se les adicionó el contenido de fitoesteres correspondiente, obteniéndose tres sistemas compuestos por una mezcla de composición definida con diferentes niveles de fitoesteres. Luego todas las mezclas con fitoesteres fueron venteadas con nitrógeno y cerradas herméticamente para ser transferidas a un agitador orbital a 200 rpm durante 15 minutos a 70 °C hasta su completa solubilización y homogenización.

Determinación de la composición en ácidos grasos

Los materiales grasos (SBO y FHRBO) fueron previamente derivatizados a sus correspondientes ésteres metílicos según AOCS (American Oil Chemist's Society, 2009b). Los ésteres fueron luego analizados por GC utilizando un cromatógrafo Shimadzu modelo 14B equipado con FID y una columna capilar Supelco SP2330 (30 m x 0,25 mm x 0,20 µm). El programa de temperatura inició a los 160 °C, se aumentó la temperatura hasta los 225 °C a una velocidad de 5 °C/min, y luego se mantuvo a dicha temperatura durante 10 minutos. Se utilizó nitrógeno como gas portador. La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo por comparación de los tiempos de retención con los correspondientes al análisis de un estándar de ésteres metílicos de los ácidos grasos (provistos por Sigma-Aldrich), bajo las mismas condiciones cromatográficas. Los análisis fueron realizados por duplicado y el promedio de los valores, informado.

Determinación de la composición en triglicéridos

Los materiales grasos (SBO y FHRBO) fueron disueltos en acetona (30 mg/mL), y la separación de los triglicéridos y su composición fueron analizadas directamente por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un cromatógrafo Shimadzu Prominence modelo 20A según AOCS (American Oil Chemist's Society, 2009c), con

algunas modificaciones. El sistema se equipó con un detector de índice de refracción (RID) Shimadzu modelo 10A y dos columnas Supelcosil TM C18 (25 cm x 4.6 mm x 5 μ m), y se inyectaron 40 μ L de muestra. El análisis partió de una mezcla inicial de acetona/ acetonitrilo/cloroformo 47, 5:47, 5:5, que se mantuvo constante durante todo el tiempo de análisis (45 minutos) a un flujo de 1 mL/min. La identificación se llevó a cabo utilizando estándares puros de TAG y materiales grasos de composición conocida considerando el orden de elución de acuerdo con el número equivalente de carbono (ECN). Los análisis fueron realizados por duplicado y el promedio de los valores, informado.

Obtención de los termogramas de fusión

Los termogramas de fusión se determinaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) en un calorímetro marca Shimadzu modelo 60A plus, equipado con un sistema de refrigeración Thermo scientific EK90/SH según AOCS (American Oil Chemist's Society, 2009d). Para esto se colocaron entre 10-15 mg de muestra dentro de una cápsula de aluminio, la cual fue calentada hasta los 90 °C para asegurar la fusión completa, seguido de un enfriamiento a 10 °C/min hasta -50 °C. Luego se mantuvo a esa temperatura por 30 minutos y finalmente se llevó a cabo una etapa de calentamiento a 5 °C/min hasta la fusión completa. En esta última etapa se registró el flujo de calor endotérmico de la muestra, obteniéndose así el termograma de fusión correspondiente. El procesamiento de los datos se realizó utilizando el software correspondiente (Shimadzu Corporation, 2009). Para la calibración del equipo se utilizó un patrón de Índio de alta pureza suministrado por Sigma-Aldrich. Los análisis fueron realizados por duplicado.

Obtención de las isotermas de cristalización

Usando la misma cápsula con la muestra con la que se obtuvo el termograma de fusión fue posible realizar un seguimiento de la cristalización isotérmica. Para esto, previo a su enfriamiento, la muestra fue sometida a una etapa de calentamiento a 90 °C, que se mantuvo durante 10 minutos, para remover los cristales que pudiera tener presente con el fin de borrar la memoria cristalina del material graso. Luego se la enfrió rápidamente (a la máxima potencia que puede suministrar el sistema de refrigeración) hasta alcanzar la temperatura de cristalización (35, 38, 40 y 42 °C). Una vez alcanzada dicha temperatura, se mantuvo constante hasta finalizar el proceso de cristalización. En esta etapa se registró el flujo de calor exotérmico de la muestra obteniéndose la isoterma de cristalización correspondiente a cada muestra. El procesamiento de los datos se realizó utilizando el software correspondiente (Shimadzu Corporation, 2009). Los análisis fueron realizados por duplicado.

Análisis estadístico

Algunos datos fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software correspondiente (Di Rienzo et al., 2020). Diferencias significativas entre los valores medios fueron comparadas utilizando el test de Tukey con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición en ácidos grasos y triglicéridos

En la Tabla 1 se muestra la composición en ácidos grasos de los materiales grasos de partida (FHRBO y SBO) y de las mezclas preparadas con diferentes contenidos de FHRBO. En el SBO, el ácido graso presente en mayor proporción fue el linoleico, seguido del oleico y el palmítico. Dicha composición concuerda con resultados reportados por otros autores en diferentes estudios (Ali et al., 2019; Ribeiro et al., 2009). En relación con el FHRBO, los principales ácidos grasos fueron el palmítico y el esteárico. Dicha composición es reflejo de la composición inicial del aceite de salvado de arroz (RBO) y la conversión de todos los ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono presentes a su ácido graso saturado correspondiente durante el proceso de hidrogenación completa (Callejas et al., 2021). Es de destacar la ausencia de ácidos grasos trans en este tipo de materiales, lo que confirma la efectividad del proceso de hidrogenación completa.

TABLA 1. Composición en ácidos grasos (% m/m) de los materiales grasos de partida (FHRBO y SBO) y sus respectivas mezclas con diferentes contenidos de FHRBO.

Ácido graso	FHRBO	SBO	Mezcla FHRBO/SBO				
			40/60	35/65	30/70	25/75	20/80
Ácido palmítico (16:0)	18,5±0,5	10,9±0,1	13,9±0,2	13,6±0,2	13,2±0,1	12,9±0,3	12,5±0,2
Ácido estearico (18:0)	79,1±0,1	3,4±0,1	33,7±0,1	29,9±0,2	26,1±0,2	22,3±0,1	18,6±0,1
Ácido oleico (18:1)	nd	25,1±0,1	15,1±0,2	16,3±0,1	17,6±0,1	18,8±0,2	20,1±0,2
Ácido linoleico (18:2)	nd	52,7±0,2	31,6±0,1	34,2±0,3	36,8±0,4	39,5±0,1	42,2±0,3
Ácido linolénico (18:3)	nd	6,5±0,2	3,9±0,1	4,2±0,1	4,6±0,1	4,9±0,1	5,2±0,1
Ácido araquídico (20:0)	1,05±0,01	0,45±0,01	0,69±0,02	0,66±0,03	0,63±0,02	0,60±0,01	0,57±0,05
Ácido behénico (22:0)	0,21±0,01	0,43±0,02	0,34±0,01	0,35±0,02	0,37±0,05	0,38±0,03	0,39±0,03
Ácido lignocérico (24:0)	0,31±0,02	0,18±0,02	0,23±0,01	0,23±0,01	0,22±0,02	0,21±0,02	0,21±0,02
Ácidos grasos saturados (SFA)	99,1±0,5	15,5±0,2	48,9±0,5	44,8±0,3	40,6±0,1	36,4±0,2	32,2±0,1
Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA)	nd	25,1±0,1	15,1±0,1	16,3±0,1	17,6±0,1	18,8±0,2	20,1±0,2
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)	nd	59,2±0,1	35,5±0,1	38,5±0,2	41,4±0,2	44,4±0,2	47,4±0,2

nd: no detectado

En relación con las mezclas FHRBO/SBO, la incorporación de FHRBO llevó a cambios inherentes en la composición en ácidos grasos, los cuales ocurrieron progresivamente en función del porcentaje de FHRBO agregado. Se observó que al incrementar el porcentaje

de FHRBO desde 20 a 40 %, el contenido en ácidos grasos insaturados y poliinsaturados (18:1, 18:2 y 18:3) disminuyó; en contraposición, los niveles de SFA aumentaron.

La Tabla 2 muestra la composición en TAG individuales del FHRBO, SBO y de las mezclas preparadas con diferentes contenidos de FHRBO, así como también los diferentes grupos de TAG asociados según los tipos de ácidos grasos saturados o insaturados que los constituyen. De esta forma, se obtuvieron 4 tipos de TAG (tri-saturados, S_3 ; di-saturados, S_2U ; di-insaturados, U_2S y tri-insaturados, U_3). Los TAG LLL, OLL y PLL fueron mayoritarios en el SBO, lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Gunstone y Harwood, 2007; Ribeiro et al., 2009). En el FHRBO fueron identificados únicamente los TAG tri-saturados, siendo StStSt el mayoritario, seguido de PStSt y PStP. LLL y OLL fueron los TAG mayoritarios en las mezclas con 20 y 25 % en FHRBO, mientras que LLL y StStSt lo fueron en la mezcla con 30 % en FHRBO. En cambio, los TAG StStSt y PStSt fueron los predominantes en las mezclas con 35 y 40 % en FHRBO.

La sumatoria de TAG del tipo S_3 y U_3 (mayoritarios en ambos materiales grasos) constituyó más del 70 % en todas las mezclas, predominando los TAG del tipo U_3 , a excepción de la mezcla con 40 % en FHRBO.

TABLA 2. Composición en triglicéridos (% m/m) de los materiales grasos de partida (FHRBO y SBO) y sus respectivas mezclas con diferentes contenidos de FHRBO.

ECN	TAG	FHRBO	SBO	Mezcla FHRBO/SBO				
				40/60	35/65	30/70	25/75	20/80
54	StStSt	50,1 ± 0,8	nd	20,0 ± 0,9	17,5 ± 0,4	15,0 ± 0,8	12,5 ± 0,2	10,0 ± 0,3
52	PStSt	39,2 ± 0,6	nd	15,7 ± 0,3	13,7 ± 0,8	11,8 ± 0,1	9,8 ± 0,5	7,8 ± 0,4
50	PStP	9,2 ± 0,9	nd	3,7 ± 0,1	3,2 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,3
50	StOO	nd	0,51 ± 0,05	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,38 ± 0,01	0,41 ± 0,03
50	LStSt	nd	1,6 ± 0,1	0,95 ± 0,04	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1
50	POSt	nd	0,51 ± 0,03	0,31 ± 0,01	0,33 ± 0,05	0,36 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,41 ± 0,01
48	POO	nd	3,9 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,2
48	StOL	nd	2,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,1
48	OOO	nd	4,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	3,0 ± 0,2	3,3 ± 0,3	3,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1
46	StLL	nd	1,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,2
46	POL	nd	10,8 ± 0,1	6,5 ± 0,2	6,9 ± 0,2	7,5 ± 0,4	8,1 ± 0,2	8,6 ± 0,3
46	OOL	nd	9,8 ± 0,1	5,9 ± 0,5	6,4 ± 0,4	6,9 ± 0,2	7,4 ± 0,5	7,9 ± 0,2
44	PLL	nd	13,4 ± 0,2	8,0 ± 0,3	8,7 ± 0,3	9,4 ± 0,6	10,0 ± 0,5	10,7 ± 0,3
44	OLL	nd	16,8 ± 0,2	10,1 ± 0,4	10,8 ± 0,1	11,7 ± 0,2	12,6 ± 0,4	13,4 ± 0,2
42	OLLn	nd	3,0 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,4 ± 0,2

42	LLL	<i>nd</i>	20,6 ± 0,2	12,4 ± 0,5	13,4 ± 0,2	14,4 ± 0,5	15,5 ± 0,2	16,5 ± 0,3
40	LLLn	<i>nd</i>	7,0 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,6 ± 0,3	4,9 ± 0,3	5,3 ± 0,4	5,6 ± 0,1
38	LLnLn	<i>nd</i>	1,2 ± 0,1	0,71 ± 0,02	0,77 ± 0,04	0,83 ± 0,05	0,89 ± 0,02	0,95 ± 0,03
	TAG tri-saturados (S ₃)	98,5 ± 1,1	<i>nd</i>	39,4 ± 0,6	34,5 ± 0,5	29,6 ± 0,8	24,6 ± 0,4	19,7 ± 0,3
	TAG di-saturados (S ₂ U)	<i>nd</i>	2,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1
	TAG di-insaturados (U ₂ S)	<i>nd</i>	33,2 ± 0,2	19,9 ± 0,7	21,6 ± 0,8	23,2 ± 0,3	24,9 ± 0,7	26,6 ± 0,5
	TAG tri-insaturados (U ₃)	<i>nd</i>	63,2 ± 0,4	37,9 ± 0,2	41,1 ± 0,5	44,3 ± 0,4	47,4 ± 0,5	50,6 ± 0,4

P: ácido palmítico, St: ácido esteárico, O: ácido oleico, L: ácido linoleico, Ln: ácido linoléico.
nd: no detectado.

Propiedades térmicas y comportamiento de fusión

Se obtuvieron los termogramas de fusión (gráfico de potencia vs temperatura o tiempo), en los cuales apartamientos positivos o negativos de la señal de potencia de la línea de base (cero) se vinculan a procesos exotérmicos (cristalización) o endotérmicos (fusión) ocurridos en el material graso. La Figura 1 muestra los termogramas de fusión obtenidos de las mezclas FHRBO/SBO preparadas con diferentes contenidos de FHRBO. La Tabla 3 presenta algunos parámetros de interés obtenidos a partir de los termogramas.

Los termogramas de fusión de las mezclas presentaron dos regiones endotérmicas bien definidas con temperaturas de pico relacionadas a la fusión de la fracción de TAG de bajo y alto punto de fusión (T_{pf}). Una región correspondiente a los TAG característicos del SBO con T_{pf1} aproximadamente en -25 °C, de baja temperatura de fusión, representados fundamentalmente por TAG del tipo U₃, y la otra correspondiente a los TAG característicos del FHRBO con T_{pf2} entre 58 y 62 °C aproximadamente, de alta temperatura de fusión, representados por TAG del tipo S₃.

La temperatura de inicio de la fusión (T_{if}) no mostró una variación importante al aumentar el contenido de FHRBO en las mezclas. Otro efecto observado fue la disminución y el incremento de las entalpías de fusión ΔH_1 y ΔH_2 , respectivamente, a medida que aumentó el agregado de FHRBO a las mezclas. Es posible afirmar que las mezclas combinaron propiedades térmicas de ambos materiales grasos, pareciéndose más a aquel que contienen en mayor proporción.

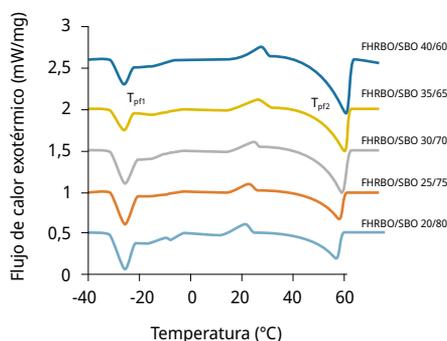


FIGURA 1. Termogramas de fusión de las mezclas FHRBO/SBO con diferente contenido de FHRBO. T_{pfi} : temperatura de fusión de pico 1 y 2 correspondientes a baja y alta temperatura, respectivamente.

La temperatura de fusión completa (T_{fc}) mostró una tendencia a incrementarse cuando aumentó el contenido de FHRBO. Si bien lo mencionado resultó esperable, un aspecto a considerar es que la variación de la T_{fc} al pasar del 20 % al 40 % en FHRBO aumentó solo 4,4 °C. Estos resultados obtenidos coinciden con otros trabajos basados en mezclas con un aceite completamente hidrogenado (Ribeiro et al., 2009; Callejas et al., 2021; Ornlaid et al., 2021).

TABLA 3. Parámetros obtenidos de los termogramas de fusión de las mezclas FHRBO/SBO con diferente contenido de FHRBO: temperatura de inicio de pico (T_{if}), temperatura de pico (T_{pfi}), entalpía de fusión del pico (ΔH_i) y temperatura de fusión completa (T_{fc}).

Mezcla FHRBO/SBO	T_{if} (°C)	T_{pfi} (°C)	ΔH_i (J/g)	T_{pfi2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{fc} (°C)
20/80	-30,1 ± 0,3 ^A	-25,3 ± 0,2 ^A	46,7 ± 1,8 ^A	57,7 ± 0,2 ^A	33,5 ± 0,5 ^A	60,1 ± 0,8 ^A
25/75	-30,1 ± 0,1 ^A	-25,2 ± 0,2 ^A	36,2 ± 2,2 ^B	59,1 ± 0,1 ^B	39,7 ± 0,4 ^B	61,9 ± 0,7 ^B
30/70	-30,8 ± 0,2 ^B	-25,4 ± 0,1 ^A	35,3 ± 0,9 ^B	60,2 ± 0,2 ^{B,C}	55,6 ± 0,6 ^C	63,0 ± 0,3 ^{B,C}
35/65	-30,9 ± 0,2 ^B	-25,4 ± 0,3 ^A	29,0 ± 1,4 ^C	60,9 ± 0,4 ^{C,D}	58,7 ± 0,3 ^D	63,7 ± 0,4 ^C
40/60	-31,1 ± 0,1 ^B	-25,5 ± 0,2 ^A	24,4 ± 2,0 ^C	61,6 ± 0,8 ^D	73,1 ± 0,6 ^E	64,5 ± 0,5 ^D

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las mezclas a un $p < 0,05$.

