



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**Nuevos criterios de calidad para miel  
basados en procedimientos electroquímicos**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A:

**Héctor Demian Caballero Puente**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO**

Presidente	Eugenio Octavio Reyes Salas
Vocal	Hermilo Leal Lara
Secretario	Victor Manuel Ugalde Saldivar
1° Suplente	Luz Sandra Sánchez del Ángel
2° Suplente	Jacqueline Padilla Valdés

Lugar en donde se realizó el trabajo:

Laboratorio 114, Sótano del Edificio B. Departamento de Química Analítica.

DEPg., Facultad de Química, U.N.A.M. Ciudad Universitaria

**Asesor:** Dr. E. Octavio Reyes Salas

\_\_\_\_\_

**Supervisor Técnico:** Profa. Selma Sosa Sevilla

\_\_\_\_\_

**Sustentante:** Héctor Demian Caballero Puente

\_\_\_\_\_

Agradecemos al CONACYT por el apoyo que nos brindó a través del proyecto S-52480-Q, que lleva por título “Desarrollo de metodología electroquímica y analítica para el control de calidad de la miel de abeja”. La realización de esta tesis estuvo dentro de las actividades que se llevaron a cabo dentro del proyecto.

# ÍNDICE

	PÁGINA
<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	4
<b>3.1. Objetivo general</b> .....	4
<b>3.2. Objetivos particulares</b> .....	4
<b>4. ANTECEDENTES</b> .....	5
<b>4.1. GENERALIDADES</b> .....	5
<b>4.2. COMPOSICIÓN</b> .....	6
<b>4.2.1. Agua</b> .....	7
<b>4.2.2. Carbohidratos</b> .....	8
<b>4.2.3. Enzimas</b> .....	8
<b>4.2.4. Proteínas</b> .....	9
<b>4.2.5. Ácidos</b> .....	9
<b>4.2.6. Sustancias aromáticas</b> .....	10
<b>4.2.7. Pigmentos</b> .....	10
<b>4.2.8. Compuestos tóxicos</b> .....	10
<b>4.3. PROPIEDADES DE LA MIEL</b> .....	11
<b>4.4. PRODUCCIÓN DE LA MIEL EN MÉXICO</b> .....	12
<b>4.5. CALIDAD DE LA MIEL EN MÉXICO</b> .....	13
<b>4.5.1. Formación de hidroximetilfurfural (HMF)</b> .....	17
<b>4.5.2. Métodos de análisis</b> .....	20
<b>4.6. PROBLEMAS EN LA PRODUCCIÓN DE MIEL</b> .....	24

4.6.1. Sulfatiazol como producto acaricida.....	26
<b>5. METODOLOGÍA.....</b>	<b>29</b>
<b>5.1. REACTIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2. EQUIPO.....</b>	<b>29</b>
<b>5.3. MUESTRAS.....</b>	<b>30</b>
<b>5.4. PRIMERA PARTE: METODOLOGÍA SEGUIDA PARA EL ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE MIEL.....</b>	<b>31</b>
5.4.1. Determinación de hidroximetilfurfural (HMF).....	31
5.4.2. Determinación de fructosa.....	32
5.4.3. Determinación de humedad.....	34
5.4.4. Determinación de cenizas.....	34
5.4.5. Determinación de pH.....	35
5.4.6. Determinación de azúcares reductores.....	35
5.4.7. Esquema de la metodología seguida para el estudio de calidad en muestras de miel.....	36
<b>5.5. SEGUNDA PARTE: METODOLOGÍA PARA LA ELECTROQUÍMICA FUNDAMENTAL DE SULFATIAZOL.....</b>	<b>37</b>
5.5.1. Esquema de la metodología para la electroquímica fundamental de sulfatiazol.....	38
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>6.1. PRIMERA PARTE: DETERMINACIONES PARA EL ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE MIEL.....</b>	<b>39</b>
6.1.1. Hidroximetilfurfural (HMF).....	39
6.1.2. Fructosa.....	42

6.1.3. Humedad.....	45
6.1.4. Cenizas.....	46
6.1.5. pH.....	47
6.1.6. Azúcares reductores.....	48
6.1.7. Resumen de los resultados.....	51
<b>6.2. SEGUNDA PARTE: ELECTROQUÍMICA FUNDAMENTAL DE SULFATIAZOL.....</b>	<b>53</b>
6.2.1. Electrodo de trabajo.....	53
6.2.2. Electrolito soporte.....	54
6.2.3. Curvas de calibración y linealidad.....	56
6.2.3.1. Resultados con perclorato de litio ( $\text{LiClO}_4$ ) 0.1M.....	57
6.2.3.1.1. Oxidación de sulfatiazol con polarografía de muestreo (PDM).....	57
6.2.3.1.2. Reducción de sulfatiazol con polarografía de muestreo (PDM).....	64
6.2.3.1.3. Oxidación de sulfatiazol con polarografía diferencial de impulsos (PDI).....	66
6.2.3.1.4. Reducción de sulfatiazol con polarografía diferencial de impulsos (PDI).....	72
6.2.3.2. Resultados con nitrato de potasio/ácido nítrico ( $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$ ) 0.1 M.....	78
6.2.4. Límite de detección.....	81
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>82</b>
<b>7.1. PRIMERA PARTE: ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE</b>	

<b>MIEL</b> .....	82
<b>7.2. SEGUNDA PARTE: ESTUDIO ELECTROQUÍMICO BÁSICO DE</b>	
<b>SULFATIAZOL</b> .....	84
<b>7.3. PERSPECTIVAS</b> .....	85
<b>8. ANEXOS</b> .....	86
<b>8.1. CÁLCULOS DE LA CONCENTRACIÓN DE HMF EN LA MIEL</b> .....	86
<b>8.2. CÁLCULOS DE LA CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSA</b>	
<b>EN LA MIEL</b> .....	90
<b>8.3. DETERMINACIÓN DE LOS POTENCIALES DE MEDIA ONDA (<math>E_{1/2}</math>)</b>	
<b>Y DE PICO (<math>E_{pico}</math>) EN EL ESTUDIO ELECTROQUÍMICO</b>	
<b>DEL SULFATIAZOL</b> .....	93
<b>8.3.1. Potencial de media onda (<math>E_{1/2}</math>)</b> .....	93
<b>8.3.2. Potencial de pico (<math>E_{pico}</math>)</b> .....	96
<b>8.4. CÁLCULOS PARA LA LINEALIDAD Y EL LÍMITE DE DETECCIÓN</b>	
<b>DE LA SEÑAL ELECTROQUÍMICA DEL SULFATIAZOL</b> .....	97
<b>8.5. PROBLEMAS CON LA DEFINICIÓN DE LA SEÑAL DE REDUCCIÓN</b>	
<b>DEL SULFATIAZOL EN EL MEDIO <math>KNO_3/HNO_3</math></b> .....	100
<b>8.6. FUNDAMENTOS DE ELECTROQUÍMICA Y ANÁLISIS</b>	
<b>ELECTROQUÍMICO</b> .....	102
<b>8.6.1. Polarografía de muestreo (PDM)</b> .....	112
<b>8.6.2. Polarografía diferencial de impulsos (PDI)</b> .....	113
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	115



*Aún nos encontramos justo al comienzo de una  
Ciencia que investiga la Vida misma tomando en  
cuenta los procesos, las transformaciones químicas, y  
no solamente las sustancias en sí.*



## 1. RESUMEN

La miel de México tiene una importancia relevante tanto en producción como por exportación.<sup>1</sup> Por tanto, la búsqueda de estándares de calidad en la miel se vuelve cada vez más necesaria. En México se están haciendo esfuerzos para tal fin,<sup>1</sup> aunque es necesario revisar la *Norma Mexicana de Miel* para mejorarla,<sup>2</sup> además del compromiso de los productores por colocar etiquetas adecuadas y envasar en los recipientes correctos.

En el presente trabajo se propone una metodología rutinaria analítica con el fin de estudiar ciertos parámetros fisicoquímicos considerados mínimos para establecer la calidad de la miel. Esta metodología toma como base otras investigaciones básicas<sup>3,4</sup> que se han hecho en el mismo laboratorio para determinaciones fisicoquímicas de la miel mediante la electroquímica. Los procedimientos tomados de esas investigaciones se condensaron y se unieron para desarrollar la metodología propuesta con la cual se pretende optimizar tiempo y costos, utilizando métodos más sencillos, efectivos y confiables. Con tal metodología se analizaron varias muestras de miel de Zacatecas y San Luis Potosí para determinar su calidad.

En este trabajo también se llevó a cabo el estudio electroquímico del sulfatiazol, un bactericida utilizado como acaricida para tratar la varroasis de las abejas (entre otras enfermedades), con el propósito de poder llegar a detectarlo en la miel y así seguir ampliando la metodología analítica de miel. Los resultados de este estudio muestran una señal de oxidación y otra señal de reducción del sulfatiazol. Al final se determinaron las condiciones experimentales más apropiadas para tener la mejor linealidad y el mejor límite de detección posibles con el método electroquímico utilizado: electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo y una disolución de nitrato de potasio en ácido nítrico como electrolito soporte.

En el papiro mágico egipcio *Salt* está escrito lo siguiente:

*“Cuando RA llora de nuevo, el agua que fluye de sus ojos sobre la Tierra se convierte en abejas trabajadoras. Ellas trabajan en flores y árboles de todo tipo y nacen la cera y la miel.”*



*El dios egipcio RA, en un papiro de la 5<sup>a</sup> dinastía (siglo XII a. C.)*

## 2. INTRODUCCIÓN

La miel en México se ha convertido en un producto con un papel muy importante, pues ha logrado ubicar al país como el quinto productor (los cinco países más importantes son China, Argentina, Estados Unidos, Turquía y México) y tercer exportador de miel a nivel mundial (está después de China y Argentina),<sup>5</sup> esto a pesar de su bajo consumo en el territorio mexicano (en 1995 el consumo *per cápita* fue de 140 g, para el 2005 aumentó a 360 g,<sup>6</sup> a diferencia de otros países como Grecia, Alemania, Suiza y Estados Unidos en donde el consumo rebasa el kilogramo por habitante).<sup>7</sup> Por tanto, se vuelve cada vez más necesario un vínculo estrecho con las normas oficiales tanto nacionales (*Norma Mexicana de Miel, NMX-F-036-NORMEX-2006*) como internacionales (*Unión Europea y Codex Alimentarius*) a modo de respaldo de calidad en la comercialización de la miel mexicana, tanto para los grandes apicultores como para los pequeños.

Por un lado la situación actual de la miel mexicana es privilegiada, gracias a que mantiene su prestigio (la comunidad europea reconoce sus altos estándares de calidad, y en México va en aumento su consumo), pero por otro lado la situación es desfavorable debido a la falta de información de los productores hacia los consumidores sobre aspectos de calidad, los cuales ofrecen un producto con etiquetado inadecuado e información que no se fundamenta con análisis fisicoquímicos de laboratorio.

La calidad de la miel no sólo radica en la presentación del producto o por el sitio donde se comercializa, sino sobre todo por la conservación de sus múltiples propiedades naturales. Todas las mieles son buenas, lo que puede afectar su autenticidad y calidad es el manejo que se hace de ellas desde la cosecha hasta su consumo.

Hasta ahora no hay alguna información al respecto en el mercado mexicano, a diferencia del mercado europeo.

El establecimiento de métodos analíticos rutinarios para el control de calidad de la miel que resulten sencillos, prácticos, accesibles, económicos y eficientes pueden dar la pauta para el surgimiento del interés por parte de los apicultores en los estudios de calidad.

Mediante los métodos electroquímicos que ya se tienen se busca analizar aquellos componentes en la miel que pueden garantizar su buena calidad, para finalmente establecer una metodología rutinaria general como estudio de control de calidad que puedan respaldar un etiquetado adecuado y completo para las mieles mexicanas.



*Detalle de un jeroglífico de abeja del complejo de tumbas de Senusret I,  
el segundo faraón de la Dinastía XII de Egipto*

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo general

Desarrollar una metodología analítica rutinaria para el estudio de calidad de la miel mexicana que resulte sencilla, accesible y efectiva, con la cual se determinen aquellos componentes que puedan garantizar la buena calidad de la miel y, de preferencia, con el mínimo tratamiento de la muestra.

### 3.2. Objetivos particulares

- ★ Establecer los métodos analíticos a realizar para los diversos componentes de la miel considerados como factores mínimos de calidad.
- ★ Cuantificar el contenido de hidroximetilfurfural (HMF), azúcares reductores, fructosa, glucosa, humedad, pH y cenizas en muestras de mieles mexicanas de distintas regiones.
- ★ Comparar los resultados obtenidos con los límites establecidos en la *Norma Mexicana de Miel*.
- ★ Establecer, a partir de los resultados, la calidad de las mieles analizadas.
- ★ Estudiar diferentes parámetros para establecer las condiciones óptimas en la detección electroquímica del sulfatiazol, uno de los principales acaricidas empleados por apicultores.



*Bhramari devi, diosa hindú de las abejas*



## 4. ANTECEDENTES

### 4.1. GENERALIDADES

La miel es un producto elaborado por las abejas, resultado de la transformación del néctar de diversas plantas en el buche de la abeja obrera, que la elabora con la finalidad de alimentarse y alimentar a las crías; y como previsora, una parte la almacena en los panales para tener reservas durante el invierno, cuando no hay producción de néctar.<sup>8</sup> En la *Norma Mexicana de Miel (NMX-F-036-NORMEX-2006)* se define a la miel como ***la sustancia dulce natural producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones o de otras partes vivas de la planta, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales, de los cuales se extrae el producto sin ninguna adición.***<sup>2</sup>

La elaboración de la miel se inicia una vez recolectado el polen de las flores, el néctar y el rocío dulce, en la vesícula melífica de las abejas colectoras. La abeja recolectora de néctar lo guarda en el buche y al llegar a la colmena lo cede a otra regurgitándolo. Este paso se repite varias veces, con lo cual el néctar se va enriqueciendo con las secreciones de las abejas. A esto sigue la elaboración por parte de las abejas obreras que reciben la materia bruta, concluyendo el proceso con el relleno de las celdillas del panal con la miel. La transformación del néctar a miel se debe a cambios físicos y químicos. Los primeros se deben principalmente a un proceso de evaporación en donde el néctar pierde hasta un tercio de su contenido de humedad durante su almacenamiento en la colmena, y los segundos se deben a la acción de enzimas que las obreras adicionan al néctar como la invertasa (sacarasa), cuya función es hidrolizar la sacarosa presente en el néctar a glucosa y fructosa.<sup>6</sup>

La elaboración de la miel comprende las siguientes etapas: espesamiento del néctar, aumento del azúcar invertido (por acidificación del material de partida y acción de las enzimas del organismo de las abejas, produciéndose también en el estómago melífico de éstas la isomerización de la glucosa en fructosa), incorporación de sustancias proteicas, de ácidos procedentes del insecto, agregación de minerales, vitaminas y sustancias aromáticas de los vegetales y de enzimas de las glándulas salivales y vesícula melífica de las abejas. Cuando la humedad de la masa de la miel ha disminuido, se cierran las celdillas con una película de cera (operculación). En las celdillas, la miel experimenta ulteriores transformaciones, sobre todo la inversión del azúcar.<sup>9</sup>

#### 4.2. COMPOSICIÓN DE LA MIEL<sup>9</sup>

La miel tiene una consistencia variada en color, sabor y composición debido a la influencia de varios factores: las condiciones geográficas, la variedad de las abejas, el tipo de flores que han proporcionado el néctar y los sistemas empleados por el apicultor para cosechar y envasar. Pero a pesar de estas diferencias, sus principales componentes en general son: agua, glucosa, fructosa, sacarosa, minerales, sustancias nitrogenadas y vitaminas.<sup>8</sup> La miel proporciona aproximadamente unas 326 kcalorías por cada 100 gramos. Como una primera aproximación, la composición de la miel por cien gramos estaría dada de la siguiente manera:<sup>10</sup>

<i>Principios inmediatos</i>	<i>% (m/m)</i>
Agua	18.4
Proteínas	0.4
Grasa	0
Carbohidratos:	
Fructosa	38.5
Glucosa	34.9
Dextrina	4.8
Sacarosa	3.0

<i>Minerales</i>	<i>% (m/m)</i>
Potasio	0.01
Sodio	0.005
Calcio	0.006
Magnesio	0.006
Hierro	0.0009
Fósforo	0.016
Azufre	0.003
Cloro	0.024
Manganeso	0.0002
Yodo	0.00001
Cobre	0.00007

<i>Vitaminas</i>	
Vitamina C (ácido ascórbico)	0.004
Vitamina B <sub>1</sub> (tiamina)	0.00001
Vitamina B <sub>2</sub> (riboflavina)	0.00004
Vitamina B <sub>6</sub> (piridoxina)	0.00001
Vitamina PP (niacina)	0.00020
Ácido pantoténico	0.00060

#### 4.2.1. Agua.

La humedad de la miel debe estar por debajo del 20 %, pues una miel con agua en exceso es muy propensa a sufrir fermentaciones por levaduras osmófilas. Cuando el contenido de agua supera el 18 %, la miel puede fermentar porque su concentración ya no es suficiente para impedir la multiplicación de las levaduras, que se desarrollan activamente a temperaturas comprendidas entre 15 y 25 °C.<sup>11</sup> Con valores menores a 17.1 % desaparece prácticamente esta susceptibilidad.

Esto no resulta igual para la miel de abeja melipona, cuyas características fisicoquímicas son semejantes a las de la miel de la abeja apis pero resulta ser mucho menos viscosa. La miel de melipona se encuentra en ambientes tropicales y subtropicales y la principal diferencia con respecto a la miel de apis es su mayor acidez y humedad. Los valores de humedad de la miel de melipona son superiores al 25 % y pueden llegar hasta 30 %, esto debido a la baja tasa de deshidratación del néctar durante el proceso de transformación de la miel.<sup>12</sup>

#### **4.2.2. Carbohidratos.**

Los principales carbohidratos contenidos en la miel son la fructosa (38 % por término medio) y glucosa (35 %). También se han identificado más de 20 oligosacáridos (sacarosa, maltosa, isomaltosa, maltulosa, nigerosa, turanosa, kojibiosa, laminaribiosa, entre otros), cuya composición viene determinada preferentemente por las plantas de las cuales se elaboró la miel. Cuantitativamente, la maltosa ocupa el primer lugar en la fracción oligosacárida, seguida de la kojibiosa. El contenido de sacarosa oscila mucho de acuerdo con el grado de maduración de la miel, pero generalmente es inferior al 3 % (la presencia de más de un 5 % de sacarosa en la miel puede deberse a la alimentación artificial con azúcar de las abejas durante el invierno o durante los periodos de sequía).<sup>13</sup>

Cuando la miel acaba de ser extraída de los panales, las transformaciones aún están en acción y continúan manifestándose en tanto las enzimas permanezcan activas. Por ello, la miel es un producto vivo; al envejecer se empobrece en monosacáridos y se enriquece en carbohidratos superiores.<sup>11</sup>

#### **4.2.3. Enzimas.**

Las enzimas más importantes de la miel son las  $\alpha$ -glucosidasas (invertasa, sacarasa),  $\alpha$ - y  $\beta$ -amilasas (diastasas), glucosaoxidasa, catalasa y fosfatasa ácida. Las actividades invertásica y diastásica, junto con el contenido de hidroximetilfurfural (HMF), actúan como indicadores del tratamiento térmico aplicado a una miel.

La  $\alpha$ -glucosidasa hidroliza la maltosa y otros  $\alpha$ -glucósidos, posee un intervalo de pH óptimo entre 5.8 y 6.5. Prácticamente la totalidad de la actividad invertásica proviene de las abejas. Las amilasas  $\alpha$  y  $\beta$  de la miel encargadas de hidrolizar el almidón a dextrina y ésta a su vez a hidratos

de carbono más sencillos, cuyo pH óptimo es de 5-5.3, proceden también principalmente de las abejas. La actividad diastásica es algo más termoestable que la actividad invertásica.

La glucosa oxidasa de la miel, cuyo pH óptimo es de 6.1, es igualmente atribuible a las abejas. Además de glucosa (100 %), se oxida la manosa (9 %). La oxidación enzimática de la glucosa conduce al ácido glucónico, el principal ácido de la miel, y peróxido de hidrógeno. Esta enzima no es un buen indicador del tratamiento térmico de la miel debido a la gran variabilidad de su termoestabilidad.

La catalasa (que descompone en agua y oxígeno molecular al peróxido de hidrógeno) presente en la miel procede probablemente del polen, que, al contrario del néctar, exhibe gran actividad. Lo mismo puede decirse de la fosfatasa ácida, cuya procedencia se atribuye preferentemente al polen, pero en parte también al néctar.

#### **4.2.4. Proteínas.**

Las proteínas de la miel proceden en parte del material vegetal y en parte de las abejas. La miel contiene aminoácidos libres en cantidades de 100 mg/100 g de extracto seco. La prolina, que procede de las abejas, predomina absolutamente, constituyendo entre el 50 y el 85 % de la fracción aminoacídica. Tomando como base el espectro de aminoácidos, puede efectuarse una clasificación regional de las mieles.

#### **4.2.5. Ácidos.**

El ácido principal de la miel es el ácido glucónico, formado por la glucosa oxidasa, que existe en equilibrio con la gluconolactona. La cantidad de ácido glucónico depende principalmente del tiempo transcurrido entre la toma del néctar por las abejas y la consecución de la densidad final de la miel en el panal, en cuyo momento la actividad de la enzima es sólo escasa. En pequeñas

cantidades están presentes otros ácidos, como por ejemplo el acético, láctico, cítrico, succínico, fórmico, málico, maleico y oxálico, lo cual explica el pH ácido de la miel (3.8 – 4.0 en términos generales) que impide el desarrollo de bacterias.

#### **4.2.6. Sustancias aromáticas.**

Se han aislado en la miel unos 300 compuestos volátiles, más de 200 de los cuales están identificados. Se trata de ésteres de ácidos alifáticos y aromáticos, aldehídos, cetonas y alcoholes. Son especialmente importantes los  $\beta$ -damascenona y el fenilacetal, que tienen un olor y sabor parecidos a los de la miel. El antranilato de metilo y el 3,9-epoxi-1,4(8)-p-metadieno son típicos de la miel de cítricos y espliego.

#### **4.2.7. Pigmentos.**

Se sabe poco sobre los pigmentos de la miel. Su color se atribuye a compuestos fenólicos y a reacciones de pardeamiento que acontecen entre los aminoácidos y la fructosa en solución ácida.

#### **4.2.8. Compuestos tóxicos.**

Las llamadas mieles venenosas proceden sobre todo de abejas que liban sustancias de especies de rododendros (Asia Menor, Cáucaso) y otras *Ericaceae*, de belladona, especies de ácoro (de la familia de las aráceas), *Euphorbiaceae* o de varias otras sustancias, como por ejemplo del líquido melífico tóxico expelido por las cigarras. Los rododendros contienen como sustancia venenosas, entre otras, las grayanotoxinas I, II y III, diterpenos tetracíclicos que se utilizan en medicina como antihipertónicos.



### *Artemisa de Efesos*

En este templo las sacerdotisas eran llamadas Melissa (abeja), y los sacerdotes Essen (rey de las abejas). Ellos eran los servidores del Verbo.

### **4.3. PROPIEDADES DE LA MIEL**

La miel en sí misma está formada por sustancias y materias que son consideradas inhibitorias de patógenos. Gracias a estas sustancias, la miel, además de ser un excelente alimento, se acerca a un medicamento, para lo cual no sólo debe ser una miel madura, sino que sus sustancias tienen que haber madurado realmente. Madurado significa que la miel estuvo operculada.<sup>14</sup>

La miel surge como un alimento muy importante para el desarrollo del ser humano. El hombre empezó a criar abejas para obtener miel a partir del néctar, sustancia de la flor, mediante una transformación y enriquecimiento por el efecto de diversas fuerzas. Desde el punto de vista de la materia, el efecto de estas fuerzas convierte a la miel en una sustancia de un valor extraordinario. La miel contribuye al mantenimiento del ser humano; lo que es la leche materna para el bebé, lo es la miel para el adulto y el anciano.<sup>14</sup>

Las principales propiedades terapéuticas que se conocen de la miel son su acción antibacterial y su efecto en el mejoramiento de la digestión en niños y adultos. Se asimila tan fácilmente que no requiere de posteriores enzimas para su digestión. En la tradición popular se menciona que la miel fortalece la sangre, ayuda a la memoria, es un tónico cardíaco, se utiliza en oftalmología (en particular la miel de melipona), combate toxinas, ayuda en la digestión de las grasas, y comiéndola en crudo alivia la alergia del polen. La miel contiene una enzima que produce peróxido de hidrógeno, lo cual hace a la miel un auxiliar en la eliminación de bacterias estomacales, además de ser una excelente ayuda en la sanación de heridas; la miel es un fuerte antimicrobiano y ayuda a reducir la inflamación, lo que hace que una herida sane más rápido.<sup>15</sup>

Para que sea terapéutica, la miel debe ser pura y cruda, no debe ser calentada y debe almacenarse resguardada de la luz y el calor.

Como se mencionó anteriormente en el apartado de composición, la miel contiene glucosa, fructosa y otros azúcares, es rica en minerales (especialmente las mieles oscuras), y contiene una



vasta cantidad de enzimas y fitonutrientes, lo que hace a la miel un alimento muy completo y con alto valor nutricional.

#### **4.4. PRODUCCIÓN DE LA MIEL EN MÉXICO<sup>7</sup>**

En nuestro país la apicultura es una actividad social y económica. De esta actividad dependen aproximadamente 40 mil productores, quienes en conjunto cuentan con cerca de 2 millones de colmenas.

A pesar de los problemas que ha implicado la presencia de la abeja africana en México (1986) y la varroa (1992), la apicultura nacional registró una recuperación importante y sostenida durante el periodo 1998-2003, con un incremento en la producción de miel equivalente al 3 % anual (en promedio). En la actualidad, la apicultura tiene tal relevancia en nuestro país que ha llegado a ser una de las actividades más importantes del sector pecuario mexicano, ya que se ubica entre los tres primeros lugares como generadora de divisas por concepto de exportación de miel.<sup>16</sup> Además, gracias a esta actividad México ocupa el quinto lugar de producción y el tercero en exportación de miel a nivel mundial: produce más de 55 000 toneladas anualmente; durante el periodo 2001-2006 exportó un promedio de 23 000 toneladas al año, lográndose un valor de exportación por el orden de 45 millones de dólares por año,<sup>17</sup> confirmando a la apicultura como una importante fuente de divisas.

Sin embargo, para conservar y mejorar la posición de México en el comercio mundial de la miel, resulta indispensable satisfacer un mercado cada día más exigente, propiciado fundamentalmente por el surgimiento de nuevas normas y requisitos de calidad.

#### 4.5. CALIDAD DE LA MIEL EN MÉXICO<sup>7</sup>

La miel es un alimento puro, natural y susceptible de contaminarse por diversas causas. No debe contener aditivos, sustancias orgánicas e inorgánicas extrañas a su composición, y todo aquello que no cumpla con la definición estricta presente en la norma mexicana no puede llamarse miel.<sup>6</sup>

Una miel de calidad es el resultado de la conjunción de dos factores: el trabajo de las abejas para producirla y la intervención del hombre para extraerla de la colmena y ponerla a disposición del consumidor. Por tanto, es evidente que el apicultor debe ser capaz de conservar íntegras las características del producto para ofrecerlo al hombre tal como lo ha obtenido de las abejas.<sup>6</sup>

Las características que muestran la calidad de una miel se determinan por medio de análisis fisicoquímicos, sensoriales y de contenido de polen. Este último es un indicador del origen geográfico y botánico de la miel. Por su origen botánico las mieles se clasifican en monoflorales (cuando la miel contiene una dominancia de granos de polen de una sola especie) y multiflorales (cuando no domina ningún polen en la miel); por su origen geográfico las mieles se nombran de acuerdo a la región de donde proceden y a la flora de dicha región, además, en ocasiones se menciona también la época de la cosecha (primavera u otoño, por ejemplo).<sup>1</sup>

Para el comercio, una miel de calidad debe cumplir normas básicas de inocuidad: que no esté adulterada con otros azúcares ni contaminada con insecticidas, antibióticos, plaguicidas y otros compuestos. En la actualidad, el mercado exige la producción de alimentos inocuos y auténticos, por lo cual para México, país exportador de miel, esta normatividad es fundamental. Por ello, desde 1998 México lleva a cabo el *Programa de Monitoreo y Control de Residuos Tóxicos en Miel*, con lo cual se han mantenido las puertas abiertas de los países que integran la Unión Europea (UE) para la miel mexicana; asimismo, se promueve la venta hacia nuevos destinos, dando como resultado la exportación de miel a países no tradicionales como los Emiratos Árabes

y Venezuela entre otros. De igual manera, para proteger y beneficiar al mercado nacional de la miel se apoyan iniciativas como la formación del *Consejo Regulador de la Miel de Abeja Mexicana A. C.*, el cual ha trabajado fuertemente en la elaboración y/o actualización de normas para regular la venta de este producto y facilitar las acciones en contra de los vendedores de mieles adulteradas. También se ha impulsado el uso de un holograma de calidad que ha sido utilizado de manera más frecuente por empresas envasadoras y apicultores, garantizando con este distintivo que se trata de un producto 100 % puro y libre de contaminantes. También se llevan a cabo acciones en contra de los establecimientos que venden otro tipo de edulcorantes como miel. Cabe señalar, que esta situación se enfrenta de manera coordinada por productores, empresarios y gobierno, con el apoyo de la *Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO)*.

Actualmente, las disposiciones internacionales en materia de calidad e inocuidad alimentarias propuestas por la *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, siglas de Food and Agriculture Organization)* y la *Organización Mundial de la Salud (OMS)*, a través del *Codex Alimentarius* y la *Unión Europea*, recomiendan la aplicación de estrategias orientadas a lograr alimentos de mayor calidad sin riesgos para la población. Por esto mismo, es muy importante que se continúen impulsando los esfuerzos que en México se están haciendo para mejorar la producción de alimentos y monitorear su calidad; esto debe ser tomando como base no sólo el aspecto de competitividad con el mercado mundial, sino que fundamentalmente se considere prioritaria la obtención de alimentos con la mejor calidad e inocuidad posibles, por ser ésta una necesidad en nuestro país y en el mundo.

Se sabe que desde hace 50 años la miel mexicana ha sido comercializada en los mercados de Europa, Estados Unidos, Arabia Saudita y Japón gracias a que es considerada una de las mieles con mejor calidad y de las más cotizadas en el mundo. Esto ha hecho que en México, a través del gobierno federal, se haya implementado el “*Programa Nacional de Inocuidad y Calidad de la*

*Miel*’ mediante la aplicación de las buenas prácticas de producción y manufactura de la miel, como mecanismo para garantizar la calidad y sanidad de la miel mexicana en el mercado mundial. Dicho programa busca homologar las normas mexicanas con las internacionales, además de otorgar a los consumidores la certeza de adquirir miel de excelente calidad cuando proceda de empresas que aplican estos esquemas. En la Tabla 1 (página 16) se presentan de forma comparativa algunos criterios de calidad de la *Norma Mexicana de Miel (NMX-F-036-NORMEX-2006)* comunes al *Codex Alimentarius* y a la directiva del consejo de la *Unión Europea*.

Asimismo, en fechas recientes la *Coordinación General de Ganadería y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)* de la *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)*, desarrollan programas de trazabilidad, rastreabilidad y de registro de productores, acopiadores y exportadores para que ya se cuente con un adecuado control y registro de la producción de miel inocua y de alta calidad.<sup>16</sup>

**Tabla 1**

**Normas de calidad de la miel según CODEX STAN 12-1981 (2001) del CODEX ALIMENTARIUS, DIRECTIVA 2001/110/CE del CONSEJO DE LA UE (2001) y de la NORMA MEXICANA NMX-F-036-NORMEX-2006**

<b>CRITERIOS DE CALIDAD</b>	<b>Codex Alimentarius</b>	<b>Directiva de la UE</b>	<b>NMX-F-036-NORMEX-2006</b>
<b>Contenido de humedad:</b> Mieles florales Brezo, trébol Industrial o de panadería	$\leq 20$ g/100g $\leq 23$ g/100g	$\leq 21$ g/100g $\leq 23$ g/100g $\leq 25$ g/100g	$\leq 20$ g/100g
<b>Contenido aparente de azúcares reductores:</b> Mieles florales Miel de mielada o mezclas de miel de mielada con mieles florales.	$\geq 60$ g /100 g $\geq 45$ g /100 g	$\geq 60$ g /100 g $\geq 45$ g /100 g	$\geq 63,88$ g/100g
<b>Contenido aparente de sacarosa:</b> Mieles florales Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ), Citrus spp., Falsa acacia ( <i>Robinia pseudoacacia</i> ), Madreselva francesa ( <i>Hedysarum</i> ), Menzies Banksia ( <i>Banksia menziesii</i> ), “Red Gum” ( <i>Eucalyptus camaldulensis</i> ), “Leatherwood” ( <i>Eucryphia lucida</i> ), Eucryphia milligani. Espliego ( <i>Lavandula spp.</i> ), borraja ( <i>Borago officinalis</i> )	$\leq 5$ g/100 g $\leq 10$ g/100 g $\leq 15$ g/100 g	$\leq 5$ g/100 g $\leq 10$ g/100 g $\leq 15$ g/100 g	$\leq 5$ g/100g
<b>Contenido de sólidos insolubles en agua:</b> Mieles distintas de la miel prensada Mieles prensada	$\leq 0.1$ g/100 g $\leq 0.5$ g/100 g	$\leq 0.1$ g/100 g $\leq 0.5$ g/100 g	$\leq 0.3$ g/100g
<b>Conductividad Eléctrica</b> Mieles Miel de mielada y miel de castaño y mezclas de las mismas	$\leq 0.8$ mS/cm $\geq 0.8$ mS/cm	$\leq 0.8$ mS/cm $\geq 0.8$ mS/cm	<i>No se menciona como parámetro</i>
<b>Acidez</b> Mieles Miel para uso industrial	$\leq 50$ meq/kg	$\leq 50$ meq/kg $\leq 80$ meq/kg	$\leq 40$ meq/kg
<b>Actividad de diastasa</b> (luego de procesar y mezclar): Mieles florales (en escala Schade) Mieles con bajo contenido natural de enzimas	$\geq 8$ $\geq 3$	$\geq 8$ $\geq 3$	$\geq 8^*$ $\geq 3^*$
<b>Contenido de hidroximetilfurfural (HMF):</b> En general, excepto para uso industrial De origen tropical	$\leq 40$ mg/kg $\leq 80$ mg/kg	$\leq 40$ mg/kg $\leq 80$ mg/kg	$\leq 40$ mg/kg $\leq 80$ mg/kg

\* En la escala Goethe. Será mínimo de 3 siempre y cuando no exceda en el contenido en HMF de 15 mg/kg

#### 4.5.1. Formación de hidroximetilfurfural (HMF).<sup>18</sup>

La miel es considerada un edulcorante natural porque sus principales y mayoritarios componentes (alrededor del 80 %) son carbohidratos, dentro de los cuales el 90 % son glucosa y fructosa, y el resto está formado por sacarosa y otros oligosacáridos. Si la miel se expone a ciertas condiciones de pH, temperatura y tiempo, tanto la glucosa como la fructosa pueden oxidarse para dar un compuesto sin valor nutricional, el *hidroximetilfurfural* o *HMF*. Por consiguiente, una miel con niveles elevados de HMF es un alimento que ya no conserva íntegras sus cualidades esenciales, además de disminuir su calidad nutricional. Es por esto que la producción de HMF en una miel es el *principal criterio* para establecer su calidad. A continuación se mencionan algunas consideraciones para preservar la calidad de la miel en este contexto y cuestiones generales sobre la formación del HMF.