Estos resultados estarían indicando que la interacción entre ambos materiales grasos de la mezcla es muy pobre, confiriéndole a la mezcla las características propias de cada uno, atenuadas por su dilución frente al otro componente.

En todas las mezclas se observó un pequeño pico exotérmico (entre los 20 y 30 °C aproximadamente), que indica una transición polimórfica de alguna fracción de los sólidos del sistema. Este tipo de comportamiento también fue observado en mezclas de FHRBO con aceite de salvado de arroz (Callejas et al., 2021).

Cinética de la cristalización

La Figura 2 muestra un termograma típico de cristalización isotérmica para la mezcla FHRBO/SBO 30/70 a una temperatura de cristalización (T_c) de 42 °C. Durante la cristalización de los materiales grasos bajo condiciones isotérmicas se asume que el flujo de calor exotérmico es directamente proporcional a la masa de la muestra y a la entalpía de cristalización (ΔH_c) (Supaphol y Spruiell, 2000). Es posible obtener un parámetro denominado cristalización relativa (F) que representa la fracción del material graso al estado sólido a lo largo del tiempo, el cual puede ser obtenido por integración parcial a partir del termograma mostrado en la Figura 2. Para esto, se supone que la cristalización a una determinada temperatura finaliza cuando no se observa un cambio significativo en el valor de ΔH_c a un determinado tiempo luego de que la muestra cristaliza por completo (Supaphol y Spruiell, 2000).

F en función del tiempo se puede obtener según la siguiente expresión:

$$F_t = \frac{\Delta H_{c,t}}{\Delta H_{c,total}} \quad (2)$$

Donde $\Delta H_{c,t}$ y $\Delta H_{c,total}$ representan el área entre el pico exotérmico y la línea de base desde el punto inicial hasta el tiempo t y el área total, respectivamente (Lu et al., 2021).

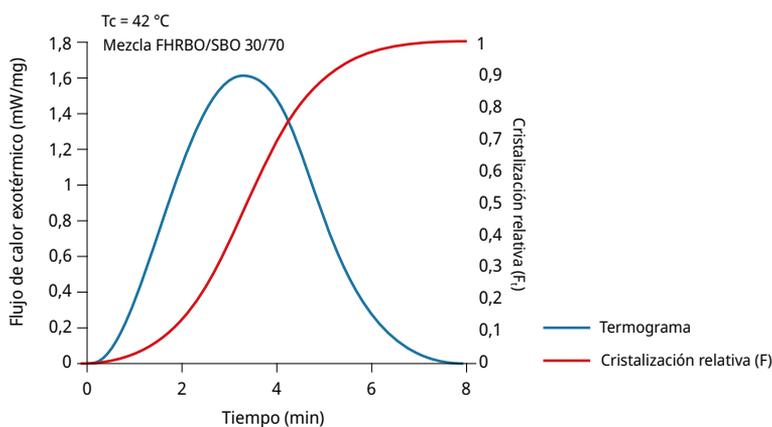


FIGURA 2. Termograma típico de la cristalización isotérmica de la mezcla FHRBO/SBO 30/70 y su correspondiente curva de cristalización relativa (F).

Para el análisis cinético del modelo de Avrami, los datos obtenidos de la cristalización relativa (F) se ajustan de acuerdo con la ecuación de Avrami (Ecuación 1) a través de su linealización según la siguiente expresión:

$$\ln(-\ln(1-F_t)) = \ln k + n \cdot \ln t \quad (3)$$

De esta manera, al graficar $\ln(-\ln(1-F_t))$ contra $\ln t$ es posible obtener de la pendiente el exponente de Avrami (n) y de la ordenada en el origen la constante de Avrami (k). Ambos representan los parámetros cinéticos de mayor interés.

Efecto de la composición de las mezclas y la temperatura de cristalización sobre los parámetros cinéticos: la Tabla 4 resume todos los parámetros cinéticos (t_i , n y k) y el sobreenfriamiento (ΔT_s) de las mezclas FHRBO/SBO con diferente contenido de FHRBO a diferentes temperaturas de cristalización (T_c).

TABLA 4. Valores del período de inducción (t_i), los parámetros k y n obtenidos mediante el modelo de Avrami y el sobreenfriamiento (ΔT_s) de las mezclas FHRBO/SBO con diferente contenido de FHRBO a diferentes temperaturas de cristalización (T_c).

T_c (°C)	Mezcla FHRBO/SBO	t_i (min)	n_1	k_1 (min) ⁻ⁿ	n_2	k_2 (min) ⁻ⁿ	n	k (min) ⁻ⁿ	ΔT_s (°C)
42	20:80	-	-	-	-	-	-	-	18,1
	25:75	2,07 ± 0,02 ^A	-	-	-	-	2,98 ± 0,06 ^{AB}	0,00072 ± 0,00018 ^A	19,9
	30:70	1,20 ± 0,07 ^C	-	-	-	-	2,81 ± 0,11 ^{AB}	0,00265 ± 0,00078 ^B	21
	35:65	0,97 ± 0,03 ^D	-	-	-	-	2,70 ± 0,06 ^{BC}	0,00610 ± 0,00090 ^C	21,7
	40:60	0,39 ± 0,06 ^E	-	-	-	-	2,34 ± 0,13 ^{CD}	0,084 ± 0,009 ^D	22,5
40	20:80	2,09 ± 0,04 ^A	-	-	-	-	3,76 ± 0,17 ^F	0,00036 ± 0,00012 ^A	20,1
	25:75	1,58 ± 0,01 ^B	-	-	-	-	3,52 ± 0,02 ^{EF}	0,00105 ± 0,00008 ^B	21,9
	30:70	0,41 ± 0,06 ^E	-	-	-	-	2,01 ± 0,12 ^D	0,079 ± 0,013 ^D	23
	35:65	0,21 ± 0,01 ^F	2,10 ± 0,10 ^{AB}	0,36 ± 0,06 ^A	1,21 ± 0,10 ^A	1,83 ± 0,12 ^A	-	2,19 ± 0,04 ^{*E}	23,7
	40:60	0,09 ± 0,03 ^{FG}	1,92 ± 0,11 ^{BC}	1,27 ± 0,13 ^B	1,42 ± 0,05 ^A	3,74 ± 0,35 ^B	-	5,01 ± 0,49 ^{*F}	24,5
38	20:80	0,91 ± 0,04 ^D	-	-	-	-	3,22 ± 0,29 ^{AE}	0,010 ± 0,001 ^G	22,1
	25:75	0,44 ± 0,07 ^E	-	-	-	-	2,19 ± 0,18 ^D	0,065 ± 0,015 ^D	23,9
	30:70	0,09 ± 0,01 ^{FG}	1,59 ± 0,04 ^D	0,46 ± 0,08 ^A	1,88 ± 0,11 ^B	0,69 ± 0,06 ^C	-	1,15 ± 0,15 ^{*H}	25
	35:65	0,05 ± 0,01 ^G	1,74 ± 0,15 ^{CD}	2,07 ± 0,06 ^C	2,27 ± 0,08 ^C	1,85 ± 0,08 ^A	-	3,92 ± 0,14 ^{*I}	25,7
	40:60	-	-	-	-	-	-	-	26,5
35	20:80	0,17 ± 0,03 ^{FG}	2,33 ± 0,16 ^A	1,08 ± 0,08 ^B	2,15 ± 0,10 ^C	1,16 ± 0,09 ^C	-	2,24 ± 0,18 ^{*E}	25,1

*En caso de cinética múltiple (n_1 , k_1 y n_2 , k_2) es posible determinar, por razones prácticas, una constante de velocidad global del proceso (k), que se calcula como la suma de las constantes involucradas (Hubbes et al., 2018). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las mezclas a un $p < 0,05$.

El período de inducción (t_i) en condiciones isotérmicas es definido como el tiempo necesario para la aparición de núcleos cristalinos a partir de los cuales se desencadena la cristalización (Himawan et al., 2006). Su determinación depende del tipo de método utilizado (Metin y Hartel, 2005), definiéndose en este caso como el tiempo para el cual F alcanza un valor de 0,01. Tal como puede observarse en la Tabla 4 e independiente del T_c estudiado, los valores de t_i disminuyeron conforme aumentó el contenido de FHRBO

en la mezcla, dado que aporta TAG del tipo S_3 , lo que favorece la aparición temprana de núcleos cristalinos. Además, las mezclas requieren de un grado de sobreenfriamiento para favorecer la cristalización. El sobreenfriamiento (ΔT_s) se puede estimar como la diferencia entre la temperatura de fusión completa de las mezclas (T_{fc} , determinado a partir de los termogramas de fusión) y la T_c . El contenido de FHRBO de las mezclas tuvo influencia sobre la T_{fc} ; por lo tanto, para una misma T_c , un menor contenido de FHRBO en las mezclas llevó a un sobreenfriamiento menor. Lo anterior es coherente y reafirma la relación inversa entre el t_i y el contenido de FHRBO.

Al analizar una mezcla de composición fija de FHRBO a diferentes T_c , se observó que a mayor sobreenfriamiento, t_i disminuye. El sobreenfriamiento juega un rol fundamental ya que es la fuerza motora de la cristalización. Un alto grado de sobreenfriamiento lleva a una disminución de la energía libre de activación para la formación de cristales estables, resultando en una rápida nucleación (Hubbes et al., 2018). Lo anterior explica por qué en la Tabla 4 existen mezclas a determinadas T_c en las cuales no se pudo analizar su cinética. La cristalización requiere de un adecuado grado de sobreenfriamiento y composición en TAG para verse favorecido. En condiciones de bajo sobreenfriamiento ($T_c = 42^\circ\text{C}$), la cristalización no se ve favorecida salvo que la mezcla se enriquezca en TAG de alto punto de fusión. Es por esto que la mezcla con 20 % de FHRBO no mostró un pico exotérmico a lo largo de un tiempo muy prolongado (se dejó la muestra en el DSC durante más de 2 horas, pasado dicho tiempo se decidió finalizar el análisis).

Para la mezcla con 40 % de FHRBO y a una $T_c = 38^\circ\text{C}$, ambas condiciones favorecieron la cristalización de forma tan rápida que la presencia del pico exotérmico se desarrolló mucho antes de alcanzar condiciones isotérmicas. Esto explica por qué para una $T_c = 35^\circ\text{C}$ solo la mezcla con 20 % de FHRBO mostró una cristalización isotérmica.

Para obtener los parámetros cinéticos por medio de la linealización, según la Ecuación 3, se debe tener presente que no se aplica en todos los datos experimentales de la curva de F. En este caso, el criterio que se consideró fue tomar la mayor cantidad de valores posibles, de modo tal que el coeficiente de correlación (r^2) sea superior a 0,98 en todos los casos (Narine et al., 2006; Hubbes et al., 2018). Se tomó inicialmente una región de F entre 0,25 y 0,75 (Toro-Vazquez et al., 2002), la cual se fue incrementando proporcionalmente entre los extremos y calculando el r^2 . Cuando el r^2 cayó por debajo de 0,98; la región se consideró finalizada.

Con respecto a los valores de k , se observó que disminuyeron gradualmente al disminuir el porcentaje de FHRBO en las mezclas, lo que indica una velocidad de cristalización más lenta. Esto está relacionado con la disminución de los TAG del tipo S_3 , que se caracterizan por presentar una cristalización prácticamente instantánea (Marangoni, 2005). También, y al igual que lo observado para el t_i , el ΔT_s fue determinante sobre la velocidad. Se observó que el incremento de ΔT_s llevó a un aumento de la constante de velocidad. Según Marangoni de Oliveira et al. (2015), el agregado de materiales con alto grado de saturación (llamados *hard fats*) en niveles de 1 al 5 % mostró cambios drásticos en el proceso de cristalización, con menores t_i y mayores k a medida que se incrementó su contenido. En particular, determinaron que la tripalmitina (PPP) promovió el crecimiento del cristal, permitiendo una mayor acumulación y desarrollo de cristales. Si bien las mezclas preparadas no contenían PPP, sí presentaron un contenido considerable de StStSt de similares características, diferenciado únicamente en la longitud de cadena del ácido

graso que lo conforma. Por lo que es muy probable que StStSt sea el TAG que promovió mayormente la alta velocidad de crecimiento cristalino en las mezclas, y por esta razón se incrementó considerablemente la k .

El exponente de Avrami "n" define la forma en que ocurre la nucleación y el crecimiento cristalino. Por lo tanto, cambios en dicho parámetro sugieren cambios en el modo de crecimiento de los cristales. Según Lu et al. (2021), un valor de $n = 4$ o inferior indica una nucleación heterogénea y crecimiento tipo esferulitas (esférico) a partir de un núcleo esporádico, donde el número de núcleos se incrementa linealmente con el tiempo. De forma similar, un valor de $n = 3$ indica crecimiento tipo esferulitas, pero a partir de un núcleo instantáneo. Un $n = 2$ indica crecimiento tipo platos o discos mayormente a lo largo de dos dimensiones, y un $n = 1$ representa crecimiento tipo agujas a partir de núcleos instantáneos. En la Tabla 4 se observó que, al igual que ocurre con el t_i y la k , n se modifica en función de la composición de las mezclas y T_c . Un aumento en el contenido de FHRBO llevó a una disminución en el valor de n , pasando de una cristalización con crecimiento tipo esferulitas a uno mayormente del tipo platos. En ninguno de los casos se obtuvieron valores de n enteros. El principal motivo está asociado a que el crecimiento de cristales de diferentes características morfológicas puede ocurrir de manera simultánea debido a una cristalización heterogénea o a que cristales de similar morfología se desarrollan bajo un diferente tipo de nucleación (esporádica o instantánea). Distintos estudios realizados con mezclas de distintos materiales grasos (incluidos aceites completamente hidrogenados) han mostrado comportamientos similares en relación con el valor de n (Ribeiro et al., 2009; Lu et al., 2021).

Como se observa en la Tabla 4, algunas mezclas a determinadas T_c presentaron dos valores de n (n_1 y n_2) y dos valores de k (k_1 y k_2) debido a que los termogramas de cristalización mostraron la presencia de dos picos exotérmicos, obteniéndose curvas de F como la Figura 3.

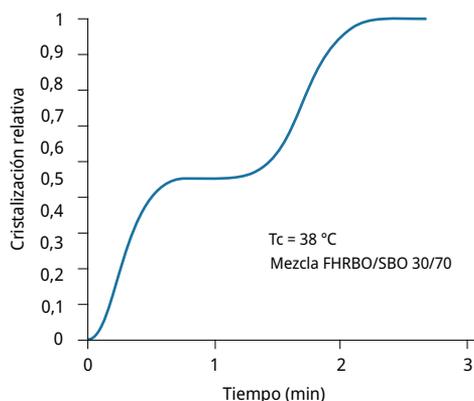


FIGURA 3. Curva de cristalización relativa (F) obtenida a partir de un termograma de cristalización con dos picos exotérmicos de la mezcla FHRBO/SBO 30/70.

Esto sugiere la co-cristalización de los TAG que conforman la mezcla, especialmente TAG del tipo S_3 en combinación con los S_2U . También puede estar indicando

transformaciones polimórficas (Marangoni, 2013b). En los materiales grasos existe un fenómeno conocido como polimorfismo, que involucra la existencia de diferentes estructuras cristalinas (formas α , β' y β , en orden creciente de estabilidad) con la misma composición química (Sato, 2001). Durante el proceso de cristalización, la forma polimórfica menos estable (α) será la más favorecida cinéticamente (de menor barrera energética para su formación y por lo tanto la menos limitada estructuralmente). Con el tiempo, las moléculas podrán reorganizarse dando lugar a formas termodinámicamente más estables (β' y β), de menor estado energético (Marangoni, 2013c). Lo anterior constituye una "transformación polimórfica", siendo procesos exotérmicos que tienen lugar hasta que se obtiene la estructura más estable (Marangoni, 2013c).

Este tipo de comportamiento se hace más evidente cuando las mezclas son ricas en FHRBO y se incrementa el ΔT_5 . Cuando el ΔT_5 es pequeño, el agregado de TAG al núcleo cristalino ocurre de manera lenta (bajos valores de k). Por lo tanto, los TAG tienen un tiempo suficiente para que el empaquetamiento se desarrolle bajo la configuración más apropiada y es de esperar que el polimorfo que se forme sea el más estable (cristalización bajo un único pico exotérmico).

A altos ΔT_5 ocurre todo lo contrario. La incorporación de TAG al núcleo cristalino es demasiado rápida, lo que provoca un empaquetamiento poco eficiente debido a la formación de diferentes cristales (cristales mixtos) y la coexistencia de distintos tipos de polimorfos (cristalización bajo dos o más picos exotérmicos). Cinéticas de cristalización de este tipo se han visto en materiales como la grasa láctea cristalizada a 10 °C (Marangoni, 2013b).

Efecto del agregado de fitoesteroides en las mezclas sobre los parámetros

cinéticos: La Tabla 5 muestra los mismos parámetros cinéticos que la Tabla 4 para algunas mezclas de interés (FHRBO/SBO 35/65 y 20/80), con diferentes contenidos de fitoesteroides adicionados (1, 2 y 4 %) a dos T_c (38 y 40 °C). En el caso de la mezcla con 35 % de FHRBO, se observó que el incremento de la concentración de fitoesteroides aumentó el t_i y redujo la k a ambas T_c . Esto indica que la presencia de fitoesteroides genera una cinética de cristalización más lenta. Los componentes menores pueden afectar la nucleación, el crecimiento cristalino o ambos aspectos (Smith et al., 2011). El incremento del tiempo para la generación de núcleos cristalinos en este tipo de materiales grasos depende mayormente de la nucleación heterogénea. La presencia de un componente como los fitoesteroides, estructuralmente diferentes a los TAG, puede actuar como "blindaje" de los núcleos heterogéneos presentes, haciendo que estos sean menos eficientes como iniciadores de la cristalización (Smith et al., 2011).

TABLA 5. Valores del período de inducción (t_i), los parámetros k y n obtenidos mediante el modelo de Avrami y el sobreenfriamiento (ΔT_s) de dos mezclas FHRBO/SBO con diferente contenido de FHRBO y contenido de fitoesteroles (x % F) a dos temperaturas de cristalización (T_c).

T_c (°C)	Mezcla FHRBO/SBO	t_i (min)	n_1	k_1 (min) ⁻ⁿ	n_2	k_2 (min) ⁻ⁿ	n	k (min) ⁻ⁿ	ΔT_s (°C)
40	35:65	0,21 ± 0,01 ^A	2,10 ± 0,10 ^A	0,36 ± 0,06 ^A	1,21 ± 0,10 ^A	1,83 ± 0,12 ^A	-	2,19 ± 0,04 ^{*A}	23,7
	35:65 1 % F	0,18 ± 0,01 ^A	1,67 ± 0,30 ^B	0,40 ± 0,03 ^A	1,40 ± 0,24 ^{AB}	1,27 ± 0,23 ^B	-	1,67 ± 0,21 ^{*B}	
	35:65 2 % F	0,20 ± 0,01 ^A	1,80 ± 0,23 ^{AB}	0,35 ± 0,05 ^A	1,49 ± 0,11 ^{AB}	1,01 ± 0,06 ^B	-	1,35 ± 0,01 ^{*C}	
	35:65 4 % F	0,37 ± 0,02 ^B	-	-	-	-	2,00 ± 0,12 ^A	0,17 ± 0,08 ^D	
38	35:65	0,05 ± 0,01 ^C	1,74 ± 0,15 ^{AB}	2,07 ± 0,06 ^B	2,27 ± 0,08 ^{CD}	1,85 ± 0,08 ^A	-	3,92 ± 0,14 ^{*E}	25,7
	35:65 1 % F	0,083 ± 0,003 ^{DC}	1,80 ± 0,12 ^{AB}	1,29 ± 0,09 ^C	1,40 ± 0,06 ^{AB}	2,23 ± 0,04 ^C	-	3,52 ± 0,13 ^{*F}	
	35:65 2 % F	0,085 ± 0,004 ^{DC}	1,62 ± 0,10 ^B	1,89 ± 0,09 ^D	2,04 ± 0,06 ^D	1,27 ± 0,06 ^B	-	3,16 ± 0,04 ^{*G}	
	35:65 4 % F	0,14 ± 0,03 ^A	1,77 ± 0,06 ^{AB}	1,29 ± 0,10 ^C	1,60 ± 0,08 ^B	1,58 ± 0,08 ^A	-	2,87 ± 0,18 ^{*G}	
38	20:80	0,91 ± 0,04 ^E	-	-	-	-	3,22 ± 0,29 ^B	0,010 ± 0,001 ^H	22,1
	20:80 1 % F	1,20 ± 0,03 ^F	3,54 ± 0,08 ^C	0,0040 ± 0,0005 ^E	2,59 ± 0,05 ^{EF}	0,023 ± 0,004 ^D	-	0,026 ± 0,004 ^{*I}	
	20:80 2 % F	1,39 ± 0,05 ^G	3,47 ± 0,05 ^C	0,0046 ± 0,0006 ^E	2,82 ± 0,11 ^F	0,05 ± 0,01 ^D	-	0,05 ± 0,01 ^{*I}	
	20:80 4 % F	1,34 ± 0,02 ^G	3,59 ± 0,08 ^C	0,0039 ± 0,0008 ^E	2,46 ± 0,06 ^{CE}	0,16 ± 0,03 ^E	-	0,16 ± 0,03 ^{*D}	

*En caso de cinética múltiple (n_1 , k_1 y n_2 , k_2) es posible determinar, por razones prácticas, una constante de velocidad global del proceso (k), que se calcula como la suma de las constantes involucradas (Hubbes et al., 2018). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las mezclas a un $p < 0,05$.

El efecto mencionado se hace más notorio a altas concentraciones de fitoesteroles. En términos generales, el agregado de 1 y 2 % no modificó prácticamente el t_i ; sin embargo, con un 4 % sí se observó un aumento. También explicaría por qué la cinética de crecimiento cristalino es más lenta, ya que al estar los fitoesteroles ocupando más sitios dentro del núcleo cristalino formado se inhibe la transferencia de masa de los TAG de mayor punto de fusión hacia el mismo.

También se observó que el efecto de los fitoesteroles sobre la cinética tuvo mayor influencia a bajos ΔT_s . Si se compara la variación porcentual de disminución de la constante cinética a 38 y 40 °C de la mezcla sin agregado de fitoesteroles con respecto a la mezcla con un 4 % de fitoesteroles, fue de 27 y 92 %, respectivamente. Este tipo de comportamiento se ha observado para componentes menores o aditivos en materiales grasos (Cheong et al., 2009). El bloqueo de los fitoesteroles depende mayormente de que se adsorban en el núcleo cristalino, promoviendo un enlentecimiento del crecimiento cristalino. A un bajo ΔT_s , se les brinda a las moléculas un tiempo adecuado para que puedan adoptar un empaquetamiento eficiente, siendo más probable que los fitoesteroles se adsorban y de esta forma actúen como un "bloqueador" para el crecimiento cristalino. En cambio, a altos ΔT_s , la cristalización de los TAG es más favorable y los fitoesteroles tienen menos oportunidad de adsorberse en el núcleo cristalino.

Con respecto a los valores del exponente n , la adición de los fitoesteroleos no modificó en forma apreciable la morfología cristalina, presentando en general un rango entre 1-2. Esto indica la presencia de morfología de tipo aguja y platos con una nucleación que varía entre esporádica e instantánea.

En la mezcla con 20 % de FHRBO y agregado de fitoesteroleos a una $T_c = 38$ °C, los fitoesteroleos generaron un aumento de t_i (como ocurrió con la otra mezcla); mientras que la k aumentó. Lo anterior indica que el efecto de los fitoesteroleos depende de la concentración de TAG presentes con alta tendencia a cristalizar (fundamentalmente TAG S_3). A bajas concentraciones de S_3 , los fitoesteroleos estarían actuando como inductores de la cristalización.

La concentración requerida para lograr un determinado efecto en la cinética de cristalización difiere dependiendo del mecanismo por el cual actúa (Smith et al., 2011). Diferentes trabajos han reportado efectos similares de otros componentes menores (lecitinas, mono y diglicéridos) en la cinética de cristalización, influyendo en los t_i , k y n obtenidos a partir del modelo de Avrami (Basso et al., 2010; Claro Silva et al., 2014; Miyasaki et al., 2016).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mostraron que por medio de DSC es posible obtener información de interés en el estudio de la cinética de cristalización isotérmica en mezclas FHRBO/SBO con distintos contenidos de FHRBO y fitoesteroleos a diferentes temperaturas de cristalización. El modelo de Avrami resultó útil y aplicable para la descripción de la cinética de cristalización en función de la cristalización relativa determinada a partir de la entalpía de cristalización.

Se observó que el aumento en la proporción de FHRBO en las mezclas produjo una gradual disminución del período de inducción (t_i) y un aumento de la velocidad de crecimiento cristalino (k). La concentración de FHRBO es determinante sobre la velocidad de formación de núcleos cristalinos y su crecimiento posterior, lo que se atribuye al alto aporte de TAG del tipo S_3 de alto punto de fusión. El grado de sobreenfriamiento (ΔT_s) también es un factor determinante sobre la cinética de la cristalización de las mezclas: a mayor grado, la cinética fue más rápida (menor t_i y mayor k al comparar la misma mezcla a diferentes temperaturas de cristalización). Esto confirma la importancia del ΔT_s sobre la tendencia a la cristalización de los materiales grasos.

El exponente de Avrami (n) no presentó, en ninguno de los casos, números enteros y se observaron en todas las mezclas y temperaturas de cristalización analizadas cambios en dicho parámetro. Esto sugiere cambios en la morfología y tipo de nucleación.

Dependiendo del mecanismo involucrado, la concentración de fitoesteroleos puede influir en la cinética de cristalización. Ya sea por medio de la nucleación (ocupando sitios en el núcleo cristalino), el crecimiento (limitando la transferencia de masa de los TAG hacia el núcleo) o una combinación de ambas, se evidenciaron cambios en todas las concentraciones estudiadas. Se observó un aumento de t_i y reducción de k , por lo que los fitoesteroleos contribuyen a promover una cinética de cristalización más lenta, presentando un mayor efecto cuanto mayor es la concentración. El ΔT_s influencia

fuertemente el efecto de los fitoesterole, especialmente al analizar la k a diferentes concentraciones. Cuanto mayor es el ΔT_s , el efecto de los fitoesterole se reduce.

Finalmente se determinó que, dependiendo de la mezcla estudiada, los fitoesterole muestran un comportamiento diferente. La mezcla con 20 % de FHRBO provocó un incremento de t_i y de k a medida que aumentó la concentración de fitoesterole. En términos generales se observó que la concentración de FHRBO y de fitoesterole en las mezclas afectaron los parámetros cinéticos obtenidos por el modelo de Avrami a partir de la cristalización isotérmica determinada por DSC. Por lo tanto, si bien los resultados obtenidos deben considerarse primarios y aplicados sobre determinadas condiciones, resulta un importante punto de partida para continuar investigando. Esto último es relevante en lo que se refiere al agregado de fitoesterole, ya que se observaron cambios en el comportamiento de la cinética de cristalización. Los estudios realizados sugieren analizar con mayor profundidad el aporte de los fitoesterole como ingrediente funcional y su influencia sobre la cinética de la cristalización que afectan las propiedades tecno-funcionales (textura y reología) de mezclas de materiales grasos y sus posibles aplicaciones. Lo mencionado anteriormente será de sumo interés para la industria alimentaria ya que permitirá tener un mejor diseño y control de las fases grasas comestibles.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Apoyo a la Investigación Estudiantil (PAIE), perteneciente a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), por el financiamiento otorgado.

REFERENCIAS

- Ali, M. A.; Islam M. A.; Othman, N. H.; Noor, A. M. e Ibrahim, M., 2019. Effect of rice bran oil addition on the oxidative degradation and fatty acid composition of soybean oil during heating. En: *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 18(4), pp. 427-438.
DOI: <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0694>
- American Oil Chemist's Society, 2009a. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (AOCS)*. 4th ed. Champaign: AOCS. Official Method Ch 3-91.
- American Oil Chemist's Society, 2009b. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (AOCS)*. 4th ed. Champaign: AOCS. Official Method Ce 2-66
- American Oil Chemist's Society, 2009c. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (AOCS)*. 4th ed. Champaign: AOCS. Official Method Ce 5b-89
- American Oil Chemist's Society, 2009d. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (AOCS)*. 4th ed. Champaign: AOCS. Official Method Cj 1-94
- Avrami, M., 1941. Kinetics of phase change III. Granulation, phase change, and microstructure. En: *J. Chem. Phys.*, 9, pp. 177-184. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1750872>
- Basso, R.; Badan Ribeiro, A. P.; Masuchi, M. H.; Gioielli, L. A.; Guaraldo Gonçalves, L.A.; Oliveira dos Santos, A.; Pavie Cardoso, L. y Grimaldi, R., 2010. Tripalmitin and

- monoacylglycerols as modifiers in the crystallization of palm oil. En: *Food Chemistry*, 122, pp. 1185–1192. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.113>
- Belitz, H. D.; Grosch, W. y Schieberle, P., 2009. Lipids. En: Belitz, H. D., Grosch, W. y Schieberle P. *Food chemistry*. 4th ed. Berlín: Springer. pp. 158-247.
- Buscato, M. H.; Gallani, B.; Ramponi, K.; Badan Ribeiro, A. P. y Guenter, T., 2018. Modification of palm oil crystallization by phytosterol addition as a tool for structuring a low saturated lipid blend. En: *Braz. J. Chem. Eng.*, 35(1), pp. 169-180. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180351s20160351>
- Callejas, N.; Suescun, L.; Badan, A. P. y Jachmanián, I., 2021. Zero-trans fats designed by enzyme-catalyzed interesterification of rice bran oil and fully hydrogenated rice bran oil. En: *OCL*, 28, 46. DOI: <https://doi.org/10.1051/ocl/2021036>
- Cheong, L.; Zhang, H.; Xu, Y. y Xu, X., 2009. Physical characterization of lard partial acylglycerols and their effects on melting and crystallization properties of blends with rapeseed oil. En: *J. Agric. Food Chem.*, 57(11), pp. 5020–5027. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf900665h>
- Claro Silva, R.; Schafer de Martin Soares, F. A.; Mayumi Muruyama, J.; Roque Dagostinho, N.; Silva, Y. A.; Andrade Calligaris, G.; Badan Ribeiro, A. P.; Paive Cardoso, L. y Gioielli, L. A., 2014. Effect of diacylglycerol addition on crystallization properties of pure triacylglycerols. En: *Food Research International*, 55, pp. 436-444. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.037>
- Daels, E.; Foubert, I. y Goderis, B., 2017. The effect of adding a commercial phytosterol ester mixture on the phase behavior of palm oil. En: *Food Research International*, 100, pp. 841-849. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.015>
- Daels, E.; Goderis, B.; Matton, V. y Foubert, I., 2018. Isothermal crystallization kinetics of palm oil as influenced by addition of a commercial phytosterol ester mixture. En: *J. Agric. Food Chem.*, 66(15), pp. 3910–3921. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05049>
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; González, L.; Tablada, M. y Robledo, C. W. 2020. *InfoStat* [En línea]. Versión 29-09-2020. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. [Consulta: 2 de Febrero de 2021]. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- Foubert, I.; Dewettinck, K. y Vanrolleghem, P. A., 2003. Modelling of the crystallization kinetics of fats. En: *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), pp. 79-92. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00256-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00256-X)
- Gunstone, F. D. y Harwood, J. L., 2007. Occurrence and characterization of oils and fats. En: Gunstone, F. D., Harwood, J. L. y Dijkstra, A. J. *The lipid handbook*. 3a ed. New York: CRC Press. pp. 37-141.
- Himawan, C.; Starov, V. M. y Stapley, A. G. F., 2006. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. En: *Adv Colloid Interface*, 122, pp. 3–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.06.016>
- Hubbes, S. S.; Danzl, W. y Foerst, P., 2018. Crystallization kinetics of palm oil of different geographic origins and blends thereof by the application of the Avrami model. En: *LWT*, 93, pp. 189-196. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11121769>
- Katan, M. B.; Grundy, S. M.; Jones, P.; Law, M.; Miettinen, T. y Paoletti, R., 2003. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. En: *Mayo Clinic Proceeding*, 78(8), pp. 965–978. DOI: <https://doi.org/10.4065/78.8.965>

- Kawamura, K., 1980. The DSC thermal analysis of crystallization behavior in palm oil II. En: *JAACS*, 57, pp. 48–52. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02675525>
- Lu, C.; Qiu, S.; Wang, X.; He, X.; Dang, L. y Wang, Z., 2021. Contrastive analysis of lipid composition and thermal and crystallization behavior of olein/stearin fractionated by novel layer melt crystallization from palm oil. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), pp. 4350-4360. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.11075>
- MacNaughtan, W.; Farhata, I. A.; Himawanb, C.; Starovb, V. M. y Stapley, A. G. F., 2006. A differential scanning calorimetry study of the crystallization kinetics of Tristearin-Tripalmitin mixtures. En: *JAACS*, 83, pp. 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11746-006-1167-1>
- Marangoni, A. G., Introduction. 2013a. En: Marangoni, A. G. *Structure and Properties of fat crystal networks*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. pp. xv-xviii.
- Marangoni, A. G., Nucleation and Crystalline Growth Kinetics. 2013b. En: Marangoni A. G. *Structure and Properties of fat crystal networks*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. pp. 27-96.
- Marangoni, A. G., 2013c. Crystallography and polymorphism. En: Marangoni A. G. *Structure and properties of fat crystal networks*. 2a ed. Boca Raton: CRC Press. pp. 1-24.
- Marangoni de Oliveira, G.; Ribeiro, A. P. B.; Oliveira dos Santos, A.; Cardoso, L. P. y Kieckbusch, T. G., 2015. Hard fats as additives in palm oil and its relationships to crystallization process and polymorphism. En: *LWT*, 63, pp. 1163–1170.
- Marangoni, A. G., 2005. Crystallization kinetics. En: Marangoni, A. G. *Fat crystal networks*. 1a ed. New York: Marcel Dekker. pp. 21-83.
- Metin, S. y Hartel, R. W., 2005. Crystallization of fats and oils. En: Shahidi, F. *Bailey's industrial oil and fat products*. 6a ed. New Jersey: John Wiley & Sons. pp. 45-76.
- Miyasaki, E. K.; Luccas, V. y Kieckbusch, T.G., 2016. Modified soybean lecithins as inducers of the acceleration of cocoa butter crystallization. En: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 118, pp. 1539-1549. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500093>
- Mursalin, M.; Hariyadi, P.; Purnomo, E. H.; Andarwulan, N. y Fardiaz, D., 2016. Crystallization kinetics of coconut oil based on Avrami model. En: *International Food Research Journal*, 23(4), pp. 1355-1360.
- Narine, S. S.; Humphrey, K.L. y Laziz, B., 2006. Modification of the Avrami model for application to the kinetics of the melt crystallization of lipids. En: *JAACS*, 83(11), pp. 913–921. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-006-5046-6>
- Ornla-ied, P.; Podchong, P. y Sonwai, S., 2021. Synthesis of cocoa butter alternatives from palm kernel stearin, coconut oil and fully hydrogenated palm stearin blends by chemical interesterification. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(4), pp. 1619-1627. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.11498>
- Oteng, A. B. y Kersten, S., 2020. Mechanisms of action of trans fatty acids. En: *Adv Nutr*, 11(3), pp. 697–708. DOI: <https://doi.org/10.1093/advances/nmz125>
- Ribeiro, A. P.; Grimaldi, R.; Gioielli, L. A. y Gonçalves, L., 2009. Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: physico-chemical properties and food applications. En: *Food Res Int.*, 42(3), pp. 401–410. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.01.012>
- Sato, K., 2001. Crystallization behavior of fats and lipids: A review. En: *Chemical Engineering Science*, 56, pp. 2255-2265. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(00\)00458-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(00)00458-9)
- Segura, N. y Jachmanián I., 2020. Zero-trans fats by enzymatic interesterification of blends beef tallow/rice bran oil. En: *OCL*, 27, 4. DOI: <https://doi.org/10.1051/ocl/2019052>