Es importante que la miel no esté expuesta al sol por mucho tiempo, ya que sus rayos la transforman y hacen perder su calidad; la miel es muy sensible a los rayos solares pues ocasionan cambios químicos en ella.<sup>14</sup> De igual forma, se debe cuidar de no calentar la miel para su extracción o a la hora de envasarla, debido a que la miel pierde muchos de sus beneficios cuando se calienta.<sup>15</sup> Uno de los principales parámetros para saber si la miel fue calentada o no es a través de la formación del hidroximetilfurfural (HMF), ya que el contenido de HMF aumenta de acuerdo con el valor de pH, el tiempo y la temperatura.<sup>11</sup>

La síntesis de HMF está basada en la triple deshidratación de hexosas, por lo que diferentes substratos pueden emplearse, como por ejemplo: hexosas, oligosacáridos y polisacáridos. Esta deshidratación dada por catálisis ácida conduce, aparte de la formación de HMF, a varios productos secundarios.

La deshidratación de hexosas (en especial fructosa y glucosa) sigue una de dos vías posibles: un camino incluye la transformación a un sistema de anillos, mientras que el otro camino esta

basado en compuestos acíclicos (figura 1, pág. 19). Se ha comprobado experimentalmente que el mecanismo de formación del HMF va a través de intermediarios cíclicos.

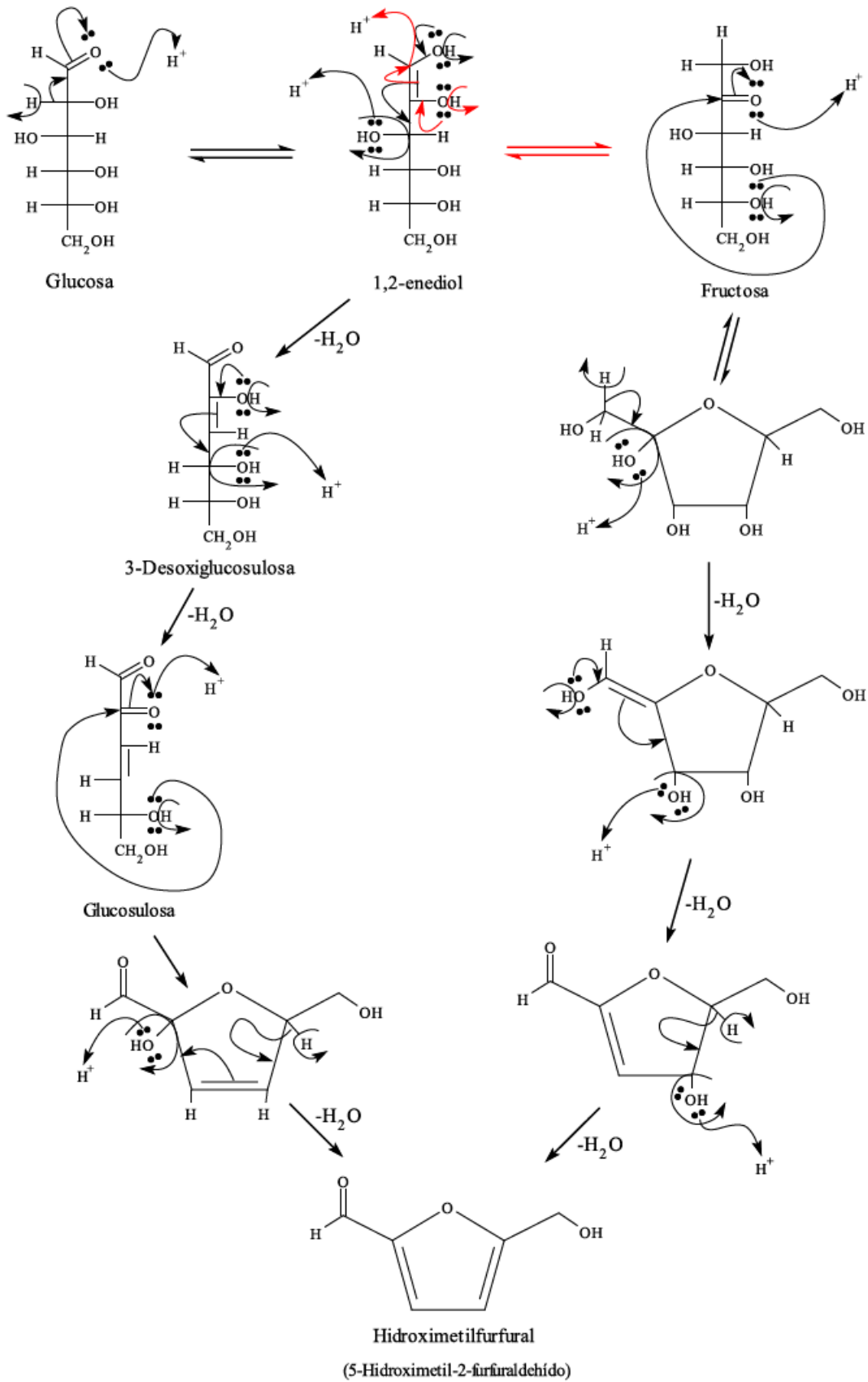
Todos los métodos de síntesis de HMF requieren la utilización de la deshidratación térmica de hexosas en medio ácido. Los factores que determinan el porcentaje de formación de HMF son:

- 1.- el tipo de sustrato y el grado de hidrólisis.
- 2.- el tipo y la concentración del catalizador.
- 3.- el tiempo y la temperatura de reacción.
- 4.- el porcentaje de polimerización.
- 5.- el tipo de solvente empleado y la estabilidad del HMF.

La síntesis es más eficiente y más selectiva a partir de cetohexosas que de aldohexosa. Por ejemplo la hidrólisis de la sacarosa es más rápida que la deshidratación, por lo que una parte de la glucosa está siempre presente en la serie de reacciones posteriores. Esto es ocasionado por la gran estabilidad en la estructura de la glucosa, la cual se enoliza en un grado muy bajo, y la enolización es un factor determinante en la formación de HMF a partir de glucosa. Por otra parte la glucosa puede condensarse para formar oligosacáridos, los que pueden reaccionar con intermediarios o con el mismo HMF. La deshidratación de hexosas es catalizada por ácidos próticos y ácidos de Lewis. Por último, la eficacia de la deshidratación está influenciada por el tipo de solvente y las condiciones de temperatura.

Recientemente se ha puesto de manifiesto que el HMF puede formarse muy fácilmente por el calentamiento de la vitamina C y que la formación de HMF a partir de la fructosa es más rápida que a partir de la glucosa.<sup>19</sup>

## MECANISMOS DE FORMACIÓN DE HMF



**Figura 1**

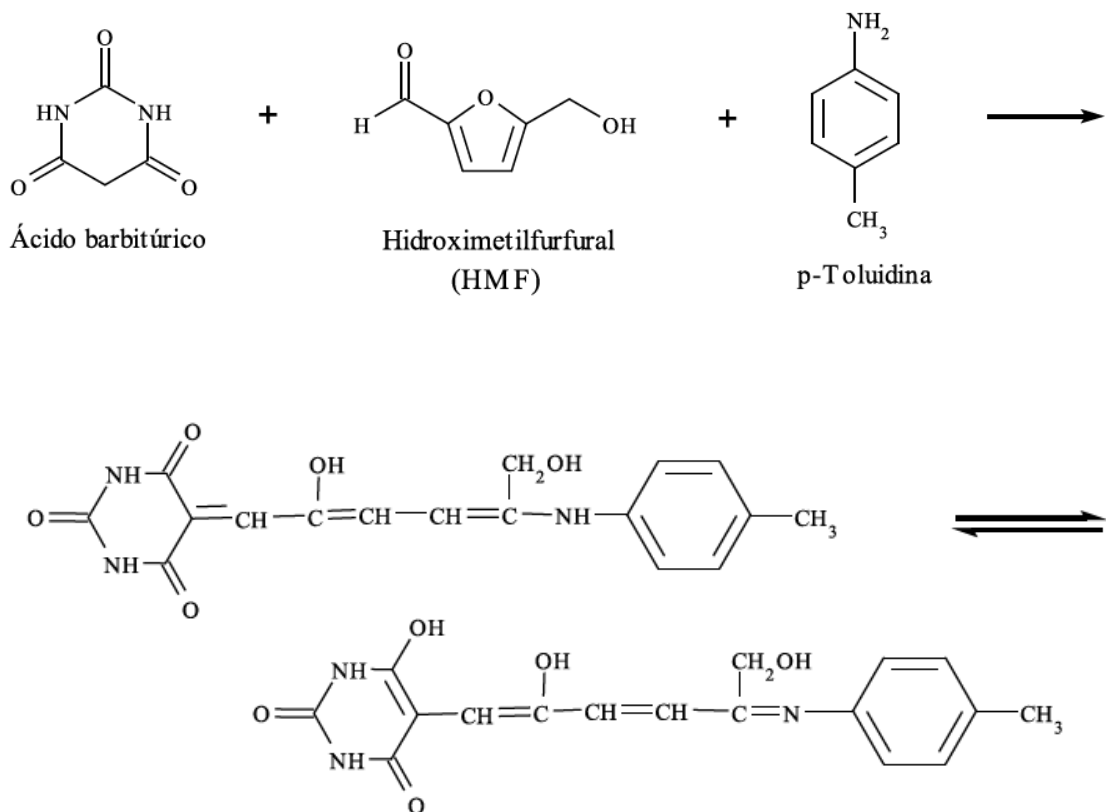


#### 4.5.2. Métodos de análisis.

Actualmente en México se siguen los métodos propuestos en la *Norma Mexicana de Miel de 1997 (NMX-F-036-1997)*, la cual ha sido actualizada con pequeños cambios en el 2006 (*NMX-F-036-NORMEX-2006*, que cancela la anterior) para medir los parámetros fisicoquímicos determinantes de la calidad de la miel, como se muestran en la Tabla 1 (pág. 16). Entre ellos podrían destacarse el contenido de hidroximetilfurfural (HMF), humedad, acidez, cenizas, azúcares reductores y glucosa. Sin embargo, muchos de los métodos propuestos resultan hoy día obsoletos o muy complicados, elaborados y costosos; por ello es conveniente hacer una revisión de la norma con el propósito de mejorarla con base en otro tipo de metodologías que resulten más sencillas, más económicas, de mayor precisión y confiabilidad.

En este sentido puede mencionarse que la determinación de HMF presente en la norma mexicana se realiza mediante el método de Winkler<sup>20</sup> propuesto en 1955. Este método se basa en la formación de un compuesto colorido resultante de la reacción de HMF con ácido barbitúrico y p-toluidina en una mezcla de isopropanol y ácido acético glacial (figura 2, pág. 21). El compuesto formado se cuantifica por espectrofotometría a una longitud de onda de 550 nm, haciéndose la lectura cuando se alcanza el máximo desarrollo de color (entre 1 y 4 minutos). La absorbancia debe medirse rápidamente debido a la disminución de la intensidad del color con el tiempo.

En el método de Winkler se encuentran involucradas una serie de reacciones químicas antes de obtenerse el derivado colorido, además de que las muestras requieren de un tratamiento especial y no existe información sobre límites de detección y sensibilidad del método. Esta forma indirecta de determinar HMF involucra la formación de derivados poco estables. Además cabe señalar que en México está prohibida la importación de ácido barbitúrico, por lo cual se requiere un permiso especial por parte de la Secretaría de Defensa.



**Figura 2**  
**Reacción de HMF con ácido barbitúrico y p-toluidina**

Otro método para determinar HMF mencionado en la norma mexicana es el utilizado por la AOAC (*The American Organization of Analytical Chemists*),<sup>21</sup> el cual utiliza la reacción del HMF con ferrocianuro de potasio trihidratado, acetato de zinc y bisulfito de sodio. La determinación se hace mediante espectrofotometría ultravioleta; es también un método indirecto e igualmente no existen límites de detección reportados.

En la norma mexicana se menciona otro método para determinar HMF por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés),<sup>22</sup> el cual se basa en la formación de 2,4-dinitrofenilhidrazonas partiendo de compuestos con un grupo carbonilo y en la posterior separación de los derivados por cromatografía de fase inversa. Este método cuenta con un límite

de detección del orden de 10 ppb (10 µg/Kg), además de permitir la separación y determinación del HMF. Sin embargo, también se basa en la formación de derivados de HMF.

Con respecto a la determinación del contenido de humedad, la norma emplea 2 métodos refractométricos cuyos resultados previamente corregidos por temperatura se expresan en grados Brix.

La acidez se determina primero por una valoración con NaOH hasta alcanzar un pH de 8.5, luego se agrega un exceso de NaOH que se titula con HCl hasta llegar a un pH de 8.3.

Los azúcares reductores se determinan por el método de Lane y Eynon (1923) modificado, el cual consiste en titular en ebullición la solución de Fehling que contiene Cu (II) con una solución de los azúcares reductores de la miel, empleando azul de metileno como indicador. Para el contenido de glucosa se emplea un método indirecto basado en una reacción enzimática con glucosa oxidasa a un pH determinado; la glucosa se oxida formándose ácido glucurónico y peróxido de hidrógeno, y liberándose oxígeno activo por la acción de la peroxidasa que reacciona con la o-toluidina, generándose un compuesto colorido que absorbe en la región visible a 530 nm.

Para la cuantificación de cenizas la norma mexicana establece la calcinación de la muestra de miel a 600 °C hasta peso constante.

El *Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA)*, sede de la *Dirección de Servicios de Constatación en Salud Animal del SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria)*, organismo desconcentrado de la *SAGARPA*, en 1994 instaló un laboratorio para análisis de miel con el fin de apoyar al sector productivo apícola. Este laboratorio contribuye a la constatación de la calidad de las mieles producidas en México, y es considerado como el laboratorio oficial para tal fin: en él se realizan pruebas fisicoquímicas para calificar y cuantificar los componentes originales de la miel, y el análisis de residuos tóxicos

posibles.<sup>23</sup> Entre los residuos tóxicos que analizan se encuentran antibióticos (tetraciclinas y estreptomicinas) y sulfonamidas (sulfatiazol, con límite de detección de 0.05 ppm), para los cuales utilizan el método de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés); plaguicidas organoclorados (aldrín, DDT, metoxicloro, entre otros), plaguicidas organofosforados (coumaphos, malatión, metil paratión, entre otros) y antiparasitarios (fluvalinato, flumetrina y fenol), que determinan con cromatografía de gases (CG).<sup>24</sup>

Hoy día existen alternativas para llevar a cabo algunas determinaciones de los estudios de calidad de la miel con métodos más adecuados en cuanto a costos, tiempo y dificultad se refiere. Para determinar HMF se puede realizar un análisis electroquímico, siendo este un método directo que no requiere manipular mucho la muestra, se ocupan pocos reactivos y las mediciones son muy rápidas y sencillas. Aunque en la norma no esté especificada la determinación de fructosa, ésta puede determinarse igualmente por electroquímica, y en un futuro podría encontrarse también la determinación de glucosa por este medio. Por otro lado, las cenizas pueden determinarse con base en la conductividad específica<sup>25,26</sup>. Esta medición es directamente proporcional al contenido de cenizas en la miel, debido a la relación lineal existente entre el contenido de cenizas y la conductividad específica dada por la expresión  $\chi = 0.14 + 1.74 A$ , donde  $\chi$  se refiere a la conductividad específica (en Siemens/cm) y  $A$  es el contenido de cenizas en g/100 g de miel. La medición de conductividad específica es fácil y rápida, además puede distinguir entre miel floral ( $\chi < 0.8$  mS/cm) y miel de mielada ( $\chi > 0.8$  mS/cm). Finalmente, podría verse la posibilidad de detectar la presencia de los principales residuos tóxicos por electroquímica si se hacen los estudios correspondientes.

## *LA ABEJA EN LA MITOLOGÍA GRIEGA*



*Melissa, la diosa abeja del monte Eryx*



*Placa de oro de Rodas y una moneda de abeja de Sicilia*

*“Apes... ego divinas bestias puto”  
(Yo pienso que las abejas son  
animales divinos)*

*Petronius 56.*

*Oh hermanas de corolas bermejas  
Hijas de la luz, abejas,  
Alas de oro y flechas de flama.*

.....

*Nosotras volamos en el azul abiertas,  
Sobre la boca abierta de las rosas  
Y sobre los labios de Platón.*

*Víctor Hugo*

#### 4.6. PROBLEMAS EN LA PRODUCCIÓN DE MIEL

Uno de los principales problemas que enfrenta la apicultura corresponde a las enfermedades que pueden padecer las abejas, entre ellas la *varroasis* es una de las más importantes. Esta enfermedad es una parasitosis externa producida por el ácaro *Varroa Jacobsoni Oudemans*, que afecta a la abeja melífera en todos sus estadios de desarrollo (cría sellada, abierta e individuo adulto).<sup>27</sup> Estos ácaros atacan a las abejas, las parasitan y a la larga las hacen perecer.<sup>28</sup>

El ácaro de la varroa vive de la sangre de la abeja adulta, de la larva y de la ninfa. Ya que no es una enfermedad que ataca solamente la cría o las abejas adultas, es muy difícil combatirla. La colmena se va debilitando con el parásito, como en el caso del ácaro de la tráquea (otra patología apícola), la abeja pierde sangre con los pinchazos que el ácaro le arremete con su trompa para llegar hasta su sangre y alimentarse de ella, y debido a los pinchazos pueden entrar otras enfermedades en la sangre. La cría que tiene ácaros no puede desarrollarse tan plenamente. Las abejas que nacen muestran deformaciones, por lo que no son aceptadas por las otras abejas y se les echa, afectándose así al crecimiento de la colmena.<sup>14</sup>

Algunas de las medidas utilizadas para el tratamiento de esta enfermedad consiste en aplicar a la colmena lo que son productos acaricidas de síntesis (tratamiento químico), o productos acaricidas orgánicos o naturales (tratamiento no químico). Entre los productos de síntesis tenemos a los acaricidas comerciales y los antibióticos. Los acaricidas comerciales, que resultan ser caros, son marcas registradas que tienen principios activos como bromopropilato, coumaphos, amitraz, cimiazol, fluvalinato. Los antibióticos más utilizados en la apicultura mundial son las tetraciclinas (principalmente el clorhidrato de oxitetraciclina) y macrólidos (eritromicina y tilocina); también se utilizan las sulfas (compuestos antimicrobianos) estreptomicina, sulfatiazol, gentamicina y cloranfenicol. Entre los acaricidas naturales se tienen al ácido fórmico, al ácido láctico, al ácido oxálico y al timol.<sup>29</sup>

Cualquiera que sea el acaricida a utilizar se debe aplicar en cantidades adecuadas dentro de la colmena en épocas alejadas de la cosecha, ya que un exceso puede dejar residuos considerables en la miel y por tanto contaminarla. Por tal motivo, en las legislaciones de miel se establecen los límites máximos permitidos de residuos acaricidas que puede tener la miel, o bien la prohibición total de la presencia de residuo alguno si se consideran posibles problemas de salud por la sustancia empleada. En el siguiente cuadro (tabla 2) se muestran los límites máximos de residuos que se toleran en algunas legislaciones internacionales como la de los Estados Unidos de América (E.U.A.), la Unión Europea (UE) y Argentina; en México no existe tal control, por lo cual se muestran los límites que permite la legislación en Argentina tomando en cuenta que este país, al igual que México, ocupa un lugar muy importante en la exportación mundial de miel.

**Tabla 2**  
**Límite Máximo de Residuos (LMR) establecidos por Estados Unidos, la Unión Europea y Argentina para las diferentes sustancias acaricidas y antibióticos<sup>29</sup>**

<b>ACARICIDA</b>	<b>LMR (en ppb)</b>		
	<b>E.U.A.</b>	<b>UE</b>	<b>Argentina</b>
<b>Fluvalinato</b>	50	NCN	10
<b>Flumetrina</b>	No permitida	NCN	-----
<b>Amitraz</b>	1000	200	200
<b>Cimiazol</b>	No permitida	Permiso expirado	-----
<b>Ácido fórmico</b>	Exento	NCN	-----
<b>Ácido láctico</b>	No permitido	NCN	-----
<b>Timol</b>	Exento	NCN	-----
<b>Ácido oxálico</b>	No permitido	NCN	-----
<b>Coumaphos</b>	100	100	100
<b>ANTIBIÓTICO</b>			
<b>Oxitetraciclina</b>	0	0	30
<b>Cloranfenicol</b>	Prohibido	Prohibido	0.5
<b>Sulfas</b>	Prohibido	Prohibido	25
<b>Tilosina</b>	0	0	10
<b>Estreptomicina</b>	Prohibido	Prohibido	30
<b>Nitrofuranos</b>	Prohibido	Prohibido	0.3

NCN = No se considera necesario, el compuesto no es peligroso

#### 4.6.1. Sulfatiazol como producto acaricida.<sup>30, 31, 32</sup>

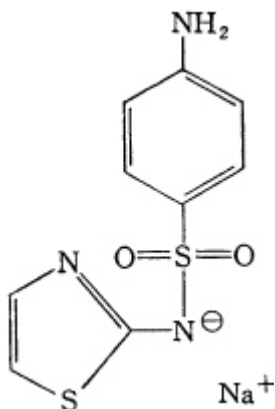
El sulfatiazol ( $C_9H_9N_3O_2S_2$ ) es una sulfa que se utiliza como acaricida para el control de varroa en la apicultura, y puede considerarse un compuesto de fácil acceso y uso relativamente extendido, por lo cual resulta importante su detección y cuantificación como residuo tóxico en miel. Sin embargo, existen pocos métodos para llevar esto a cabo; en general se determina por HPLC, por ello es conveniente realizar investigación fundamental para llegar a tener un método más sencillo y económico. Es por eso que en este trabajo se llevó a cabo un estudio electroquímico para poder cuantificar el sulfatiazol y así, en un futuro, desarrollar una metodología que muestre si está presente o no en miel y en qué cantidad, como parte de un análisis más completo de miel. A continuación se mencionan algunas de las características y propiedades del sulfatiazol.

El sulfatiazol (4-amino-N-(tiazol-2-il)bencensulfonamida) forma parte del grupo de sulfas o sulfonamidas (agentes bacteriostáticos que inhiben el crecimiento y multiplicación de algunos tipos de bacterias) conocido como *p-aminosulfonamidas*. Este grupo de sulfonamidas está integrado por una serie de compuestos que cuentan con un sustituyente unido al nitrógeno amídico (nitrógeno unido a un grupo sulfonilo) distinto para cada uno. Así se tiene que la p-aminosulfonamida más sencilla es la *sulfanilamida*, con un hidrógeno como sustituyente; el sustituyente del sulfatiazol es un grupo *tiazol*.<sup>33,34</sup>

El sulfatiazol es un polvo blanco, inodoro, de sabor amargo, con un peso molecular de 277.29 g/mol, poco soluble en agua fría (0.91% a 37°C) y en alcohol (0.5% a 26°C); insoluble en éter y en cloroformo, soluble en acetona, ácidos minerales diluidos, soluciones de hidróxidos alcalinos (dando la sal correspondiente) y de amoníaco. Es dimorfo, siendo el punto de fusión de ambas formas 172°-175°C y 201°-203°C respectivamente. El pH de la solución acuosa saturada está cercano a 6. Se utiliza como agente antimicrobiano. Cuando se expone a la luz se oscurece



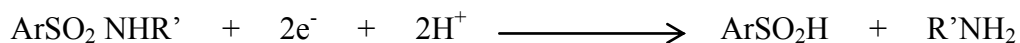
lentamente. La sal sódica pentahidratada de sulfatiazol (figura 3) es soluble en agua y se utiliza para inyecciones intravenosas. El sulfatiazol tiene la acción típica de las sulfonamidas, y es efectiva contra estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, neumococos, gonococos y estafilococos. Se absorbe fácilmente por vía oral y se excreta más rápidamente que la sulfanilamida.



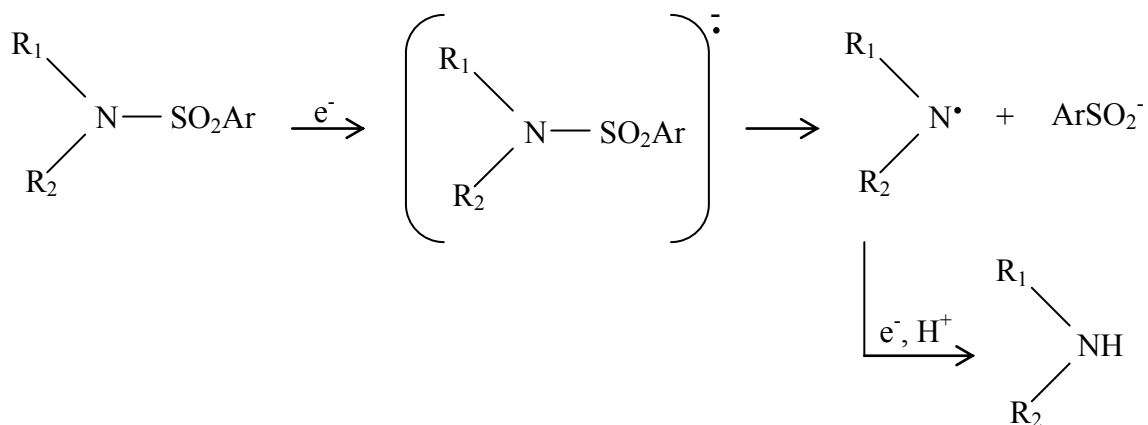
**Figura 3**  
**Sal sódica de sulfatiazol**

Existen relativamente pocos trabajos sobre el comportamiento electroquímico de las sulfas. Sin embargo, se sabe que la sulfanilamida (p-aminobencensulfonamida) no se reduce al electrodo de gota de mercurio pero es posible oxidarla sobre un electrodo de grafito; algunas sulfas son electroactivas y han sido analizadas polarográficamente.<sup>35</sup>

*Barzer M.* (ref. 36) menciona que las sulfonamidas pueden reducirse tanto en medio ácido como básico; la reacción de reducción involucra al grupo amídico de la molécula y provoca el rompimiento del enlace *S-N*:



Los potenciales de reducción de las sulfas estudiadas son mucho más catódicos en los disolventes no acuosos que en el agua. *Bard-Stratmann* (ref. 37) mencionan que esta reacción es eficiente para la desprotección del grupo amino y propone el siguiente mecanismo:



*Korshunov* (ref. 38) menciona que el sulfatiazol puede reducirse sobre un electrodo de mercurio con un potencial de media onda en un intervalo de  $-1.66$  a  $-1.74\text{V}$  utilizando yoduro de tetrametilamonio ( $(\text{Me})_4\text{NI}$ )  $0.1\text{M}$  como electrolito soporte, pero no da más indicaciones.



***Cupido quejándose con Venus, (1525)***

de Lucas Cranach el Viejo, pintor alemán renacentista (1472-1553)

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. REACTIVOS

REACTIVO	PUREZA	MARCA COMERCIAL
Sal sódica de sulfatiazol	R. A.	Fluka
Nitrato de potasio	R. A.	Meyer
Acido nítrico	R. A.	Merck
Acetato de amonio	R. A.	T. Química
Amoniaco	R. A.	Merck
Bromuro de tetraetilamonio	R. A.	Aldrich
Hidroximetilfurfuraldehído	Q. P.	Sigma
Fructosa	R. A.	Aldrich
Cloruro de calcio	R. A.	J. T. Baker
Bicarbonato de sodio	R. A.	Monterrey
Perclorato de litio trihidratado	R. A.	Aldrich
Solución buffer pH10 (ácido bórico / cloruro de potasio-hidróxido de sodio)	R. A.	Merck
Reactivo A Fehling (sulfato de cobre (II) pentahidratado 0.2783 M y 0.27745 M)	R. A.	J. T. Baker
Reactivo B Fehling (tartrato de sodio y potasio tetrahidratado 1.166 M + NaOH 2.499 M)	R. A.	J. T. Baker
Azul de metileno	R. A.	G. T. Gury
Etanol absoluto anhidro	99.7 %	J. T. Baker
Metanol	99.9 %	J. T. Baker
Nitrógeno de alta pureza	99.9%	Praxair
Agua destilada y desionizada		

### 5.2. EQUIPO

- ★ Polarógrafo Radiometer Analytical MDE 150
- ★ Electrodo de referencia: Ag/AgCl/KCl<sub>aq</sub> 3 M tipo TR020
- ★ Electrodo auxiliar: Platino tipo TM020
- ★ Electrodo de trabajo:

- † Electrodo de gota de mercurio
- † Electrodo de disco giratorio de oro y grafito
- † Alambre de cobre
  
- ★ Milivoltímetro Tacussel électronique tipo S6N
- ★ pH metro 715 Metrohm
- ★ Refractómetro Atago N-3E
- ★ Parrilla de agitación y calentamiento Corning

### 5.3. MUESTRAS

MUESTRA DE MIEL	DATOS
1	Nochistlán, Zacatecas; Miel de Mezquite; Cosecha Abril 2007
2	Nochistlán, Zacatecas; Miel de Garruño y Varaduz; Cosecha 2007
3	Xalpa, Zacatecas; Miel de Tacote; Cosecha Noviembre 2007
4	Nochistlán, Zacatecas; Miel de Aceitilla y otras; Cosecha 2007
5	Villa Juárez, S.L.P.; Cosecha Abril 2006
6	El Águila, Villa de Arriaga, S.L.P.; Flor de Aceitilla y Saramao
7	Villa de Arriaga, S.L.P.; Flor de Aceitilla (Oct-2006)
8	Huasteca de San Luis Potosí (clara) Octubre 2006

## 5.4. PRIMERA PARTE: METODOLOGÍA SEGUIDA PARA EL ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE MIEL

### 5.4.1. Determinación de hidroximetilfurfural (HMF).

Mediante el uso de la electroquímica analítica y el método de adiciones patrón se determinó y cuantificó la cantidad de HMF presentes en las diferentes muestras de miel.

Con cada una de las muestra de miel se preparó una disolución: aproximadamente 10 g de miel se llevaron a un aforo de 25.00 mL con agua desionizada. También se preparó una disolución de HMF patrón con agua desionizada para utilizarse como referencia, con concentración de  $1.015 \times 10^{-2}$  M para unos casos y  $1.158 \times 10^{-2}$  M para otros. Como electrolito soporte se utilizaron 7.00 mL de un buffer de boratos con pH de 10.

A través de la polarografía (técnica voltamperométrica que utiliza un electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo) se detectó la señal de reducción que da el HMF mediante el trazado de los respectivos polarogramas de intensidad de corriente contra potencial, utilizando el método de *polarografía diferencial de impulsos* (PDI). Para el trazado de los polarogramas se consideró tanto el dominio de electroactividad del electrolito soporte como el intervalo de potencial dentro del cual aparece la señal de reducción del HMF, con el propósito de establecer los límites del barrido de potencial.<sup>3</sup> A continuación se describe el procedimiento que se siguió:

- ★ En una celda electrolítica se colocó el electrolito soporte y se burbujeó gas nitrógeno (N<sub>2</sub>) por 10 minutos para eliminar el oxígeno disuelto en el electrolito. El nitrógeno se mantuvo dentro de la celda durante todas las determinaciones para tener una atmósfera libre de oxígeno en todo momento, y así evitar que las señales del oxígeno interfirieran con las señales de interés.

- ★ Se trazó el polarograma correspondiente a la corriente residual dada por el electrolito soporte con los siguiente parámetros, tomando en cuenta su dominio de electroactividad: barrido de potencial de  $-200\text{ mV}$  a  $-1800\text{ mV}$ , con una velocidad de barrido de  $5\text{ mV/s}$ .
- ★ Se añadió a la celda un volumen conocido de la disolución de miel a estudiar (entre  $1$  y  $2\text{ mL}$ , o hasta más, dependiendo de la definición de la señal dada por el HMF contenido en la miel), y se trazó el polarograma de acuerdo al intervalo de potencial donde aparece la señal de HMF pero extendiéndolo un poco más: barrido de potencial de  $-400\text{ mV}$  a  $-1500\text{ mV}$ , con una velocidad de barrido de  $2\text{ mV/s}$ .
- ★ Se fueron agregando a la celda distintos volúmenes de la disolución patrón de HMF, y para cada uno de ellos se trazó un polarograma: barrido de potencial de  $-700\text{ mV}$  a  $-1600\text{ mV}$ , con una velocidad de barrido de  $2\text{ mV/s}$ .
- ★ Una vez que ya se tuvieron todas las curvas (de la corriente residual, de la muestra de miel y de los diferentes volúmenes del patrón de HMF) se determinó el potencial al cual se tiene la máxima corriente de la señal de HMF y el valor de esa corriente máxima. Esto se realizó con ayuda de las mediciones que da en pantalla el programa de computadora con el que trabaja el polarógrafo utilizado (Radiometer Analytical MDE 150), el que además cuenta con operaciones matemáticas con el cual se pueden obtener los resultados requeridos.
- ★ Utilizando las corrientes máximas obtenidas anteriormente se calculó la cantidad de HMF en partes por millón presente en la muestra de miel (para más detalles ver ANEXO 8.1., pág. 85).
- ★ Para cada una de las muestras de miel se siguió el procedimiento antes descrito.

#### **5.4.2. Determinación de fructosa.**

En la determinación y cuantificación de fructosa en las diferentes muestra de miel se realizó el mismo procedimiento detallado para la determinación de HMF pero con los siguientes cambios:

- ★ En unos casos las disoluciones de miel se prepararon con aproximadamente 1 g de miel llevado a un aforo de 10.00 mL con agua desionizada; en otros casos, de las disoluciones de miel preparadas para la determinación de HMF se tomaron 9.00 mL y se llevaron a un aforo de 25.00 mL con agua desionizada.
- ★ Se preparó una disolución patrón de fructosa con agua desionizada de concentración  $2.112 \times 10^{-2}$  M (3.804 mg/mL) para unos casos y  $2.544 \times 10^{-2}$  M (4.584 mg/mL) para otros.
- ★ Como electrolito soporte se utilizaron 10.00 mL de una disolución de  $\text{CaCl}_2$  con agua desionizada de concentración 1 M.
- ★ La detección polarográfica de la señal de reducción de la fructosa<sup>4</sup> se realizó con las siguientes condiciones:
  - † Polarograma de la corriente residual: barrido de potencial de  $-1100$  mV a  $-2000$  mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.
  - † El volumen añadido a la celda de la disolución de miel a estudiar fue de 25  $\mu\text{L}$  o de 50  $\mu\text{L}$  según el tamaño de la señal.
  - † El trazado de los polarogramas restantes (muestra de miel y volúmenes agregados del patrón de fructosa) se hizo con el mismo barrido de potencial y la misma velocidad de barrido: barrido de potencial de  $-1300$  mV a  $-1900$  mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s.
  - † La cantidad de fructosa en la miel se calculó como porcentaje (para más detalles ver ANEXO 8.2., pág. 89).



### 5.4.3. Determinación de humedad.

La humedad en la miel se determinó por refractometría directa tomado en cuenta la corrección por temperatura: el refractómetro está calibrado a 20 °C y las mediciones se hicieron a 25 °C; el factor de corrección que indica el refractómetro utilizado para esta temperatura es de 0.38 °Brix, y debe sumarse al valor obtenido directamente por la escala del aparato.<sup>4</sup> Del resultado obtenido en °Brix corregidos se calculó la humedad (ver RESULTADOS Y DISCUSIÓN 6.1.3., pág. 45).

### 5.4.4. Determinación de cenizas.

El contenido de cenizas en la miel se calculó a partir de la conductancia medida con un conductímetro de una disolución de miel. Dicha conductancia, transformada en conductividad específica, se relacionó directamente con el porcentaje de cenizas a través de una expresión matemática que resulta de los trabajos de *Vorwohl G. y Piazza M. et. al.*<sup>25,26</sup>. Para ello, en unos casos se ocupó la misma disolución que se utilizó en la determinación de fructosa (un volumen de 9.00 mL de la disolución de miel empleada para HMF aforado a 25.00 mL con agua desionizada), y en otros se preparó una disolución de miel con concentración 0.1 g/mL (5.00 g de miel disueltos en 50.0 mL de agua desionizada).

A cada una de las disoluciones de miel se le midió la conductancia a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), y a ese valor se le restó la conductancia del agua desionizada utilizada (como las mediciones se realizaron en días distintos se manejaron diferentes conductancias para el agua desionizada: 3.15  $\mu$ S, 3.00  $\mu$ S y 3.80  $\mu$ S) para obtener así la conductancia propia de la miel. A partir de esta conductancia y del valor de la constante de celda  $k_c$  se calculó la conductividad específica de la miel, con la cual se obtuvo el porcentaje de cenizas por despeje de la fórmula matemática propuesta.