- Sharples, A., 1966. Overall kinetics of crystallization. En: Sharples, A. *Introduction to polymer crystallization*. 1a ed. London: Edward Arnold Ltd. pp. 44-59
- Shimadzu Corporation, 2009. *Thermal analysis workstation TA-60WS* [En línea]. Version 2.21. Kioto: Shimadzu Corporation. [Consulta: 4 de Noviembre de 2022].
Disponible en: <https://shimadzu.com.au/ta-60ws>
- Smith, K. W.; Bhaggan K.; Talbot, G. y Van Malssen, K., 2011. Crystallization of fats: Influence of minor components and additives. En: *JAACS*, 88, pp. 1085-1101.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1819-7>
- Supaphol, P. y Spruiell, J. E., 2000. A New technique for using DSC melting endotherms to study isothermal bulk crystallization of semicrystalline polymers at low degrees of undercooling: Syndiotactic Polypropylene. En: *Sci - Phys.*, 39, pp. 775-792.
DOI: <https://doi.org/10.1081/MB-100102487>
- Toro-Vazquez, J.; Dibildox-Alvarado, E.; Charo-Alonso, M.; Herrera-Coronado, V. y Gomez-Aldapa, C., 2002. The Avrami Index and the Fractal Dimension in Vegetable Oil Crystallization. En: *JAACS*, 79(9), pp. 855-866. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0570-y>
- Zuher, M. A., Rashid, N. A., Omar, Z. y Ahmad, N., 2018. The influence of chemical interesterification on the physicochemical and microstructural properties of palm stearin, palm kernel oil, rice bran oil and their blends. En: *Malays. Appl. Biol.*, 47(2), pp. 57-69.

Diseño de un caracterizador de medios isotermos basado en ESP32 y DS18B20 en el entorno de programación de Arduino

Design of an isothermal media characterizer based on ESP32 and DS18B20 on the Arduino programming environment

Projeto de um qualificador térmico baseado em ESP32 e DS18B20 no ambiente de programação do Arduino

 **DANIEL LORENZO** (1)(2)

- (1) Taller de Instrumentos, DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- (2) Unidad de Aseguramiento de la Calidad de Equipos e Instrumentos de Medición, IPTP, Facultad de Química, Universidad de la República, Pando, Uruguay.

RECIBIDO: 18/2/2023 → APROBADO: 22/5/2023  dlorenzo@fq.edu.uy

RESUMEN

En este trabajo se presenta el diseño de un dispositivo de bajo costo apto para el alcance de las determinaciones que se llevan a cabo en la Facultad de Química de la Universidad de la República y el Instituto Polo Tecnológico de Pando, de esta facultad, que permite calificar o caracterizar medios isotermos con placas económicas basadas en el entorno de desarrollo Arduino. El dispositivo construido permite la lectura simultánea de la temperatura en 9 puntos y mediante la conexión a internet por medio del Wi-Fi de la placa se transmiten las lecturas a servidores de la Facultad de Química, donde queda registrada la telemetría que posteriormente puede ser descargada para su análisis. Al mismo tiempo, los datos son enviados a un *dashboard* (tablero virtual) que permite la lectura de las mediciones en tiempo real. Conectado a la alimentación eléctrica y con un Wi-Fi estable se pueden realizar mediciones 24/7 en forma remota. El dispositivo permitió calificar varios medios isotermos, informándose algunos valores representativos de la potencialidad de este tipo de desarrollos.

Palabras clave: MQTT (Message Queuing Telemetry Transport), metrología, temperatura.

ABSTRACT

This work presents the design of a low-cost device, suitable for the scope of the determinations that are carried out in the Facultad de Química of the Universidad de la República and the Instituto Polo Tecnológico de Pando allowing the qualification of isothermal media, with low-cost microcontroller boards based on the Arduino development environment. The device also allowed the simultaneous temperature readings at 9 points, and by connecting to the internet through its integrated Wi-Fi, the results were transmitted to Facultad de Química servers, where the telemetry is recorded and can later be downloaded for analysis. Simultaneously the data were sent to a dashboard that allows the reading of the measurements in real time. Being connected to the power supply and with a stable Wi-Fi connection, measurements can be taken 24/7 remotely. The device allowed the qualification of several isothermal media, reporting some representative values of the potential of this type of development.

Keywords: MQTT (Message Queuing Telemetry Transport), metrology, temperature.

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento de um dispositivo de baixo custo, adequado ao escopo das determinações que são realizadas na Faculdade de Química de la Universidad de la República e no Instituto Polo Tecnológico de Pando desta facultade, que permite a qualificação de performance de meios isotérmicos com placas econômicas baseadas no ambiente de desenvolvimento Arduino. O dispositivo desenvolvido permite a leitura simultânea da temperatura em 9 pontos, e por meio da conexão à Internet através do Wi-Fi da placa as leituras são transmitidas para servidores da Faculdade de Química, onde é armazenada a telemetria, dados que posteriormente podem ser descarregados para a sua análise. Ao mesmo tempo, os dados são enviados para um painel que permite a leitura das medições em tempo real. Estando conectado à fonte de alimentação e com uma conexão Wi-Fi estável, é possível realizar medições remotamente 24 horas por dia, 7 dias por semana. O dispositivo permitiu qualificar diversos meios isotérmicos, reportando alguns valores representativos das potencialidades deste tipo de empreendimento.

Palavras-chave: MQTT (Message Queuing Telemetry Transport), metrologia, temperatura.

INTRODUCCIÓN

La calibración o caracterización de un medio isoterma consiste en la determinación de la corrección de la temperatura alcanzada, su fluctuación (estabilidad) y/o el gradiente de temperatura (uniformidad) del espacio de trabajo (EURAMET, 2017).

El espacio de trabajo estará definido por el área efectiva, es decir, en el que la temperatura permanece en condiciones estables para realizar los ensayos. Normalmente los límites del área efectiva son paralelos a los límites del área interna del equipo.

El método general de caracterización consiste en la medición -utilizando varias sondas patrón- de la temperatura en un cierto volumen, o zona de trabajo, durante un determinado

tiempo (Figura 1). Con las medidas de esas sondas se determinan las características del medio o los parámetros, generalmente la estabilidad y homogeneidad (uniformidad).

En forma genérica, los diferentes tipos de equipos principales -o dispositivos de ensayo climáticos- que se pueden encontrar son: hornos y estufas, incubadoras, cámaras climáticas, refrigeradores, baños termostáticos o termostatizados, baños de bloque seco y autoclaves de esterilización.

Los requisitos o parámetros por caracterizar dependerán del tipo de ensayo climático a realizar en los medios isotermos, siendo los más habituales: la estabilidad (temperatura o humedad), la uniformidad (temperatura o humedad), la corrección de la indicación (temperatura o humedad), u otros parámetros temporales como, por ejemplo, la inercia térmica, el tiempo de recuperación, el tiempo de transferencia o decrecimiento térmico y, para el caso de autoclaves, los tiempos de esterilización, el mantenimiento y el equilibrio.

Para llevar a cabo la caracterización se requiere disponer de un conjunto de sensores a fin de determinar la uniformidad del medio y la estabilidad. La estabilidad podría determinarse con una sola sonda, haciéndola variar en distintas posiciones, pero para calcular la homogeneidad es necesario leer varios sensores a la vez, por lo que se necesita disponer de varios conjuntos de TLD (termómetros de lectura directa: sondas Pt100, termopares con un indicador o similares).

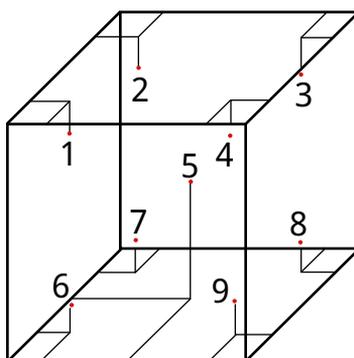


FIGURA 1. Medición en 9 puntos. Ubicación de los sensores para caracterizar un medio isotermo (EURAMET, 2017).

El tipo de sensor a ser utilizado dependerá de la temperatura de caracterización de la estufa-horno. En el caso de estufas con temperaturas de trabajo menores a 250/300 °C, por lo general se utilizan sensores tipo Pt100, y para caracterizar medios isotermos de temperaturas mayores a 300 °C, se usan termopares tipo N (Nicrosil-Nisil), ya que son mucho más estables que los de tipo K (Cromel/Alumel). En este trabajo se utilizó el intervalo de temperatura -20 °C - 125 °C, para lo cual se incorporó el uso de sensores digitales DS18B20 (Maxim Integrated, inc, Estados Unidos). Se trata de un sensor digital de temperatura con encapsulado de tipo TO-92 similar al empleado en transistores pequeños. Con este sensor se pueden medir temperaturas a partir de -55 °C y hasta 125 °C, con una resolución programable desde 9 hasta 12 bits (entre 0.5 °C y 0.0625 °C respectivamente), y una exactitud de 0.5 °C entre -10 °C y 85 °C. El sensor se caracteriza por ser utilizable para la medición de temperatura tanto en ambientes domésticos como industriales. A su vez, sus características permiten crear redes con un gran número de sensores.

El equipamiento requerido para la medida de los sensores consiste, por lo general, en multicalibradores; es decir, sistemas de adquisición de datos organizados de tal forma que puedan leer todos los sensores a la vez para hacer posible la determinación del parámetro de homogeneidad. Este tipo de sistemas presenta como dificultad su costo relativamente elevado. En la Tabla 1 se compara el sistema propuesto con algunos modelos comerciales.

También podrían emplearse 9 *dataloggers* distintos en forma simultánea. Esto implicaría descargar los datos de cada uno de los 9 instrumentos por separado para luego componerlos en una planilla que combine las distintas lecturas.

En este trabajo se llevó a cabo el diseño y la construcción de un multicalibrador de bajo costo, usando sensores DS18B20, para calificar medios isotermos disponibles en la Facultad de Química de la Universidad de la República.

Si bien en la literatura es frecuente encontrar dispositivos basados en ESP32, ESP8266 o Arduino junto a uno o más sensores DS18B20 como *dataloggers*, no es habitual el uso de estos instrumentos como multicalibradores.

TABLA 1. Evaluación de dos opciones comerciales cableadas en comparación con el calificador propuesto en este trabajo.

	Calificador de este trabajo	Calificador comercial modelo 1	Calificador comercial modelo 2	Comentarios
Precio (USD)	< 500	5.200	> 30.000	No aplica.
Número de canales	9	8	12	Lo deseable para este tipo de mapeo es 9 o más.
Resolución de las sondas (°C)	0.0625	0.02/0.001	0.01	La resolución de 0.0625 °C es aceptable para nuestro alcance.
Tipo de sensor	DS18B20	Termopar / termorresistencia	Termopar	No aplica.
Incertidumbre (°C)	0.13	0.26/0.02	No se informa	La incertidumbre de 0.13 °C es apropiada para nuestro alcance.
Software incluido	No	Sí	Sí. CFR 21/11 (U.S. Food and Drug Administration, 2023)	El tratamiento de datos con el calificador es realizado por personal del laboratorio. Si bien contar con un software de procesamiento y descarga automático de los datos resulta ventajoso, es posible realizar esas tareas en forma manual y es apropiado para nuestro alcance. Tampoco es necesario que cumpla con CFR 21 Parte 11 (U.S. Food and Drug Administration, 2023).
Rango de temperatura (°C)	-20 a 125	0 a 50	-20 a 200	El rango de temperatura es apropiado para nuestro alcance.
Frecuencia de registro	9 canales / 6 s	1 lectura / s	48 canales / s	Si bien el calificador propuesto es el más lento, la frecuencia de muestreo es apropiada para nuestro alcance (recordar que se toma una serie de datos cada 60 s).

MATERIALES Y MÉTODOS

El sensor de tipo DS18B20 (Utmel Electronic, 2019) emplea un bus de comunicación denominado 1-Wire. La principal ventaja del bus 1-Wire es que necesita un único conductor para realizar la comunicación, sin contar el conductor de tierra. Por otra parte, los dispositivos pueden ser alimentados directamente por la línea de datos o mediante una línea adicional con una tensión de entre 3.0 y 5.5 V.

Es de destacar que dentro del mismo bus 1-Wire es posible instalar tantos sensores como sea necesario. Además, permite emplear cables más largos que otros sistemas sin que se deteriore la comunicación.

En su diseño, el sensor de tipo DS18B20 está formado por un procesador con múltiples módulos que se encargan de controlar la comunicación, medir la temperatura y gestionar el sistema de alarmas.

Tal como se mencionó anteriormente, la presencia del bus de comunicación 1-Wire permite realizar la transmisión empleando únicamente un cable de datos. Para ello, 1-Wire está basado en un complejo sistema de *timings* en la señal, entre el dispositivo emisor y el receptor.

La mayor desventaja del sistema es que requiere de un código complejo, lo que a su vez supone una alta carga del procesador para consultar el estado de los sensores. El tiempo de adquisición total de una medición resulta ser de 750 ms para cada sensor.

Sin embargo, 1-Wire permite que todos los dispositivos conectados al bus se alimenten a través de la línea de datos, para lo cual dispone de un condensador que almacena energía mientras la línea de datos está en HIGH. Este modo se denomina "modo parásito". En caso de no usar el modo parásito, los dispositivos deben ser alimentados con una tensión de entre 3.0 V y 5.5 V, como se mencionó más arriba.

Independientemente del modo en que sea alimentado, el bus 1-Wire requiere de una resistencia de pull-up de 4,7 kΩ entre las líneas de datos y la alimentación para que funcione correctamente.

Para poder disponer de múltiples dispositivos en un bus 1-Wire, cada sensor contiene una memoria ROM que es grabada de fábrica con un número de 64 bits. Los 8 primeros bits corresponden a la familia (0x28 para el sensor DS18B20). Los siguientes 48 bits son únicos y corresponden al número de serie. Los últimos 8 bits son un código CRC (cyclic redundancy check). Esto significa que potencialmente se podrían llegar a tener 2^{48} (más de 218 billones) de DS18B20 conectados en una misma red 1-Wire, además de otros tantos dispositivos de otras familias (2^{28} , unos 268 millones de familias de dispositivos posibles). A efectos prácticos, esto supone disponer de infinitos dispositivos.

En este sentido, para el sistema que fue construido en el Taller de Instrumentos de la Facultad de Química de la Universidad de la República (Figura 2), los 9 sensores con los que se trabaja están conectados a los mismos terminales de la tarjeta y son identificados por este número característico.

La adquisición de datos de los 9 sensores se realiza cada 60 segundos, intervalo más que suficiente para el tiempo de respuesta de conversión de temperatura más exigente de cada sensor (750 ms en 12 bits, resolución 0.0625 °C). Los parámetros de estabilidad y homogeneidad o uniformidad se toman con un mínimo de 10 valores (en el caso en que sea necesario medir a varias temperaturas de la escala) y un máximo de 8 horas

(cuando las mediciones se realizan a una temperatura fija) del medio a caracterizar. Estos tiempos se comienzan a contar a partir de la estabilización de la temperatura en el medio a caracterizar. Los valores de aceptación se toman del manual del medio, según el fabricante o en base a criterios previamente establecidos y consensuados.

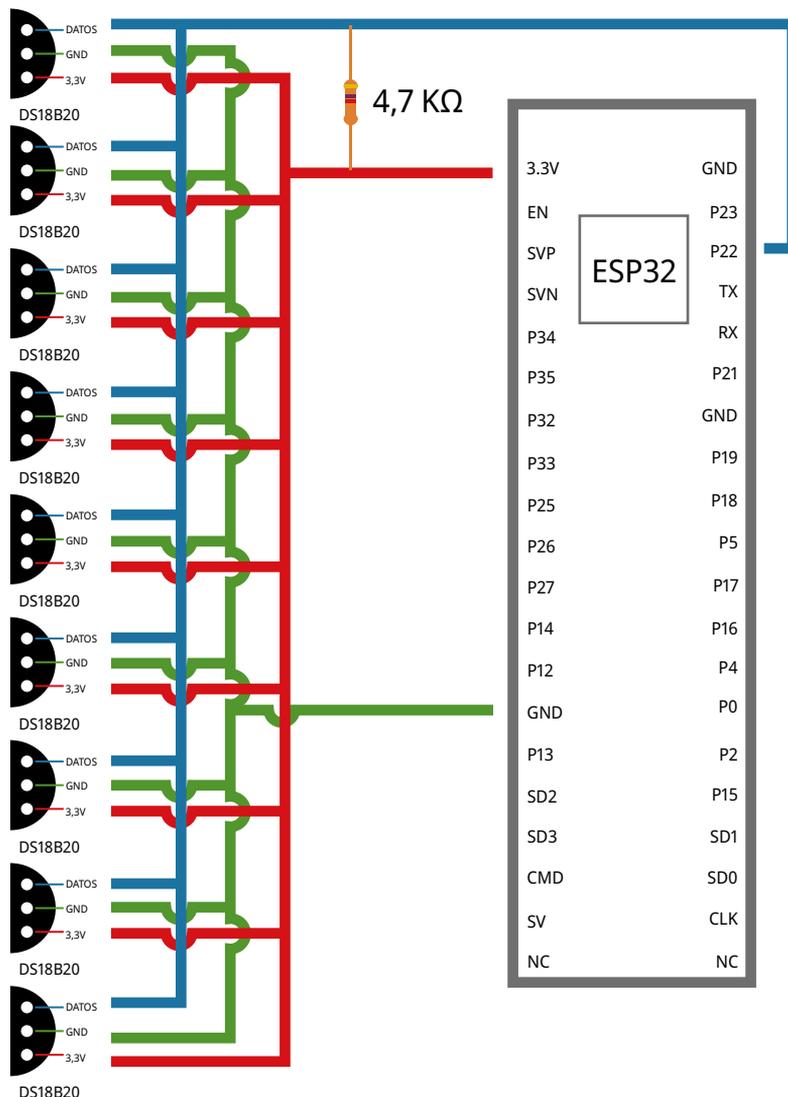


FIGURA 2. Conexiones eléctricas entre los sensores DS18B20 y la placa ESP32.

La placa de microcontrolador utilizada en este trabajo es un modelo de desarrollo de ESP32. El chip ESP32 se está volviendo cada vez más popular en el entorno de desarrollo Arduino (IDE, Integrated development environment). Tratándose de un procesador de 32 bits, es una placa potente con muy buen soporte. Entre otras prestaciones, puede comunicarse vía Wi-Fi y Bluetooth ya que estos módulos vienen incluidos en la placa por defecto. De este modo, los datos de los sensores pueden ser enviados por internet a un servidor Mosquito de la Unidad Académica de Informática Química (Facultad de

Química-Universidad de la República). El valor de cada sensor se envía como un tópicos en el protocolo MQTT (Message Queuing Telemetry Transport) (Wankhede y Gaikwad, 2021). El MQTT es un protocolo de mensajería sencillo y ligero. De hecho, su mecanismo de publicación/suscripción está diseñado para que no sea difícil de ejecutar (Shao et al., 2018).

En resumen, para programar la placa ESP32 se usó el entorno de programación de Arduino IDE (Arduino, 2011). El código ha sido desarrollado para permitir la conexión del dispositivo a una red Wi-Fi del entorno, la conexión al servidor MQTT, la lectura de los sensores cada 60 segundos y el envío de los datos al servidor.

El paquete Node-RED (OpenJS Foundation & Contributors, 2012), que corre en otro servidor de la Facultad de Química, fue el encargado de almacenar los datos en una base de datos SQLite (Hipp, Wyrick & Company, Inc, 2000) y en enviar los valores a un *dashboard* en la nube. De esta forma, es posible realizar un monitoreo de los valores en tiempo real en cualquier computadora o teléfono celular (Figura 3).

La placa se alimenta a través de un puerto micro USB, utilizando un cargador de 230 V a 5 V, 2,5 A.

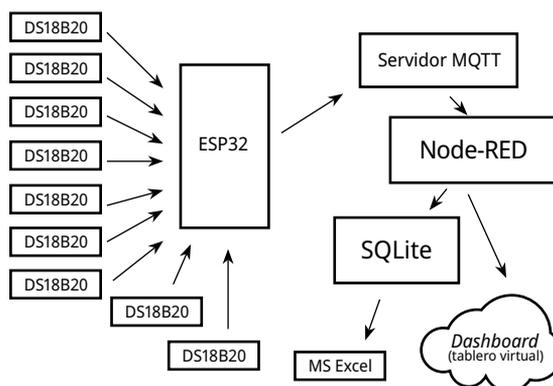


FIGURA 3. Flujo de la telemetría.

En la metodología diseñada, la herramienta de programación visual Node-RED (OpenJS Foundation & Contributors, 2012) (Figura 4), a través del nodo *mqtt in*, toma los 9 valores de temperatura y los envía por separado a un *dashboard* gratuito (Cayenne) utilizando el nodo *cayenne sensor*. El *dashboard* puede observarse en cualquier navegador web (Figura 5). Al mismo tiempo, se utiliza el nodo *join* para combinar los múltiples mensajes que llegan desde cada sensor en un único mensaje que contiene la fecha y hora junto a los valores de cada sensor. Así, el mensaje con las temperaturas y el tiempo puede almacenarse en la base de datos a través de una función y el nodo *sqlite*. Los valores almacenados en la base de datos pueden ser descargados en múltiples formatos (por ejemplo, csv) y pueden importarse con MS Excel. Con la hoja de cálculo se realizó el tratamiento estadístico y el cálculo de incertidumbres para informar los resultados.

Cálculos

A continuación, se presenta un resumen de los cálculos utilizados, ya que un enfoque más detallado escapa al objetivo de este trabajo.

Estabilidad:

Para cada punto de ensayo (j) se calcula la estabilidad y se toma el valor máximo.

$$e_{medio} = \max(|\max(x_{ij}) - \min(x_{ij})|) / 2 \quad (1)$$

Uniformidad u homogeneidad:

Se trabaja con la media de los valores tomados en cada uno de los patrones.

$$un_{medio} = |\max(\bar{x}_j) - \min(\bar{x}_j)| / 2 \quad (2)$$

Cálculo de incertidumbres

Estabilidad:

$$u^2(\delta x_e) = u^2_{res} + \left(\frac{e_{medio}/2}{\sqrt{3}}\right)^2 \quad (3)$$

Uniformidad:

$$u^2(\delta x_{un}) = u^2_{temp.media} + \left(\frac{un_{medio}/2}{\sqrt{3}}\right)^2 \quad (4)$$

Donde:

$u^2_{temp.media}$ es la incertidumbre típica debida al cálculo de la temperatura media.

u^2_{res} es la incertidumbre típica debida a la resolución del termómetro patrón.

Ambas componentes deben ser expandidas por el factor de cobertura $k = 2$.

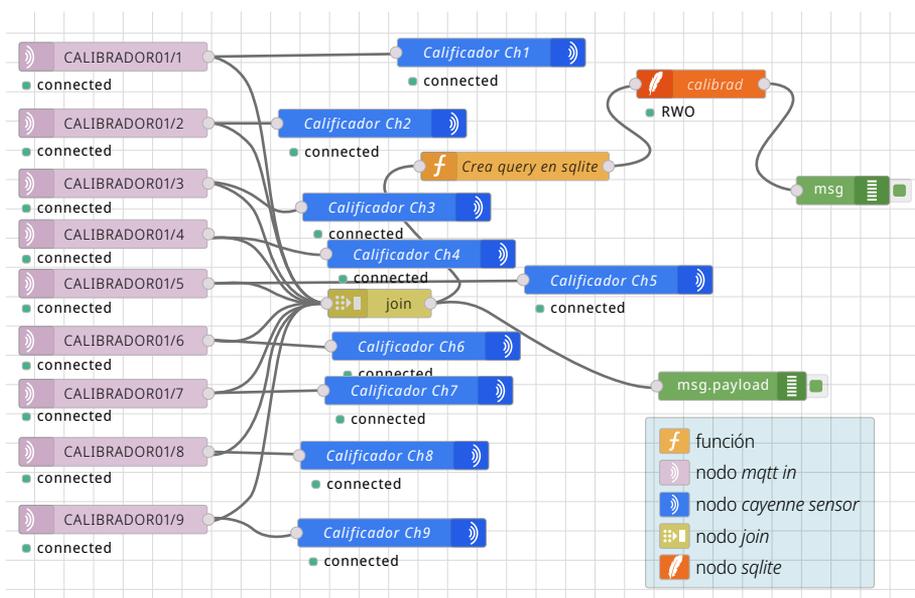


FIGURA 4. Flujo de Node-RED utilizado.

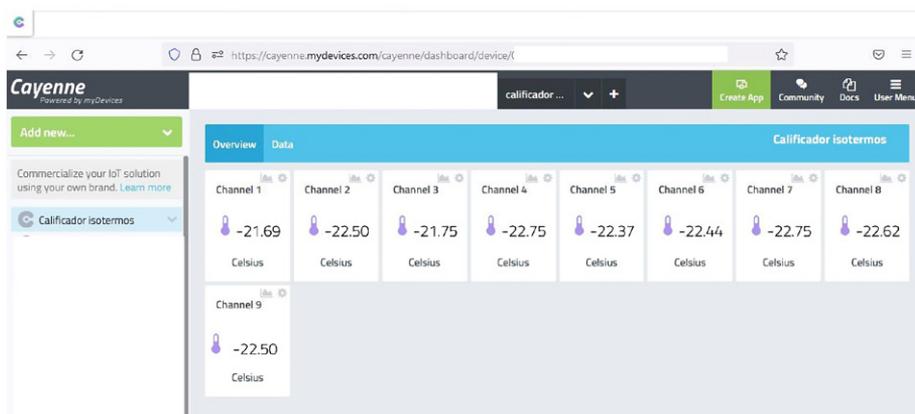


FIGURA 5. Visualización de datos en la web de Cayenne.

Cálculo de costos

El costo de los materiales del calificador se muestra en la siguiente Tabla 2.

TABLA 2. Desarrollo de costos del dispositivo (precios año 2020, en plaza).

Componente	Cantidad	Costo individual (USD)	Costo (USD)
Tarjeta ESP32	1	28	28
Sensor DS18B20	9	5	45
Resistencia 4,7 kΩ	1	<1	<1
Tarjeta prototipo de cobre	1	1	1
Caja registro estanco	1	7	7
Cargador	1	18	18
Adaptador para cargador	1	5	5
Calibración	1	379	379

Luego de finalizada su construcción y superadas las etapas de prueba, el equipo fue calibrado en un laboratorio acreditado en la magnitud temperatura (ServiMET, Uruguay). La calibración se realizó en el rango de temperaturas entre -20 °C y 120 °C. Las incertidumbres expandidas obtenidas estuvieron entre un máximo de 0.30 °C a -20°C y un mínimo de 0.13 °C entre 0 °C y 100 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema desarrollado ha demostrado ser apropiado para caracterizar distintos medios isotermos. En cuanto al diseño, los resultados obtenidos de la calibración de las sondas DS18B20 en un laboratorio acreditado en temperatura muestran incertidumbres para el

intervalo 0-100 °C de 0.13 °C. Este dato, junto a la resolución a la que están configuradas (0.0625 °C) las sondas, permite llevar a cabo la mayoría de las caracterizaciones necesarias en los medios isotermos para los que el instrumento fue concebido. Si bien no llegan a los valores de resolución e incertidumbre de termopares o termorresistencias (estos últimos son por lo menos un orden menor a las DS18B20), son más que suficiente para las aplicaciones en laboratorios universitarios.

Para evaluar el desempeño en campo, en la Tabla 3 se adjuntan algunos ejemplos representativos de diferentes caracterizaciones llevadas a cabo. El ejemplo 1 corresponde a una cámara climática de punto consigna 40.0 °C. El ejemplo 2 corresponde a otra cámara climática, esta vez fijada a 25.0 °C. El ejemplo 3, a un horno operando a 105.0 °C. El ejemplo 4, a un refrigerador cuya temperatura consigna es de 5 °C. Los 4 ejemplos cubren un amplio rango de temperaturas y modos de funcionamiento (calefacción y refrigeración), lo cual permite apreciar la versatilidad del calificador y su comportamiento en el rango.

TABLA 3. Ejemplos de desempeño del instrumento en la vida real.

Ejemplo 1		Promedio mínimo	39.72 °C	Sensor 7		
		Promedio máximo	40.16 °C	Sensor 3		
Sensor N°	ID	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Promedio (°C)	Delta (°C)	
1	28D681373819015B	39.92	40.04	39.98	0.12	
2	28CB183B3819011C	40.02	40.08	40.05	0.06	
3	2893F428381901D8	40.15	40.21	40.16	0.06	
4	28FFB6A301170371	40.15	40.21	40.15	0.06	
5	28FF916F8114029A	40.02	40.15	40.08	0.13	
6	28D3BC31381901D1	39.85	39.92	39.90	0.07	
7	28FF29C724170396	39.72	39.78	39.72	0.06	
8	282A8200381901D4	39.90	39.96	39.96	0.06	
9	286DE21D38190190	39.71	39.77	39.77	0.06	
Parámetro	Valor (°C)	Incertidumbre (°C)				
Estabilidad	0.07	0.04				
Homogeneidad	0.22	0.14				
Corrección temperatura	0.1	0.3				

Ejemplo 2		Promedio mínimo	23.8 °C	Sensor 7		
		Promedio máximo	24.9 °C	Sensor 3		
Sensor N°	ID	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Promedio (°C)	Delta (°C)	
1	28D681373819015B	24.48	24.60	24.54	0.12	
2	28CB183B3819011C	24.70	24.83	24.77	0.13	
3	2893F428381901D8	24.83	24.96	24.90	0.13	
4	28FFB6A301170371	24.77	24.89	24.83	0.12	
5	28FF916F8114029A	24.25	24.58	24.31	0.33	
6	28D3BC31381901D1	24.66	24.73	24.71	0.07	
7	28FF29C724170396	23.72	23.84	23.80	0.12	
8	282A8200381901D4	24.52	24.71	24.62	0.19	
9	286DE21D38190190	24.46	24.46	24.46	0.00	
Parámetro	Valor (°C)	Incertidumbre (°C)				
Estabilidad	0.17	0.10				
Homogeneidad	0.55	0.33				
Corrección temperatura	-0.3	0.7				

Ejemplo 3		Promedio mínimo	102.13 °C	Sensor 1		
		Promedio máximo	104.36 °C	Sensor 2		
Sensor N°	ID	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Promedio (°C)	Delta (°C)	
1	28D681373819015B	101.90	102.27	102.13	0.37	
2	28CB183B3819011C	104.23	104.48	104.36	0.25	
3	2893F428381901D8	102.69	103.06	102.81	0.37	
4	28FFB6A301170371	102.24	102.92	102.37	0.69	
5	28FF916F8114029A	103.67	103.92	103.79	0.25	
6	28D3BC31381901D1	103.92	104.23	104.06	0.31	
7	28FF29C724170396	103.36	103.67	103.47	0.31	
8	282A8200381901D4	102.41	103.16	102.70	0.75	
9	286DE21D38190190	102.86	103.86	103.11	1.00	
Parámetro	Valor (°C)	Incertidumbre (°C)				
Estabilidad	0.50	0.29				
Homogeneidad	1.12	0.65				
Corrección temperatura	-1.9	1.4				

Ejemplo 4		Promedio mínimo	2.83 °C	Sensor 3		
		Promedio máximo	6.13 °C	Sensor 8		
Sensor N°	ID	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Promedio (°C)	Delta (°C)	
1	28D681373819015B	3.50	4.31	3.87	0.81	
2	28CB183B3819011C	4.44	5.31	4.91	0.87	
3	2893F428381901D8	2.25	3.44	2.83	1.19	
4	28FFB6A301170371	2.69	3.69	3.18	1.00	
5	28FF916F8114029A	4.88	5.38	5.12	0.50	
6	28D3BC31381901D1	5.38	6.13	5.75	0.75	
7	28FF29C724170396	5.19	5.88	5.52	0.69	
8	282A8200381901D4	5.81	6.44	6.13	0.63	
9	286DE21D38190190	4.75	5.44	5.10	0.69	
Parámetro	Valor (°C)	Incertidumbre (°C)				
Estabilidad	0.59	0.34				
Homogeneidad	1.65	0.96				
Corrección temperatura	-1	2				

Como se puede apreciar en estos ejemplos, el dispositivo permitió caracterizar medios de variadas características en distintas condiciones de temperatura. Fue capaz de detectar las importantes variaciones de temperatura en los ejemplos 3 y 4, lo cual se refleja en el alto valor de homogeneidad. A su vez, se pudo evidenciar la distinta estabilidad de los medios 3 y 4 respecto a los 1 y 2, lo cual no es casual ya que el refrigerador es un modelo comercial, el horno de laboratorio del ejemplo 3 es de una marca de tercer orden, mientras que los ejemplos 1 y 2 son cámaras industriales de una marca de primera línea. Las incertidumbres alcanzadas (fuertemente relacionadas con las propiedades del medio a caracterizar) llegaron a ser considerablemente bajas (estabilidad, 0.04 °C; homogeneidad, 0.14 °C), reflejándose también en ellas el comportamiento de los medios caracterizados. Con equipos con una buena homogeneidad y estabilidad, se obtienen bajas incertidumbres. El instrumento responde adecuada y coherentemente al medio que está caracterizando.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede afirmar que las prestaciones del caracterizador de medios diseñado y construido en el Taller de Instrumentos de la

Facultad de Química de la Universidad de la República son adecuadas para garantizar la trazabilidad y la calidad metrológica de los distintos medios que se utilizan en los laboratorios. Esto permite asegurar la calidad de los resultados analíticos en los que intervenga. La herramienta ha resultado eficiente y económica, y constituye una aplicación novedosa de las placas programadas en el entorno de Arduino.