#### **5.4.5. Determinación de pH.**

El pH de la miel se midió de forma directa con un pHmetro calibrado. Para la calibración del aparato se utilizaron dos disoluciones tampón o buffer, una con pH de 4 y la otra con pH de 7, y se siguieron las indicaciones con las que cuenta el pHmetro. Las mediciones para cada una de las muestras de miel se hicieron con una pequeña cantidad de miel disuelta en un poco de agua desionizada.

#### **5.4.6. Determinación de azúcares reductores.**

La determinación de los azúcares reductores en las muestras de miel se realizó mediante una modificación del método de *Lane-Eynon*, el cual consiste en una titulación de cobre (II) por parte de una disolución de miel.

Para realizar las determinaciones se montó un dispositivo formado por los siguientes elementos: una parrilla de agitación y calentamiento, un milivoltímetro con electrodo de referencia de calomel/ $\text{KCl}_{\text{aq}}$  3 M y un alambre de cobre como electrodo de trabajo, un termómetro, una bureta de 25.0 mL, una barra magnética de agitación y un vaso de precipitados de 25 mL.

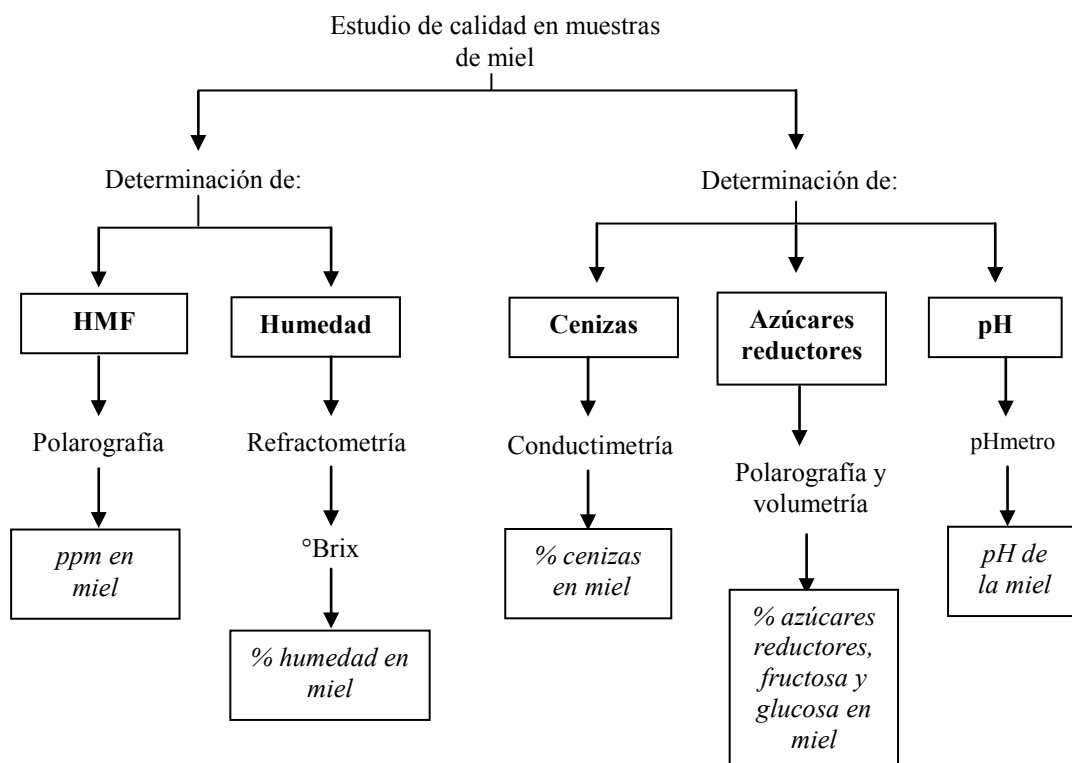
En el vaso de precipitados se mezclaron 5.00 mL del reactivo A de Fehling (sulfato de cobre (II) pentahidratado con concentración 0.2783 M para unos casos y 0.27745 M para otros) y 5.00 mL del reactivo B de Fehling (tartrato de sodio y potasio tetrahidratado 1.166 M + NaOH 2.499 M) previamente preparados. El vaso se colocó sobre la parrilla de calentamiento y agitación para que la mezcla se mantuviera agitada a una temperatura constante cercana a la ebullición, a lo largo de toda la titulación (la temperatura se monitoreo todo el tiempo con el termómetro para evitar cambios mayores a 5 unidades de grado).

Se preparó una disolución de miel con aproximadamente 0.50 g de miel llevados a un aforo de 200.00 mL con agua destilada, y con ella se llenó la bureta.

Cuando la mezcla del vaso llegó a la temperatura deseada y se mantuvo más o menos constante, se comenzó la titulación del Cu (II) proveniente del reactivo A de Fehling con la disolución de miel. La titulación se realizó por medio de mediciones potenciométricas con el electrodo de cobre; pero además se agregó azul de metileno cuando la mezcla del vaso perdió su color azul, para que indicara el punto de equivalencia ya que con esta reacción en particular resulta ser un indicador muy preciso.

Finalmente, con los resultados de la titulación y la estequiometría de la reacción<sup>4</sup> se calculó el porcentaje de azúcares reductores en cada una de las muestra de miel.

#### 5.4.7. Esquema de la metodología seguida para el estudio de calidad en muestras de miel.





Si vuelas, perfumas.  
Si vuelves, dulce eres.  
El sol contigo hace miel.  
Y me lo dices cada vez  
que me siento a tu lado  
y me olvido del mundo  
con tu sonido, amiga abeja.  
En el almendro,  
en el vuelo o en mi pelo  
puedo decir que mi anhelo  
es ser como tu en el cielo.

Pedro Pérez Gómez

## 5.5. SEGUNDA PARTE: METODOLOGÍA PARA LA ELECTROQUÍMICA

### FUNDAMENTAL DE SULFATIAZOL

Con base en la electroquímica analítica se estudió el comportamiento del sulfatiazol, tanto en oxidación como en reducción; se utilizaron el método de *voltamperometría de muestreo* o *VDM* (si el electrodo de trabajo es el de gota de mercurio, el método se llama *polarografía de muestreo* o *PDM*) y el método de *voltamperometría diferencial de impulsos* o *VDI* (llamado *polarografía diferencial de impulsos* o *PDI* si el electrodo de trabajo es el de gota de mercurio).

Se realizó el estudio electroquímico del sulfatiazol en distintos medios (medios acuosos con diversos electrolitos soporte), además de utilizar como electrodos de trabajo el electrodo de gota de mercurio (EGM) y los electrodos sólidos de oro y de grafito, con el propósito de encontrar las condiciones óptimas para la determinación voltamperométrica. El procedimiento seguido fue similar al que se utilizó para las determinaciones de HMF y fructosa en la primera parte.

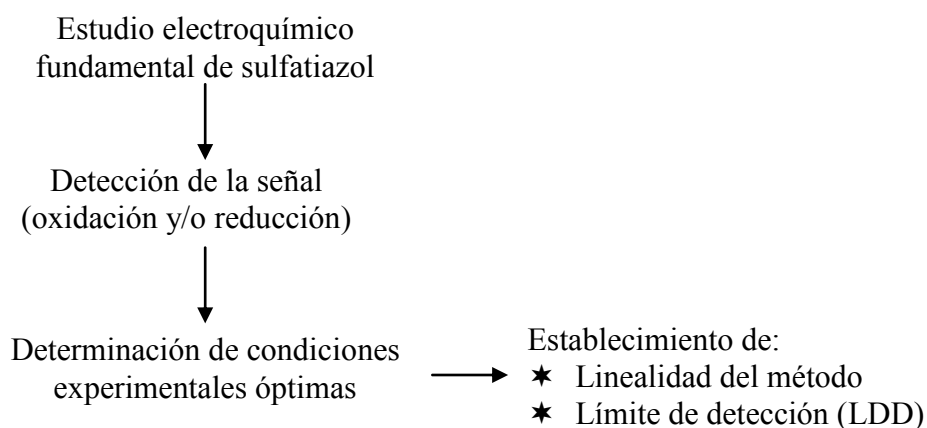
En la celda electrolítica se colocaron 10.00 mL del electrolito soporte a estudiar y se le burbujeó nitrógeno para eliminar el oxígeno disuelto; el nitrógeno se mantuvo durante las determinaciones para tener una atmósfera libre de oxígeno en todo momento. Se trazaron los voltamperogramas de los diferentes electrolitos soporte, con una velocidad de barrido de 5 mV/s, con el propósito de encontrar el intervalo de potencial de las barreras anódica y catódica que conforman el dominio de electroactividad en cada medio electrolítico. Estos voltamperogramas corresponden a las señales residuales del estudio.

Para la detección de las posibles señales del sulfatiazol se prepararon dos disoluciones de la sal sódica de sulfatiazol de concentración  $1 \times 10^{-2}$  M y  $1 \times 10^{-3}$  M, y se trazaron los voltamperogramas de intensidad de corriente contra potencial de los diferentes volúmenes que se fueron agregando de las disoluciones de sulfatiazol. La primera curva trazada fue la residual una

vez que ya se estableció el dominio de electroactividad del electrolito soporte en cuestión, y las demás curvas fueron de los volúmenes conocidos de las disoluciones de sulfatiazol; esto se llevó a cabo por VDM o por PDM para detectar señales de oxidación o reducción a lo largo de todo el dominio de electroactividad, con una velocidad de barrido de 5 mV/s. Cuando se lograron detectar algunas señales del sulfatiazol con cierto electrolito soporte y electrodo de trabajo, se volvieron a trazar los mismo voltamperogramas (o polarogramas según el caso) pero ahora por VDI o PDI.

Una vez que se determinaron las condiciones óptimas para detectar las señales de oxidación y/o reducción del sulfatiazol, se calculó la linealidad y el límite de detección del método utilizado, y con estos resultados se establecieron las condiciones que dan la mejor linealidad y el mejor límite de detección posibles.

### 5.5.1. Esquema de la metodología para la electroquímica fundamental de sulfatiazol.





*“La abeja es más honrada que los demás animales, no porque ella trabaja, sino porque ella trabaja para los demás. De hecho, la abeja trabaja incesantemente por el bien común de la colmena, y obedece sin cuestionar, lo que a veces parece ser una desigualdad jerárquica”.*

*San Juan Crisóstomo – arzobispo de Constantinopla del siglo IV.*

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. PRIMERA PARTE: DETERMINACIONES PARA EL ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE MIEL

En el siguiente apartado se da una breve explicación de la manera en que se realizaron cada una de las determinaciones que forman parte de la metodología analítica propuesta para la miel. Para cada parámetro se dan los resultados que se obtuvieron con las mieles analizadas en el laboratorio y se comparan con los valores que establece la *Norma Mexicana de Miel*. Al final se muestra una tabla que resume los resultados del análisis fisicoquímico de todas las mieles.

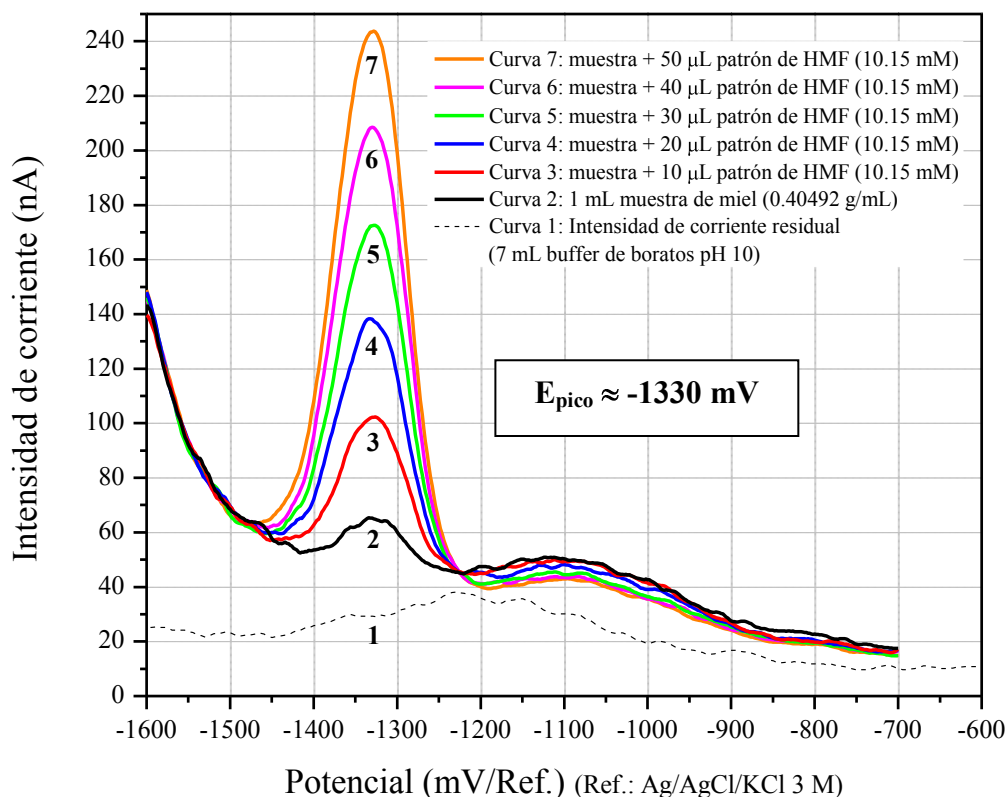
#### 6.1.1. Hidroximetilfurfural (HMF).

Para las determinaciones de HMF se colocaron en la celda electrolítica el buffer de boratos como electrolito soporte, un volumen conocido de la disolución preparada de miel, y los distintos volúmenes del patrón de HMF. Para cada muestra de miel se trazaron los correspondientes polarogramas por el método de impulsos (PDI) y se midió la intensidad de corriente en el potencial al cual se tiene la máxima corriente. Utilizando las corrientes máximas se calculó la cantidad de HMF en partes por millón presente en la miel (ver Anexo 8.1., pág. 86).

En la figura 4 (pág. 40) se muestra claramente la señal correspondiente a la reducción del HMF alrededor de los  $-1330$  mV. La curva que no muestra un pico en esa zona (curva 1) corresponde al electrolito soporte, la curva 2 es de la muestra de miel (1 mL de la disolución) y las subsecuentes superiores son del patrón de HMF (curva 3, 10  $\mu$ L; curva 4, 20  $\mu$ L, curva 5, 30  $\mu$ L; curva 6, 40  $\mu$ L y curva 7, 50  $\mu$ L) adicionado a la disolución de la curva 2. Como puede verse, el pico de la muestra aumenta proporcionalmente conforme se agrega el patrón de HMF:



## Polarograma de la detección de HMF en la muestra 1 de miel y las adiciones del patrón de HMF



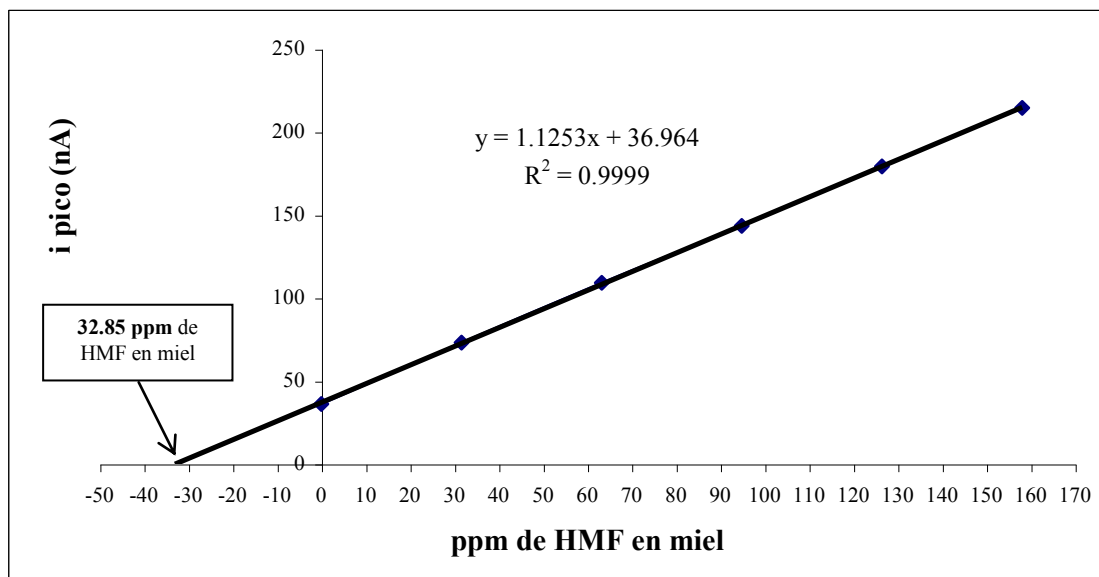
**Figura 4**

### Señal de reducción del HMF

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI); Barrido de potencial de  $-700$  a  $-1600$  mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s

En la siguiente gráfica se presenta un ejemplo de la curva de adiciones patrón de HMF. A partir de ella se obtienen los datos necesarios (pendiente y ordenada al origen) para hacer el cálculo de la cantidad de HMF en las muestras de miel (ver Anexo 8.1., pág. 88):

**Curva de adiciones patrón de HMF correspondiente a la muestra 1 de miel (0.40492 g de miel agregados en el mL de muestra que se adicionó a la celda)**



**Gráfica 1**

Potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente (corriente máxima o de pico): alrededor de -1330 mV.  
 Los puntos de la gráfica corresponden a las adiciones sucesivas de 10  $\mu$ L de HMF patrón 10.15 mM

En el caso de la muestra 1 la cantidad de HMF encontrada en miel, utilizando el método de adiciones patrón, fue de 32.85 ppm ( $\text{mg}_{\text{HMF}}/\text{Kg}_{\text{miel}}$ ). A continuación se presenta una tabla con los resultados de las mieles analizadas:

**Tabla 3**  
**Contenido de HMF en mieles**

MUESTRA DE MIEL	CANTIDAD DE HMF (ppm)
<b>1</b>	<b>32.85</b>
<b>2</b>	<b>No detectable</b>
<b>3</b>	<b>No detectable</b>
<b>4</b>	<b>No detectable</b>
<b>5</b>	<b>44.61</b>
<b>6</b>	<b>11.41</b>
<b>7</b>	<b>7.42</b>
<b>8</b>	<b>24.39</b>

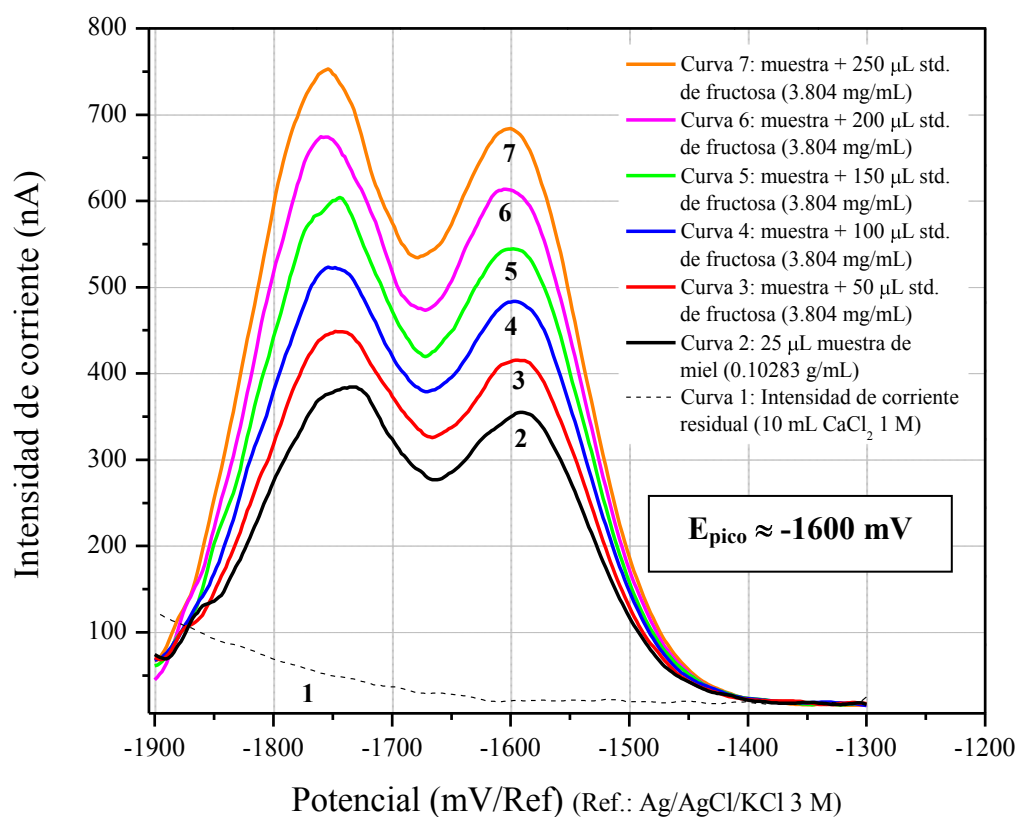
Tomando en consideración el valor de 40 ppm como contenido máximo de HMF en general establecido en la *Norma Mexicana de Miel* tenemos que, de acuerdo a los resultados de la tabla 3, la única miel que no debe comercializar para consumo humano directo es la correspondiente a la muestra 5, mientras que las demás cumplen con la norma, siendo las de mejor calidad las muestras 2, 3 y 4 por tener cantidades de HMF por debajo del límite de detección del método empleado (48 ppb),<sup>39</sup> lo que indica que esas muestras no han sido calentadas en absoluto en el proceso de extracción y envasado.

### **6.1.2. Fructosa.**

Para las determinaciones de fructosa, en la celda electrolítica se colocó el electrolito soporte ( $\text{CaCl}_2$  1 M), un volumen conocido de la disolución de miel y los diferentes volúmenes de la disolución patrón. Con los polarogramas trazados para cada muestra de miel se calculó el porcentaje de fructosa en la miel a través de las corrientes máximas encontradas (ver Anexo 8.2., pág 89).

La señal de la fructosa se detectó alrededor de los  $-1600$  mV como lo muestra la figura 5 (siguiente página). La curva 1 que no presenta pico alguno corresponde al electrolito soporte (10 mL  $\text{CaCl}_2$  1 M), la curva 2 es la muestra 1 de miel y las subsecuentes son los volúmenes de patrón de fructosa ( $2.112 \times 10^{-2}$  M = 3.804 mg/mL) agregados (curva 3, 50  $\mu\text{L}$ ; curva 4, 100  $\mu\text{L}$ ; curva 5, 150  $\mu\text{L}$ , curva 6, 200  $\mu\text{L}$  y curva 7, 250  $\mu\text{L}$ ). El pico de la muestra de miel aumenta su intensidad de corriente al irse incrementando la cantidad de patrón de fructosa.

### Polarograma de la detección de fructosa en la muestra 1 de miel y las adiciones del patrón de fructosa



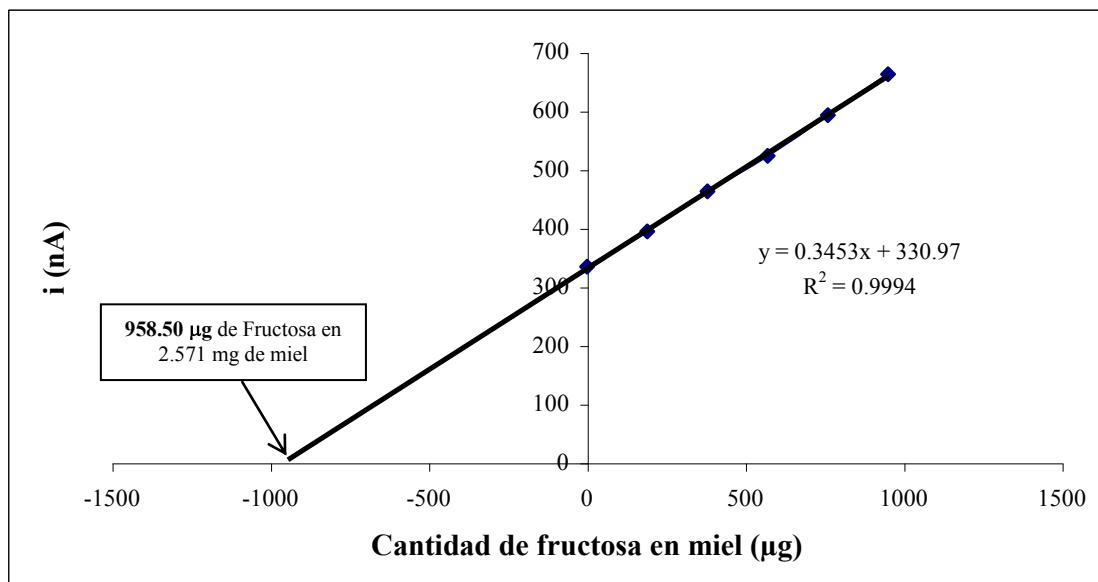
**Figura 5**

#### Señal de reducción de la fructosa

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI). Barrido de potencial de -1300 a -1900 mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s

La gráfica siguiente (gráfica 2) corresponde a la curva de adiciones patrón de fructosa, de la cual se obtienen los datos requeridos (pendiente, ordenada al origen y µg de fructosa en miel) para calcular el porcentaje de fructosa en la miel.

**Curva de adiciones patrón de fructosa correspondiente a la muestra 1 de miel (2.571 mg de miel agregados en los 25  $\mu$ L de muestra que se adicionó a la celda)**



**Gráfica 2**

Potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente (corriente máxima o de pico): alrededor de -1600 mV.

Los puntos de la gráfica corresponden a las adiciones sucesivas de 50  $\mu$ L de fructosa patrón 0.10283 g/mL

Para esta muestra de miel, el porcentaje de fructosa encontrado fue del 37.29 % (ver Anexo 8.2., pág. 91). En la siguiente tabla (tabla 4) se presentan los porcentajes de fructosa hallados en las demás muestras:

**Tabla 4**  
**Contenido de Fructosa en mieles**

MUESTRA DE MIEL	CANTIDAD DE FRUCTOSA EN MIEL (% p/p)
<b>1</b>	<b>37.29</b>
<b>2</b>	<b>30.33</b>
<b>3</b>	<b>36.72</b>
<b>4</b>	<b>28.65</b>
<b>5</b>	<b>23.48</b>
<b>6</b>	<b>27.67</b>
<b>7</b>	<b>28.91</b>
<b>8</b>	<b>28.69</b>

### 6.1.3. Humedad.

Para determinar la humedad, primero se colocó un poco de la muestra de miel en el refractómetro y se obtuvieron los sólidos totales de la miel como °Brix; estos valores se corrigieron por temperatura. Después, al 100 % se le restó el valor corregido de °Brix y el resultado corresponde al porcentaje de humedad que tiene la miel.

**Tabla 5**  
**Contenido de humedad en mieles**

MUESTRA DE MIEL	°BRIX MEDIDOS	°BRIX CORREGIDOS*	% HUMEDAD
<b>1</b>	83.40	83.78	<b>16.22</b>
<b>2</b>	81.40	81.78	<b>18.22</b>
<b>3</b>	83.00	83.38	<b>16.62</b>
<b>4</b>	80.00	80.38	<b>19.62</b>
<b>5</b>	80.43	80.81	<b>19.19</b>
<b>6</b>	83.22	83.60	<b>16.40</b>
<b>7</b>	80.43	80.81	<b>19.19</b>
<b>8</b>	81.43	81.81	<b>18.19</b>

\*Corresponde a los °Brix medidos más el factor de corrección por temperatura indicado para el refractómetro utilizado, que en este caso fue de 0.38 °Brix (a 25 °C).

De acuerdo con la *Norma Mexicana de Miel* en donde se establece como valor máximo de humedad del 20 %, todas las muestras de miel cumplen con lo especificado.

Es importante saber que una miel de abeja apis con un contenido de humedad superior al 20 % no puede envasarse de inmediato pues el riesgo de fermentar en poco tiempo es muy alto, a diferencia de la miel de abeja melipona, una de cuyas principales características es su elevada humedad, que puede llegar hasta un 30 % de humedad<sup>12</sup> sin que presente problema alguno.

#### 6.1.4. Cenizas.

Para la determinación de las cenizas se ocupó la misma disolución utilizada en la determinación de fructosa (9.0 mL de la disolución de miel empleada para HMF llevada a 25.0 mL con agua) para unos casos, y para otros se preparó una disolución de miel con concentración 0.1 g/mL (5 g de miel disueltos en 50 mL de agua desionizada). A cada disolución correspondiente de muestra se le midió la conductancia, y a ese valor se le restó la conductancia del agua desionizada (como las mediciones se realizaron en días distintos, se tomaron diferentes conductancias: 3.15  $\mu\text{S}$ , 3  $\mu\text{S}$  y 3.8  $\mu\text{S}$ ). Para conocer el porcentaje de cenizas se empleó la fórmula de la conductividad específica:<sup>3</sup>  $\chi = 0.14 + 1.74 \times A$ , donde  $\chi$  es la conductividad específica en mS/cm y  $A$  corresponde al %Cenizas; para poder utilizarla se obtuvo la conductividad específica de la miel ( $\chi_{\text{miel}}$ ) a partir de su conductancia ( $C_{\text{miel}}$ ), quitándole el valor de la conductancia del agua desionizada ( $C_{\text{agua}}$ ), y a ese resultado se le multiplicó el valor de la constante de celda ( $k_c = 1.00 \text{ cm}^{-1}$ ), como se puede ver en la siguiente tabla (tabla 6):

**Tabla 6**  
**Conductividad específica de las mieles**

MUESTRA DE MIEL	CONCENTRACIÓN (g <sub>miel</sub> /mL <sub>solución</sub> )	$C_{\text{miel}}$ ( $\mu\text{S}$ )	$C_{\text{miel}} - C_{\text{agua}}$ ( $\mu\text{S}$ )	$\chi_{\text{miel}}$ ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) [[ $C_{\text{miel}} - C_{\text{agua}}$ ] $\times 1.00 \text{ cm}^{-1}$ ]
1	0.1010	140	136.30	136.30
2	0.1014	620	616.30	616.30
3	0.1017	240	236.30	236.30
4	0.1006	270	266.20	266.20
5	0.1510	240	236.85	236.85
6	0.1536	142	138.85	138.85
7	0.1634	150	146.85	146.85
8	0.1576	169	165.85	165.85

Los resultados del contenido de cenizas en las muestras de miel se presentan en la tabla 7; para su cálculo se despejó la variable  $A$  de la fórmula de conductividad específica ( $A = [\chi - 0.14]/1.74$ ).

**Tabla 7**  
**Contenido de cenizas en las mieles**

MUESTRA DE MIEL	$\chi_{miel}$ (mS/cm)	% CENIZAS
<b>1</b>	0.1363	<b>0.0021</b>
<b>2</b>	0.6163	<b>0.2737</b>
<b>3</b>	0.2363	<b>0.0553</b>
<b>4</b>	0.2662	<b>0.0151</b>
<b>5</b>	0.2369	<b>0.0557</b>
<b>6</b>	0.1389	<b>0.0007</b>
<b>7</b>	0.1469	<b>0.0039</b>
<b>8</b>	0.1659	<b>0.0149</b>

El contenido de cenizas que presentan las mieles analizadas, en todos los casos, se encuentra por debajo de lo establecido en la *Norma Mexicana de Miel* como porcentaje máximo de cenizas (0.6 %, 0.6 g de cenizas/100 g de miel).<sup>2</sup>

### **6.1.5. pH.**

Conocer la acidez que tiene una miel es muy importante por ser un factor determinante, junto con el contenido de humedad. Las mieles con un alto contenido de humedad (superior al 20 %) y una alta acidez (pH menores a 3) corren el riesgo de fermentar muy rápido, con lo cual sería un producto imposible de comercializar para consumo humano directo.

El valor de pH para las mieles analizadas se encontró, en todos los casos, por encima de 3 (ver tabla 8). Además, como todas las mieles, a excepción de la 4, tienen una humedad por debajo del



20 % existe una seguridad de que no van a fermentar; la miel 4 es casi seguro que no tenga problemas de fermentación a pesar de que su humedad esté en el límite, pues su pH no es tan ácido como para permitirlo.

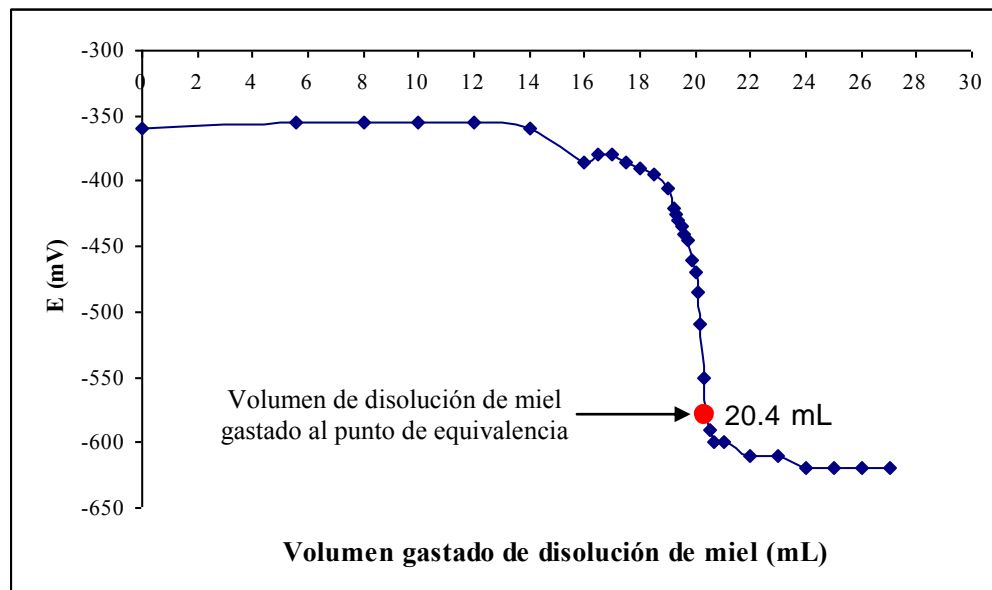
**Tabla 8**  
**Valor de pH en las mieles**

MUESTRA DE MIEL	% HUMEDAD	pH
<b>1</b>	16.60	<b>4.58</b>
<b>2</b>	18.60	<b>5.17</b>
<b>3</b>	17.00	<b>4.08</b>
<b>4</b>	20.00	<b>4.14</b>
<b>5</b>	19.57	<b>3.67</b>
<b>6</b>	16.78	<b>3.67</b>
<b>7</b>	19.57	<b>3.57</b>
<b>8</b>	18.57	<b>3.52</b>

#### **6.1.6. Azúcares Reductores.**

Para obtener el porcentaje de azúcares reductores en las muestras de miel se tituló el Cu (II) del reactivo A de Fehling (para unos casos su concentración fue de 0.2783 M y para otros de 0.27745 M) con una disolución de miel (aproximadamente 0.5 g de miel en 200.00 mL de disolución), sabiendo que 5 moles de cobre reaccionan con 1 mol de monosacárido (glucosa y/o fructosa)<sup>4</sup>. A continuación se presenta en la siguiente gráfica un ejemplo de la curva de valoración potenciométrica (potencial *E* contra el volumen gastado de disolución de miel) del reactivo A de Fehling con una disolución de la muestra 1 de miel, y en ella se indica el volumen gastado al punto de equivalencia de la reacción a una distancia aproximada de 5/6 del salto; para este ejemplo la disolución de miel se preparó con 0.5847 g de miel en 200.00 mL de disolución:

**Curva de valoración potenciométrica del reactivo A de Fehling (0.2783 M) con un disolución de la muestra 1 de miel (0.5847 g en 200.00 mL)**



**Gráfica 3**

Considerando que 1 mol del monosacárido en cuestión pesa 180.16 g, y esa mol reacciona con 5 moles de cobre (del reactivo A se colocaron 5.0 mL, por lo tanto se tienen  $0.2783 \text{ mmol/mL} \times 5 \text{ mL} = 1.3915 \text{ mmol}$  de cobre para un caso y para el otro  $0.27745 \text{ mmol/mL} \times 5 \text{ mL} = 1.38725 \text{ mmol}$  de cobre), la quinta parte del cobre presente (0.2783 mmol y 0.27745 mmol, respectivamente) es igual a lo que reacciona del monosacárido de acuerdo con la estequiometría, teniéndose finalmente que la masa de monosacárido reaccionante es de 50.14 mg en un caso, y en el otro 49.98 mg:

<i>Estequiometría</i>			
<i>Cu</i>	<i>Azúcar</i>	<i>Monosacárido reaccionante</i>	
<i>5 mmol</i>	<i>1 mmol</i>	<i>1 mmol</i>	<i>180.16 mg</i>
<i>1.391 mmol</i>	<i>0.2783 mmol</i>	<i>0.2783 mmol</i>	<i>50.14 mg</i>

Con la titulación se obtuvo el volumen de disolución de miel que reaccionó al punto de equivalencia (ver gráfica 3 de esta página), y para conocer la masa de miel consumida se

multiplicó dicho volumen por la concentración de la disolución (para este ejemplo 584.7 mg<sub>miel</sub>/200 mL<sub>disolución</sub>); esta masa es el 100 %. El porcentaje de azúcares reductores se da por el porcentaje que representa la masa de monosacárido reaccionante (50.14 mg y 49.98 mg) dentro del total de la disolución de miel:

$$\begin{aligned} \text{Masa de miel consumida} &= (\text{mg}_{\text{miel}} / 200 \text{ mL}_{\text{disolución}}) \times \text{volumen de disolución de miel que} \\ &\quad \text{reaccionó} \\ &= (584.7 \text{ mg}_{\text{miel}} / 200 \text{ mL}_{\text{disolución}}) \times 20.4 \text{ mL} = 59.64 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Azúcares reductores} &= (50.14 \text{ mg}_{\text{monosacarido reaccionante}} / \text{masa de miel consumida}) \times 100 \% \\ &= (50.14 \text{ mg}_{\text{monosacarido reaccionante}} / 59.64 \text{ mg}_{\text{miel consumida}}) \times 100 \% = \mathbf{84.07 \%} \end{aligned}$$

**Tabla 9**  
**Contenido de Azúcares Reductores en las mieles**

MUESTRA DE MIEL	PESO DE LA MIEL* (mg)	VOLUMEN DE SOLUCIÓN DE MIEL GASTADO EN LA TITULACIÓN (mL)	% AZÚCARES REDUCTORES
<b>1</b>	584.7	20.4	<b>84.07</b>
<b>2</b>	569.2	24.3	<b>72.50</b>
<b>3</b>	583.4	22.1	<b>77.78</b>
<b>4</b>	574.4	22.5	<b>77.59</b>
<b>5</b>	679.2	19.3	<b>76.26</b>
<b>6</b>	541.4	23.5	<b>78.57</b>
<b>7</b>	530.9	24.6	<b>76.54</b>
<b>8</b>	607.8	21.0	<b>78.31</b>

\*Disueltos en 200.00 mL de disolución.

Con los resultados mostrados en la tabla anterior (tabla 9) se observa que la mieles analizadas cuentan con un porcentaje de azúcares reductores por encima de lo que marca la *Norma Mexicana de Miel* como valor mínimo (63.88 %).

El contenido de glucosa en la miel se puede determinar mediante la diferencia de los azúcares reductores y la fructosa, aunque lo ideal sería cuantificarlo a través de un método cuantitativo.

### 6.1.7. Resumen de los resultados.

A continuación se presenta un resumen de los análisis químicos realizados a las mieles, con el propósito de tener una visión global de sus características y determinar su calidad con base en los parámetros considerados como mínimos para ello en este estudio.

**Tabla 10**  
**Análisis fisicoquímico de las mieles**

MIEL	HMF (ppm)	HUMEDAD (%)	pH	AZÚCARES REDUCTORES (%)	FRUCTOSA (%)	GLUCOSA*	CENIZAS (%)
1	32.85	16.22	4.58	84.07	37.29	46.78	0.0021
2	N. D. **	18.22	5.17	72.50	30.33	42.17	0.2737
3	N. D. **	16.62	4.08	77.78	36.72	41.06	0.0553
4	N. D. **	19.62	4.14	77.59	28.65	48.94	0.0151
5	44.61	19.19	3.67	76.26	23.48	52.78	0.0557
6	11.41	16.40	3.67	78.57	27.67	50.90	0.0007
7	7.42	19.19	3.57	76.54	28.91	47.63	0.0039
8	24.39	18.19	3.52	78.31	28.69	49.62	0.0149

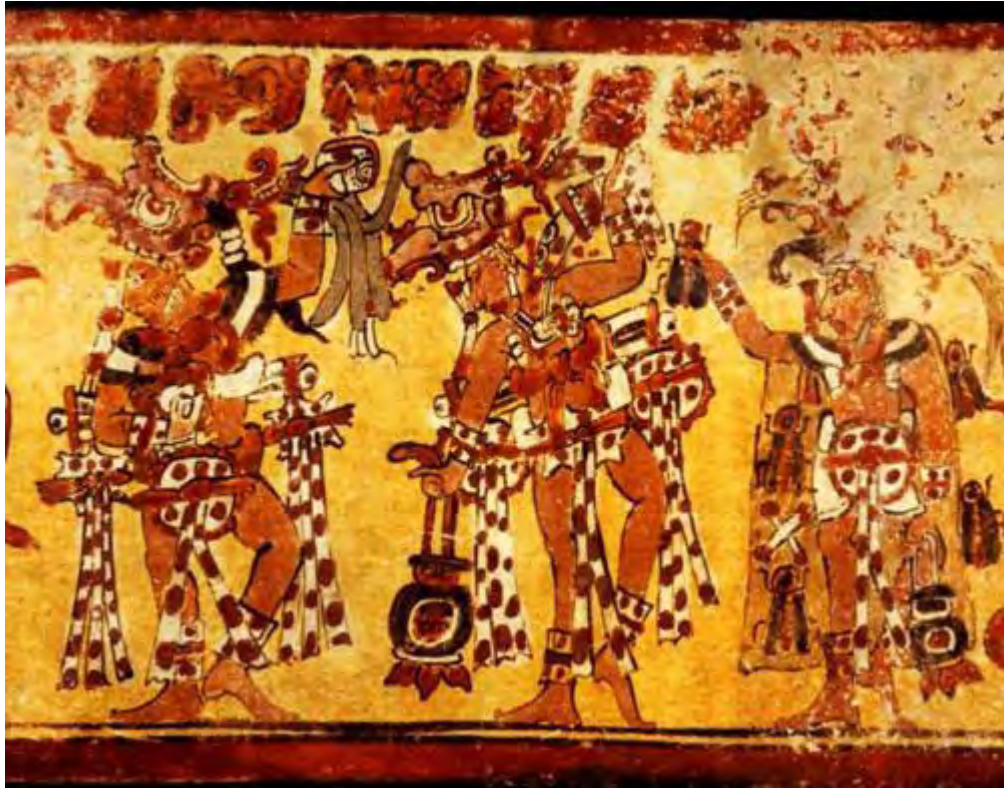
\*Calculada como la diferencia entre los azúcares reductores y la fructosa.

\*\*N.D.: No determinado (indica que la miel no contiene HMF o está por debajo del límite de detección del método, que es 48 ppb).

**Tabla 11**  
**Especificaciones fisicoquímicas de la miel de acuerdo a la Norma Mexicana de Miel<sup>2</sup>**

Hidroximetilfurfural (HMF), ppm (mg/Kg)	<b>Máximo 40 ppm</b>
% Humedad, (g/100 g)	<b>Máximo 20 %</b>
% Azúcares reductores, (g/100 g)	<b>Mínimo 63.88 %</b>
% Glucosa, (g/100 g)	<b>Máximo 38 %</b>
% Cenizas	<b>Máximo 0.60 %</b>

A manera de resumen, de acuerdo con la tabla 10 y la tabla 11 se puede decir lo siguiente: la única miel que no debe comercializarse para consumo humano directo es la muestra 5, por tener un contenido de HMF superior a lo sugerido por la *Norma Mexicana de Miel*; es casi seguro que ninguna miel tendría problemas de fermentación ya que su contenido de humedad está por debajo del límite máximo recomendado por la norma (20 %), incluso para aquellas cuyo pH resulta ser más ácido, por debajo de 4 (muestras 5, 6, 7 y 8). También se puede plantear a manera de especulación que la miel de la muestra 1 podría ser un producto adulterado, pues su contenido de HMF es elevado y su porcentaje de azúcares reductores está por encima de todos los demás, lo que lleva a pensar en una miel calentada y a la cual se le agregó un jarabe de glucosa (es más alta la proporción de glucosa que de fructosa) para recuperar los niveles de azúcares que debieron disminuir por el calentamiento. En todos los casos el contenido de azúcares reductores supera el mínimo establecido por la norma, mientras que el porcentaje de glucosa se sale del límite máximo que estipula, pero es importante tener en cuenta que la glucosa se calculó por una diferencia entre azúcares reductores y fructosa, por lo que resultaría más confiable un análisis químico cuantitativo. También es posible considerar que los intervalos conocidos para el porcentaje de estos dos azúcares deba ser corregido pues esta composición depende en gran medida de la naturaleza de la miel; las mieles mexicanas no han sido estudiadas de manera amplia en este sentido. Por último, el contenido de cenizas en las mieles se encuentra por debajo del límite máximo de la norma.



*Tres imágenes del dios maya Mok Chi' en donde se representa su transformación en el guardián de las abejas (vasija K2942)*

## **6.2. SEGUNDA PARTE: ELECTROQUÍMICA FUNDAMENTAL DE SULFATIAZOL**

### **6.2.1. Electrodo de trabajo.**

Para el estudio electroquímico del sulfatiazol se hicieron pruebas con varios electrodos: oro, grafito y gota de mercurio, para abarcar un mayor intervalo de potenciales y naturaleza del electrodo y poder detectar las posibles señales de oxidación y/o reducción del sulfatiazol. Los mejores resultados se presentaron con el electrodo de gota de mercurio, ya que con los electrodos de oro y grafito la intensidad de corriente residual no da curvas residuales muy limpias con los electrolitos soporte utilizados, además de que las señales del sulfatiazol no se definen bien en unos casos e incluso en otros no hay presencia de alguna señal; en ocasiones las señales no son reproducibles (señales con cambios irregulares), y en otros casos las señales no presentan una tendencia lineal (cambios no proporcionales) al irse incrementando la concentración de sulfatiazol en la celda electrolítica.

En cambio, con el electrodo de gota de mercurio se tuvieron por lo general corrientes residuales considerablemente más limpias (sin tantas señales indeseables que aparezcan a lo largo del barrido de potencial, lo cual se traduce en una curva que tiende a ser uniforme), y las señales de sulfatiazol estuvieron presentes en prácticamente todos los electrolitos soporte utilizados, con mejores resultados en cuanto a definición, reproducibilidad y linealidad de las señales se refiere, comparados con los otros electrodos.

Por lo anteriormente explicado, se escogió como electrodo de trabajo el electrodo de gota de mercurio (EGM).

### 6.2.2. Electrolito soporte.

Dentro del estudio electroquímico del sulfatiazol se probaron varios electrolitos soporte entre aquellos que se utilizan más frecuentemente en la voltamperometría. El objetivo fue encontrar el que pudiera dar las condiciones más sencillas y óptimas posibles en cuanto a costos accesibles, baja toxicidad, alta limpieza en la curva de corriente residual, buen límite de detección, buena definición de la señal y ofrecer un medio acuoso.

Los electrolitos soporte con los mejores resultados fueron el perclorato de litio ( $\text{LiClO}_4$ ) y el nitrato de potasio en ácido nítrico ( $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$ ), pues con ellos se observan mejores curvas de corriente residual y se logra una mejor definición de las señales de sulfatiazol, además de crecer las señales de forma regular y proporcional con el aumento en la concentración de sulfatiazol.

En general, con los demás electrolitos soporte estudiados (buffer de boratos pH 10,  $\text{KNO}_3$ , bromuro de tetraetilamonio, hidróxido de sodio, amonio/amoniaco,  $\text{HNO}_3$ ) no se tuvieron buenos resultados porque con la mayoría de ellos las señales de corriente residual no fueron buenas, además de no presentar señales reproducibles ni con un comportamiento regular al irse incrementando la concentración de sulfatiazol, e incluso con algunos no se tienen señales que pudieran ser típicas del sulfatiazol.

A continuación se presenta una tabla en donde se resumen los resultados obtenidos, anteriormente explicados, en la detección de la señal de sulfatiazol con los electrolitos soporte y electrodos de trabajo estudiados, además muestra los dominios de electroactividad de los electrolitos soporte e indica la calidad de la señal de corriente residual de acuerdo a su limpieza:



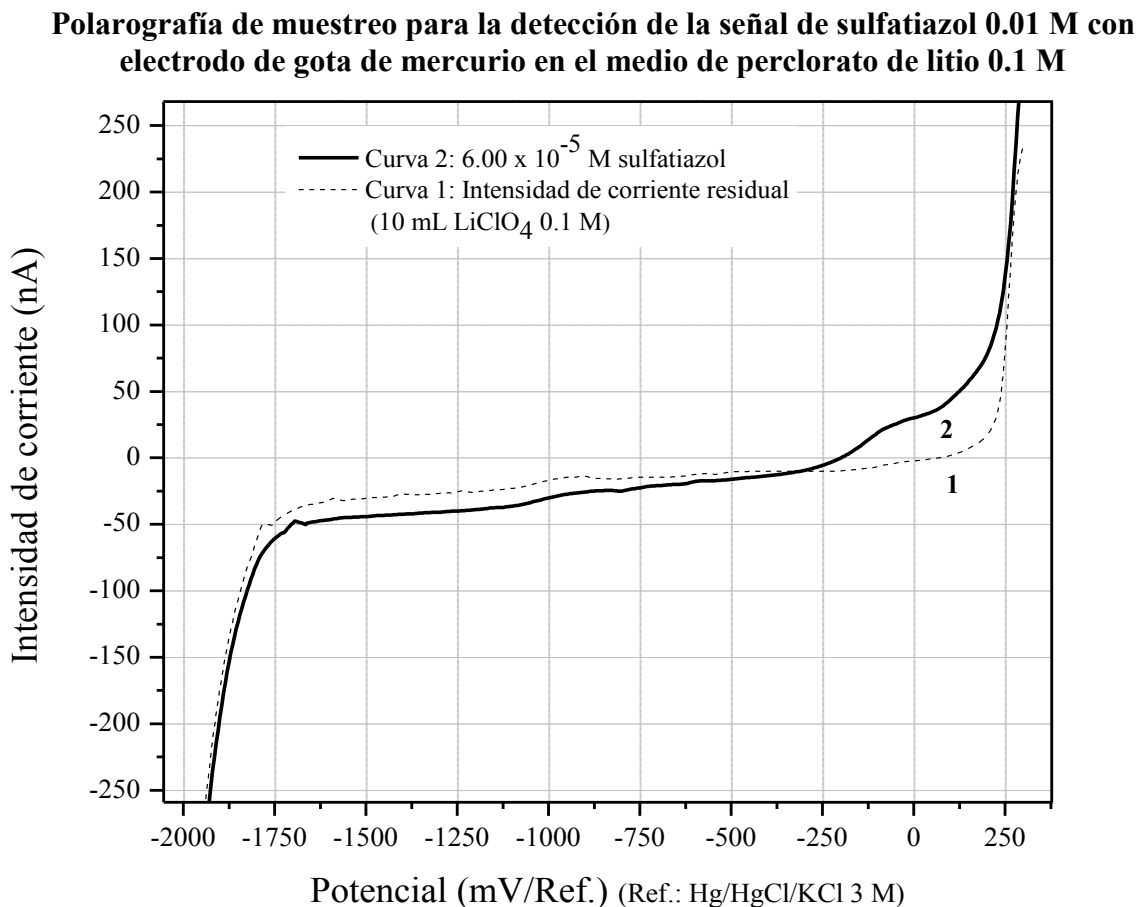
**Tabla 12**  
**Resultados obtenidos en la detección de la señal de sulfatiazol con diversos electrolitos soporte y electrodos de trabajo, indicando el dominio de electroactividad de los distintos medios y la calidad de la señal de corriente residual para cada caso**

Electrolito soporte	Electrodo de trabajo	Técnica *	Dominio de electroactividad	Residual	Señal de sulfatiazol	Potencial de la señal** (mV)
Perclorato de litio 0.1 M	gota de mercurio	PDM	[-1900, 280] mV	Adecuada	Regular y proporcional	[-300, 10] (señal 1) [0, 185] (señal 2)
		PDI	[-1900, 180] mV	Adecuada	Regular y proporcional	-160 (señal 1) 55 (señal 2)
	Grafito	VDM	[-1500, 1150] mV	Inadecuada	Ausente	-----
		VDI	[-1500, 1000] mV	Inadecuada	Ausente	-----
Nitrato de potasio en ácido nítrico 0.1 M	Gota de mercurio	PDM	[-1000, 390] mV	Adecuada	Ausente	-----
		PDI	[-1000, 340] mV	Adecuada	Regular y proporcional	-850
Boratos pH 10	Gota de mercurio	PDM	[-1980, 110] mV	Adecuada	Regular y no proporcional	[-250, -40]
	Grafito	VDM	[-1200, 900] mV	Inadecuada	Ausente	-----
	Oro	VDM	[-1000, 730] mV	Inadecuada	Regular y no proporcional	[400, 770] (señal pegada a la barrera)
		VDI	[-1000, 690] mV	Inadecuada	Regular y no proporcional	-250 (señal 1) 720 (señal 2)
Nitrato de potasio 0.1 M	Gota de mercurio	PDM	[-1700, 290] mV	Inadecuada	Regular y proporcional	[-250, 10]
		PDI	[-1700, 200] mV	Inadecuada	Irregular y no proporcional	-530
	Oro	VDM	[-1200, 1500] mV	Inadecuada	Regula y proporcional	[400, 1100] (señal pegada a la barrera)
		VDI	[-1200, 1400] mV	Inadecuada	Regular y proporcional	-160
Bromuro de tetraetilamonio 0.1 M	Gota de mercurio	PDM	[-2100, -20] mV	Inadecuada	Regular y no proporcional	[-400, -170]
	Grafito	VDM	[-1600, 870] mV	Inadecuada	Ausente	-----
VDI		[-1600, 870] mV	Inadecuada	Ausente	-----	
Hidróxido de sodio 0.2 M	Grafito	VDM	[-1300, 750] mV	Inadecuada	Ausente	-----
Amonio/Amoniaco pH 10	Grafito	VDM	[-1300, 1020] mV	Inadecuada	Ausente	-----
		VDI	[-1300, 1020] mV	Inadecuada	Ausente	-----
	Oro	VDM	[-1160, 1150] mV	Inadecuada	Ausente	-----
Ácido nítrico 0.15 M	Gota de mercurio	PDM	[-1300, 400] mV	Inadecuada	Regular y no proporcional	[-1000, -800] (señal pegada a la barrera)
		PDI	[-1350, 350] mV	Inadecuada	Regular y no proporcional	-980 (señal pegada a la barrera)

\* Las abreviaturas VDM y VDI se refieren a la voltamperometría de muestreo y a la voltamperometría diferencial de impulsos, respectivamente; y PDM y PDI se refieren a la polarografía de muestreo y a la polarografía diferencial de impulsos, respectivamente.

\*\* Para el potencial de la señal debido al sulfatiazol, los resultados de la VDM y la PDM se refieren a un intervalo de potencial que abarca la señal, y los resultados de la VDI y la PDI corresponden a un potencial de pico aproximado.

En la siguiente figura se presenta un ejemplo de la curva residual con perclorato de litio como electrolito soporte y de la señal que muestra el sulfatiazol en estas condiciones.



**Figura 6**

**Señal de oxidación del sulfatiazol**

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía de muestreo (PDM).  
Barrido de potencial de -2000 a 300 mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s

### 6.2.3. Curvas de calibración y linealidad.

Una vez que se escogieron las mejores condiciones para el estudio electroquímico del sulfatiazol (EGM como electrodo de trabajo; LiClO<sub>4</sub> y KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub> como electrolitos soporte) se llevaron a cabo los procedimientos necesarios para determinar con qué condiciones se tiene la mejor linealidad.

### **6.2.3.1. Resultados con perclorato de litio ( $\text{LiClO}_4$ ) 0.1 M.**

Las curvas experimentales se trazaron tanto por polarografía de muestreo (PDM) como por polarografía diferencial de impulsos (PDI). Las curvas obtenidas por polarografía de muestreo permiten identificar si las señales que se obtienen corresponden a una oxidación o a una reducción; la PDI permite mejorar la detección del sulfatiazol (con la polarografía diferencial de impulsos o PDI se tienen mejores límites de detección debido a que es un método mucho más sensible que la polarografía de muestreo o PDM, ya que se pueden medir concentraciones hasta de  $10^{-8}$  M en celda con PDI, mientras que con PDM se detectan concentraciones en celda hasta  $10^{-6}$  M).

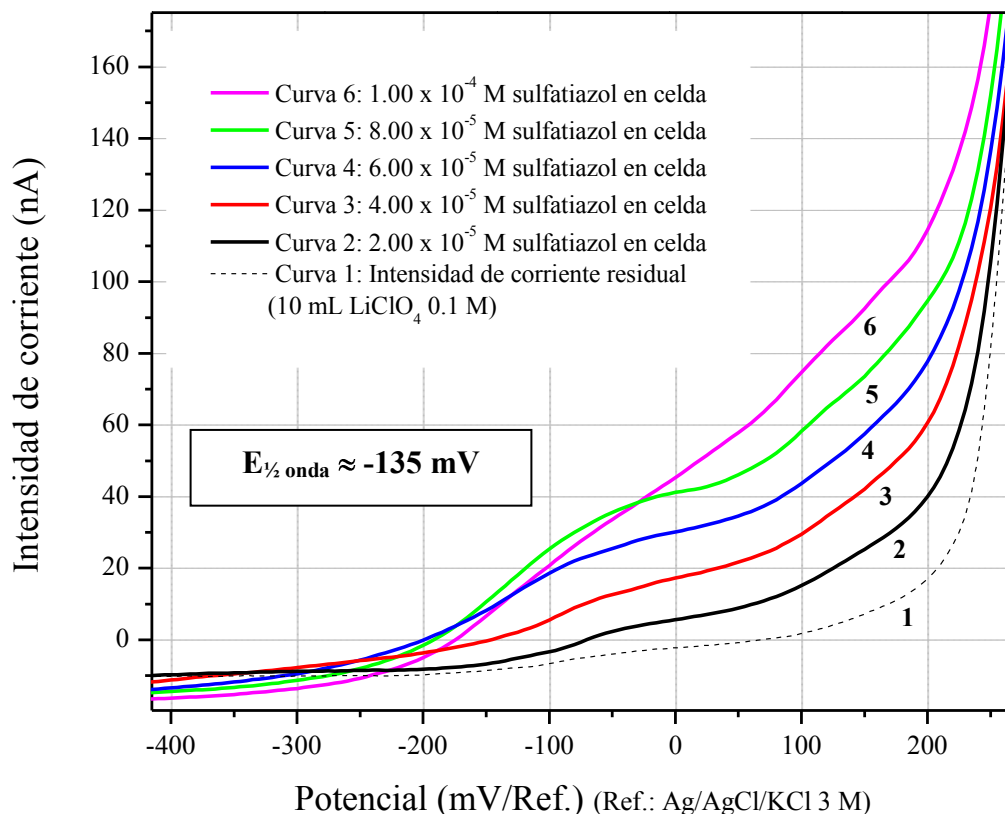
#### **6.2.3.1.1. Oxidación de sulfatiazol con polarografía de muestreo (PDM).**

Los resultados de la polarografía de muestreo con  $\text{LiClO}_4$  0.1 M como electrolito soporte en medio acuoso muestran señales tanto en reducción como en oxidación para el sulfatiazol.

En oxidación se pueden observar dos señales, la primera solamente con concentraciones bajas y la segunda a concentraciones mayores. Ambas señales presentan linealidad en intervalos limitados de concentración.

La primera señal de oxidación se presenta en un intervalo de potencial de  $-300$  mV a  $10$  mV. La corriente de oxidación va aumentando proporcionalmente conforme se incrementa la concentración de sulfatiazol en la celda, de  $2 \times 10^{-5}$  M hasta  $1 \times 10^{-4}$  M, figura 7:

**Primera señal de oxidación en polarografía de muestreo (PDM) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en el medio acuoso de LiClO<sub>4</sub> 0.1 M**



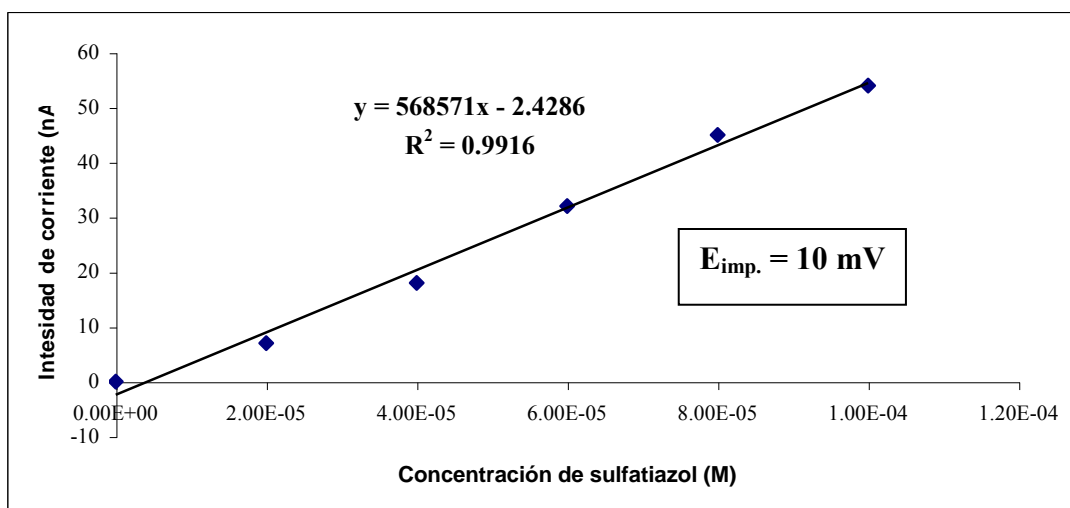
**Figura 7**

**Primera señal de oxidación del sulfatiazol**

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía de muestreo (PDM).  
Barrido de potencial de -2000 a 300 mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.  
Intervalo de potencial de la señal de oxidación: -300 a 10 mV

En la siguiente gráfica (gráfica 4) se presenta la curva de calibración para esta primera señal de oxidación del sulfatiazol. En ella se observa que la corriente aumenta de manera proporcional con el incremento de la concentración de sulfatiazol, y estos puntos siguen claramente una tendencia lineal ( $R^2 = 0.9916$ ):

### Primera señal de oxidación del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDM)

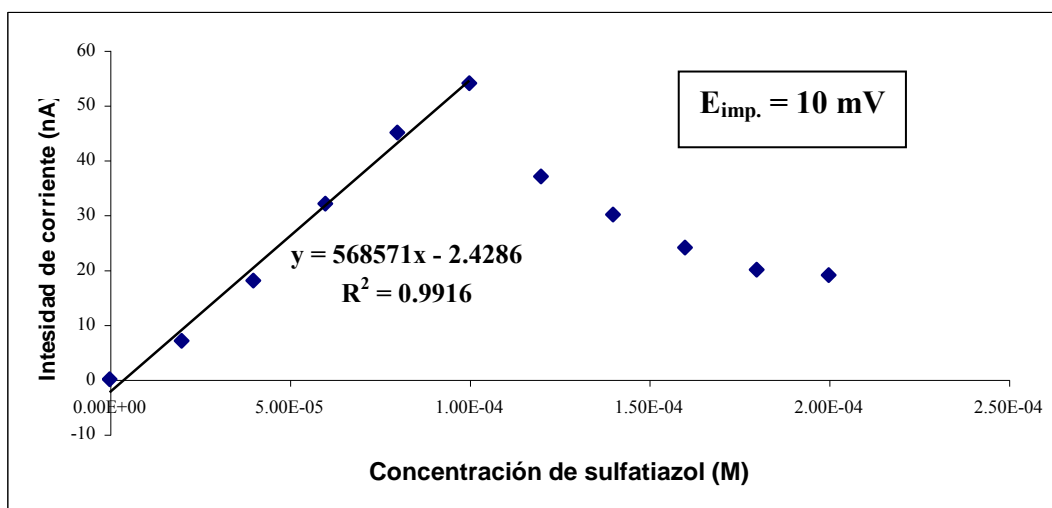


**Gráfica 4**

La abreviatura  $E_{imp.}$  significa “potencial impuesto”, e indica el potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente utilizadas para construir la curva de calibración. La intensidad de corriente medida corresponde al valor directo de la corriente de oxidación tomado sobre la meseta a 10 mV de la onda polarográfica de la figura 7.

Cuando la concentración de sulfatiazol es mayor a  $1 \times 10^{-4}$  M esta primera señal de oxidación disminuye en intensidad de manera no lineal (gráfica 5), a la vez que comienza a aparecer a potenciales mayores la segunda señal (gráfica 7, pág. 61).

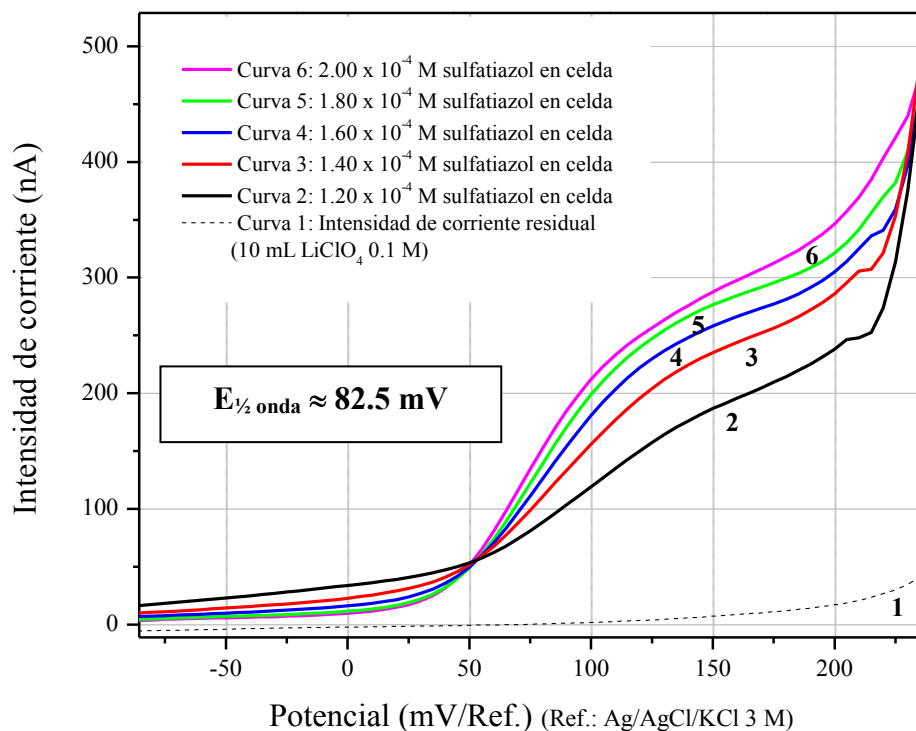
### Comportamiento de la primera señal de oxidación al aumentar la concentración de sulfatiazol (PDM)



**Gráfica 5**

La segunda señal de oxidación se presenta en un intervalo de potencial de 0 mV a 185 mV, y la corriente de oxidación también aumenta proporcionalmente cuando la concentración de sulfatiazol se va incrementando de  $1.2 \times 10^{-4}$  M hasta  $5 \times 10^{-4}$  M, figura 8:

**Segunda señal de oxidación en polarografía de muestreo (PDM) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en el medio acuoso de  $\text{LiClO}_4$  0.1 M**



**Figura 8**

**Segunda señal de oxidación del sulfatiazol**

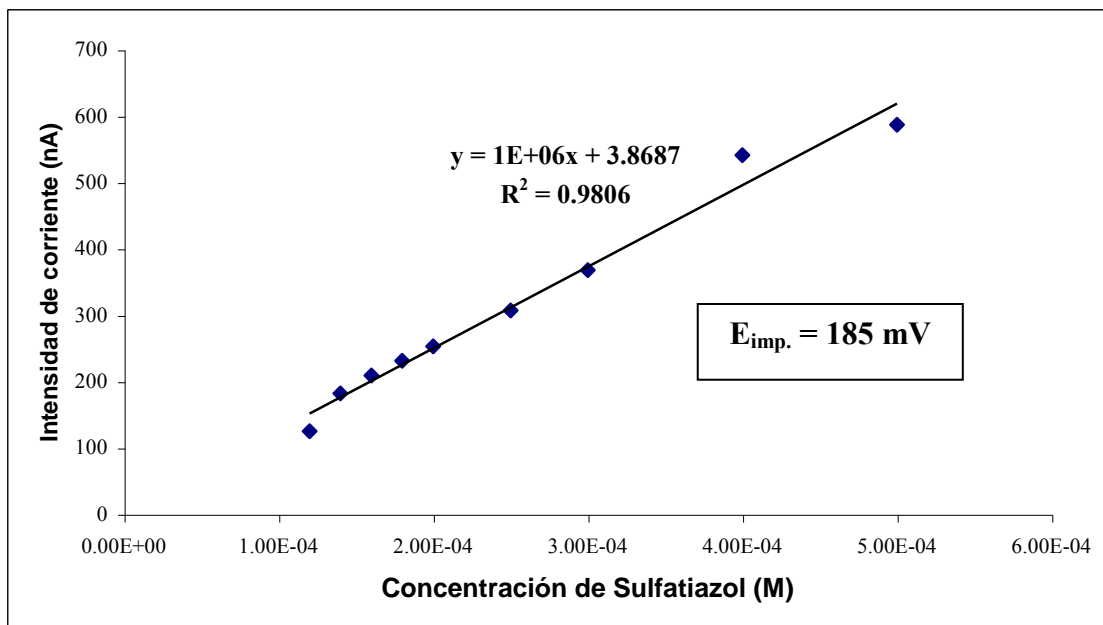
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía de muestreo (PDM).

Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.

Intervalo de potencial de la señal de oxidación:  $0$  a  $185$  mV

La curva de calibración para la segunda señal de oxidación se muestra a continuación en la gráfica 6; en ella se observa el aumento directamente proporcional de la corriente con respecto al incremento en la concentración de sulfatiazol y la tendencia lineal de los puntos ( $R^2 = 0.9806$ ):

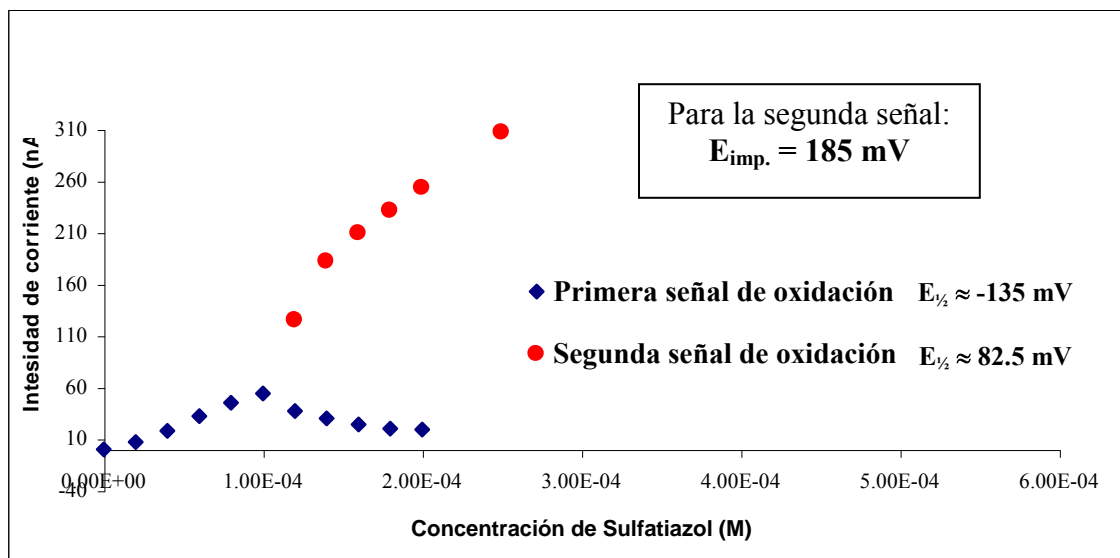
## Segunda oxidación del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDM)



**Gráfica 6**

A la intensidad de corriente medida al  $E_{imp.}$  se le restó la corriente de la base de la onda medida a 0 mV, para tener únicamente la intensidad de corriente correspondiente a la onda polarográfica.