REFERENCIAS

- Arduino, 2011. *Integrated development environment "IDE" for Arduino* [En línea]. Vers. 1.8.57.00. [s.l.]: Arduino. [Consulta: 25 de enero de 2023].
Disponible en: <https://www.arduino.cc/en/software>
- EURAMET, 2017. *Calibration Guide No. 20*. Vers. 5.0 [En línea]. Braunschweig: EURAMET. [Consulta: 31 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.euramet.org/publications-media-centre/calibration-guidelines>
- Hipp, Wyrick & Company, Inc., 2000. *SQLite* [En línea]. Vers 3.34.1. [s.l.]: Hipp, Wyrick & Company, Inc. [Consulta: 31 de enero de 2023]. Disponible en: www.sqlite.org/src
- OpenJS Foundation & Contributors, 2012. *Node-Red* [En línea]. Vers. 2.1.3. [s.l.]: OpenJS c & Contributors. [Consulta: 25 de enero de 2023]. Disponible en: <https://nodered.org>
- Shao, Zhen-tang; Huang, Meng-Xing; Wu, Di, Zhang, Xu y Huang, Ao, 2018. Design of a simplified wireless sensor network node based on MQTT Protocol. En: *DEStech Transactions on Computer Science and Engineering*. Dic. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.48550/arXiv.1906.10540>
- U.S. Food and Drug Administration, 2023. *CFR - Code of Federal Regulations Title 21* [En línea]. Washington: FDA. [Consulta: 26 de enero].
Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm>
- Utmel Electronic, 2019. *DS18B20 Programmable resolution 1-wire digital thermometer* [En línea]. Quebec: Utmel Electronic. [Consulta: 31 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/ds18b20-par.pdf>
- Wankhede, A. y Gaikwad, S.P., 2021. 4 Channel concrete temperature data acquisition system using GPRS data network. En: *Indian J. Sci. Technol.*, 14(18), pp. 1516-1524.
DOI: <https://doi.org/10.17485/IJST/v14i18.296>

Links relacionados

Cayenne: disponible en cayenne.mydevices.com

Métodos potenciométricos y conductimétricos de bajo costo: una revisión

Low-cost potentiometric and conductometric methods: a review

Métodos potenciométricos e condutimétricos de baixo custo: uma revisão

 **JAVIER ERNESTO VILASÓ CADRE** (1)

 **JAVIER GONZALO GONZÁLEZ FONTANET** (2)

 **JUAN JESÚS PIÑA** (3)

 **MARÍA DE LOS ÁNGELES ARADA PÉREZ** (4)

(1) Instituto de Metalurgia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.

(2) Departamento de Ingeniería Electrónica, Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.

(3) Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de La Habana, Cuba.

(4) Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Cuba.

RECIBIDO: 9/12/2022 → APROBADO: 10/2/2023 ✉ jvilasocadre@gmail.com

RESUMEN

La potencimetría y la conductimetría son los métodos electroanalíticos más comunes en los laboratorios. Una de las ventajas de los métodos electroquímicos es la posibilidad de construir instrumentación no comercial de bajo costo, ya que la interacción física y la respuesta fisicoquímica del sistema son de naturaleza eléctrica. La instrumentación no comercial de bajo costo permite el acceso a los métodos tanto para la investigación como para la enseñanza; además, facilita la adecuación para diseños experimentales o procesos con requerimientos específicos tales como el monitoreo en tiempo real. Varios autores han trabajado en el desarrollo de instrumentación potenciométrica y conductimétrica de bajo costo, implementando sistemas que contemplan desde los electrodos hasta el instrumento de medición. En este trabajo se presenta una revisión sobre los métodos potenciométricos y conductimétricos no comerciales de bajo costo, partiendo de instrumentación muy sencilla hasta circuitos electrónicos más avanzados. Los trabajos que se discuten demuestran que es posible la construcción de instrumentación potenciométrica y conductimétrica con resultados analíticos dentro de los requerimientos establecidos para el análisis químico.

Palabras clave: potencimetría, conductimetría, no comercial.

ABSTRACT

Potentiometry and conductometry are the most common electroanalytical methods in laboratories. One of the advantages of electrochemical methods is the possibility to construct low-cost, non-commercial instrumentation since the physical interaction and the physico-chemical response of the system are electrical in nature. Low-cost, non-commercial instrumentation provides access to methods for both research and teaching; it also allows adaptation to experimental designs or processes with specific requirements such as real-time monitoring. Several authors have worked on the development of low-cost potentiometric and conductometric instrumentation, implementing systems that contemplate from the electrodes to the measuring instrument. In this work, a review of low-cost, non-commercial potentiometric and conductometric methods is presented, starting from quite simple instrumentation to more advanced electronic circuits. The works discussed demonstrates that it is possible to construct potentiometric and conductometric instrumentation with analytical results within the requirements for chemical analysis.

Keywords: potentiometry, conductometry, non-commercial.

RESUMO

A potenciometria e a condutimetria são os métodos electroanalíticos mais comuns nos laboratórios. Uma das vantagens dos métodos electroquímicos é a possibilidade de construir instrumentos de baixo custo e não comerciais, uma vez que a interação física e a resposta físico-química do sistema são de natureza eléctrica. A instrumentação de baixo custo e não comercial permite o acesso aos métodos tanto para a investigação como para o ensino; também facilita a adaptação a desenhos experimentais ou processos com requisitos específicos, tais como a monitorização em tempo real. Vários autores trabalharam no desenvolvimento de instrumentos potenciométricos e condutimétricos de baixo custo, implementando sistemas que vão desde os eléctrodos até ao instrumento de medição. Este documento apresenta uma revisão dos métodos potenciométricos e condutimétricos de baixo custo e não comerciais, desde instrumentação muito simples até circuitos electrónicos mais avançados. Os trabalhos discutidos demonstram que é possível construir instrumentação potenciométrica e condutimétrica com resultados analíticos dentro dos requisitos estabelecidos para a análise química.

Palavras-chave: potenciometria, condutimetria, não comercial.

INTRODUCCIÓN

La potenciometría y la conductimetría son los métodos electroanalíticos más comunes en los laboratorios químicos. La potenciometría se basa en medir la diferencia de potencial entre dos electrodos en una celda: uno de referencia y otro indicador sensible y selectivo al analito. El más clásico ejemplo de este método es la medición de pH utilizando un electrodo de membrana de vidrio. El electrodo indicador debe responder a

la concentración o, estrictamente, a la actividad de la especie que se determina (Skoog et al., 2017; Shah et al., 2020; Pincus et al., 2021). La determinación electroanalítica potenciométrica está basada en la variación de la diferencia de potencial de una celda en función de la concentración, según la ecuación de Nernst. En este método, el electrodo indicador juega un papel fundamental debido a que la cuantificación depende de la capacidad de reconocimiento selectivo y cuantitativo que este tenga sobre el analito. El desarrollo de electrodos selectivos a iones, moléculas orgánicas y gases es toda un área de investigación dentro de la química analítica (Wang et al., 2021; Elbalkiny y Samir, 2022; Silva et al., 2022; Wadie et al., 2022). Los electrodos selectivos pueden ser de membrana sólida, membrana líquida o membranas especiales (Covington, 1979; Mikhelson, 2013). El instrumento que procesa la señal transducida se llama potenciómetro, el cual se denomina pH-metro específicamente para la medición de pH (Skoog et al., 2017).

La potenciometría es el método electroanalítico por excelencia debido a su sencillez operativa, lo que hace que se requiera de poca especialización para el análisis. Algo contrario a lo que sucede con métodos más potentes, como la voltamperometría, que requieren de conocimientos más especializados en electroquímica. La potenciometría ha permitido la cuantificación de iones como CN^- , F^- , Cl^- , NO_3^- , I^- , Ag^+ , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ y H^+ , entre muchos otros (Bakker y Pretsch, 2005; Hein et al., 2020; Isildak y Özbek, 2021); también ha posibilitado la cuantificación de gases disueltos y biomoléculas (Pasierb y Rekas, 2009; Karimi-Maleh et al., 2021). La rapidez de las mediciones, así como la confiabilidad analítica, ha convertido a este método en una herramienta de preferencia en los laboratorios de alta demanda como los industriales o los de servicios científico-técnicos. La elevada selectividad de los electrodos potenciométricos los hace idóneos para muestras complejas, como las de naturaleza biológica, ya que evita los tratamientos de muestra que se requieren para la cuantificación mediante métodos ópticos como la espectrofotometría UV-visible. La potenciometría se usa comúnmente como un método de indicación del punto final de una valoración, lo que se conoce como potenciometría indirecta (Néher-Neumann, 2009).

Por otro lado, la conductimetría se basa en medir la resistencia eléctrica de una disolución o muestra líquida en general al imponer un campo eléctrico alterno entre dos electrodos que se encuentran a una distancia fija (Skoog et al., 2017; Shah et al., 2020). El inverso de la resistencia multiplicado por una constante que refleje las características geométricas de la celda es la conductividad específica de la muestra (McNaught y Wilkinson, 1997; U.S. Geological Survey, 2019). El instrumento que mide la conductividad eléctrica de una muestra líquida se llama conductímetro. Los conductímetros reportan directamente el valor de la conductividad específica. El método emplea un campo eléctrico alterno para evitar la electrólisis de las especies.

La conductimetría es un método limitado en aplicaciones cuantitativas; de manera directa se usa para medir la conductividad eléctrica, la cual puede correlacionarse con la cantidad de sólidos disueltos, pero no con alguna especie o sustancia en particular, a no ser que específicamente en alguna muestra toda la conductividad se deba a alguna sustancia (Thirumalini y Joseph, 2009; Rusydi, 2018). Sin embargo, la conductimetría es un método básico para estudios medioambientales (Das et al., 2006; Bhateria y Jain, 2016), control de procesos (de Souza Antas et al., 2018), control de cultivos agrícolas (Sarabia Meléndez et al., 2011; Cerna-Cueva et al., 2022), estudios en disolución acuosa

(Ortega-Hernández et al., 2022) y otros donde la cantidad de sales disueltas debe ser controlada. Al igual que la potenciometría, la conductimetría se utiliza para la indicación del punto final de una valoración; de hecho, la detección conductimétrica es más rápida porque requiere de menos puntos experimentales, arrojando resultados igualmente exactos (Obaya Valdivia et al., 2019).

En general, la principal dificultad para implementar los métodos instrumentales de análisis químico es el costo de la instrumentación. La ventaja de los métodos electroquímicos es que la señal de perturbación sobre el sistema y la señal de respuesta son de naturaleza eléctrica, lo que hace más fácil la construcción de instrumentos no comerciales de bajo costo. Por esto, varios autores se han enfocado en construir este tipo de instrumentación, el cual es más fácil de desarrollar en el caso de los potenciómetros y conductímetros dado que son instrumentos relativamente sencillos (Calero Cáceres y Bonilla, 2011; Jin et al., 2018; Corredor León y Prieto Sáenz, 2019). La construcción de instrumentación de bajo costo permite tener acceso a estos métodos en los casos donde no es posible adquirir la instrumentación comercial; además permite la adecuación a requerimientos específicos de determinados procesos o diseños experimentales, así como la miniaturización del sistema de medida que posibilita la descentralización analítica. En la enseñanza de los métodos electroquímicos, este tipo de instrumentación puede ser particularmente útil ya que es posible el acceso a la actividad docente experimental a muy bajo costo. Las aplicaciones en investigación y control de procesos son igualmente posibles y válidas.

En este trabajo se presenta una revisión de la instrumentación no comercial de bajo costo para el desarrollo de la potenciometría y la conductimetría. Se trata de una forma de contribuir a una investigación y enseñanza más económicas y, por tanto, más accesibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda y revisión de artículos sobre instrumentación de bajo costo para la implementación de la potenciometría y la conductimetría. Las publicaciones presentadas se extienden desde 2003 hasta 2022. No existe reporte de una revisión sobre el tema analizado, por lo que se pretende mostrar a los investigadores que existen varias opciones para acceder a la instrumentación necesaria para estos métodos, pero a un costo mucho menor que el que se presenta comercialmente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Métodos potenciométricos de bajo costo

La instrumentación para el desarrollo de la potenciometría es muy sencilla. Debido a que los electrodos indicadores de membrana presentan una alta resistencia eléctrica, un potenciómetro es básicamente un medidor de voltaje de alta impedancia de entrada (García Torres, 1991). Los parámetros de desempeño analítico de un método potenciométrico tales como la linealidad, selectividad, veracidad y precisión

dependen en gran medida del electrodo selectivo (Arada Pérez, 2020); a diferencia de la voltamperometría, donde el potenciostato es clave en los parámetros de desempeño analítico porque dependen de condiciones instrumentales como el tipo de barrido de potenciales, la velocidad de barrido y el tiempo de adquisición de la corriente, entre otras (Skoog et al., 2017). Por esto, las investigaciones en el campo de la potenciometría se han enfocado mayormente en interfases electroquímicas selectivas a especies de interés ambiental, industrial y científico. Con ese objetivo, se han desarrollado diferentes tipos de transductores potenciométricos que se agrupan fundamentalmente en los electrodos de membrana sólida, electrodos de membrana líquida, electrodos de membranas sensibles a gases y electrodos enzimáticos de membrana (Arada Pérez, 2020).

Los electrodos selectivos a ion hidronio (electrodos para pH) se comenzaron a desarrollar a inicios del siglo XX. Posteriormente, los estudios se extendieron a la selectividad para otros iones en disolución, lo que condujo a la introducción del término "electrodo selectivo a ion", para luego llegar a los electrodos sensibles a gases y a biomoléculas (Arada Pérez, 2020).

La ventaja de los electrodos potenciométricos es que son relativamente sencillos de construir cuando existe algún material capaz de interactuar selectiva y cuantitativamente con la especie química de interés. La interacción es cuantitativa si la respuesta instrumental de diferencia de potencial sigue la ecuación de Nernst. La evaluación de la respuesta a iones interferentes es indispensable en el desarrollo de un electrodo selectivo potenciométrico. Por esto, en la práctica se utiliza la ecuación de Nikolsky, una extensión de la ecuación de Nernst que toma en cuenta las interferencias (Ecuación 1) (Bieg et al., 2017; Arada Pérez, 2020).

$$E = K + S \cdot \log \left[a_A + K_{AB}^{pot} \cdot a_B^{Z_A/Z_B} \right] \quad (1)$$

Donde:

E es el potencial de la celda potenciométrica (mV).

K es la constante que incluye el potencial estándar del electrodo indicador, el potencial del electrodo de referencia y el potencial de unión líquida (mV).

S es la pendiente referida al cambio decádico de concentración (mV/década).

a_A es la actividad del ion principal o primario (mol/L).

a_B es la actividad del ion interferente (mol/L).

Z_A es la carga del ion principal, incluido el signo.

Z_B es la carga del ion interferente, incluido el signo.

K_{AB}^{pot} es el coeficiente potenciométrico de selectividad.

Varios autores han trabajado en el desarrollo de potenciómetros de bajo costo, llegando algunos a construir adicionalmente electrodos no comerciales. Estos trabajos se discuten a continuación.

Calero Cáceres y Bonilla (2011) presentan el desarrollo de un método micropotenciométrico para la determinación de acidez valorable en bebidas alimentarias. Toda la instrumentación, incluyendo los electrodos, fue de bajo costo y reportada previamente por Baeza (2003a, 2003b). Se construyó una microbureta que consistió en

dos jeringas tipo insulina acopladas perpendicularmente (Figura 1). La jeringa horizontal tiene la función de suministrar la disolución valorante a la jeringa principal (vertical). El sistema de agitación fue construido ensamblando un ventilador de computadora en una caja de acrílico con dos terminales eléctricos a los que se conecta una fuente de poder. Este ventilador tiene soldado un imán en su parte superior, el cual queda cubierto por la tapa de la caja de acrílico; esto permite la agitación al introducir en la disolución un imán de agitación común.

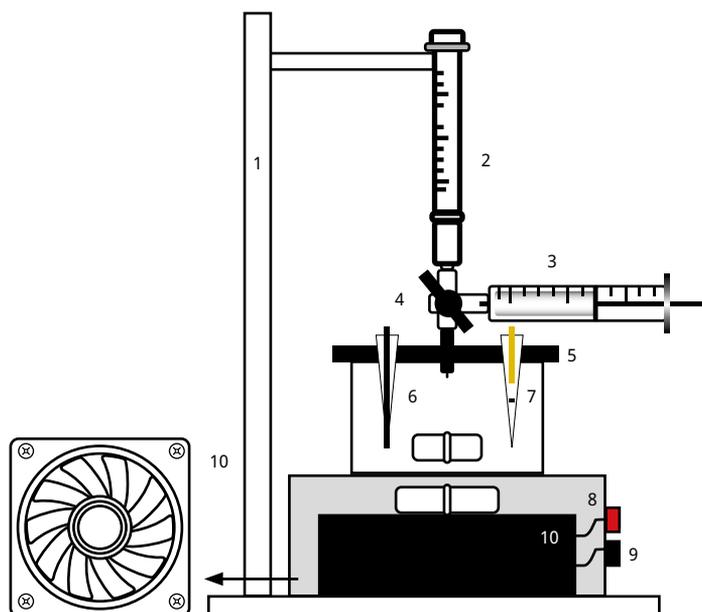
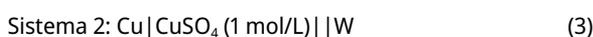


FIGURA 1. Sistema micropotenciométrico de bajo costo usado por Calero Cáceres y Bonilla (2011): 1) Soporte de acrílico, 2) Jeringa tipo insulina, 3) Jeringa para suministrar la disolución valorante a la jeringa tipo insulina, 4) Llave para alternar la entrada de disolución a la jeringa tipo insulina, 5) Tapa de la celda de valoración potenciométrica, 6) Electrodo indicador de pH, 7) Electrodo de referencia, 8) Agitador magnético de bajo costo, 9) Conectores para fuente de poder para el agitador, 10) Ventilador de computadora.