## Comportamiento de las dos señales de oxidación al aumentar la concentración de sulfatiazol (PDM)

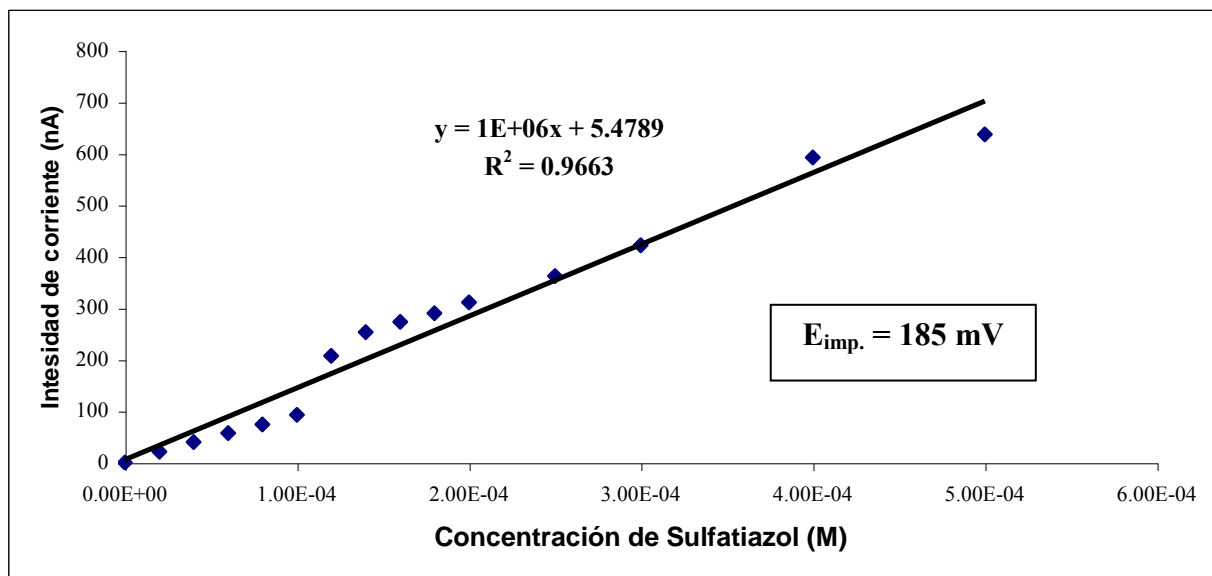


**Gráfica 7**

Los datos graficados de la segunda señal de oxidación corresponden a las corrientes dadas al potencial impuesto de la segunda señal (185 mV), habiéndoles quitado el último valor de corriente asociado a la primera señal que aparece a este potencial impuesto (46 nA a  $1.00 \times 10^{-4}$  M de sulfatiazol).

En la gráfica 7 se presentan los comportamientos de ambas señales de oxidación del sulfatiazol donde es claro que al presentarse la segunda señal la primera decrece, es decir, ambas están relacionadas entre sí. En la gráfica 8 se presenta el valor global de la intensidad de corriente de oxidación del sulfatiazol, es decir, ya no se midieron por separado las dos señales; como puede observarse, se conserva una relación lineal entre la intensidad de corriente con la concentración.

### Variación de la intensidad de corriente de oxidación global al aumentar la concentración de sulfatiazol (PDM)



Gráfica 8

En relación con este comportamiento del sulfatiazol puede decirse lo siguiente:

- 1) De acuerdo con la estructura de la molécula de sulfatiazol, el grupo sulfóxido ya no puede oxidarse (se encuentra en su máximo grado de oxidación, +VI). Puede hacerlo el azufre del anillo heterocíclico (lo que requeriría gran energía) o, más probablemente, el grupo amino.



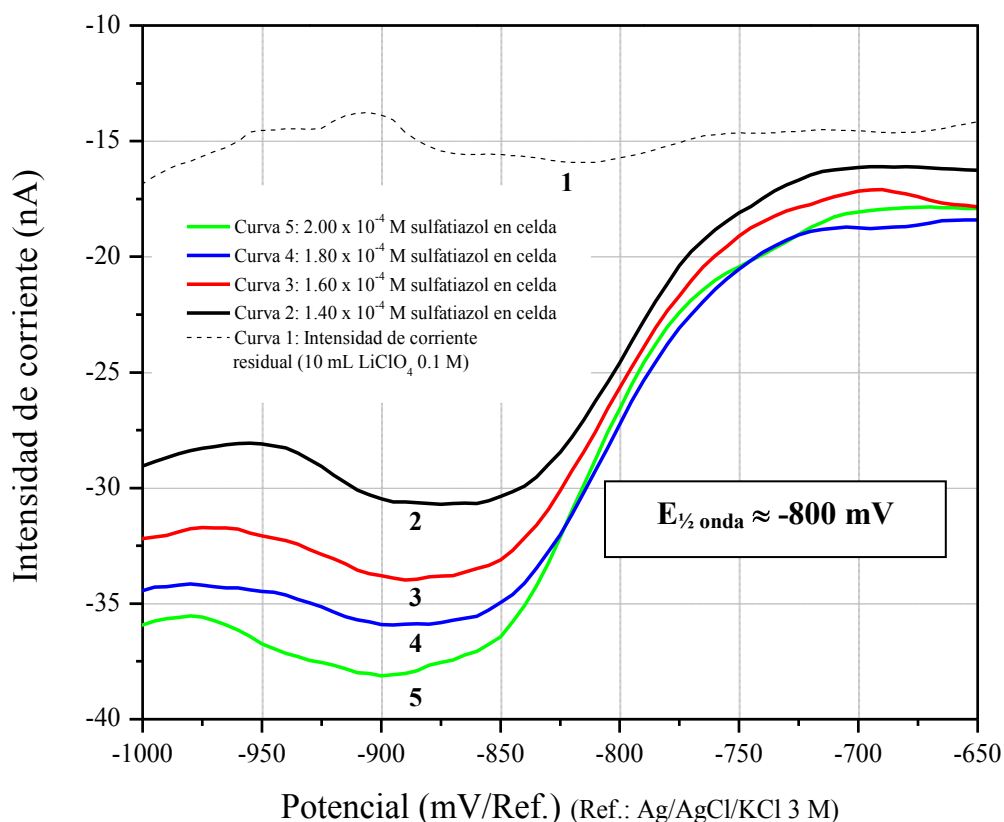
- 2) La oxidación del grupo amino puede, en principio, realizarse en dos etapas, primero la oxidación al hidroxilamino y luego el paso hasta el nitro. Sin embargo, si fuese así, desde un principio se tendrían dos señales del mismo tamaño, puesto que en cada proceso se involucra normalmente el mismo número de electrones y la concentración de la especie reductora es la misma.
- 3) La primera señal decrece en aras de la segunda, lo que implica que la concentración del primer reductor disminuye para formar una especie que se oxida más difícilmente. Este comportamiento podría indicar quizá la formación de algún dímero que estaría disociado en soluciones diluidas. Ver gráfica 7, pág. 61.
- 4) La primera señal de oxidación podría deberse a una adsorción, favorecida en disoluciones bajas y la segunda sería una oxidación directa.
- 5) Otra posibilidad es que las señales correspondan a la formación de complejos entre el sulfatiazol y el mercurio (II), en cuyo caso, la primera señal correspondería a un complejo con mayor  $pK_c$  pero, de manera contradictoria, sería formado con menor concentración de sulfatiazol.

En todos los casos, resulta interesante realizar más trabajo experimental para confirmar estos supuestos; sin embargo, esos experimentos rebasan el marco de la presente tesis. Importante es, en esta primera etapa de la investigación, que se tienen condiciones en las que puede determinarse el sulfatiazol porque existe una relación lineal entre la intensidad de corriente de oxidación y la concentración del compuesto.

### 6.2.3.1.2. Reducción de sulfatiazol con polarografía de muestreo (PDM).

Como se mencionó anteriormente, el sulfatiazol también presenta una señal de reducción. Sin embargo, la señal de reducción sólo se define bien a concentraciones altas de sulfatiazol, superiores a  $1.2 \times 10^{-4}$  M. Esta señal aparece en un intervalo de potencial de  $-680$  mV a  $-890$  mV. En la figura inmediata (figura 9) se muestra el polarograma de la reducción del sulfatiazol:

#### Señal de reducción en polarografía de muestreo (PDM) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en el medio acuoso de $\text{LiClO}_4$ 0.1 M



**Figura 9**

#### Señal de reducción del sulfatiazol

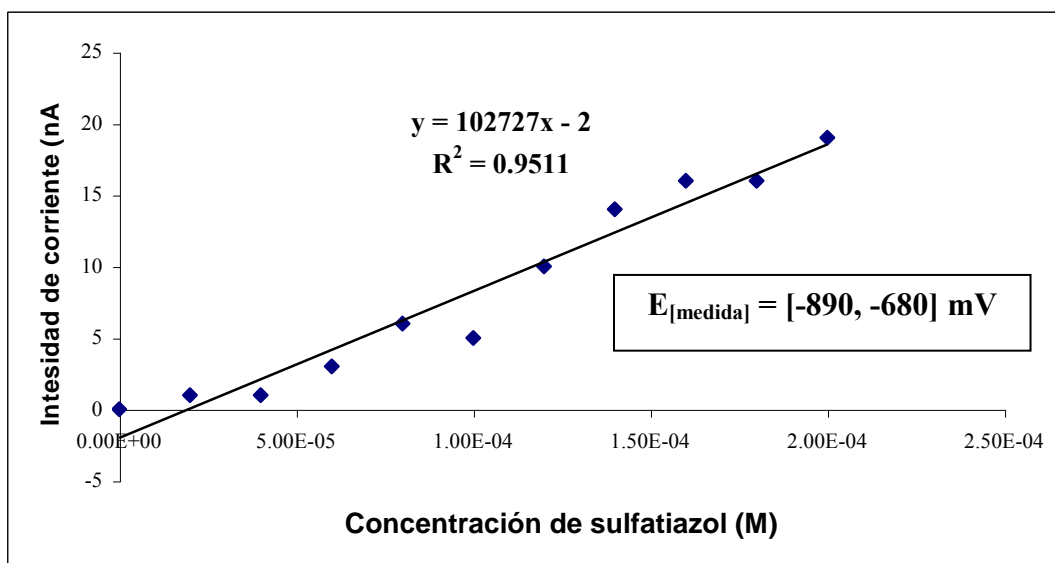
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía de muestreo (PDM).

Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.

Intervalo de potencial de la señal de reducción:  $-680$  a  $-890$  mV

La gráfica 9 presenta la curva de calibración de la reducción del sulfatiazol, en la que se observa el crecimiento proporcional de la corriente con respecto al aumento de la concentración del sulfatiazol. Los puntos de la curva muestran una linealidad aceptable ( $R^2 = 0.9511$ ):

**Reducción del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDM)**



**Gráfica 9**

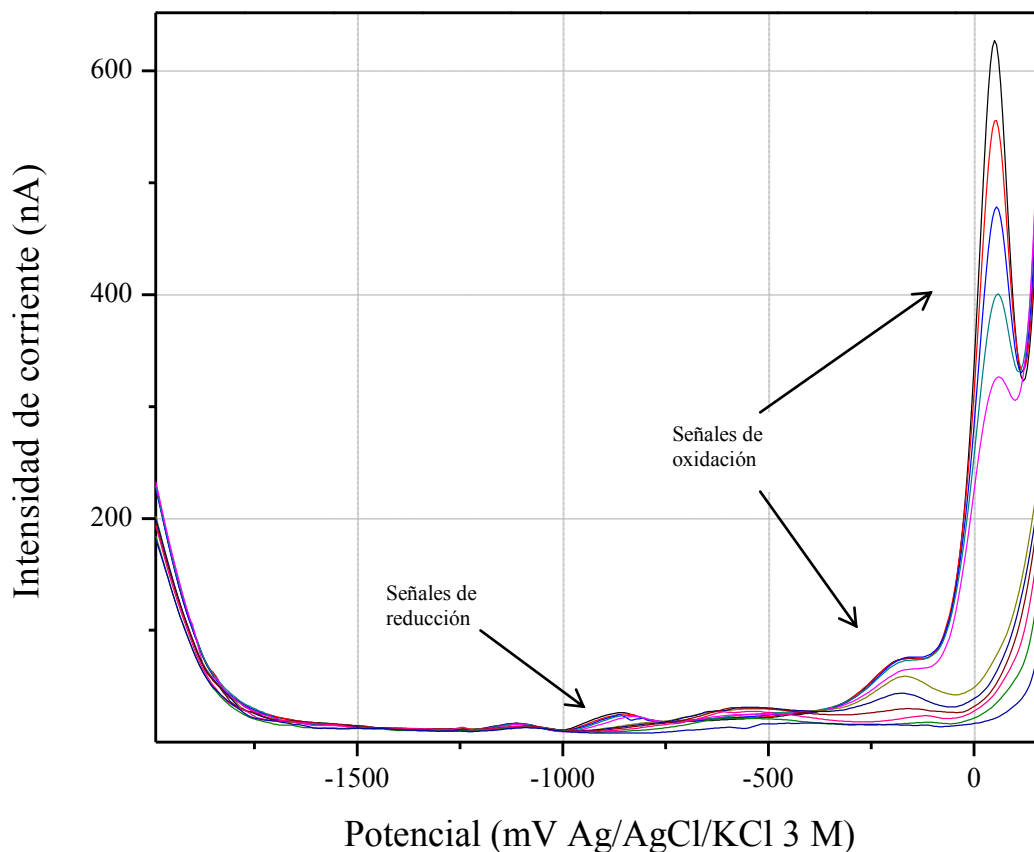
La abreviatura  $E_{[medida]}$  indica que el potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente a graficar corresponde a un intervalo de potencial, e involucra las corrientes de distintos potenciales que van desde  $-680 \text{ mV}$  hasta  $-890 \text{ mV}$ .

Es probable que esta reducción se deba al grupo  $-\text{SO}_2$  y que, como se menciona en la literatura (referencias 36 y 37), pueda estar acoplada con una reacción química sucesiva que involucraría rompimiento de enlace (ver páginas 27 y 28). Esto podría explicar por qué la correlación no es mejor e implicaría también la necesidad de continuar el trabajo experimental para confirmar la hipótesis de la reacción química acoplada y, necesariamente, la dependencia con el pH, pues la ruptura del enlace del azufre con alguno de los dos grupos cíclicos a los que está unido en el sulfatiazol requiere de un medio ácido. El estudio de la influencia del pH en estas reacciones del sulfatiazol no son objetivos del presente trabajo.

### 6.2.3.1.3. Oxidación de sulfatiazol con polarografía diferencial de impulsos (PDI).

Una vez que se tuvieron identificadas las señales del sulfatiazol con la polarografía de muestreo, mediante la polarografía diferencial de impulsos se buscó una mejor definición de las señales y mejores límites de detección.

#### Señales de oxidación y reducción en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en medio acuoso de $\text{LiClO}_4$ 0.1 M



**Figura 10**

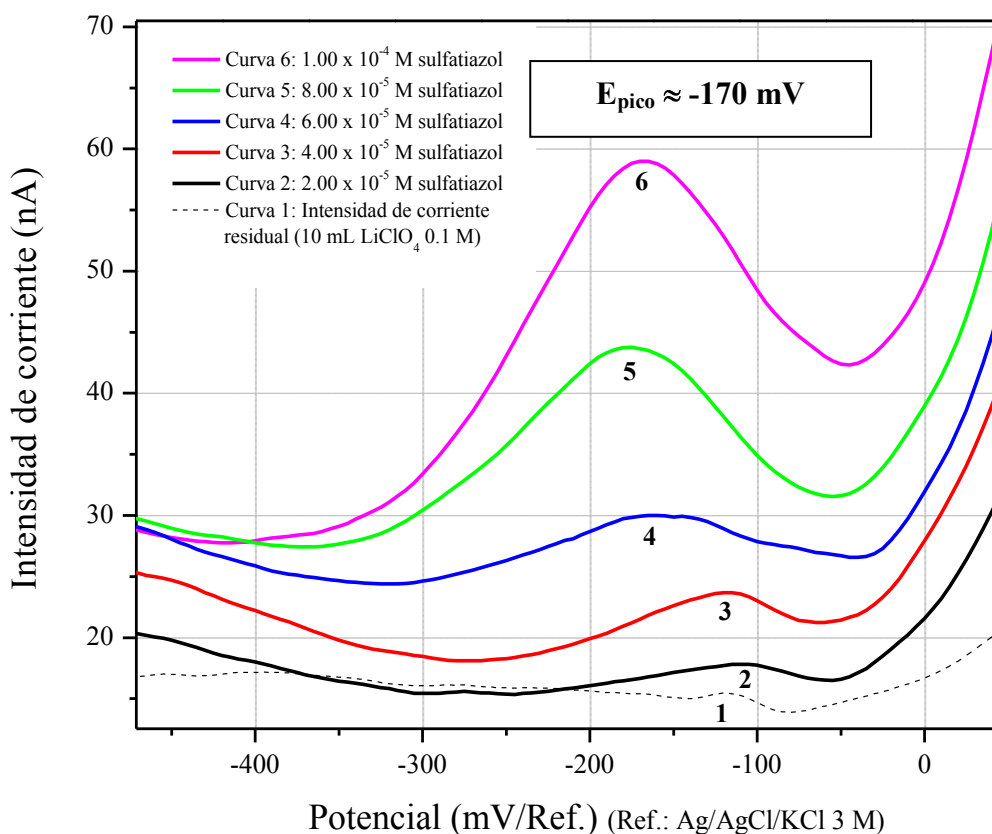
#### Señales de oxidación y reducción del sulfatiazol.

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI). Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s

Con la polarografía diferencial de impulsos las dos señales de oxidación se definieron muy bien a diferencia de la señal de reducción, la cual no logra definirse bien a las concentraciones más bajas de sulfatiazol manejadas (de  $2 \times 10^{-5}$  M hasta  $1 \times 10^{-4}$  M).

La primera señal de oxidación presenta un potencial de pico aproximado de  $-170$  mV. La intensidad de corriente va creciendo conforme aumenta la concentración de sulfatiazol (desde  $2 \times 10^{-5}$  M hasta  $1 \times 10^{-4}$  M) como se observa en la siguiente figura (figura 11):

**Primera señal de oxidación en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en medio acuoso de  $\text{LiClO}_4$  0.1 M**



**Figura 11**

**Primera señal de oxidación del sulfatiazol**

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).

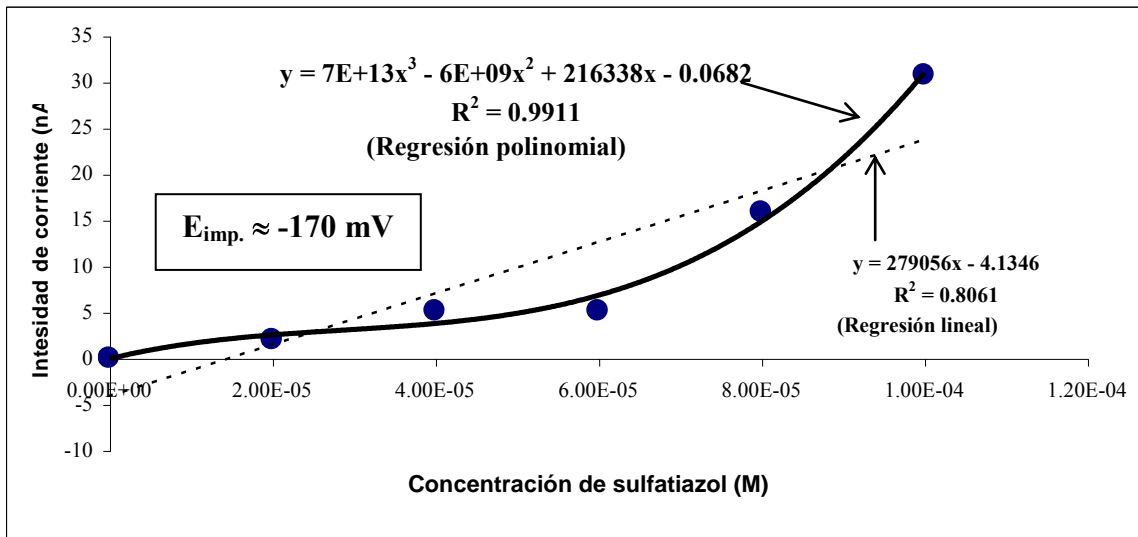
Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.

Potencial de pico aproximado de la señal de oxidación:  $-170$  mV

Sin embargo, con la información que se tiene a partir de la curva de calibración de esta primera señal de oxidación (ver gráfica 10), el incremento de la corriente con respecto al aumento de la

concentración de sulfatiazol no se realiza de forma directamente proporcional, puesto que los puntos no siguen un comportamiento lineal:

### Primera oxidación del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDI)



**Gráfica 10**

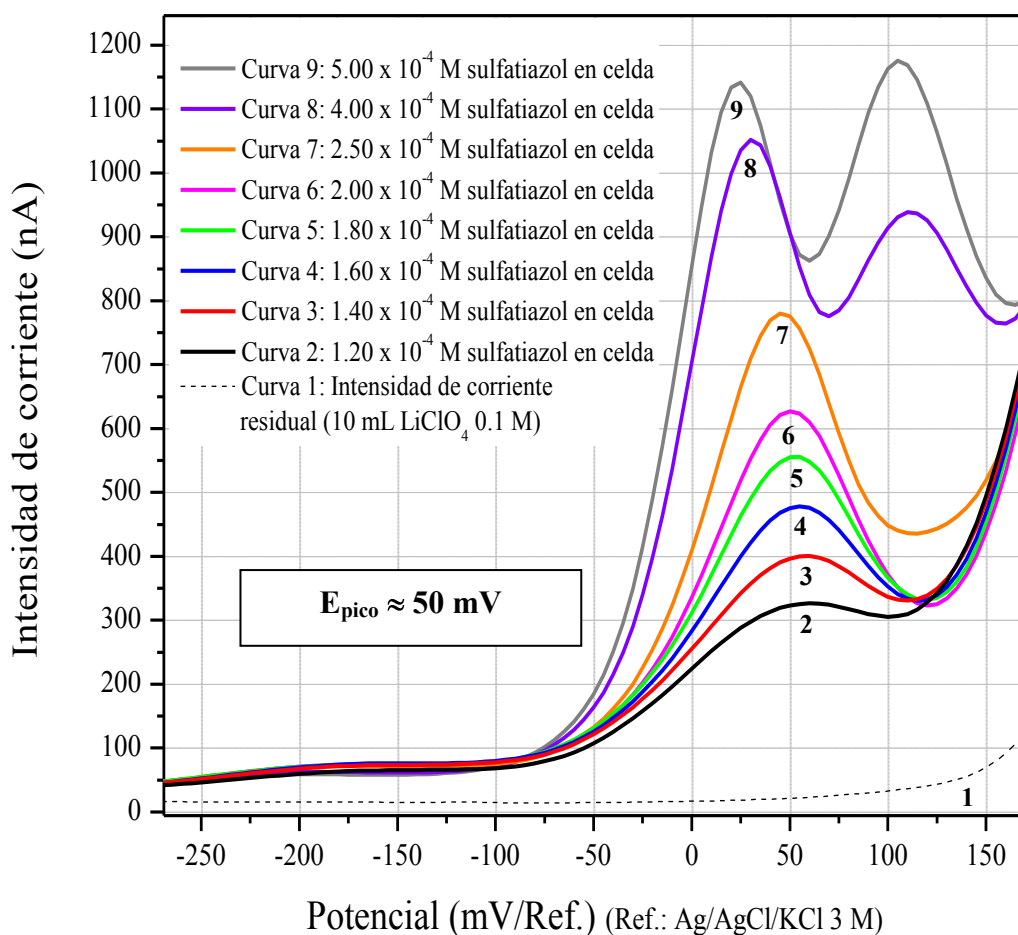
Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes máximas asociadas a la primera señal de oxidación del sulfatiazol de las curvas presentadas en el polarograma de la figura 11. Por esta razón no es un potencial fijo de medida, sino que son distintos potenciales de pico cercanos a un potencial de pico medio, que en este caso es  $-170 \text{ mV}$ , lo que conlleva a establecer la siguiente relación:  $E_{imp.} = E_{pico}$

El hecho de que los puntos no tengan una proporción lineal ( $R^2 = 0.8061$ ) sino que presenten una tendencia polinomial ( $R^2 = 0.9911$ , para un polinomio de grado 3), puede ser debido a que el flujo de las moléculas orgánicas hacia el electrodo no está controlado exclusivamente por difusión convectiva sino que participan otros fenómenos que provocan un flujo irregular y por eso las mediciones de corriente varían de forma no lineal. Un fenómeno que puede explicar este comportamiento puede ser una adsorción de las moléculas orgánicas sobre la superficie del electrodo, por lo tanto, como se mencionó en la polarografía de muestreo, esta primera señal de

oxidación podría deberse a una adsorción favorecida a concentraciones bajas; también puede pensarse en un equilibrio químico involucrado.

La segunda señal de oxidación tiene un potencial de pico aproximado de 50 mV. Esta señal crece conforme va aumentando la concentración de sulfatiazol como lo muestra la siguiente figura (figura 12):

**Segunda señal de oxidación en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en medio acuoso de LiClO<sub>4</sub> 0.1 M**



**Figura 12**

**Segunda señal de oxidación del sulfatiazol**

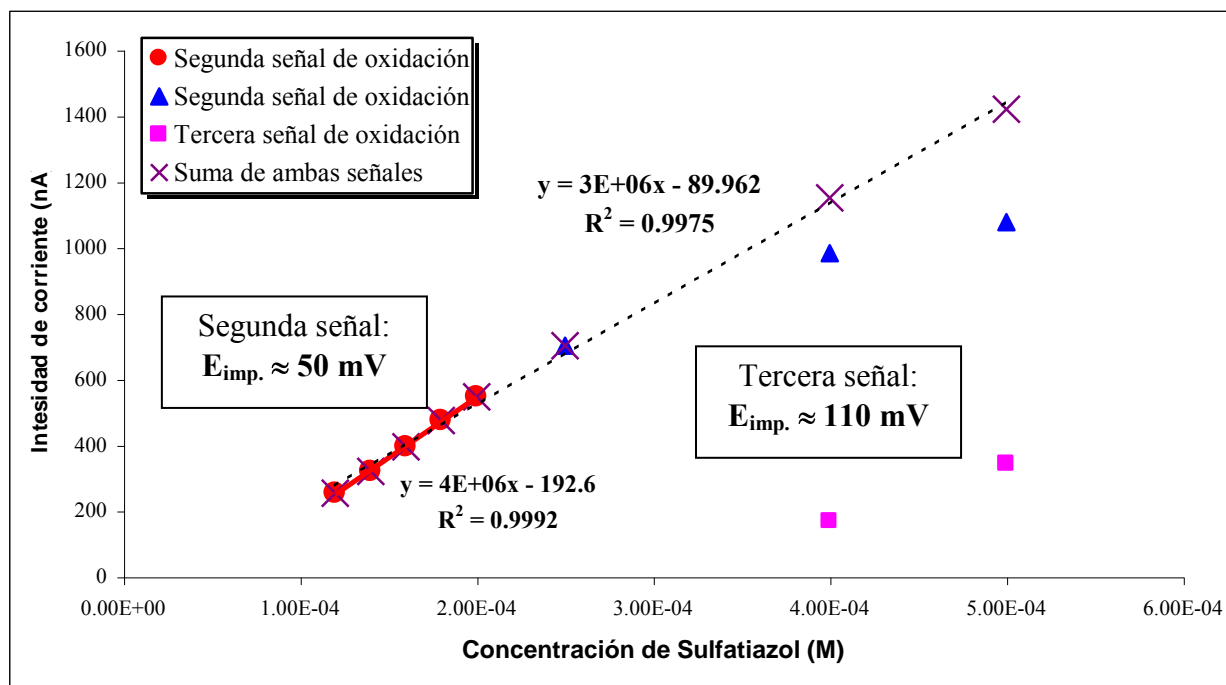
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).

Barrido de potencial de -2000 a 300 mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.

Potencial de pico aproximado de la señal de oxidación: 50 mV

Se observa también en la figura 12 que aparece una tercera señal, con un potencial de pico aproximado de 110 mV. En efecto, cuando las concentraciones de sulfatiazol van de  $1.2 \times 10^{-4}$  M a  $2 \times 10^{-4}$  M se ve una sola señal que aumenta proporcionalmente, pero cuando las concentraciones son superiores ( $2.5 \times 10^{-4}$  M,  $4 \times 10^{-4}$  M y  $5 \times 10^{-4}$  M) se forma otra señal junto a la anterior. Esta tercera señal de oxidación también aumenta cuando hay un incremento en la concentración de sulfatiazol. En la siguiente gráfica (gráfica 11) se presenta la curva de calibración para estas señales de oxidación:

### Segunda y tercera señal de oxidación del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDI)



**Gráfica 11**

Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes de pico asociadas a la segunda señal de oxidación del sulfatiazol de las curvas presentadas en el polarograma de la figura 12



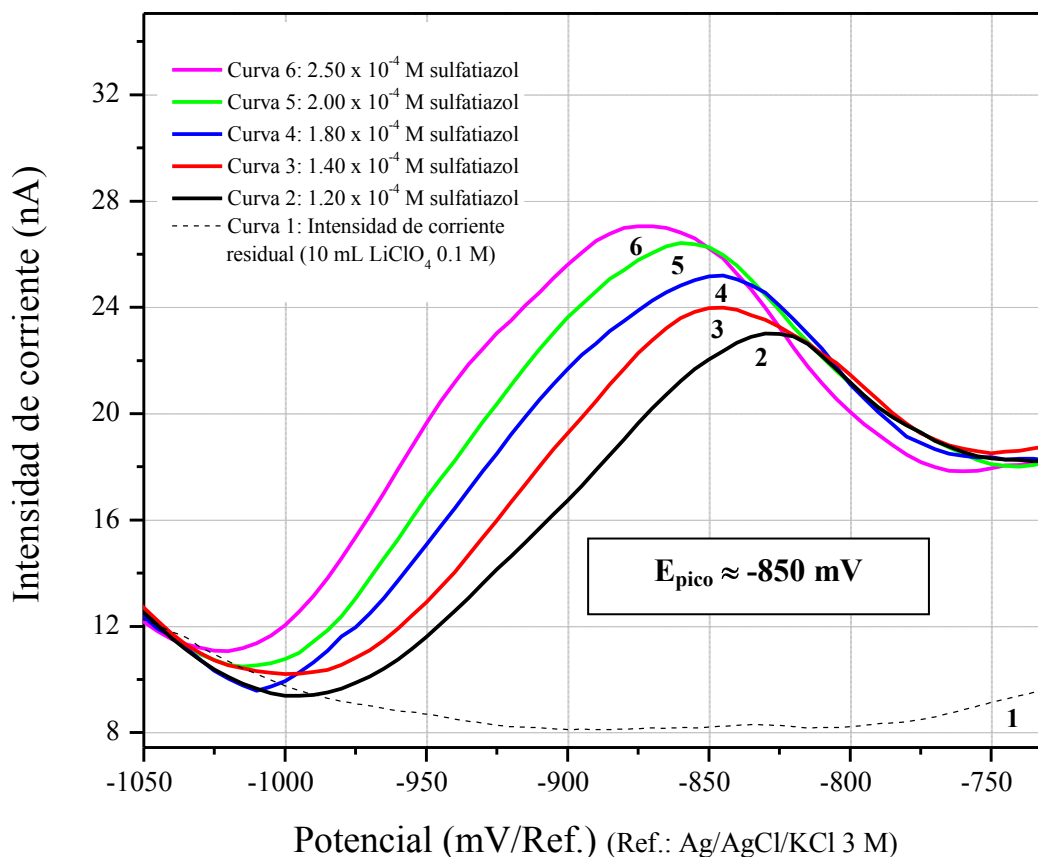
En esta gráfica (gráfica 11) los puntos circulares y triangulares corresponden a la segunda señal de oxidación del sulfatiazol. Si se toman únicamente los puntos circulares se ve una tendencia lineal en los datos ( $R^2 = 0.9992$ ), y con los puntos triangulares se observa que decae la linealidad. Sin embargo, si a todas las corrientes de la segunda señal se le suman las corrientes de la tercera señal que corresponden a los puntos cuadrados, quedan los puntos en cruz de la gráfica 11 que siguen una tendencia lineal ( $R^2 = 0.9975$ ). Este comportamiento habla de que las dos señales correspondientes a las curvas 8 y 9 de la figura 12 (pág. 69) en realidad corresponden a una misma señal que se desdobla. En la polarografía de muestreo sólo aparecen dos señales de oxidación, y lo que sería la tercera señal se encuentra integrada a la corriente global de la segunda señal, sin lograr con esa técnica el desdoblamiento de la señal.

Este desdoblamiento de la segunda señal de oxidación del sulfatiazol puede ser debido a que el compuesto orgánico a ciertas concentraciones se encuentra en un equilibrio químico, en el cual las especies involucradas se oxidan a un determinado potencial. La suma de las corrientes de oxidación de las especies nos da la corriente total de oxidación del sulfatiazol, por lo tanto se puede cuantificar el sulfatiazol total en solución.

#### 6.2.3.1.4. Reducción de sulfatiazol con polarografía diferencial de impulsos (PDI).

Con respecto a la señal de reducción del sulfatiazol en PDI, ésta comienza a definirse únicamente a partir de una concentración de sulfatiazol de  $1.2 \times 10^{-4}$  M en celda, y sigue aumentando conforme se incrementa la concentración de sulfatiazol. El potencial de pico aproximado de esta señal es de  $-850$  mV. En la siguiente figura (figura 13) se muestra el polarograma de la reducción:

#### Señal de reducción en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de la solución estándar de sulfatiazol 0.01 M en el medio acuoso de $\text{LiClO}_4$ 0.1 M



**Figura 13**

#### Señal de reducción del sulfatiazol

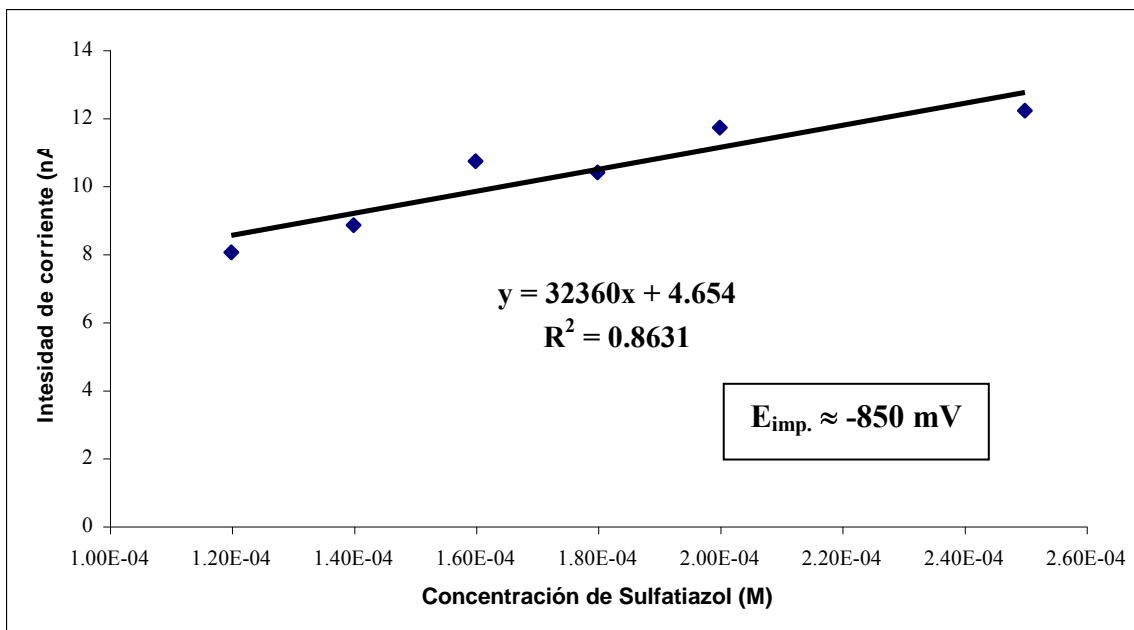
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).

Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.

Potencial de pico aproximado de la señal de reducción:  $-850$  mV

A continuación se presenta la curva de calibración de la señal de reducción del sulfatiazol:

### Señal de reducción del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDI)



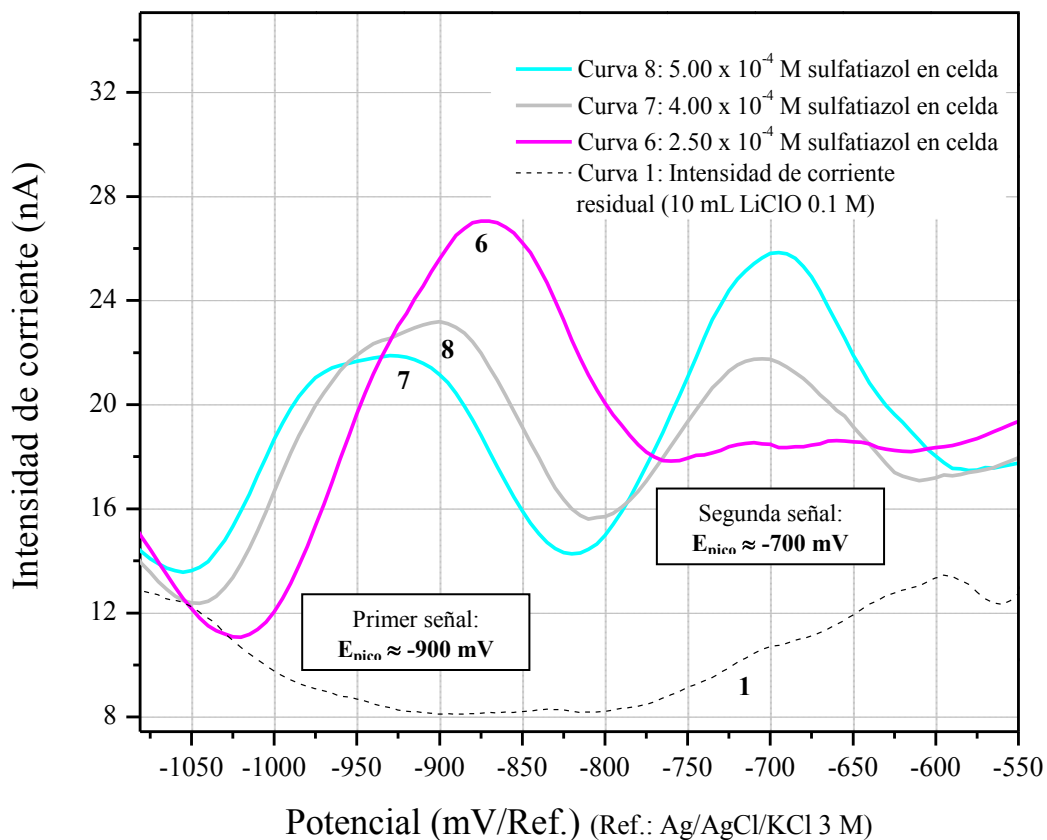
**Gráfica 12**

Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes máximas asociadas a la señal de reducción del sulfatiazol de las curvas presentadas en el polarograma de la figura 13

En la gráfica anterior se observa, para la señal de reducción del sulfatiazol, que la intensidad de corriente crece de forma proporcional al ir aumentándose la concentración del sulfatiazol en celda, pero la proporcionalidad mostrada presenta una relación lineal baja ( $R^2 = 0.8631$ ).

Cuando la concentración del sulfatiazol está por encima de  $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$  la señal disminuye y se desplaza a potenciales más negativos, además de que aparece otra señal junto a ésta, como se ve en el siguiente polarograma (figura 14):

**Señal de reducción en polarografía diferencial de impulsos (PDI) para concentraciones de sulfatiazol en celda de  $2.5 \times 10^{-4}$  M y superiores, en el medio acuoso de  $\text{LiClO}_4$  0.1 M**



**Figura 14**

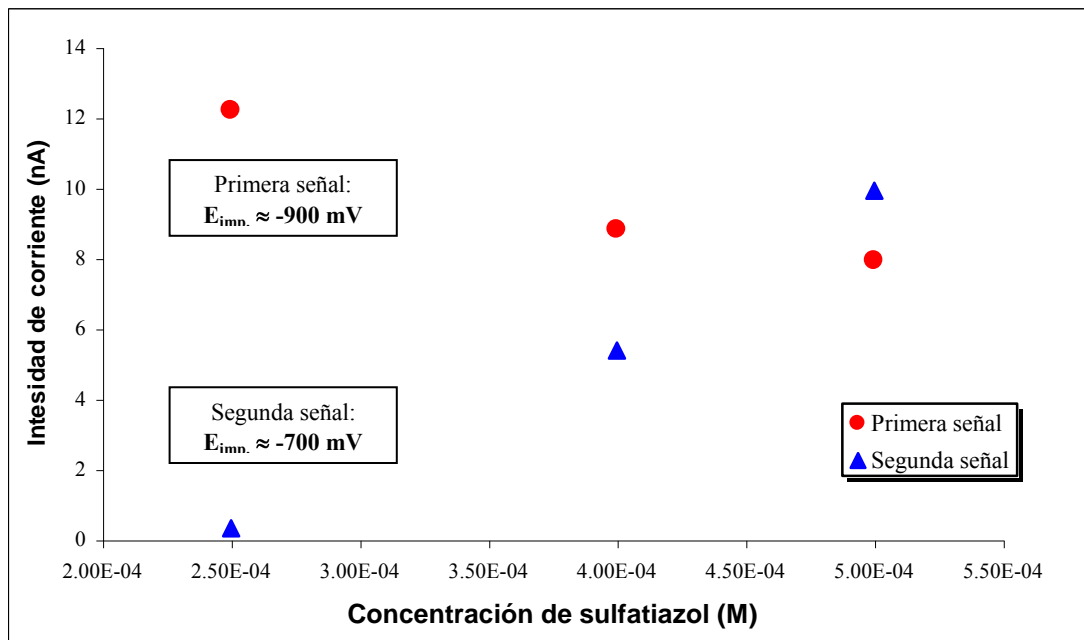
**Señal de reducción del sulfatiazol**

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).  
Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.  
Potencial de pico aproximado de la señal de reducción:  $-900$  y  $-700$  mV

En la figura anterior se observa bien que aparece una nueva señal para las últimas concentraciones de sulfatiazol ( $4 \times 10^{-4}$  M y  $5 \times 10^{-4}$  M), la cual se comienza a insinuar ya desde la concentración  $2.5 \times 10^{-4}$  M, y que además esta nueva señal aumenta en detrimento de la primera señal. El potencial de pico de la primera señal se ve desplazado a un valor aproximado de

-900 mV, mientras que el potencial de pico aproximado de la segunda señal se da a -700 mV. En la siguiente gráfica se muestran los puntos correspondientes a estas dos señales:

**Primera y segunda señal de reducción del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDI), para concentraciones de  $2.5 \times 10^{-4}$  M,  $4 \times 10^{-4}$  M y  $5 \times 10^{-4}$  M de sulfatiazol en celda**

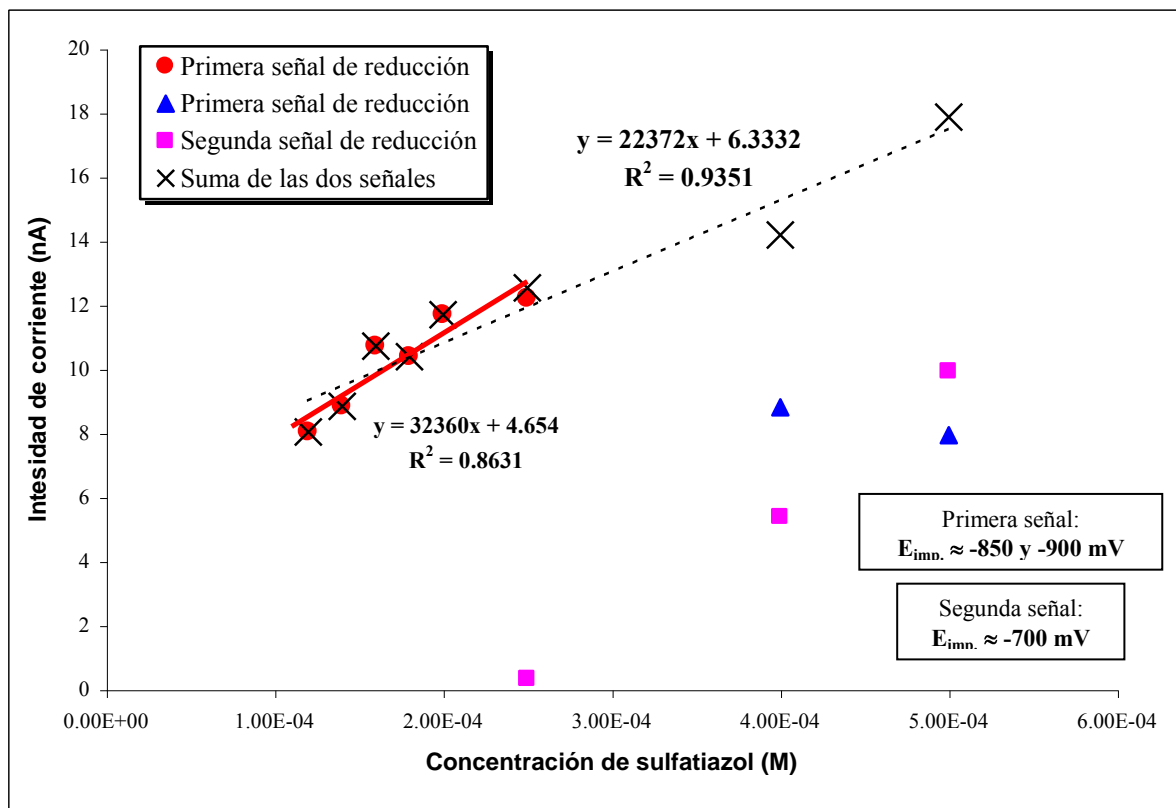


**Gráfica 13**

Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes máximas asociadas a las señales de reducción del sulfatiazol de las curvas presentadas en el polarograma de la figura 14

Con ayuda de la gráfica anterior puede observarse cómo la intensidad de corriente de la primera señal de reducción disminuye al incrementarse la concentración de sulfatiazol, al mismo tiempo que aumenta la intensidad de corriente de la segunda señal. Ahora, si se toman los datos de la gráfica 12 (pág. 73) y se colocan en una sola gráfica junto con la suma de los valores de intensidad de corriente correspondientes a las dos señales de reducción de la gráfica 13, se obtiene la siguiente gráfica:

## Primera y segunda señal de reducción del sulfatiazol en perclorato de litio 0.1 M (PDI)



**Gráfica 14**

Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes máximas asociadas a las señales de reducción del sulfatiazol de las curvas presentadas en los polarogramas de las figuras 13 y 14

Los puntos circulares y triangulares de la gráfica anterior corresponden a la primera señal de reducción del sulfatiazol, mostrados en las figuras 13 y 14. Como ya se vio en la gráfica 14, los puntos circulares siguen un crecimiento proporcional (corriente vs. concentración), pero con baja linealidad, hasta una cierta concentración de sulfatiazol ( $2.5 \times 10^{-4}$  M). Después, conforme sigue aumentando la concentración de sulfatiazol en la celda, la intensidad de corriente de esta primera señal disminuye, como lo muestran los puntos triangulares de la gráfica 14, y junto con esto aparece una segunda señal de reducción próxima a la primera señal. La aparición de la segunda señal trae consigo un desplazamiento del potencial de pico de la primera señal a valores más

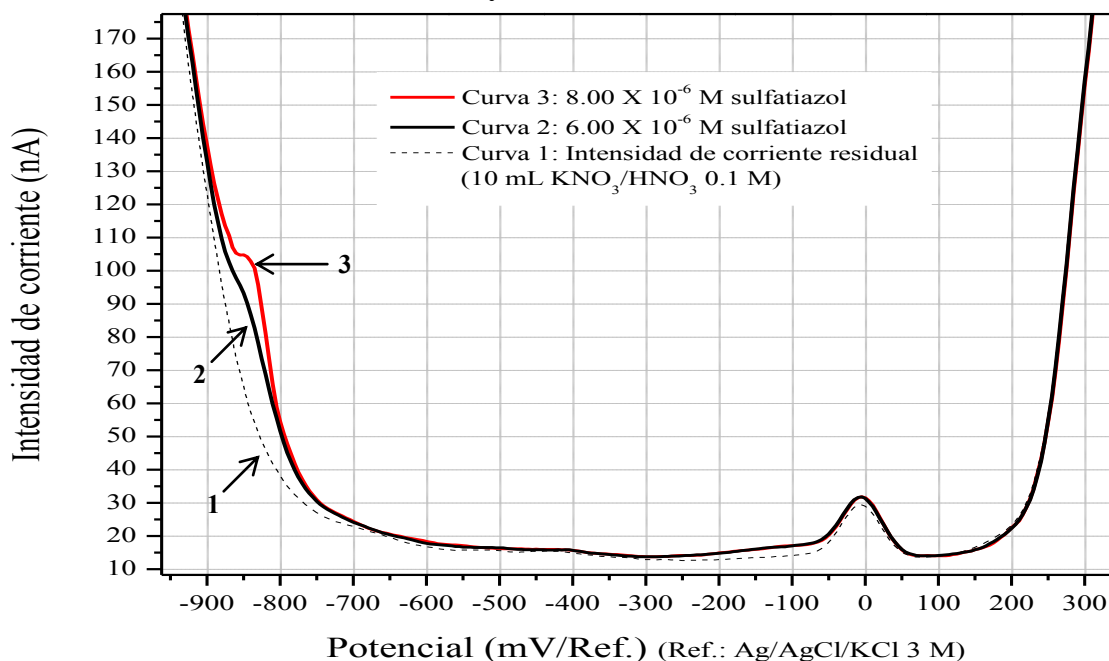
negativos. La intensidad de corriente de esta segunda señal aumenta con el incremento de concentración en celda del sulfatiazol, como lo demuestran los puntos cuadrados de la gráfica 14. Al sumar las corrientes de la primera señal y de la segunda señal se obtuvieron los puntos en cruz de la gráfica 14, los cuales presentan un crecimiento proporcional y una relación lineal considerable ( $R^2 = 0.9351$ ).

Los resultados descritos anteriormente ponen en evidencia que las dos señales relacionadas con la reducción del sulfatiazol en realidad corresponden a una sola señal que se descompone en dos, una que disminuye al mismo tiempo que la otra aumenta cuando se incrementa la concentración de sulfatiazol en la celda. Este comportamiento no se observa con la polarografía de muestreo, pues con ella sólo se tiene la señal global de reducción. Por lo tanto se puede decir que, con la reducción del sulfatiazol ocurre un fenómeno prácticamente idéntico al que se presentó con la oxidación: a concentraciones elevadas (superiores a  $2.5 \times 10^{-4}$  M) se da un desdoblamiento de la señal con la polarografía diferencial de impulsos. Esto puede explicarse de la misma manera como se hizo para las señales de oxidación del sulfatiazol con PDI, es decir, que existe un equilibrio químico pero que de cualquier forma es posible cuantificar el sulfatiazol total en disolución.

### 6.2.3.2. Resultados con nitrato de potasio/ácido nítrico (KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub>) 0.1 M.

Para el estudio de las señales de sulfatiazol en el medio acuoso de KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub> 0.1 M sólo se utilizó la técnica diferencial de impulsos gracias a que ya se tuvo previamente la información con el LiClO<sub>4</sub> de qué tipo de señales muestra el sulfatiazol; ahora se trata de ver si la señal mejora con este medio, si se define mejor y si se tiene mejor límite de detección y linealidad, para lo cual se utilizó una solución patrón de sulfatiazol menos concentrada (0.001 M).

#### Señal de reducción en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de las soluciones estándar de sulfatiazol 0.001 M y 0.01 M en el medio acuoso de KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub> 0.1 M



**Figura 15**

#### Señal de reducción del sulfatiazol

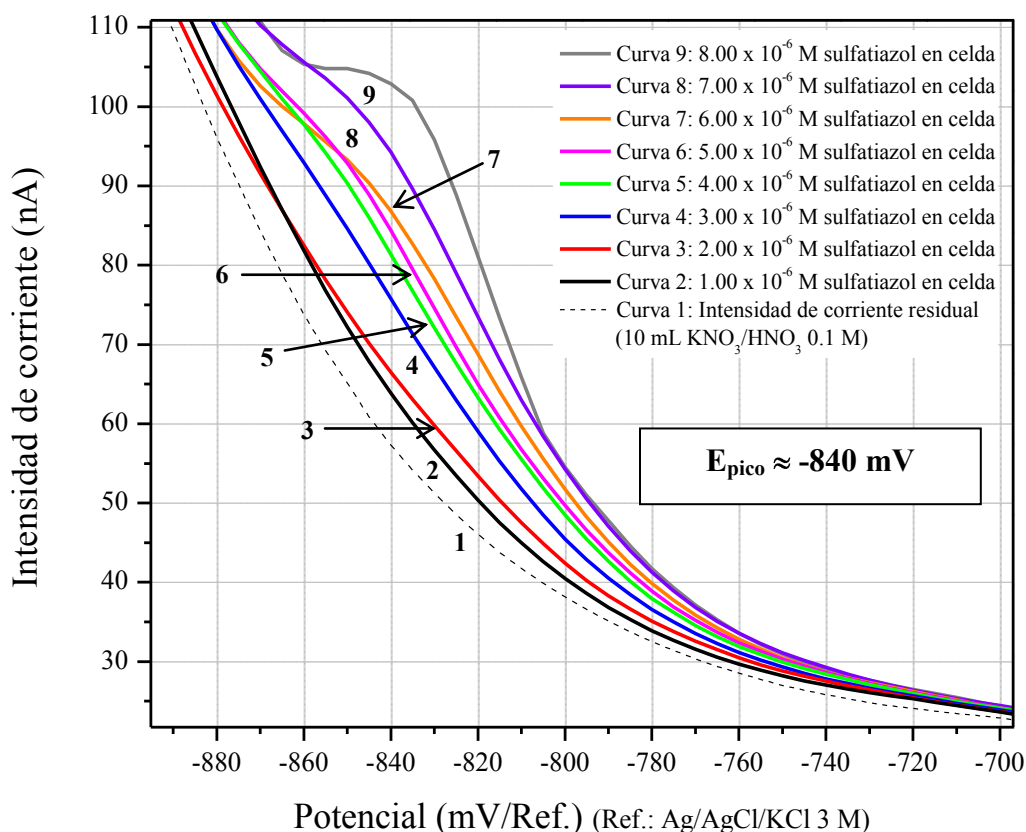
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI). Barrido de potencial de -1250 a 430 mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s

En este medio de KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub> aparece la señal de reducción pero no la de oxidación, posiblemente debido a que la oxidación del sulfatiazol se encuentra muy pegada a la barrera anódica, o también puede ser que exista una interferencia por parte de una señal presente desde un inicio en la corriente residual, alrededor de los 0 mV; esta señal parece aumentar conforme se incrementa la concentración de sulfatiazol, no obstante se ve más bien una señal ya presente en la



residual que se desplaza hacia arriba sin aumentar de tamaño (ver figura 15). Una explicación más sencilla de que en este medio no se observe la oxidación del sulfatiazol es el hecho de que se trabajó con concentraciones muy bajas, del orden de  $10^{-6}$  M y que se esté entonces por debajo del límite de detección. Por otro lado, la señal de reducción que se detecta aparece muy pegada a la barrera catódica, pero se logra definir bien a partir de ciertas concentraciones. En la siguiente figura se muestra el polarograma de diferencial de impulsos de la reducción del sulfatiazol:

**Señal de reducción en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de la solución estándar de sulfatiazol 0.001 M en el medio acuoso de  $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$  0.1 M**



**Figura 16**

**Señal de reducción del sulfatiazol**

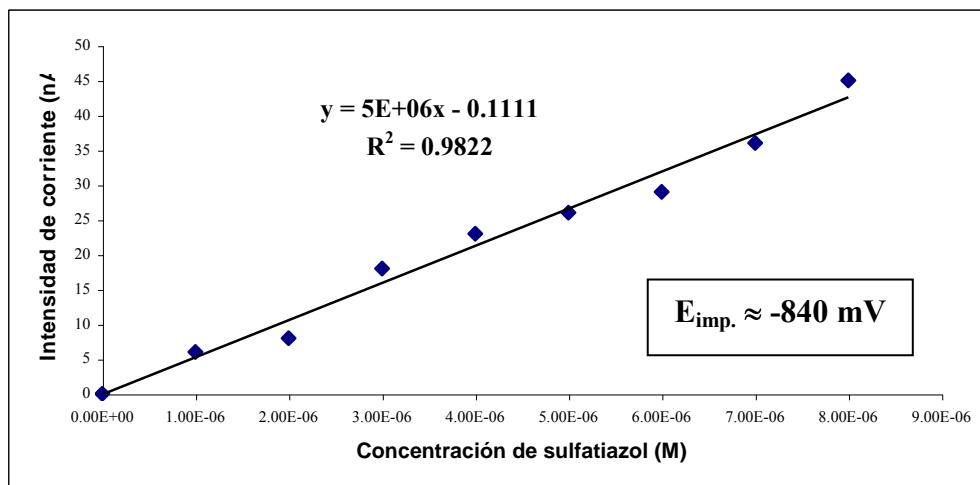
Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).  
Barrido de potencial de  $-1250$  a  $430$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.  
Potencial de pico aproximado de la señal de reducción:  $-840$  mV

Como se muestra en la figura anterior, la señal de reducción del sulfatiazol se define mejor conforme es mayor la concentración de sulfatiazol, porque con las concentraciones más bajas

utilizadas (de  $1 \times 10^{-6}$  M a  $8 \times 10^{-6}$  M de sulfatiazol en la celda) la señal apenas se logra dibujar. Ciertamente, el hecho de que la señal aparece muy pegada a la barrera catódica contribuye a que no se logre una mejor definición en la señal sobre todo a bajas concentraciones.

El potencial de pico aproximado en el cual aparece la señal de reducción está en  $-840$  mV. La tendencia del crecimiento de la intensidad de corriente debido al incremento en la concentración del sulfatiazol dentro de la celda sigue una relación lineal considerable ( $R^2 = 0.9822$ ), para concentraciones bajas de sulfatiazol, del orden de  $10^{-6}$  M (ver gráfica 15).

#### Señal de reducción del sulfatiazol en el medio nitrato de potasio en ácido nítrico 0.1 M (PDI)



**Gráfica 15**

Los valores de corriente graficados corresponden a las corrientes máximas asociadas a la señal de reducción del sulfatiazol de las curvas presentadas en el polarograma de la figura 16

Para concentraciones de sulfatiazol superiores a  $10^{-5}$  M, la proporción del aumento de corriente con respecto al incremento de concentración se vuelve cada vez menor y se pierde la linealidad, hasta llegar un momento en que el aumento de la señal es mínimo (ver Anexo 8.5., pág 99). Este fenómeno de pérdida de linealidad para concentraciones mayores de sulfatiazol no incide en las metas del presente trabajo pues el principal objetivo es poder cuantificar el sulfatiazol en cantidades lo más pequeñas posible.

#### 6.2.4. Límite de detección.

Finalmente, como ya se dijo anteriormente, lo que se pretende lograr es poder cuantificar el sulfatiazol en cantidades muy pequeñas, del orden de partes por billón. Se realizó el tratamiento matemático correspondiente (ver Anexo 8.4., pág 96) para determinar, de las condiciones experimentales estudiadas, cuáles de ellas nos ofrecen el mejor límite de detección para cuantificar el sulfatiazol. En la siguiente tabla se muestran los resultados de los límites de detección para cada caso:

**Tabla 13**  
**Límites de detección de los experimentos realizados para la cuantificación de sulfatiazol**

Electrolito soporte	Técnica polarográfica	Señal	Linealidad	Límite de detección	
				Molaridad	ppm
LiClO <sub>4</sub>	PDM	Oxidación 1	0.9916	$1.15 \times 10^{-5}$	<b>3.20</b>
		Oxidación 2	0.9806	$1.70 \times 10^{-4}$	<b>47.15</b>
LiClO <sub>4</sub>	PDM	Reducción	0.9511	$4.75 \times 10^{-5}$	<b>13.18</b>
LiClO <sub>4</sub>	PDI	Oxidación 1	0.8061	-----	-----
		Oxidación 2	0.9975	$3.11 \times 10^{-5}$	<b>8.61</b>
LiClO <sub>4</sub>	PDI	Reducción	0.9351	$3.61 \times 10^{-5}$	<b>10.02</b>
KNO <sub>3</sub> /HNO <sub>3</sub>	PDI	Reducción	0.9822	$1.66 \times 10^{-6}$	<b>0.46</b>

Según los datos presentados en la tabla 13, los mejores resultados se tienen al utilizar como electrolito soporte KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub> pues es el medio que nos da el mejor límite de detección, aunque la señal se encuentra muy pegada a la barrera y eso dificulta una mejor definición de ella. Por otra parte, si se trabajara un poco más con el LiClO<sub>4</sub> para perfeccionar el método se podrían tener mejores resultados, debido a que con estas condiciones se tiene una mejor linealidad y la señal se define mucho mejor, y quizás se pueda mejorar el límite de detección.



## EL CANTO DE LA MIEL

La miel es la epopeya del amor,  
la materialidad de lo infinito.  
Alma y sangre doliente de las flores  
condensada a través de otro espíritu.

Federico García Lorca, 1918

## 7. CONCLUSIONES

### 7.1. PRIMERA PARTE: ESTUDIO DE CALIDAD EN MUESTRAS DE MIEL

Ha sido posible establecer una metodología analítica rutinaria relativamente sencilla, rápida y económica para los análisis fisicoquímicos de calidad de la miel, la cual pretende ser accesible para los interesados en los estudios de calidad de la miel. Esta metodología, basada en la electroquímica, puede ser tomada en cuenta para substituir la propuesta por la *Norma Mexicana de Miel (NMX-F-036-NORMEX-2006)*, la cual necesita ser revisada y mejorada.

Los parámetros determinados en las muestras de miel para determinar su calidad han sido:

- ⊛ **HMF.**- Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI) con buffer de boratos (pH 10) como electrolito soporte, señal de reducción con  $E_{\text{pico}} \approx -1330$  mV; cuantificación por técnica de adiciones patrón.
- ⊛ **Azúcares reductores totales.**- Método de Lane-Eynon (reactivos A y B de Fehling, azul de metileno como indicador) y mediciones potenciométricas con electrodo indicador de cobre; cálculos de concentración por relación estequiométrica.
- ⊛ **Fructosa.**- Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI) con disolución de  $\text{CaCl}_2$  1 M como electrolito soporte, señal de reducción con  $E_{\text{pico}} \approx -1600$  mV; cuantificación por técnica de adiciones patrón.
- ⊛ **Glucosa.**- Diferencia entre la cantidad de azúcares reductores totales y la cantidad de fructosa.
- ⊛ **Humedad.**- Refractometría directa con corrección por temperatura.
- ⊛ **pH.**- Medición directa con pHmetro calibrado.
- ⊛ **Cenizas.**- Medición de la conductividad específica (técnica conductimétrica).

Para las 8 muestras de miel analizadas con la metodología propuesta se encontró lo siguiente:

- ✧ La muestra 5 no puede ser comercializada para consumo humano directo por su elevado contenido de HMF.
- ✧ Existe sospecha de adulteración con la muestra 1 debido a su alto contenido de HMF y su contenido especialmente elevado de azúcares reductores.
- ✧ Las demás muestras de miel son de buena calidad de acuerdo a los resultados de sus parámetros fisicoquímicos; las muestras 2, 3 y 4 son de excelente calidad y no han sido calentadas.
- ✧ Todas las muestras fueron deficientes en cuanto a su presentación por no portar un etiquetado adecuado, así como la utilización de envases no apropiados, es decir, ninguna cumple con la norma oficial de etiquetado (NOM-145-SCFI-2001).

En tiempo real, la metodología propuesta resulta muy rápida y sencilla, se puede llevar a cabo en unas cuantas horas de manera eficiente, logrando resultados importantes para los apicultores. Después de la cosecha y la extracción de la miel se podrían tomar diversas muestras y hacer los análisis fisicoquímicos con resultados inmediatos, con lo cual el productor conocería la calidad de su producto, sabría si es conveniente envasar de inmediato o debe esperar para disminuir la humedad, y podría elaborar un etiquetado adecuado con sustento analítico veraz.

## 7.2. SEGUNDA PARTE: ESTUDIO ELECTROQUÍMICO BÁSICO DE SULFATIAZOL

Respecto al estudio electroquímico fundamental del sulfatiazol, se puede concluir lo siguiente:

- ✧ Con la polarografía de muestreo se encontró que este compuesto presenta tres señales: una en reducción ( $E_{1/2} = -800 \text{ mV/Ref}_{\text{Ag/AgCl}}$ ) y dos en oxidación ( $E_{1/2} = -135 \text{ mV/Ref}_{\text{Ag/AgCl}}$  y  $E_{1/2} = 82.5 \text{ mV/Ref}_{\text{Ag/AgCl}}$ ).
- ✧ Las condiciones óptimas encontradas para obtener la mejor proporcionalidad y linealidad de la señal son las siguientes: perclorato de litio ( $\text{LiClO}_4$ ) 0.1 M o nitrato de potasio en ácido nítrico ( $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$ ) 0.1 M como electrolitos soporte, y electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo.
- ✧ La señal de oxidación únicamente apareció con  $\text{LiClO}_4$ . Ésta se desdobra en dos señales, una a concentraciones bajas y la otra a concentraciones mayores, tanto en PDM como en PDI. Este comportamiento podría explicarse por una adsorción del compuesto al electrodo favorecida a bajas concentraciones y por la presencia de un equilibrio químico del mismo compuesto a ciertas concentraciones; sin embargo, estas posibles explicaciones deberán ser comprobadas en trabajos de investigación posteriores.
- ✧ La señal de reducción aparece en los dos medios utilizados:  $\text{LiClO}_4$  0.1 M y  $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$ . Probablemente la reducción se debe al grupo sulfóxido ( $-\text{SO}_2$ ), y esta reducción puede estar acoplada con una reacción química sucesiva que involucraría rompimiento de enlace.
- ✧ El mejor límite de detección lo tuvo la señal de reducción (460 ppb) con el medio acuoso con  $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$  0.1 M como electrolito soporte y la polarografía PDI, aunque dicha señal tiene el inconveniente de encontrarse muy pegada a la barrera catódica.
- ✧ Aunque con estos resultados no sería posible cuantificar las cantidades de sulfatiazol en miel que exigen algunas normas (entre 25 y 50 ppb),<sup>24,29</sup> resulta un gran avance saber que puede detectarse y cuantificarse directamente el sulfatiazol por electroquímica.

### 7.3. PERSPECTIVAS

- † La metodología propuesta para realizar estudios de calidad de las mieles no es algo terminado. Deberán afinarse los detalles que surjan por su continua aplicación, además de seguir ampliándola con aquellas determinaciones que requiere la apicultura para tener un estudio de calidad de las mieles cada vez más completo. En particular, puede continuarse el trabajo para implementar la cuantificación específica de la glucosa y de la sacarosa; esto permitiría calificar la miel por el contenido específico de sus tres principales azúcares.
- † Con respecto a la electroquímica del sulfatiazol aquí estudiada, se tendría que trabajar en un futuro para mejorar la técnica o utilizar alguna otra. Si esto se lleva a cabo podrían lograrse mejores límites de detección, con lo cual entonces se harían pruebas de detección de sulfatiazol en muestras reales de miel y así continuar enriqueciendo el estudio de calidad de las mieles. En particular y conforme con otras investigaciones realizadas con estreptomicina en el mismo laboratorio, puede pensarse en polarografía adsortiva, que podría permitir bajar en unos dos órdenes de magnitud los límites de detección.
- † Además, será necesario trabajar en la identificación y cuantificación de otros acaricidas empleados comúnmente.
- † En el análisis de miel es importante también considerar el origen floral de la miel, que se basa actualmente en el estudio palinológico.
- † Una amplia perspectiva se abre al considerar los otros productos apícolas: jalea real, propóleo y cera.



San Ambrosio, un obispo de Milán y una figura eclesiástica importante en el siglo IV, fue ungido como el santo patrón de la apicultura. Extrañamente, Ambrosio escribió extensamente acerca de las abejas y la virginidad, y dos de sus más famosos pasajes se presentan a continuación:

*“Permite, entonces, que tu trabajo sea como si fuera un panal, para la virginidad es apropiado compararlo con las abejas, por lo laborioso que es, lo modesto, lo que se contiene. La abeja se alimenta del rocío, no conoce el sofá matrimonial, ella hace miel...”*

*“Cómo deseo que tú, mi hija, imites a las abejas, cuyo alimento es de flores, cuyos hijos son tomados y reunidos por la boca...”*



***San Ambrosio – el santo patrón de las abejas, representado con una colmena***

## 8. ANEXOS

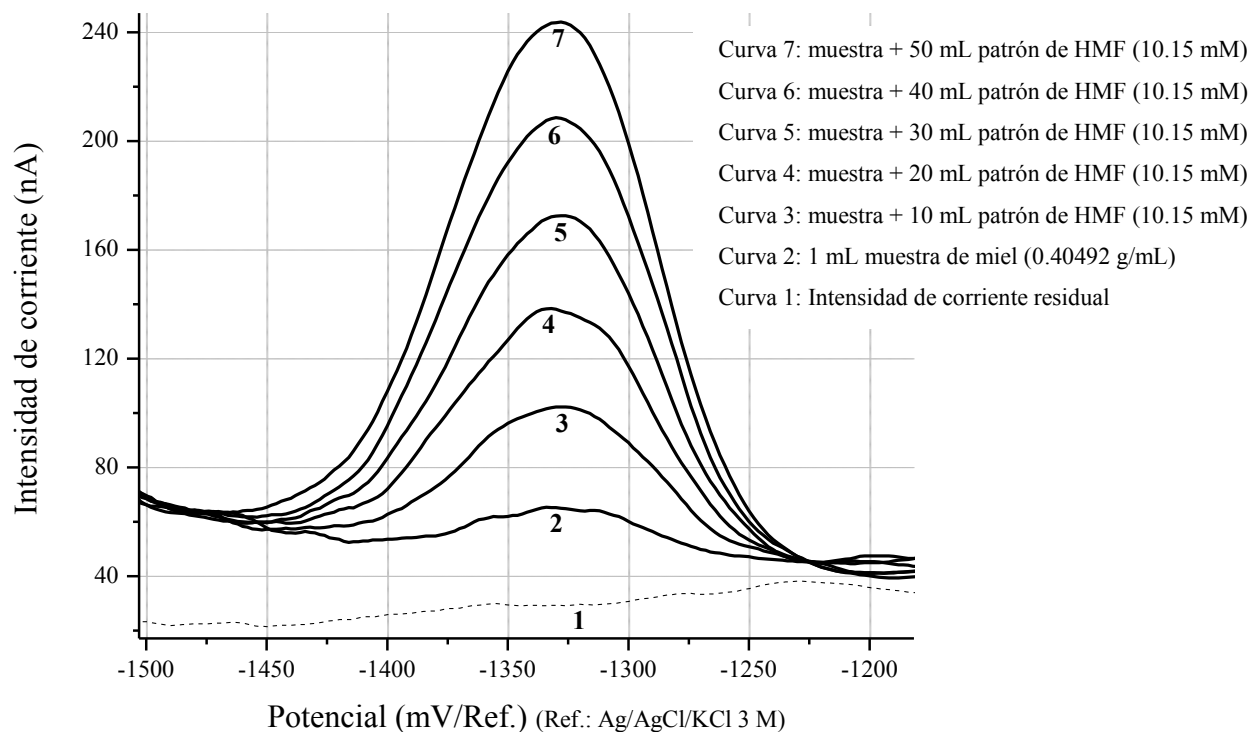
### 8.1. CÁLCULOS DE LA CONCENTRACIÓN DE HMF EN LA MIEL

Para la determinación de HMF en las muestras de miel se utilizó el método de adiciones patrón. Este método consistió en ir agregando diferentes volúmenes de una disolución patrón de HMF preparada a una determinada concentración, a cierta cantidad de una muestra de miel de la que se quiere cuantificar el contenido de HMF. Para esto se trazó un polarograma de intensidad de corriente contra potencial con el método de polarografía diferencial de impulsos, que incluye la señal de corriente residual, la señal de la muestra de miel y las señales de los distintos volúmenes del patrón de HMF. De este polarograma se obtuvieron las corrientes máximas o de pico al potencial donde se presenta la señal de reducción del HMF de las curvas de la muestra y los volúmenes de la disolución patrón, y a cada corriente máxima se le restó el valor de corriente residual a ese potencial para tener el valor real de corriente de las señales. Con esos valores de corriente máxima corregidos se construyó la gráfica de *corriente de pico contra concentración* (también puede ser cantidad) de HMF: a esta gráfica se le conoce como **curva de adiciones patrón** de HMF, y de ella se obtuvo la ecuación de la recta.