Como electrodo sensible al ion hidronio se utilizó una barra de tungsteno (>99.5 %) soportada en una punta de pipeta. Se evaluaron dos electrodos de referencia, el primero consistió en una barra de cobre sumergida en agua descarbonatada (sistema 1); y el segundo también en una barra de cobre, pero sumergida en una disolución de CuSO_4 1 mol/L (sistema 2). Estos sistemas se representan junto con el electrodo indicador en las Ecuaciones 2 y 3. El electrodo de referencia se mantuvo separado de la disolución usando una punta de pipeta con algodón como barrera permeable (Figura 2). Los valores de potencial se midieron con un multímetro comercial de bajo costo.



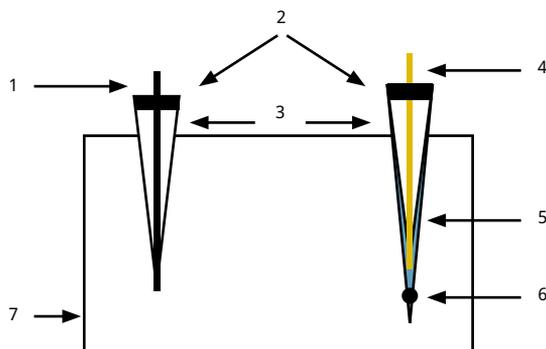


FIGURA 2. Celda potenciométrica de bajo costo: 1) Barra de tungsteno, 2) Silicona en barra, 3) Puntas de micropipeta, 4) Alambre de cobre, 5) Solución de CuSO_4 1 mol/L o agua destilada descarbonatada, 6) Algodón, 7) Vaso de 15 mL. Fuente: Calero Cáceres y Bonilla (2011), reproducida con autorización de los autores.

La validación del método se realizó mediante la determinación de los parámetros de desempeño analítico: límite de detección y cuantificación (LD y LC), exactitud, precisión y sensibilidad. Además, se realizó un estudio comparativo con respecto a la potenciometría comercial con electrodo de membrana de vidrio, analizando la acidez de 30 muestras de jugos y bebidas en un amplio intervalo de concentraciones.

Los resultados mostraron una buena relación lineal entre el potencial medido y el pH de la disolución para ambos sistemas (sistema 1 y sistema 2), con coeficientes de correlación superiores a 0.990. El sistema 1 fue más estable para valores elevados de pH, y el sistema 2 lo fue para valores bajos. En un estudio de estabilidad de cuatro días sin cambiar la solución/agua de los electrodos de referencia, se observó evaporación a partir del tercer día en el electrodo que contenía agua; mientras que en el electrodo de referencia con CuSO_4 1 mol/L ocurrió la corrosión del cobre a partir del tercer día y la cristalización en el tapón de algodón a partir del cuarto día. Todo esto provocó que, para los dos sistemas, la sensibilidad solo fuera estable hasta los tres días sin recambio del electrodo de referencia.

Los dos sistemas mostraron buena linealidad del potencial en función del pH. Con el correr de los días, esta relación fue más estable en el sistema 2 que en el sistema 1, lo que indica que la pérdida del agua de llenado del electrodo de referencia del sistema 1 es más significativa que los fenómenos de corrosión y cristalización en el sistema 2. Sin embargo, Calero Cáceres y Bonilla (2011) muestran preferencia por el sistema 1 debido a que para la renovación del electrodo de referencia del sistema 2 se requiere la preparación de una nueva solución de CuSO_4 1 mol/L y la sustitución del alambre de cobre, mientras que en sistema 1 solo es necesario sustituir el agua y la barrera permeable de algodón, acompañado de un lijado del contacto del alambre de cobre con el multímetro. El método micropotenciométrico fue preciso, demostrado estadísticamente mediante una prueba t para 9 repeticiones a diferentes niveles de acidez desde el 0.1 % hasta el 10 %. El LD fue del 0.02 % y el LC fue del 0.03 %. El método fue exacto, con coeficientes de variación entre el 1.5 % y el 6.54 %; así como una recuperación sobre analito añadido del 100 % al 107 %. Finalmente, los investigadores realizaron la determinación de acidez en

tres bebidas mediante valoración ácido-base con la instrumentación de bajo costo y con instrumentación comercial a escala convencional usando un electrodo de membrana de vidrio para pH. Se observó una elevada correlación entre los valores cuantificados por ambos métodos para un rango de acidez muy amplio.

El trabajo de Calero Cáceres y Bonilla (2011) es particularmente interesante, puesto que es de las pocas investigaciones que realiza una amplia validación analítica de un método potenciométrico de bajo costo que contempla desde el transductor electroquímico (electrodos) hasta los materiales volumétricos y el equipo de agitación magnética. Los resultados demuestran que la instrumentación propuesta es competitiva con el método comercial a escala convencional.

Papadopoulos y Jannakoudakis (2016) muestran la construcción de un pH-metro basado en un microcontrolador y amplificadores operacionales. El desarrollo está focalizado en una actividad de aprendizaje para alumnos, por lo que los autores hacen énfasis en aspectos básicos de la electrónica de este tipo de sistemas, algo que puede ser útil para principiantes en la construcción de instrumentación potenciométrica. Los amplificadores operacionales son de marcada importancia para los sistemas de adquisición de datos sobre celdas electroquímicas ya que permiten la amplificación, la amortiguación, el filtrado y otras funciones que hacen posible la digitalización de la señal de salida desde un sensor electrométrico. Por su parte, los microcontroladores permiten el procesamiento de los datos, la transferencia hacia un aparato de cómputo y la visualización de la información.

Los investigadores utilizaron una placa de desarrollo de bajo costo marca Tiva (Texas Instruments). Un convertidor analógico-digital (ADC) permitió la adquisición de señal desde el sensor hasta el microcontrolador. La programación se realizó en el entorno de desarrollo integrado Code Composer Studio (CCS Team, 2016). El procesamiento de la señal analógica fue posible usando ASLK PRO (ASLK PRO Team, 2016). El diseño del circuito analógico se realizó con el entorno de simulación Tina (TINA Team, 2016). Los datos adquiridos por el ADC se almacenan en una memoria y luego pueden ser mostrados en una pantalla o transferidos a la PC; la comunicación con esta última se consiguió con un terminal RS-232. Los autores muestran una interfaz gráfica sencilla e intuitiva que permite la manipulación del instrumento y la visualización de los valores de medición de pH empleando un electrodo comercial de membrana de vidrio. Este trabajo es una excelente guía para la construcción de un pH-metro de bajo costo con prestaciones comparables a las de los instrumentos comerciales.

Jin et al. (2018) muestran la construcción de un potenciómetro inalámbrico de bajo costo y de código abierto. Los autores mencionan que en un sistema potenciométrico de dos electrodos existe una alta impedancia en el rango de $10\text{ M}\Omega$ y $4\text{ G}\Omega$. Esto exige el uso de instrumentos de medición con una alta impedancia de entrada de aproximadamente $10^{12}\ \Omega$ o una corriente de polarización de entrada del orden de pA. Es importante el análisis de ecuaciones fisicoquímicas, a partir de la ecuación de Nernst, que realizan Jin et al. (2018) para llegar a la ecuación que explica la medición de pH mediante un sistema potenciométrico con un electrodo indicador de pH y un electrodo de referencia. El desarrollo de ecuaciones depende del sistema galvánico, es decir, de las reacciones de media celda en el electrodo indicador y en el de referencia. Los autores usaron dos electrodos sensibles a pH, uno de membrana de vidrio y otro de Pd/PdO; el

electrodo de referencia fue de Ag/AgCl. La expresión matemática para la determinación potenciométrica de pH se muestra en la Ecuación 4.

$$E = k_1T - k_2T(pH - pH7) \quad (4)$$

Donde:

E es el potencial galvánico medido entre el electrodo indicador y el de referencia (mV).

k_1 es el coeficiente de calibración a pH 7 (mV/K).

k_2 es el coeficiente de calibración para medio ácido o básico (mV/pH·K).

T es la temperatura (K).

Los coeficientes de calibración se extraen de los datos generados en las mediciones sobre los buffer ácido o básico y de pH 7.

El instrumento propuesto por Jin et al. (2018) utiliza un microcontrolador Arduino Nano, un buffer electrónico para medir el potencial galvánico en el electrodo de pH, un buffer para ajustar el potencial del electrodo de referencia de Ag/AgCl, dos filtros pasa-bajo, un módulo ADC para convertir la señal analógica de voltaje a una digital y un módulo de Bluetooth para la conexión inalámbrica. Los autores destacan que la conexión inalámbrica del instrumento tiene dos ventajas: una radica en que la adquisición inalámbrica de datos puede eliminar el ruido de la alimentación eléctrica, el cual afecta la precisión del voltaje medido, y la otra ventaja es que abre la posibilidad del control remoto del instrumento usando un smartphone.

El software para controlar el instrumento y visualizar los resultados se desarrolló en Python. Se construyó una interfaz gráfica para la manipulación de los parámetros y la visualización de las mediciones. Por ejemplo, con la interfaz es posible seleccionar si la comunicación se realizará mediante USB o mediante Bluetooth. La Ecuación 4 indica la dependencia del potencial galvánico con la temperatura, algo tomado en cuenta por Jin et al. (2018), quienes introdujeron un sistema de compensación del pH. El instrumento tiene una elevada frecuencia de muestreo de temperatura y pH, así como de actualización de los datos mostrados al usuario. En la validación de la instrumentación se utilizó una fuente de energía de corriente directa para simular el voltaje de salida desde el electrodo de pH. Se utilizó un multímetro como instrumento de referencia sobre el voltaje impuesto desde la fuente de poder. El voltaje impuesto fue barrido desde 100 hasta 3200 mV en pasos de 100 mV, colectando 20 muestreos para cada voltaje impuesto. Una gráfica de la diferencia del voltaje medido y el impuesto contra el voltaje impuesto mostró poca diferencia entre los valores medidos con el instrumento y con el voltímetro de referencia, demostrando que la medición es exacta.

A partir de aquí, se estudió la respuesta de los electrodos mediante dos ciclos reversibles de pH 4-7-10-7-4. El electrodo de Pd/PdO mostró mayor sensibilidad (65.3 ± 0.2 mV/pH vs. 57.8 ± 0.9 mV/pH para el de vidrio), mejor respuesta (15 s vs. 75 s para el de vidrio) y mayor precisión (± 0.003 pH vs. ± 0.015 pH para el de vidrio). Sin embargo, el electrodo de vidrio mostró mejor reversibilidad. Este trabajo propone un instrumento potenciométrico de bajo costo y de fácil construcción, y muestra la posibilidad de utilizar

dos tipos de electrodos de pH, brindando oportunidades de desarrollo no comercial tanto del instrumento como del propio transductor electroquímico.

Zambrano Sánchez et al. (2019) muestran el diseño y la construcción de un instrumento que permite el monitoreo de pH en procesos agrícolas. El equipo supone una disminución de costos del 50 % con respecto a la instrumentación comercial utilizada para la comparación de las mediciones. El dispositivo fue construido en tres módulos: (1) alimentación, (2) procesamiento y (3) visualización. El primer módulo se ocupa de brindar la energía eléctrica necesaria para el funcionamiento del aparato mediante una batería recargable de litio. El sistema de alimentación implementado permite la utilización del instrumento mientras se carga mediante un circuito de carga compartida. El segundo módulo se encarga de captar y adecuar la señal del sensor de pH para ser procesada por un microcontrolador. El tercero se encarga de mostrar los resultados de la medición en tiempo real. El electrodo es un sensor de pH comercial de encapsulamiento metálico, el cual es más adecuado para mediciones en suelos. El circuito de medición está basado en amplificadores operacionales y a través del microcontrolador se consigue la visualización de los resultados en una pantalla LCD 16x2. El programa para el microcontrolador fue desarrollado en lenguaje C.

Los investigadores inicialmente realizaron simulaciones para voltajes correspondientes a una diferencia de potencial en medio ácido, neutro y básico, a fin de comprobar el diseño de cada uno de los módulos del instrumento. A partir de aquí realizaron mediciones reales de pH. En una primera muestra, los resultados de 4 mediciones en el tiempo mostraron desviaciones con respecto al instrumento comercial entre el 18.70 % y el 26.85 %, siendo la desviación promedio del 24.02 %. Por ejemplo, para una medición de pH de 5.61 usando el pH-metro comercial, el instrumento de bajo costo midió 7.67, siendo una importante diferencia en términos analíticos. En otra muestra, también para 4 mediciones en el tiempo, se obtuvieron menores desviaciones entre el 6.32 % y el 13.50 %, y un promedio de 8.83 %. Los autores atribuyen estas desviaciones al hecho de que las mediciones se realizaron en muestras húmedas, algo distinto a la utilidad con la que se concibió el instrumento de medición. Finalmente, llevaron a cabo mediciones de pH en muestras de suelo. En general, se observó que el instrumento presenta importantes desviaciones con respecto al instrumento comercial a valores de pH ácidos, por lo que los autores establecieron un rango de trabajo para el pH-metro de bajo costo entre 4 y 8, destacando que los valores de pH de un suelo de siembra suelen encontrarse entre 5 y 7, lo que hace útil al instrumento para la finalidad que se concibió.

Ozer et al. (2022) muestran un prototipo de bajo costo para la detección potenciométrica de iones Na^+ y K^+ mediante electrodos selectivos impresos 3D. Para la fabricación de los electrodos selectivos, una capa intermedia de negro de humo y una membrana selectiva a iones se depositaron mediante drop-casting robotizado en la superficie de un electrodo de plantilla impresa de carbono. Según los autores, el uso del robot mejora la robustez de los electrodos y disminuye el tiempo de modificación. Para las mediciones potenciométricas se desarrolló un potenciómetro inalámbrico de bajo costo (menos de 25 dólares) controlado mediante smartphone. La respuesta de los electrodos mostró una pendiente nernstiana de 58.2 ± 2.6 mV/década para iones sodio y 56.1 ± 0.7 mV/década para iones potasio. El límite de detección del sistema desarrollado fue de 10^{-5} mol/L. Se realizaron aplicaciones de la instrumentación en muestras de orina y en muestras artificiales de sudor a concentraciones clínicas.

Métodos conductimétricos de bajo costo

La construcción de un conductímetro puede ser sencilla ya que es posible utilizar un clásico puente de Wheatstone (Figura 3), el cual es un circuito que consta de cuatro resistores: dos de resistencia conocida, uno de resistencia variable y uno de resistencia desconocida. Esta última sería la de la muestra analizada.

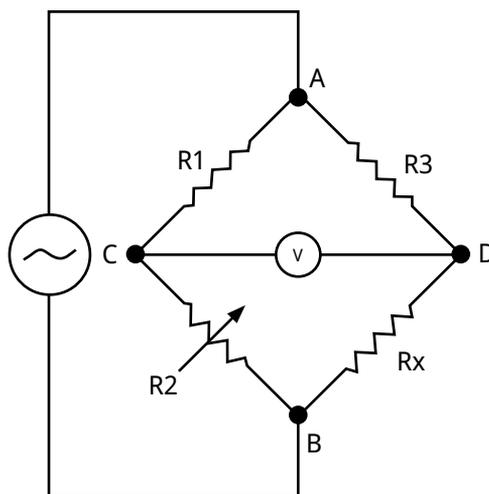


FIGURA 3. Puente de Wheatstone de cuatro resistencias con fuente de corriente alterna.

Una relación entre resistencias permite hallar el valor de la resistencia desconocida (Ecuación 5). La resistencia variable se usa para establecer el equilibrio entre las corrientes que circulan en el puente, de modo que cuando se mide un voltaje nulo entre los puntos C y D el valor de la resistencia variable es igual al de la resistencia desconocida (muestra analizada).

$$\frac{R_3}{R_1} = \frac{R_x}{R_2} \quad (5)$$

La conductancia específica, o conductividad eléctrica de la muestra, se calcula a partir de la resistencia mediante la Ecuación 6. L/A se conoce como constante de la celda, puesto que es una relación que debe permanecer invariable entre la calibración y las mediciones en la muestra. Esto se consigue manteniendo los electrodos conductimétricos en una posición fija.

$$K = \frac{1}{R} \cdot \frac{L}{A} \quad (6)$$

Donde:

K es la conductancia específica (S/cm , $s = \Omega^{-1}$).

R es la resistencia medida (Ω).

L es la distancia entre los electrodos (cm).

A es el área transversal entre los electrodos (cm^2).

Los dispositivos modernos de medición de conductividad eléctrica se basan en circuitos que emplean amplificadores operacionales, microcontroladores y otros componentes. Algunos de estos circuitos pueden estar basados en el puente de Wheatstone (Rajendran y Neelamegam, 2004) y otros no (Skoog et al., 2017), pero en general la señal eléctrica medida es la resistencia, y la conductividad eléctrica se puede calcular mediante la Ecuación 6.