Finalmente, con el cociente de la ordenada al origen y la pendiente de la recta se determinó la cantidad de HMF que tiene la miel.

La figura 17 (siguiente página) es el tipo de gráficas que se obtienen para la señal de reducción del HMF con la polarografía de diferencial de impulsos, y en este caso el polarograma corresponde a la muestra 1 de miel:

### Polarograma por diferencial de impulsos de la muestra 1 de miel con adiciones del patrón de HMF



**Figura 17**

Barrido de potencial de  $-700$  a  $-1600$  mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s. Potencial de pico:  $-1330$  mV aproximadamente

Para la construcción de la curva de adiciones patrón de HMF y el cálculo de la cantidad de HMF presente originalmente en la muestra de miel, se realizó el procedimiento enseguida detallado.

En la disolución de la muestra de miel se tienen 10.1230 g de miel en 25 mL, así pues por cada mL hay 0.40492 g de miel, que es el volumen de disolución de miel agregado a la celda para la determinación. Si después, cada volumen de disolución patrón de HMF agregado a la celda se convierte a masa ( $m$ ) en términos de  $\mu\text{g}$  de HMF (multiplicando el volumen en  $\mu\text{L}$  de la disolución por la concentración de la disolución patrón de HMF con unidades Molaridad =

$\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ , y ese resultado se multiplica por la masa molar del HMF igual a  $126.11 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$ ), resulta la siguiente expresión:

$$m_{HMF} = V_{\text{diso ln. patrón HMF}} (\mu\text{L}) \times \left( 1.015 \times 10^{-2} \frac{\mu\text{mol}_{HMF}}{\mu\text{L}_{\text{diso ln. HMF}}} \right) \times 126.11 \frac{\mu\text{g}_{HMF}}{\mu\text{mol}_{HMF}}$$

$$m_{HMF} = \left[ V_{\text{diso ln. patrón HMF}} \right] \times \left[ 1.015 \times 10^{-2} \right] \times 126.11 \mu\text{g}_{HMF}$$

Y si cada una de esas masas de HMF se divide entre la masa de la miel contenida en el volumen de la disolución de miel que se añadió a la celda (en este caso se adicionó a la celda 1 mL de la disolución de miel, por tanto en la celda hay 0.40492 g de miel), se obtiene la cantidad de HMF que se fue añadiendo a la muestra de miel en la celda como partes por millón:

$$HMF_{\text{añadido a la miel}} = \frac{\left[ V_{\text{diso ln. patrón HMF}} \right] \times \left[ 1.015 \times 10^{-2} \right] \times 126.11 \mu\text{g}_{HMF}}{0.40492 \text{ g}_{\text{miel}}}$$

Para un volumen de  $10 \mu\text{L}$  de disolución patrón de HMF agregado:

$$HMF_{\text{añadido a la miel}} = \frac{\left[ 10 \times \left[ 1.015 \times 10^{-2} \right] \times 126.11 \right] \mu\text{g}_{HMF}}{0.40492 \text{ g}_{\text{miel}}} = 31.61 \frac{\mu\text{g}_{HMF}}{\text{g}_{\text{miel}}} = 31.61 \text{ ppm}$$

Con el procedimiento antes descrito, aplicado para cada volumen de la disolución patrón de HMF agregado a la celda, y los valores de intensidad de corriente de la señal de reducción del HMF para cada uno de esos volúmenes, se pudo construir el siguiente cuadro:

**Tabla 14**

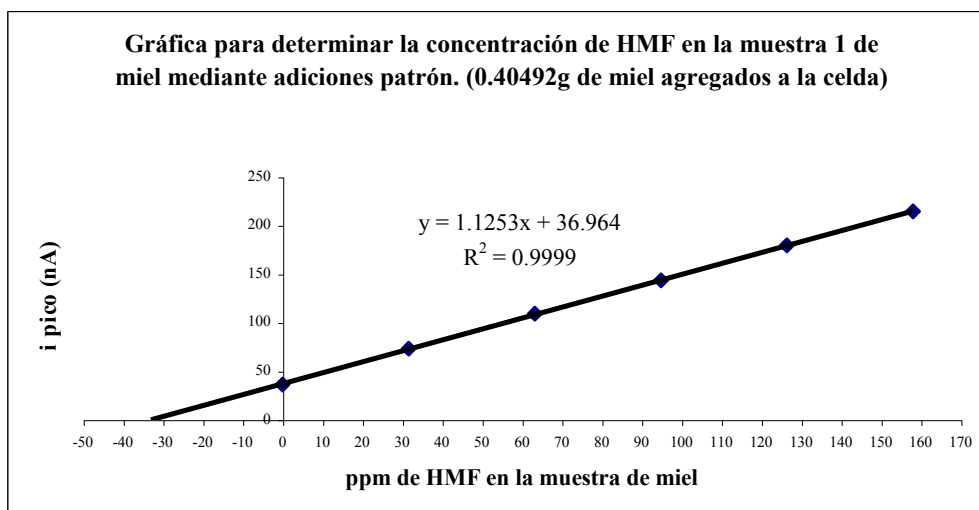
**Valores de intensidad de corriente (i) de la señal dada por la reducción del HMF. Las cantidades de HMF en celda se encuentran en partes por millón (ppm)**

Disolución patrón de HMF				
V agregado (μL)	Ep* de la señal (mV)	m (μg)	ppm	i (nA) sin residual**
0	-1334	0	0	36.083
10	-1326	12.800	31.612	73.036
20	-1332	25.600	63.223	109.122
30	-1326	38.400	94.835	143.325
40	-1330	51.201	126.446	179.315
50	-1328	64.001	158.058	214.478

\*Ep corresponde al potencial de pico que presenta la señal de reducción del HMF

\*\*Residual = 29.233 nA (-1330 mV)

Con los datos del cuadro anterior se obtuvo la siguiente gráfica (gráfica 16), que corresponde a la curva de adiciones patrón de HMF, con la cual se obtienen los datos necesarios para calcular la cantidad de HMF que ya poseía inicialmente la muestra de miel antes de ir agregando el HMF patrón:



**Gráfica 16**

Potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente (corriente máxima o de pico): alrededor de -1330 mV

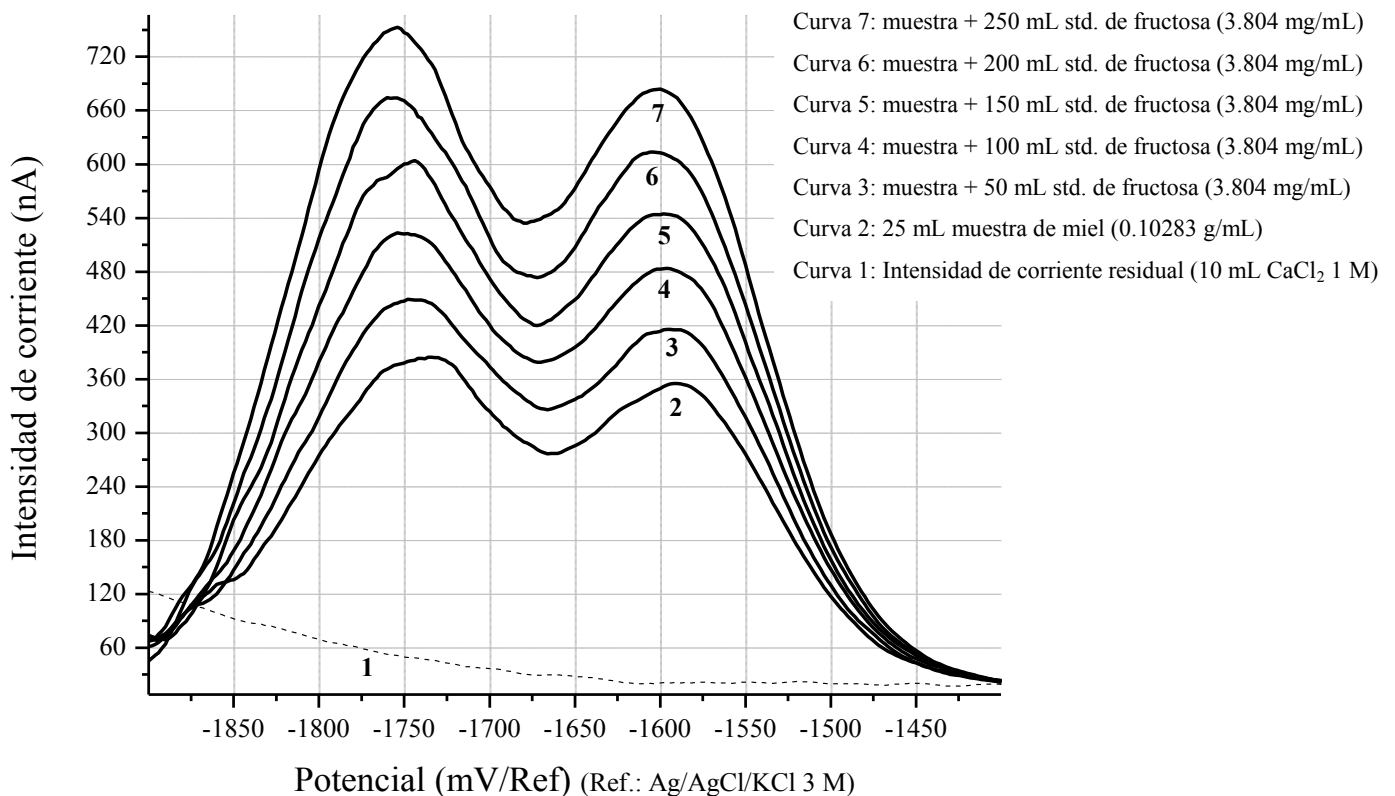
Del cociente de la ordenada al origen y la pendiente que resultan de la regresión lineal de la curva patrón de HMF se obtienen la cantidad de HMF proveniente de la miel, expresada en partes por millón:

$$\text{HMF}_{\text{proviene de la miel}} = (36.964/1.1253) = 32.85 \text{ ppm}$$

## 8.2. CÁLCULOS DE LA CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSA EN LA MIEL

Para el cálculo de la fructosa en la miel se utilizó igualmente el método de adiciones patrón. En la figura 18 se muestra la gráfica típica de la señal de reducción de la fructosa, de la que se extraen los datos de intensidad de corriente de pico al potencial donde aparece la reducción de la fructosa. Los valores de corriente que se toman son los de la primera señal (la que aparece alrededor de  $-1600$  mV), porque es la que presenta una mejor linealidad; la segunda señal también podría considerarse para las determinaciones cuantitativas de fructosa.

### Polarograma por diferencial de impulsos de la muestra 1 de miel con adiciones del patrón de fructosa



**Figura 18**

Barrido de potencial de  $-1300$  a  $-1900$  mV, con una velocidad de barrido de 2 mV/s. Potencial de pico:  $-1600$  mV aproximadamente

La disolución patrón de fructosa que se preparó tiene una concentración de  $3.804 \times 10^{-3}$  g/mL ( $2.112 \times 10^{-2}$  M; la masa molar de la fructosa se tomó como 180.16 g/mol). Si cada volumen de

disolución patrón agregado a la celda se multiplica por la concentración de la disolución expresada en mg/ $\mu$ L, y además se multiplica por 1000, se tiene la cantidad de fructosa que se fue añadiendo a la muestra de miel en la celda en términos de  $\mu$ g:

$$Fructosa_{añadida\ a\ la\ miel} = V_{diso\ ln.\ patrón\ Fructosa} (\mu L) \times \left( 3.805 \times 10^{-3} \frac{mg_{Fructosa}}{\mu L_{diso\ ln.\ Fructosa}} \right) \times \left( \frac{1000 \mu g}{1 mg} \right)$$

$$Fructosa_{añadida\ a\ la\ miel} = V_{diso\ ln.\ patrón\ Fructosa} \times 3.804 \mu g_{Fructosa}$$

Para un volumen de 50  $\mu$ L de disolución patrón de fructosa agregado:

$$Fructosa_{añadida\ a\ la\ miel} = 50 \times 3.804 \mu g_{Fructosa} = 190.2 \mu g_{Fructosa}$$

De acuerdo con lo anterior, con cada volumen del patrón de fructosa añadido a la muestra de miel se mide la corriente de pico resultante y se tiene la siguiente tabla:

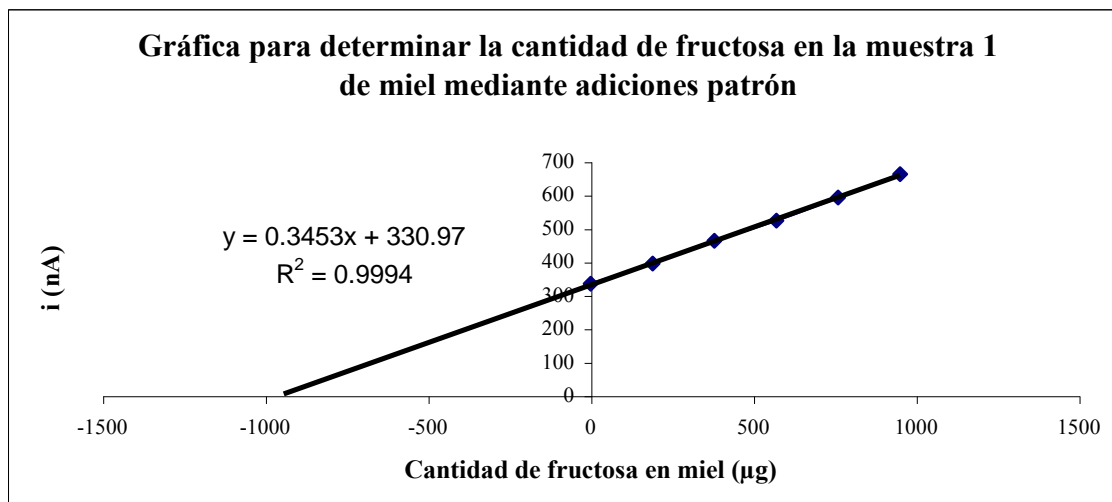
**Tabla 15**  
**Valores de intensidad de corriente (i) de la señal dada por la reducción de la fructosa.**  
**Las cantidades de fructosa agregada en celda se encuentran en  $\mu$ g**

Disolución patrón de fructosa				
V agregado ( $\mu$ L)	Ep* de la señal (mV)	m ( $\mu$ g)	i (nA)	i (nA) sin residual**
0	-1592	0	355.092	334.285
50	-1596	190.2	415.468	394.661
100	-1596	380.4	483.544	462.737
150	-1598	570.6	544.424	523.617
200	-1604	760.8	613.619	592.812
250	-1600	951	683.821	663.014

\*Ep corresponde al potencial de pico que presenta la señal de reducción de la fructosa

\*\*Residual = 20.807 nA (-1598 mV)

Con los datos de la tabla anterior (tabla 15) se construyó la curva de adiciones patrón de fructosa, de i (nA) sin residual contra la cantidad de fructosa ( $\mu$ g) agregada, para obtener la pendiente y la ordenada al origen:



**Gráfica 17**

Potencial al cual se hicieron las mediciones de corriente (corriente máxima o de pico): alrededor de -1600 mV

Del cociente de la ordenada al origen y la pendiente de la regresión lineal de la curva de adiciones patrón se obtiene la cantidad de fructosa en µg que originalmente tiene la miel:

$$\text{Fructosa}_{\text{proveniente de la miel}} = (330.97/0.3453) = 958.4998 \mu\text{g}$$

Para preparar la disolución de miel se pesaron 1.0283 g de miel y se aforaron a 10.0 mL con agua desionizada, por lo tanto en cada mL de disolución de miel se tienen 0.10283 g de miel. De esta disolución se añadieron a la celda 25 µL, por lo cual la cantidad de miel en la celda es de 2570.75 µg:

$$\text{Cantidad de miel en celda} = (25 \times 10^{-3} \text{ mL})(0.10283 \text{ g/mL}) = 2.5705 \times 10^{-3} \text{ g} = 2570.75 \mu\text{g}$$

Finalmente, el porcentaje de fructosa que tiene la miel se calculó dividiendo la cantidad de fructosa proveniente de la miel entre la cantidad de miel que se colocó en la celda, multiplicado por 100:

$$\% \text{ Fructosa}_{\text{proveniente de la miel}} = (958.4998 \mu\text{g}/2570.75 \mu\text{g})100 = 37.29 \%$$

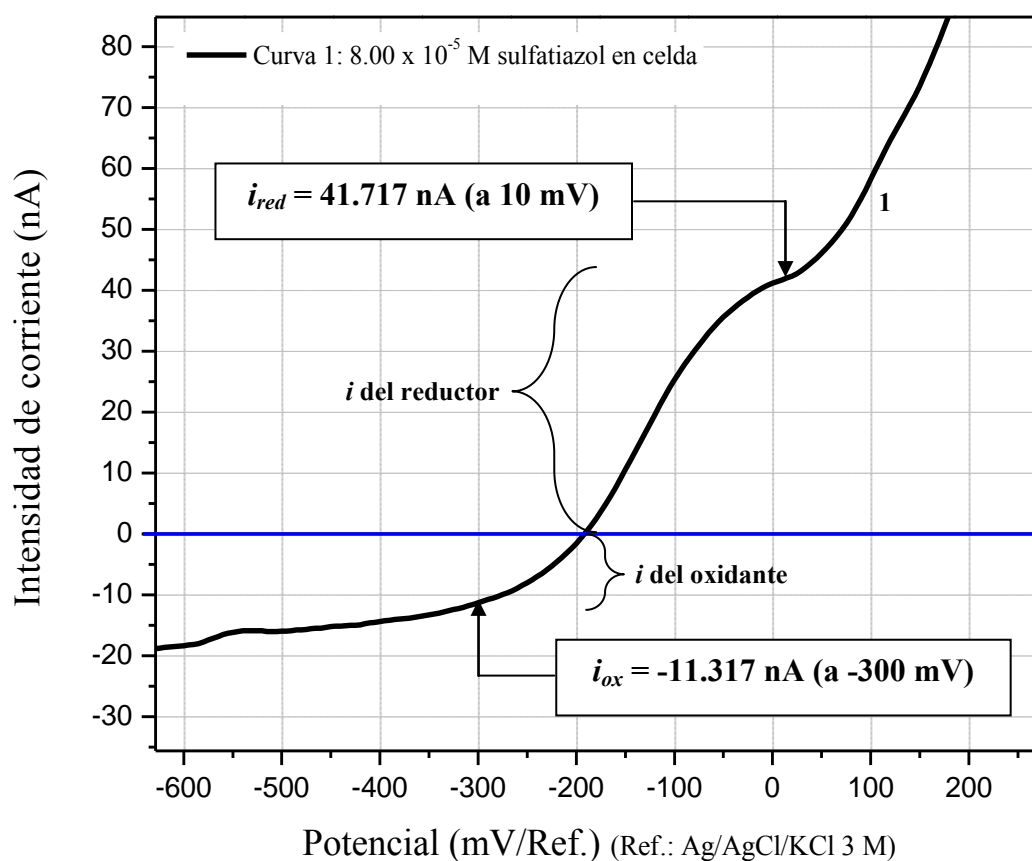


### 8.3. DETERMINACIÓN DE LOS POTENCIALES DE MEDIA ONDA ( $E_{1/2}$ ) Y DE PICO ( $E_{pico}$ ) EN EL ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DEL SULFATIAZOL

#### 8.3.1. Potencial de media onda ( $E_{1/2}$ ).

Para determinar el potencial de media onda tanto de las oxidaciones como de las reducciones del sulfatiazol, se utilizaron los polarogramas obtenidos con la polarografía de muestreo (PDM). En estos polarogramas, que son curvas de intensidad de corriente en función del potencial, se ubicaron los saltos de corriente correspondientes ya sea a la oxidación o a la reducción. En la siguiente figura se presenta una curva polarográfica de la primera señal de oxidación del sulfatiazol con  $\text{LiClO}_4$  0.1M como electrolito soporte en PDM:

**Polarograma de la primera señal de oxidación de sulfatiazol 0.01 M en  $\text{LiClO}_4$  0.1 M**



**Figura 19**

De la teoría se sabe que estos *saltos* u *ondas polarográficas* tienen un comportamiento que está expresado por la siguiente ecuación (a 25 °C) para sistemas sencillos:

$$E_i = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left[ \frac{i - i_{ox}}{i_{red} - i} \right]$$

donde:

$E_i$ : potencial instantáneo de la onda polarográfica

$E_{1/2}$ : potencial de media onda

$n$ : número de electrones intercambiados en la reacción

$i$ : intensidad de corriente instantánea

$i_{ox}$ : intensidad de corriente límite del oxidante

$i_{red}$ : intensidad de corriente límite de reductor

Esta ecuación es aplicable tanto a procesos de reducción o catódicos como a procesos de oxidación o anódicos, si  $i_{red} = 0$  o  $i_{ox} = 0$ , respectivamente. Para estos dos procesos la ecuación toma las siguientes formas:

Proceso catódico:

$$E_i = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left[ \frac{i - i_{ox}}{-i} \right]$$

Proceso anódico:

$$E_i = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left[ \frac{i}{i_{red} - i} \right]$$

La ecuación de la onda polarográfica se puede relacionar con la ecuación de una recta si se grafica el potencial contra el  $\log[(i-i_{ox})/(i_{red}-i)]$ , quedando entonces la relación de la siguiente manera:

$$\begin{array}{c}
 \underbrace{E_i}_{Y} = \underbrace{E_{1/2}}_b + \underbrace{\frac{0.0591}{n}}_m \times \underbrace{\log \left[ \frac{i - i_{ox}}{i_{red} - i} \right]}_X \\
 \updownarrow \qquad \updownarrow \qquad \updownarrow \qquad \updownarrow \\
 \text{Variable} = \text{ordenada} \\
 \text{dependiente} \quad \text{al origen} + (\text{pendiente} \times \text{Variable independiente})
 \end{array}$$

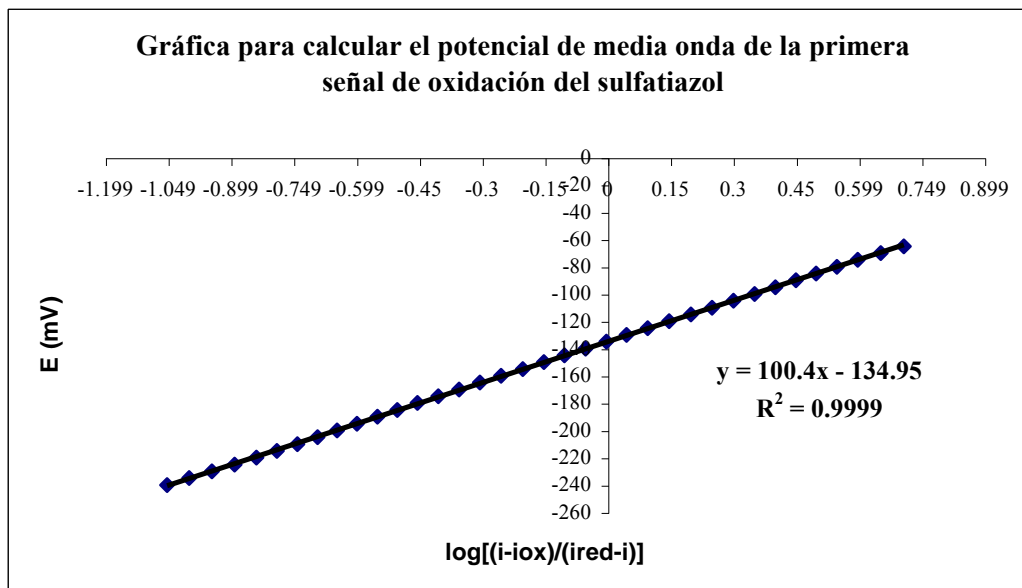
A partir de la figura 19 se obtienen los datos necesarios para determinar el potencial de media onda de la primera oxidación del sulfatiazol en el medio LiClO<sub>4</sub> 0.1 M. En esta figura se puede observar que esta primera oxidación del sulfatiazol presenta corrientes límite tanto del reductor (corrientes positivas) como del oxidante (corrientes negativas). Por lo tanto deberá usarse la ecuación completa, o sea, aquella cuyo término logarítmico contiene las dos corrientes límite.

Del polarograma de la figura 19 se tomaron los valores de la intensidad de corriente límite del reductor ( $i_{red}$ ), de la intensidad de corriente límite del oxidante ( $i_{ox}$ ) y de las intensidades de corriente instantáneas de oxidación y reducción de la zona logarítmica. En la siguiente tabla se muestran los resultados, obtenidos a partir de los valores de corriente anteriores, que son necesarios para la ecuación que expresa el comportamiento de la onda polarográfica de la primera oxidación del sulfatiazol:

**Tabla 16**  
**Parámetros de la ecuación de la onda polarográfica correspondiente a la primera señal de oxidación del sulfatiazol. Los valores forman parte de la zona logarítmica de la onda**

E (mV)	$i$ (nA)	$(i-i_{ox})/(i_{red}-i)$	$\log[(i-i_{ox})/(i_{red}-i)]$	E (mV)	$i$ (nA)	$(i-i_{ox})/(i_{red}-i)$	$\log[(i-i_{ox})/(i_{red}-i)]$
-240	-6.99	0.0889	-1.0513	-150	10.60	0.7045	-0.1521
-235	-6.48	0.1004	-0.9984	-145	12.06	0.7881	-0.1034
-230	-5.90	0.1137	-0.9444	-140	13.59	0.8852	-0.0530
-225	-5.27	0.1287	-0.8903	-135	15.10	0.9923	-0.0034
-220	-4.60	0.1450	-0.8387	-130	16.58	1.1095	0.0451
-215	-3.91	0.1624	-0.7894	-125	18.09	1.2449	0.0951
-210	-3.16	0.1819	-0.7402	-120	19.63	1.4009	0.1464
-205	-2.36	0.2031	-0.6922	-115	21.16	1.5802	0.1987
-200	-1.54	0.2261	-0.6456	-110	22.61	1.7751	0.2492
-195	-0.63	0.2523	-0.5981	-105	24.02	1.9973	0.3004
-190	0.35	0.2822	-0.5495	-100	25.36	2.2430	0.3508
-185	1.38	0.3147	-0.5020	-95	26.62	2.5117	0.4000
-180	2.48	0.3515	-0.4541	-90	27.80	2.8114	0.4489
-175	3.68	0.3943	-0.4041	-85	28.91	3.1412	0.4971
-170	4.94	0.4422	-0.3544	-80	30.00	3.5250	0.5472
-165	6.26	0.4957	-0.3048	-75	31.01	3.9536	0.5970
-160	7.64	0.5562	-0.2548	-70	32.04	4.4816	0.6514
-155	9.13	0.6275	-0.2024	-65	33.00	5.0866	0.7064

Con los datos de la tabla anterior se construyó la gráfica de *potencial vs.  $\log[(i-i_{ox})/(i_{red}-i)]$*  para determinar, a partir de ella, la ecuación de la recta relacionada con la regresión lineal de los puntos:



**Gráfica 18**

De la gráfica 18 se obtiene entonces el potencial de media onda ( $E_{1/2}$ ) para la primera señal de oxidación del sulfatiazol en  $\text{LiClO}_4$  0.1 M:

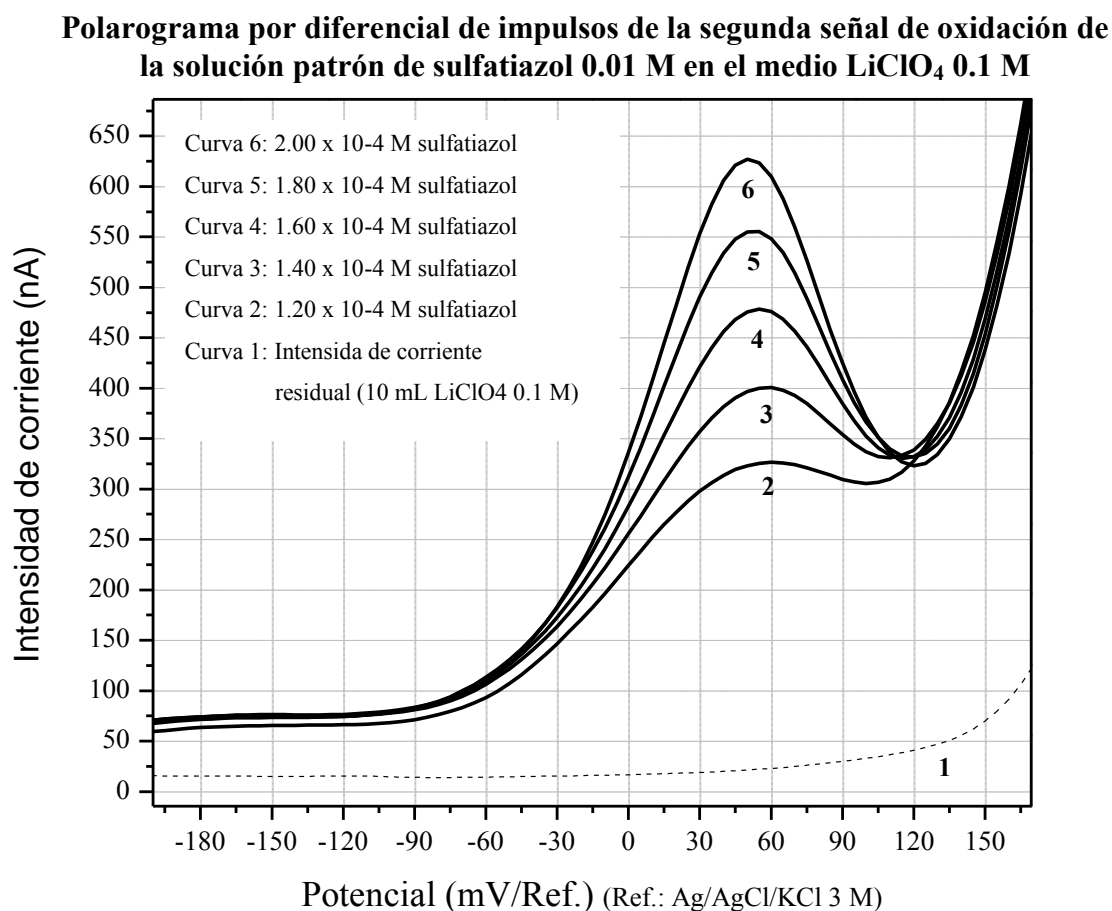
$$E_{1/2} = \text{ordenada al origen} = -134.95 \text{ mV} \approx -135 \text{ mV}$$

### 8.3.2. Potencial de pico ( $E_{pico}$ ).

Los potenciales de pico de las señales tanto de reducción como de oxidación del sulfatiazol, se determinaron a partir de las mediciones que realiza el programa de computadora con el que trabaja el polarógrafo utilizado (*Polarógrafo Radiometer Analytical MDE 150*), al emplear la polarografía diferencial de impulsos (PDI). Este programa puede dar directamente el valor de la corriente de pico ( $i_{pico}$ ) y el potencial de pico ( $E_{pico}$ ).