López-Cerdeña et al. (2005) muestran la realización de valoraciones microconductimétricas de HCl con NaOH empleando instrumentación no comercial de bajo costo. Para las valoraciones se usaron microelectrodos de acero inoxidable acoplados de manera fija a una celda de 5 mL. Se siguió la resistencia de la celda con cada adición de agente valorante. Como hemos descrito, la resistencia de la disolución está relacionada con la conductividad. Durante una valoración conductimétrica, según va transcurriendo la reacción de neutralización por las sucesivas adiciones de valorante, la conductividad total de la disolución debe disminuir debido a que la cantidad de iones presentes es menor, lo cual es instrumentalmente medible como un aumento de la resistencia de la disolución (Figura 4).

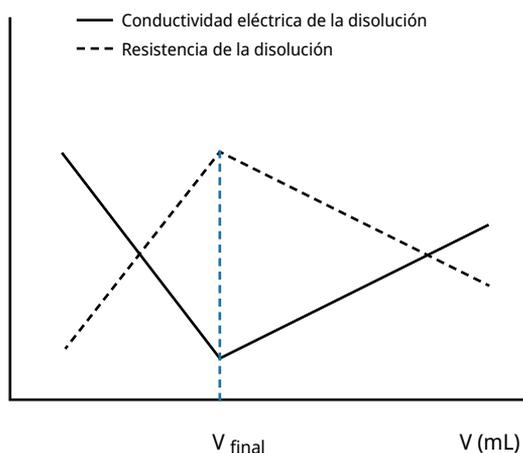


FIGURA 4. Variación de la conductividad eléctrica y la resistencia de una disolución durante una valoración conductimétrica ácido-base.

Después del punto de equivalencia, la resistencia debe disminuir nuevamente debido a que con cada adición de valorante en exceso hay mayor cantidad de iones presentes en la disolución. Los autores mencionan que la técnica microconductimétrica se aplicó también para muestras de aspirina, naproxeno y alcaloides de tabaco en medio acético. Los resultados obtenidos fueron comparados con determinaciones usando instrumentación comercial y no se observaron diferencias significativas.

Nasser y Hamoudeh (2020) presentan la fabricación de una celda conductimétrica usando dos electrodos de acero inoxidable 316 de dimensiones 1x4 cm y un grosor de 0.5 mm; estos se acoplaron en una celda metálica separados a una distancia fija de 1 cm. Los electrodos se conectaron a un puente de Wheatstone de cuatro resistores, dos de 5 k Ω y uno de resistencia variable. El cuarto resistor del puente fue el par de electrodos

inmersos en la disolución analizada. El puente se conectó a un transformador de corriente alterna para suministrar la señal a los electrodos. El cálculo de la resistencia de la disolución se realizó según la relación entre resistencias de un puente de Wheatstone. Los autores calcularon dos coeficientes de corrección de la conductividad con la temperatura, usando como temperatura de referencia los 25 °C. A partir de estos valores se realizó la calibración con disoluciones de KCl de concentraciones 0.1 mol/L, 0.01 mol/L y 0.001 mol/L; logrando un coeficiente de correlación de 0.9999 entre la conductividad y la concentración del electrolito. La celda conductimétrica construida fue aplicada a la medición directa de conductividad en una disolución de NaCl con una calibración previa para diferentes concentraciones de esta sal. Los resultados fueron comparables a los obtenidos con un aparato comercial. También se realizaron valoraciones conductimétricas de HCl con NaOH, y de AgNO₃ con KCl. En todas las valoraciones se obtuvieron resultados consistentes con los obtenidos usando un aparato comercial para la indicación conductimétrica. Este estudio es un claro ejemplo de cómo la instrumentación conductimétrica sencilla permite arrojar resultados confiables y significativamente comparables a los obtenidos con un instrumento comercial.

Con un circuito más avanzado que los anteriores, Wurm et al. (2019) presentan la construcción de un instrumento para el monitoreo en tiempo real de la conductividad eléctrica en la solución de nutrientes de cultivos hidropónicos. El monitoreo de la conductividad permite mantener los sistemas hidropónicos en las condiciones óptimas de salinidad. Para la construcción del conductímetro se integró un circuito electrónico a una placa Arduino Mega. Los electrodos fueron de carbono, contruidos con escobillas de motores monofásicos, siendo más estables que los electrodos de acero inoxidable y más baratos que los electrodos comerciales de platino platinizado. El instrumento se alimenta con 9 V; un circuito con un regulador LM317 establece una tensión de referencia de 4.5 V que permite las etapas de adaptación de impedancia, amplificación y rectificación con amplificadores operacionales. La señal alterna impuesta sobre los electrodos conductimétricos tiene una frecuencia de 730 Hz, la cual se genera en la placa Arduino. La señal de respuesta de los electrodos es amplificada, rectificada y transformada en una señal continua mediante un filtro pasa-bajos. Este tipo de filtros atenúa las frecuencias más altas de una señal, permitiendo el paso solamente de bajas frecuencias. El voltaje de esta señal continua está relacionado cuantitativamente con la conductividad de la disolución. El desarrollo de una aplicación permitió el monitoreo y la visualización gráfica de los datos de conductividad en tiempo real. Este trabajo es muy interesante, y es un ejemplo de las potencialidades que pueden brindar los métodos electroanalíticos de bajo costo cuando se desarrollan enfocados en una necesidad científica o tecnológica específica. En este caso, se integraron conocimientos de electroquímica con conocimientos de electrónica y desarrollo de software para lograr el monitoreo en tiempo real de un parámetro de control en sistemas hidropónicos.

CONCLUSIONES

Es posible construir instrumentación de bajo costo para la implementación de la potenciometría y la conductimetría. Se pueden crear instrumentos muy sencillos basados en circuitos eléctricos, y más sofisticados basados en circuitos electrónicos con amplificadores operacionales, microcontroladores y otros componentes que permiten el control mediante computadora. Los instrumentos no comerciales arrojan resultados comparables a los que se obtienen con la instrumentación comercial, la cual es más costosa. La construcción de instrumentos también permite la adecuación de los métodos para procesos tecnológicos o diseños experimentales de requerimientos específicos. En general, la instrumentación potenciométrica y conductimétrica de bajo costo se traduce en una mayor accesibilidad para la investigación en laboratorios químicos y la enseñanza de estos métodos en lugares de adquisición limitada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ing. Luis Eduardo González Abreu por la asesoría en los aspectos relacionados con la programación de software y los entornos integrados de desarrollo.

REFERENCIAS

- Arada Pérez, M. A., 2020. *Sensores potenciométricos. Ejemplos prácticos*. Santiago de Cuba: Ediciones UO. ISBN: 978-959-207-672-3.
- ASLK PRO Team, 2016. *Analog System Lab Kit PRO University Kit* [En línea]. Texas: Texas Instruments Incorporated. [Consulta: febrero de 2023].
Disponible en: <http://www.ti.com/tool/aslkpro>
- Baeza, A., 2003a. Microbureta a microescala total para titulometría. En: *Rev. Chil. Educ. Cient.*, 1(2), pp. 4-7.
- Baeza, A., 2003b. Titulaciones ácido-base potenciométricas a microescala total con microsensores de pH y de referencia de bajo costo. En: *Rev. Chil. Educ. Cient.*, 1(2), pp. 16-19.
- Bakker, E. y Pretsch, E., 2005. Potentiometric sensors for trace-level analysis. En: *Trends Anal. Chem.*, 24(3), pp.199-207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.01.003>
- Bhateria, R. y Jain, D., 2016. Water quality assessment of lake water: a review. En: *Sustain. Water Resour. Manag.*, 2, pp.61-173. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40899-015-0014-7>
- Bieg, C.; Fuchsberger, K. y Stelzle, M., 2017. Introduction to polymer-based solid-contact ion-selective electrodes—basic concepts, practical considerations, and current research topics. En: *Anal. Bioanal. Chem.*, 409, pp.45–61.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9945-6>
- Calero Cáceres, W. y Bonilla, P., 2011. Desarrollo de un método micropotenciométrico de bajo costo para la determinación de acidez valorable. En: *Química Central*, 2(1), pp.3-12.

- CCS Team, 2016. *Code Composer Studio (CCS) Integrated Development Environment (IDE)* [En línea]. Texas: Texas Instruments Incorporated. [Consulta: febrero de 2023].
Disponible en: <http://www.ti.com/tool/ccstudio>
- Cerna-Cueva, A. F.; Aguirre-Escalante, C.; Wong-Figueroa, B. L.; Tello-Cornejo, J. L. y Pinchi-Ramírez, W., 2022. Calidad de agua para riego en la cuenca Huallaga, Perú. En: *Sci. Agric.*, 13(3), pp.239-248. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.022>
- Corredor León, B. y Prieto Sáenz, A., 2019. Diseño y construcción de un dispositivo para determinar las cualidades del agua. En: *Letras ConCiencia Tecnológica*, 15, pp.8-12. DOI: <https://doi.org/10.55411/26652544.154>
- Covington, A. K., 1979. *Ion-selective electrode methodology. Volume 1*. Florida: CRC Press. ISBN: 1315894785
- Das, R.; Samal, N. R.; Roy, P. K. y Mitra, D., 2006. Role of electrical conductivity as an indicator of pollution in shallow lakes. En: *Asian J. Water Environ. Pollut.*, 3(1), pp.143-146.
- de Souza Antas, F. P.; da Silva Dias, N.; Moreira de Oliveira, A.; Nogueira de Sousa Neto, O.; dos Santos Fernandes, C.; de Oliveira Miranda, N.; de Sousa Gurgel, G. C.; de Sousa Junior, F. S.; de Oliveira Lima, A. y Ferreira Neto, M., 2018. Hydrochemical characterization of water resources from reverse osmosis desalination plants. En: *J. Agric. Sci.*, 10(12), pp.445-457. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v10n12p445>
- Elbalkiny, H. T. y Samir, A., 2022. Green potentiometric electrode for determination of salbutamol in biological samples. En: *Anal. Biochem.*, 659, 114949. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114949>
- García Torres, A., 1991. Medidor de pH de bajo costo. En: *Educ. Quím.*, 2(2), pp.81-85. DOI: <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.1991.2.66957>
- Hein, R.; Beer, P. D. y Davis, J. J., 2020. Electrochemical anion sensing: supramolecular approaches. En: *Chem. Rev.*, 120(3), pp.1888-1935. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00624>
- Isildak, Ö. y Özbek, O., 2021. Application of potentiometric sensors in real samples. En: *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 51(3), pp.218-231. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1711013>
- Jin, H.; Qin, Y.; Pan, S.; Alam, A. U.; Dong, S.; Ghosh, R. y Deen, M. J., 2018. Open-source Low-cost wireless potentiometric instrument for pH determination experiments. En: *J. Chem. Educ.*, 95(2), pp.326-330. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00479>
- Karimi-Maleh, H.; Orooji, Y.; Karimi, F.; Alizadeh, M.; Baghayeri, M.; Rouhi, J.; Tajik, S.; Beitollahi, H.; Agarwal, S.; Gupta, V. K.; Rajendran, S.; Ayati, A.; Fu, Li.; Sanati, A. L.; Tanhaei, B.; Sen, F.; Shabani-nooshabadi, M.; Asrami, P. N. y Al-Othman, A., 2021. A critical review on the use of potentiometric based biosensors for biomarkers detection. En: *Biosens. Bioelectron.*, 184, 113252. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113252>
- López-Cerdeña, K.; García-Mendoza, A.; de Santiago, A. y Baeza, A., 2005. Química analítica a microescala total: microconductimetría. En: *Rev. Cub. de Quím.*, 17, pp.346.
- McNaught, A. D. y Wilkinson A., eds., 1997. *IUPAC compendium of chemical terminology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. ISBN 0-9678550-9-8. DOI: <https://doi.org/10.1351/goldbook>
- Mikhelson, K. N., 2013. *Ion-selective electrodes*. Berlín: Springer Dordrecht. ISBN: 978-3-642-36886-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36886-8>
- Nasser, H. N. y Hamoudeh, D. H., 2020. Manufacture of an electrical conductor cell of chromium 316 and its analytical applications. En: *Chemistry Research Journal*, 5(1), pp.126-136.

- Néher-Neumann, E., 2009. *Advanced potentiometry. Potentiometric titrations and their systematic errors*. Berlín: Springer Dordrecht. ISBN: 978-1-4020-9525-2.
DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9525-2>
- Obaya Valdivia, A. E.; Montañó-Osorio, C. y Vargas-Rodríguez, Y. M., 2019. Conductometric Titration of Metformin Hydrochloride: Simulation and Experimentation. En: *J. Chem. Chem. Eng.*, 13, pp.105-111. DOI: <https://doi.org/10.17265/1934-7375/2019.03.003>
- Ortega-Hernández, N.; Ortega-Romero, M.; Medeiros-Domingo, M.; Barbier, O. C. y Rojas-López, M., 2022. Detection of biomarkers associated with acute kidney injury by a gold nanoparticle based colloidal nano-immunosensor by fourier-transform infrared spectroscopy with principal component analysis. En: *Anal. Lett.*, 55(15), pp.2370-2381.
DOI: <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2053982>
- Ozer, T.; Agir, I. y Henry, C. S., 2022. Rapid prototyping of ion-selective electrodes using a Low-cost 3D printed internet-of-things (IoT) controlled robot. En: *Talanta*, 247, 123544.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123544>
- Papadopoulos, N. J. y Jannakoudakis, A., 2016. A chemical instrumentation course on microcontrollers and op amps. Construction of a pH meter. En: *J. Chem. Educ.*, 93(7), pp.1323-1325. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00743>
- Pasierb, P. y Rekas, M., 2009. Solid-state potentiometric gas sensors—current status and future trends. En: *J. Solid State Electrochem.*, 13, pp.3-25.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10008-008-0556-9>
- Pincus, M. R.; Lifshitz, M. S. y Bock, J. L., 2021. Analysis: principles of instrumentation. En: McPherson, Richard y Pincus, Matthew. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. Amsterdam: Elsevier. pp.35-59. ISBN: 9780323755085
- Rajendran, A. y Neelamegam, P., 2004. Design and development of microcontroller-based conductivity measurement system. En: *Indian J. Pure Appl. Phys.*, 42, pp.182-188.
- Rusydi, A. F., 2018. Correlation between conductivity and total dissolved solid in various type of water: A review. En: *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 118, 012019.
DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/118/1/012019>
- Sarabia Meléndez, I. F.; Cisneros Almazán, R.; Aceves De Alba, J.; Martín Durán García, H. M. y Castro Larragoitia, J., 2011. Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México. En: *Rev. Int. Contam. Ambient*, 27(2), pp.103-113.
- Shah, N.; Arain, M. B. y Soylyak, M., 2020. Historical background: milestones in the field of development of analytical instrumentation. En: *New Generation Green Solvents for Separation and Preconcentration of Organic and Inorganic Species*. Amsterdam: Elsevier, pp.45-73. ISBN: 9780128185698. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818569-8.00002-4>
- Silva, R.; Zhao, K.; Ding, R.; Chan, W. P.; Yang, M.; Yip, J. S. Q. y Lisak, G., 2022. Ion-selective membrane modified microfluidic paper-based solution sampling substrates for potentiometric heavy metal detection. En: *Analyst*, 147(20), pp.4500-4509.
DOI: <https://doi.org/10.1039/D2AN01108E>
- Skoog, D. A.; Holler, F. J. y Crouch, S. R., 2017. *Principles of Instrumental Analysis*. 7ma Ed. Boston: Cengage Learning. ISBN: 978-1-305-57721-3.
- Thirumalini, S. y Joseph, K., 2009. Correlation between electrical conductivity and total dissolved solids in natural waters. En: *Malaysian J. Sci.*, 28(1), pp.55-61.
DOI: <https://doi.org/10.22452/mjs.vol28no1.7>

- TINA Team, 2016. *TINA-TI SPICE-Based Analog Simulation Program* [En línea]. Texas: Texas Instruments Incorporated. [Consulta: febrero de 2023].
Disponible en: <http://www.ti.com/tool/tina-ti>
- U.S. Geological Survey, 2019. Chapter A6.3. Specific Conductance. En: U.S. Geological Survey. *U.S. Geological Survey techniques and methods*. Reston: USGS. ISSN: 2328-7055.
DOI: <https://doi.org/10.3133/tm9A6.3>
- Wadie, M.; Marzouk, H. M.; Rezk, M. R.; Abdel-Moety, E. M. y Tantawy, M. A., 2022. A sensing platform of molecular imprinted polymer-based polyaniline/carbon paste electrodes for simultaneous potentiometric determination of alifuzosin and solifenacin in binary co-formulation and spiked plasma. En: *Anal. Chim. Acta*, 1200, 339599.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339599>
- Wang, C.; Qi, L. y Liang, R., 2021. A molecularly imprinted polymer-based potentiometric sensor based on covalent recognition for the determination of dopamine. En: *Anal. Methods*, 13(5), pp.620-625. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0AY02100H>
- Wurm, G. E.; Urquijo, R. R. y Marinelli, M.J., 2019. Monitoreo en tiempo real de conductividad eléctrica en cultivos hidropónicos. En: *48/AIIO - CAI*, pp.96-103. ISSN: 2525-0949.
- Zambrano Sánchez, N.; Camelo Quintero, E.; Méndez González, A. y Valderrama Lugo, Y., 2019. Diseño e implementación de un instrumento electrónico de medida de pH para terreno agrícola. En: *Revista Investigación e Innovación en Ingenierías*, 7(1), pp.72-94. DOI: <https://doi.org/10.17081/invinno.7.1.3042>