#### 8.4. CÁLCULOS PARA LA LINEALIDAD Y EL LÍMITE DE DETECCIÓN DE LA SEÑAL ELECTROQUÍMICA DEL SULFATIAZOL

Como ejemplo para los cálculos de linealidad y límite de detección, se tomaron los resultados del estudio electroquímico del sulfatiazol en los que se utilizó como electrolito soporte el perclorato de litio ( $\text{LiClO}_4$ ) y la técnica polarográfica de diferencial de impulsos. En la figura 20 se muestra a modo de ejemplo una parte del polarograma diferencial de impulsos con las adiciones de sulfatiazol (diferentes concentraciones de sulfatiazol en celda):



**Figura 20**  
**Segunda señal de oxidación del sulfatiazol**  
Barrido de potencial de  $-2000$  a  $300$  mV, con una velocidad de barrido de  $5$  mV/s.  
Potencial de pico aproximado de la señal de oxidación:  $50$  mV

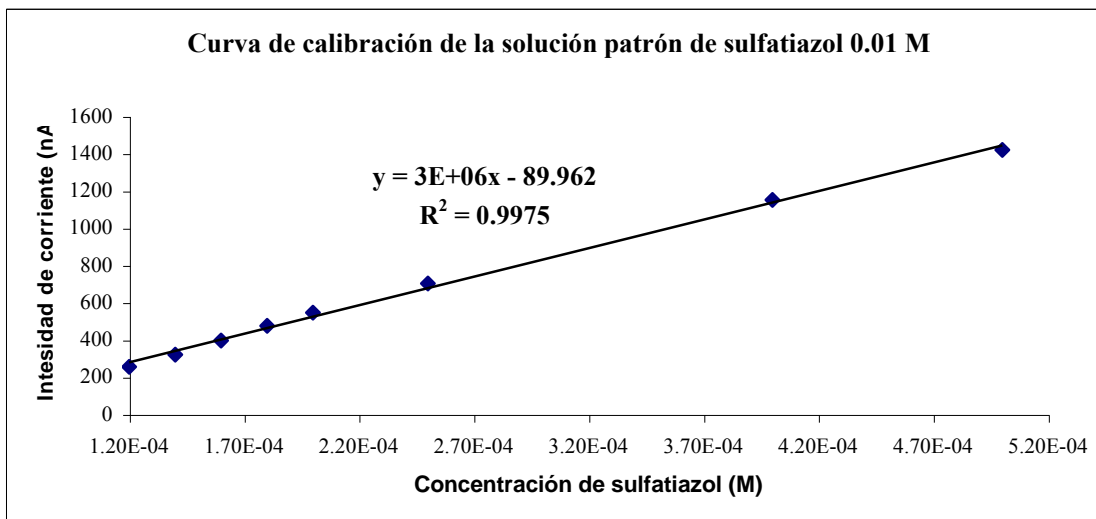
El potencial al cual se tienen las corrientes de pico de la segunda señal de oxidación del sulfatiazol se encuentra alrededor de  $+50$  mV, con excepción de las señales dobles (señal de

oxidación desdoblada) que se ven más alejadas de este potencial. En la tabla siguiente (tabla 17) se muestran las intensidades de corriente correspondientes a las concentraciones de sulfatiazol en la celda que sirven para trazar la curva de calibración del sulfatiazol (gráfica 19):

**Tabla 17**  
**Valores de intensidad de corriente (i) de la segunda señal de oxidación del sulfatiazol por PDI (disolución fuente de sulfatiazol: 0.01 M)**

V <sub>Sulfatiazol</sub> (μL)	[Sulfatiazol] <sub>celda</sub> (M)	Ep* (mV)	i (nA)
0	0	0	0
120	1.20E-04	60	254
140	1.40E-04	60	320
160	1.60E-04	55	395
180	1.80E-04	50	474
200	2.00E-04	50	546
250	2.50E-04	45	702
400	4.00E-04	30 y 110	1151
500	5.00E-04	25 y 105	1420

\*Ep corresponde al potencial de pico que presenta la señal de oxidación del sulfatiazol



**Gráfica 19**

A partir de la curva de calibración del sulfatiazol obtenemos la ecuación de la recta que corresponde a la regresión lineal de los puntos graficados. La linealidad del método está dado por el coeficiente de correlación (la máxima linealidad se da cuando  $R^2 = 1$ ):

$$y = 3 \times 10^6 x - 89.962$$

$$R^2 = 0.9975$$

$$n = 8$$

$y$ : Intensidad de corriente experimental ( $i_{exp}$ )  
 $x$ : Concentración en la celda del sulfatiazol añadido ( $c_{exp}$ )  
 $R^2$ : coeficiente de correlación de la recta  
 $n$ : Número de datos experimentales

**Linealidad del método = 0.9975**

Para calcular el límite de detección (la menor concentración de sustancia que puede detectarse) se utilizan las siguientes fórmulas:

$$S_{i/c} = \{ [\Sigma(i_{exp} - i_{calc})^2] / (n-2) \}^{1/2}$$

$$i_{calc} = c_{exp} \times m + b$$

$$LDD = 3S_{i/c} / m$$

$S_{i/c}$ : Desviación estándar de la recta  
 $i_{exp}$ : Intensidad de corriente experimental  
 $c_{exp}$ : Concentración en la celda del sulfatiazol añadido  
 $m$ : pendiente de la ecuación de linealidad  
 $b$ : Ordenada de la ecuación de linealidad  
 LDD: Límite de detección de las concentraciones

Los resultados de las fórmulas anteriores para nuestro ejemplo se sintetizan en la tabla 18:

**Tabla 18**  
**Valor del límite de detección de la concentración de sulfatiazol en molaridad (M) y partes por millón (ppm) por PDI en LiClO<sub>4</sub>**

c <sub>exp</sub> (M)	i <sub>exp</sub> (nA)	i <sub>calc</sub> (nA)	(i <sub>exp</sub> - i <sub>calc</sub> ) <sup>2</sup>	S <sub>i/c</sub>	Límite de detección (LDD)	
					M	ppm
1.20E-04	254	270.038	257.217	31.059	3.11 × 10 <sup>-5</sup>	<b>8.61</b>
1.40E-04	320	330.038	100.761			
1.60E-04	395	390.038	24.621			
1.80E-04	474	450.038	574.177			
2.00E-04	546	510.038	1293.265			
2.50E-04	702	660.038	1760.809			
4.00E-04	1151	1110.038	1677.885			
5.00E-04	1420	1410.038	99.241			

$$n = 8$$

$$b = 89.962$$

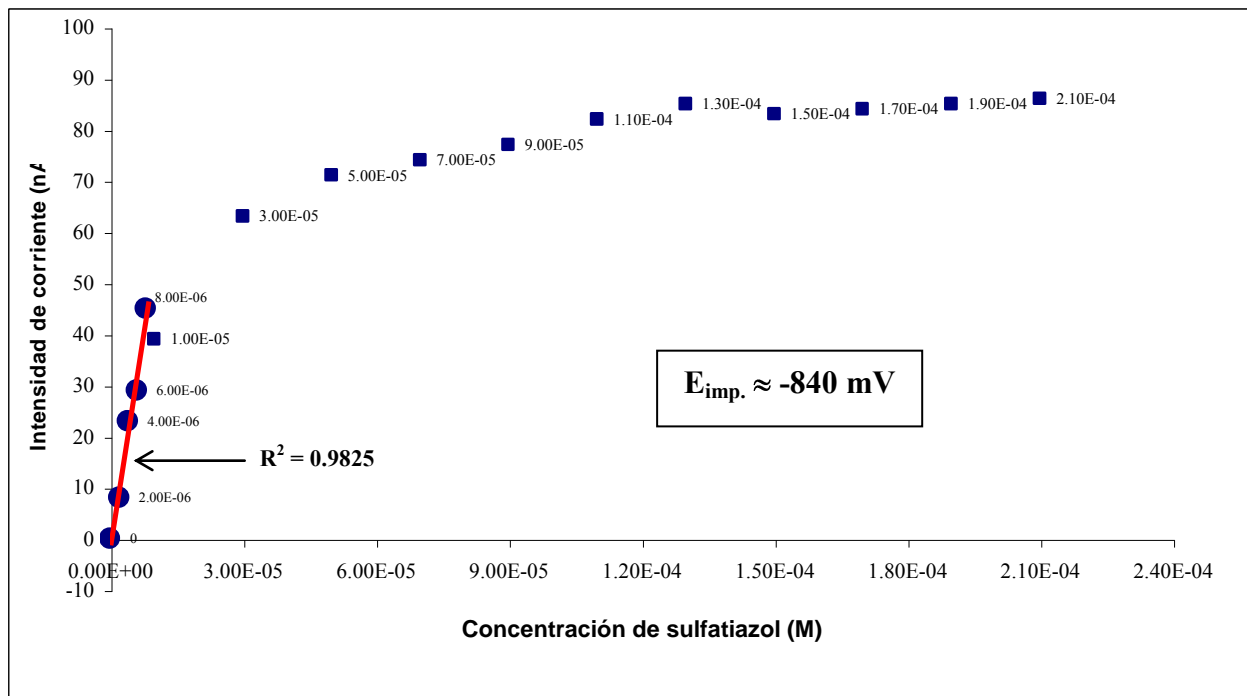
$$m = 3.00E+06$$

$$\Sigma = 5787.980$$

## 8.5. PROBLEMAS CON LA DEFINICIÓN DE LA SEÑAL DE REDUCCIÓN DEL SULFATIAZOL EN EL MEDIO KNO<sub>3</sub>/HNO<sub>3</sub>

En el apartado 6.2.3.2. (pág. 78) se estudió la señal de reducción que presenta el sulfatiazol con el medio de nitrato de potasio en ácido nítrico 0.1 M utilizando la polarografía diferencial de impulsos. Se vio que esta señal crece proporcionalmente conforme aumenta la concentración de sulfatiazol en un intervalo de  $1 \times 10^{-6}$  M a  $8 \times 10^{-6}$  M, y este crecimiento tiene una tendencia lineal. Sin embargo, esta linealidad se pierde cuando la concentración de sulfatiazol está por encima de  $8 \times 10^{-6}$  M (ver gráfica 20).

**Gráfica de intensidad de corriente contra concentración de sulfatiazol. Señal de reducción con PDI, de concentraciones  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-4}$  M de sulfatiazol**

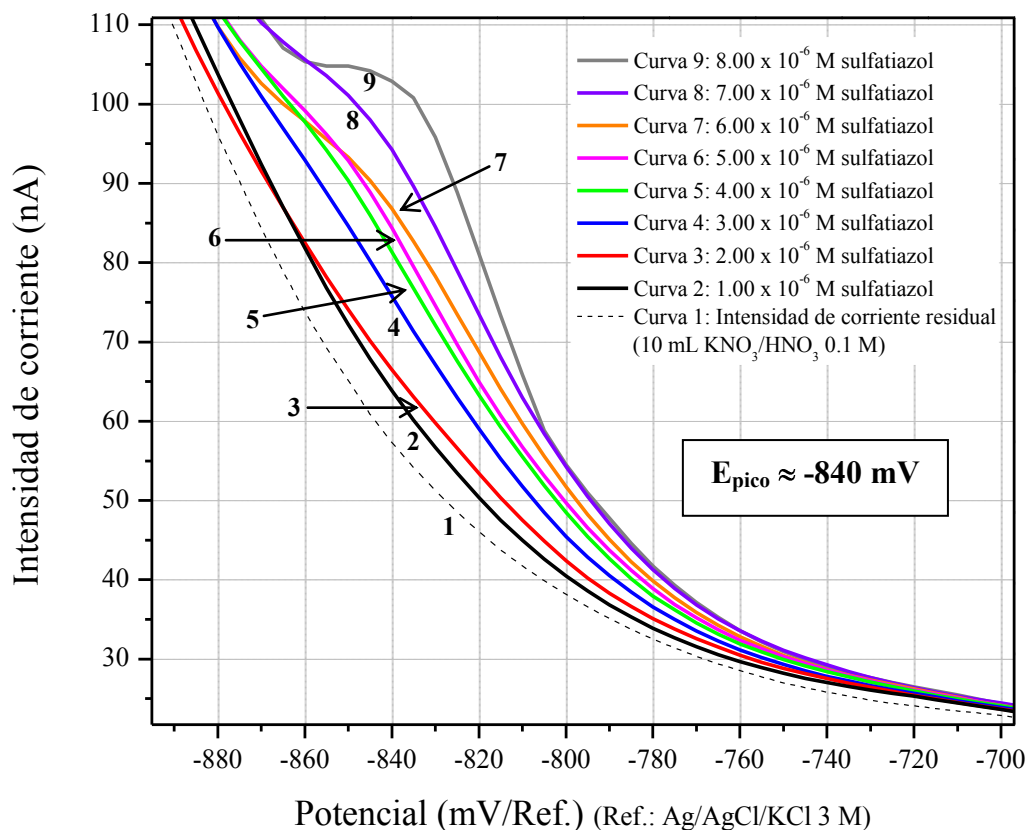


*Gráfica 20*



Si se observa la figura 21 (ver más abajo) tomada del apartado antes mencionado, se demuestra que la señal aparece muy pegada a la barrera catódica, lo cual implica un problema en la definición de la señal. Esto puede explicar el porqué decae la señal cuando va aumentando la concentración de sulfatiazol de  $1 \times 10^{-5}$  M hasta  $2.1 \times 10^{-4}$  M (gráfica 20, página anterior), pues probablemente la señal se va desplazando hacia potenciales más negativos, lo cual ocasiona que se acerque cada vez más a la barrera y se pierda en ella, o bien puede indicar un fenómeno de adsorción al electrodo.

**Señal de reducción en polarografía diferencial de impulsos de la solución estándar de sulfatiazol 0.001 M en el medio acuoso de  $\text{KNO}_3/\text{HNO}_3$  0.1 M**



**Figura 21**

**Señal de reducción del sulfatiazol**

Polarograma trazado con las siguientes condiciones: Técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI).  
Barrido de potencial de -1250 a 430 mV, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.  
Potencial de pico aproximado de la señal de reducción: -840 mV



*“Nada se parece más al alma que la abeja,  
que vuela de flor en flor como el alma de  
estrella en estrella, ella trae a casa la miel  
como el alma la luz.”*

*Victor Hugo*

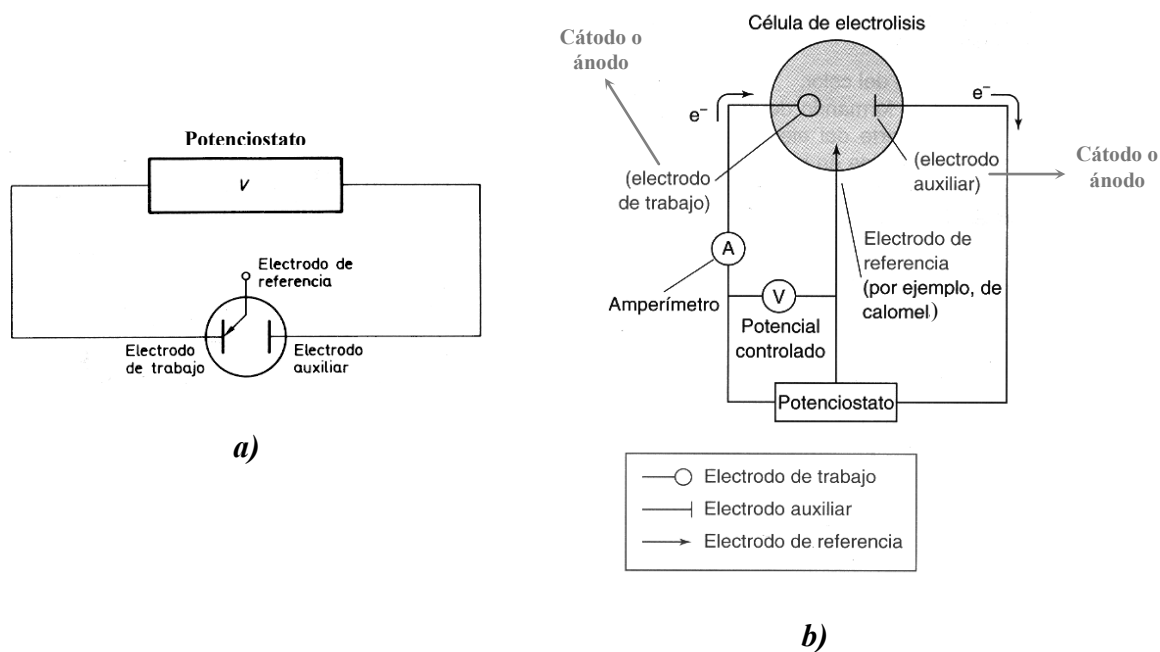
## 8.6. FUNDAMENTOS DE ELECTROQUÍMICA Y ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO<sup>40-43</sup>

La electroquímica es una rama de la química analítica que estudia la relación entre la transformación química y la electricidad. Aunque la electroquímica involucra a todo fenómeno eléctrico que implique materia, su enfoque está en el estudio de los procesos que tienen lugar en unos electrodos, los cuales forman parte de un circuito eléctrico como conductores; a estos procesos se les conoce como *procesos electródicos*.

A diferencia de las reacciones químicas conocidas como redox, en las cuales se intercambian uno o más electrones entre dos especies contenidas en una disolución, las reacciones electroquímicas involucran una transferencia de electrones del reductor al oxidante a través de un par de electrodos conectados mediante un conjunto externo de circuitos. El reductor transfiere los electrones a un electrodo (el ánodo) mientras que, para mantener un equilibrio eléctrico total, un número igual de electrones debe pasar de dicho electrodo al alambrado externo. Simultáneamente, el otro electrodo (el cátodo) cede un número igual de electrones al oxidante. Esto constituye un circuito eléctrico completo, en donde el oxidante y el reductor no se encuentran en contacto directo mutuo, sino que el circuito se completa mediante los iones que se mueven a través de una disolución en la cual están sumergidos los electrodos.

Para poder realizar análisis electroquímicos se requiere de un dispositivo experimental que está constituido por un sistema electródico (ver figura 22, pág 102), un circuito eléctrico exterior y un aparato de medida. El sistema electródico consiste fundamentalmente en dos electrodos dispuestos en una celda y conectados al circuito eléctrico externo. Sin embargo, debido al paso de corriente por la disolución, se presenta una caída óhmica de potencial en la disolución, la cual depende de la resistencia de la disolución entre los dos electrodos. Para compensar esta caída de potencial óhmico se introduce un electrolito soporte, y para conocer el potencial del electrodo de trabajo se agrega al circuito un tercer electrodo, situado en un compartimiento separado y

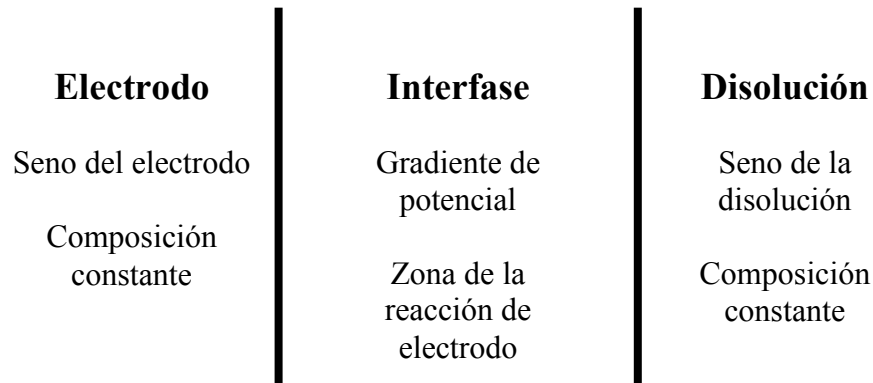
conectado a la celda mediante un puente salino. Por lo tanto, se tiene un sistema de tres electrodos: *electrodo indicador* o *de trabajo*, *electrodo auxiliar* o *contraelectrodo* y *electrodo de referencia*. El electrodo de trabajo es el electrodo en el que tiene lugar la reacción de interés; el electrodo auxiliar es el electrodo que junto con el de trabajo constituye el puente por donde pasa la corriente (la corriente pasa entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar); el electrodo de referencia se usa para medir el potencial del electrodo de trabajo. El electrodo de trabajo debe ser *polarizable*, esto quiere decir que su potencial cambie fácilmente cuando pasa una pequeña corriente; en cambio, el electrodo de referencia debe ser *no polarizable*, o sea que su potencial no varíe mucho, a menos que pase una corriente importante (su potencial no debe experimentar cambios cuando la corriente necesaria para efectuar la medición pase por él). La diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia se regula mediante un aparato electrónico llamado *potenciostato* (ver figura 22).



**Figura 22**

**a)** Esquema fundamental de un sistema electrónico; **b)** circuito usado para electrólisis a potencial controlado con una celda de tres electrodos.

Los procesos de intercambio de carga cuya transferencia tiene lugar entre dos fases, una de las cuales es un conductor electrónico (electrodo de trabajo), y la otra un conductor iónico (disolución), se denominan *procesos electroquímicos*, *electródicos* o *procesos al electrodo*, y agrupan el conjunto de cambios que acompañan a dicha transferencia (depósito de metales, desprendimiento de gases, disolución de metales, etc.). Cuando en el proceso se transfiere una *carga positiva* al electrodo (y por ende, negativa a la disolución), se habla de un proceso **catódico** o de **reducción**, mientras que se trata de un proceso **anódico** o de **oxidación** cuando se transfiere *carga negativa* al electrodo



**Figura 23**  
Sistema electródico fundamental.

En la zona comprendida entre dos fases conductoras contiguas se originan diferencias de potencial. Como cada fase considerada individualmente ha de ser eléctricamente neutra, en la interfase debe presentarse una separación de cargas. Así pues, la interfase *electrodo-disolución* de la figura 23 viene caracterizada por un gradiente de potencial que da lugar a una redistribución de carga, responsable de la estructura de la *dobles capa electroquímica* (se le llama *dobles capa electroquímica* a la ordenación estructural de la interfase electrodo-disolución). La reacción que se produce en esta interfase se llama **reacción al electrodo**, y puede agrupar varias etapas

(transporte de las especies electroactivas hacia el electrodo, adsorción de las mismas en el electrodo, etc.), entre las que debe estar la etapa de *transferencia de carga*, correspondiente a la etapa en la que la carga pasa de una fase a otra, y en ellas participan los constituyentes de las dos fases. Las leyes de Faraday dan la equivalencia cuantitativa entre la cantidad de materia transformada y la carga que ha pasado a través de la interfase. La corriente implicada en una reacción al electrodo se llama **corriente faradaica**, para diferenciarla de la *corriente no-faradaica* o *corriente capacitiva* correspondiente a la carga o descarga de la doble capa electroquímica.

La **electrólisis** es el proceso por el que se fuerza a que tenga lugar una reacción química en un electrodo imponiendo un voltaje o una corriente. Una *especie electroactiva* es aquella que se puede oxidar o reducir en un electrodo. En general, se necesita regular el potencial del electrodo de trabajo para controlar qué especie electroactiva reacciona y cuál no.

La *celda electroquímica*, dentro de la cual se llevan a cabo los procesos electródicos, esta formada por los tres electrodos y la disolución. Esta última está formada por el **electrolito soporte**, el **disolvente** y la **especie electroactiva**. El *electrolito soporte* o *electrolito indiferente* es un electrolito inerte que debe estar presente en una gran concentración dentro de la disolución (al menos unas cien veces superior a la de la sustancia electroactiva) ya que esto tiene varios efectos importantes: aumenta la conductividad de la disolución, disminuyendo por consiguiente las caídas óhmicas del voltaje; asegura que se establezca la doble capa de manera reproducible; mantiene la fuerza iónica constante, y asegura así que no cambie el coeficiente de actividad de la especie sometida a estudio, según procede la reacción de transferencia de carga; y estabiliza la corriente de migración que de otra manera constituirá un efecto perturbador variable. La elección del electrolito soporte está condicionado a su intervalo útil de potencial, cuyo límite catódico puede depender de su catión y el anódico de su anión.

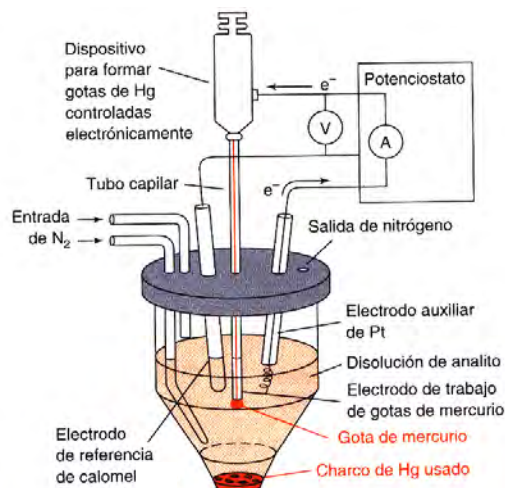
Debido a que la disolución puede estar sujeta a diferencias de fuerzas mecánicas o de temperatura, a diferencias de potencial eléctrico o a diferencias de potencial químico, se producen fenómenos de transporte dentro de ella. Este transporte puede tener lugar por **convección**, por **migración** o por **difusión**, según el parámetro que no sea uniforme en la disolución. Cuando la temperatura, la presión y la densidad no es la misma en todos los puntos de la disolución o existe alguna fuerza mecánica, se origina el movimiento *convectivo* del disolvente y del electrolito soporte que transportan consigo la especie electroactiva; este movimiento se puede eliminar al operar a temperatura constante, en soluciones de densidad uniforme y no agitadas, o se puede mantener constante si se agita a velocidad constante. Si existe una diferencia de potencial eléctrico entre puntos distintos de la disolución, cuando ésta contiene especies iónicas, se produce el transporte por *migración* en el campo eléctrico; la migración de la especie electroactiva cargada se puede minimizar mediante el electrolito soporte, es decir, un electrolito inerte que esté presente durante la reacción electródica. En presencia de un exceso de electrolito soporte, en una disolución que contiene una especie electroactiva a baja concentración, los números de transporte de los iones electroactivos son muy pequeños, y la migración de éstos es despreciable. Finalmente, si la actividad de una especie no es la misma en toda la disolución, esto es, cuando hay un gradiente de concentración, se origina el transporte de materia por *difusión*; este es el transporte de materia que se busca, pues se quiere que solamente haya movimiento de la especie electroactiva a través del disolvente hacia el electrodo. En los procesos electródicos siempre existe un gradiente de concentración en el seno de la disolución y la zona próxima al electrodo, por lo que las especies que toman parte de la reacción al electrodo están sujetas a las leyes de la difusión, pues una especie que se electroliza disminuye su concentración y la especie formada al electrodo aumenta su concentración. Cuando la disolución está a temperatura constante, sin agitación (en ausencia de fuerzas mecánicas) o con agitación constante, y contiene un exceso de

electrolito soporte, queda eliminada la convección y la migración de la especie electroactiva, y se tiene que la especie se electroliza sólo por difusión (*difusión pura* si no hay convección, o *difusión convectiva* si la convección es constante).

Los métodos electródicos se basan en el proceso de transferencia de carga que tiene lugar en el electrodo. Dentro de ellos se encuentran los *métodos potencioestáticos* que en general consisten en la aplicación de un impulso de potencial al electrodo y registro de la corriente resultante en función del tiempo. El método conocido como **voltamperometría** o también **voltamperometría de variación lineal** consiste en la imposición al electrodo de una *variación lineal de potencial* y determinación de la corriente correspondiente, lo que permite obtener directamente la curva intensidad de corriente–potencial. Estas curvas aportan una primera información acerca del proceso al electrodo en estudio, y permiten conocer la reversibilidad del mismo y examinar las etapas en que se desarrolla. A medida que aumenta el potencial crece la corriente hasta que aparece un máximo de corriente, en un intervalo de potencial característico de la reacción electródica que tiene lugar.

Cuando la voltamperometría emplea como electrodo de trabajo un *electrodo de gota de mercurio* recibe el nombre de **polarografía** (figura 24 de la siguiente página). Un electrodo de gota de mercurio consiste simplemente en una serie de pequeñas gotas de mercurio que salen a presión del extremo de un capilar vertical a una velocidad constante. Cada gota de mercurio va creciendo hasta desprenderse, durante unos tres a seis segundos, y es prácticamente esférica. Luego, la distribución de las especies junto al electrodo tiene simetría esférica, es decir, la concentración es la misma en todos los puntos situados a igual distancia del centro de la gota. La concentración de las especies junto al electrodo es entonces función de esta distancia y depende de la velocidad de crecimiento de la gota.





**Figura 24**

Aparato de polarografía. Presenta un electrodo de trabajo de gotas de mercurio

El método polarográfico se basa en la interpretación de las curvas de intensidad de corriente–potencial, que consiste en medir la intensidad de corriente que fluye por el electrodo de gota de mercurio en función del potencial aplicado. El dispositivo sostiene una gota de mercurio en la base del capilar. Después de medir la corriente y el voltaje se separa mecánicamente la gota. A continuación se suspende una nueva gota y se hace la siguiente medida. El mercurio continuamente renovado asegura un comportamiento corriente–potencial reproducible.

La gran mayoría de las reacciones estudiadas en polarografía son reducciones, aunque es posible estudiar oxidaciones. Para la reducción del agua y del protón ( $H^+$ ) en la superficie del mercurio (Hg) existe una gran *sobretensión* o *sobrepotencial*. El sobrepotencial es el voltaje requerido para superar la energía de activación de una reacción en un electrodo, por tanto el sobrepotencial aumenta la energía de los electrones en el electrodo; cuanto más rápida se desea que transcurra una reacción, mayor sobrepotencial se debe aplicar. El hecho de esta sobretensión del agua y el protón con el mercurio trae como consecuencia un amplio dominio de electroactividad hacia valores más negativos de potencial. En cuanto al estudio de oxidaciones, se

dice que no es muy conveniente el electrodo de gota de mercurio porque el Hg se oxida en medios no complejantes en las proximidades de +550 mV frente al electrodo de referencia de calomel.

El análisis del método polarográfico se realiza mediante el trazado de las curvas intensidad de corriente en función del potencial, donde aparecen los saltos de corriente correspondientes a los procesos que se dan en el electrodo. La proporcionalidad entre la altura de la *onda polarográfica* y la concentración de la especie electroactiva es la base de las determinaciones cuantitativas mediante los métodos polarográficos.

La polarografía suministra una serie de parámetros cuya interpretación permite dilucidar los procesos que tienen lugar en el electrodo e identificar su naturaleza. De estos parámetros son directamente determinables la **corriente límite**, el **potencial de media onda**, el **número de electrones intercambiados** y la **pendiente de la onda**. La *corriente límite* o *corriente límite de difusión (convectiva)*,  $i_D$ , es proporcional a la concentración de sustancia electroactiva en la disolución, y se obtiene cuando todo el analito, que fue transportado por difusión a la superficie de la gota de mercurio, se oxida o se reduce (reacción de transferencia de carga). La relación entre la corriente límite de difusión convectiva y la concentración de la especie electroactiva (analito) está descrita por la ecuación de Levich para electrodos sólidos giratorios y la de Ilkovic para el electrodo de gota de mercurio; en ambos casos es del tipo presentado a continuación:

donde:

$$i_D = nk_D C^*$$

$i_D$ : corriente límite de difusión

$n$ : número de electrones intercambiados en la reacción

$k_D$ : constante de proporcionalidad que depende de las condiciones experimentales (superficie del electrodo, régimen de difusión)

$C^*$ : concentración en el seno de la disolución de la especie que da lugar al proceso

El *potencial de media onda* ( $E_{1/2}$ ) es aquel en el cual la corriente es la mitad de la corriente límite ( $i = i_D/2$ ). El potencial de media onda es característico de cada sistema redox en particular y es independiente de la concentración de la especie electroactiva en disolución. Además el valor  $E_{1/2}$  está relacionado con el potencial normal condicional ( $E^{o'}$ ) del par redox. El potencial de media onda es un parámetro energético cuya magnitud caracteriza el proceso al electrodo, su naturaleza y sus propiedades, y mide la facilidad con que se lleva a cabo la reacción electroquímica. A partir de la ecuación de Nernst y sustituyendo las concentraciones por sus relaciones de intensidad de corriente, se llega a la siguiente ecuación para una solución que contiene el oxidante y el reductor a 25 °C:

$$E_i = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left[ \frac{i - i_{ox}}{i_{red} - i} \right]$$

donde:

$E_i$ : potencial instantáneo de la onda polarográfica

$E_{1/2}$ : potencial de media onda

$n$ : número de electrones intercambiados en la reacción

$i$ : intensidad de corriente instantánea

$i_{ox}$ : intensidad de corriente límite del oxidante

$i_{red}$ : intensidad de corriente límite de reductor

El potencial de media onda tiene la siguiente expresión:

$$E_{1/2} = E^{o'} + \frac{0.0591}{n} \log \left[ \frac{k_{red}^D}{k_{ox}^D} \right]$$

donde:

$E_{1/2}$ : potencial de media onda

$E^{o'}$ : potencial normal condicional del par redox

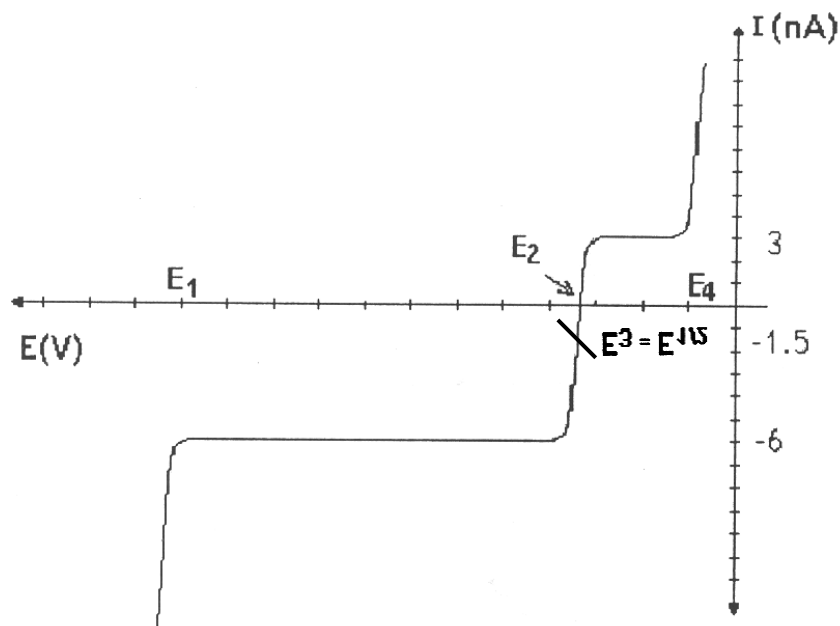
$n$ : número de electrones intercambiados en la reacción

$k_{red}$ : constante de difusión convectiva para el reductor

$k_{ox}$ : constante de difusión convectiva para el oxidante

La *pendiente* de la onda polarográfica representa una medida de la reversibilidad del proceso, en la medida en que coincide con el valor previsto por la ecuación termodinámica

A continuación se presenta el ejemplo de un polarograma clásico donde pueden observarse los parámetros antes descritos:



**Figura 25**  
Ejemplo de un polarograma clásico

Los valores  $E_4$  y  $E_1$  indican las barreras de oxidación y de reducción, respectivamente, y corresponden a reacciones electroquímicas donde la especie que se electroliza se encuentra en una concentración muy elevada, por ello la intensidad de corriente es muy grande. La diferencia de potenciales dada por  $\Delta E = E_4 - E_1$  se conoce como **dominio de electroactividad**, y marca la zona de potenciales en que es posible detectar reacciones electroquímicas de otras especies electroactivas. Este dominio está dado por el electrolito soporte y el disolvente, y juntos dan la **curva residual** del polarograma (señal sin analito). El valor  $E_2$  indica el cruce del eje de potenciales por el polarograma y corresponde a un valor de intensidad neta de electrólisis de cero (corriente de cero); este valor de potencial es equivalente al potencial de equilibrio de la disolución.

En la figura 25 (página anterior) se observa una señal de oxidación de un reductor  $Red_1$  (con una intensidad de corriente de electrólisis de +3 nA) y una señal de reducción de un oxidante  $Ox_1$  (de -6 nA). Estos valores de corriente constantes corresponden a las intensidades de corriente límite del reductor y del oxidante. Entonces tenemos los siguientes datos:

*Corriente límite del reductor:  $i_{red} = +3$  nA*

*Corriente límite del oxidante:  $i_{ox} = -6$  nA*

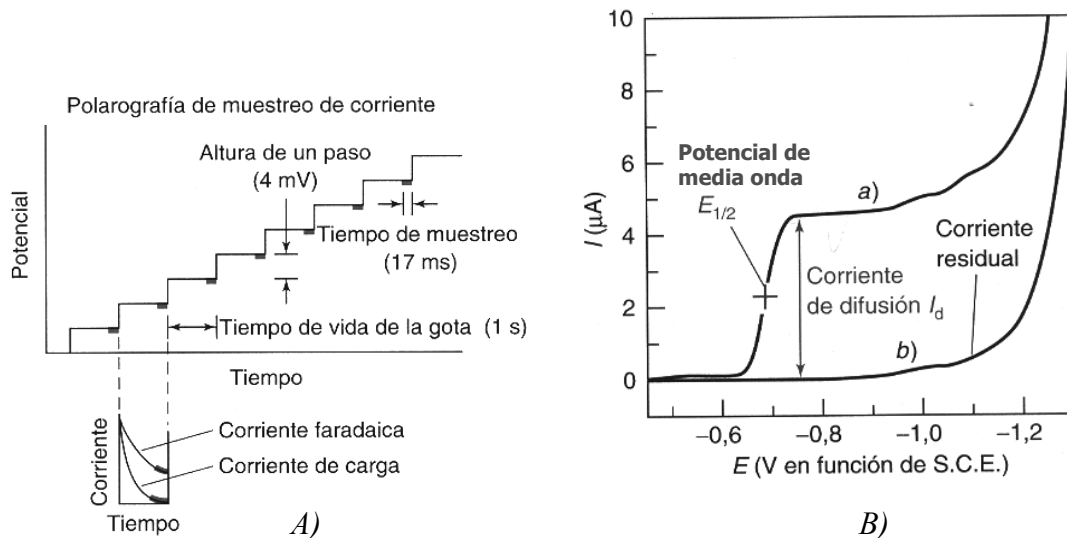
El valor  $E_3$  corresponde al valor del potencial de la mitad de la onda global, conocido como *potencial de media onda* ( $E_{1/2}$ ), que en este caso coincide con el potencial normal condicional del par redox ( $E^{\circ}$ ).

La representación gráfica de  $E$  como una función de  $\log[(i - i_{ox}) / (i_{red} - i)]$ , de la ecuación de la onda polarográfica, se conoce como *análisis logarítmico* de la señal polarográfica. Esta gráfica tiene la forma de una línea recta con ordenada al origen  $b = E_{1/2} \approx E^{\circ}$ , y pendiente  $m = 0.0591/n$ , para sistemas que siguen un comportamiento ideal o nernstiano. Este análisis es un primer criterio de la reversibilidad de los sistemas electroquímicos.

### 8.6.1. Polarografía de muestreo (PDM).

La *polarografía de muestreo* o *polarografía de muestreo de corriente* es un método polarográfico que se basa en una *rampa de voltaje de escalera* para llevar a cabo las medidas de corriente. Esta es la diferencia fundamental con respecto a la *polarografía clásica* o *polarografía de corriente directa*: con la clásica los polarogramas se registran empleando una alteración lineal del potencial; con la de muestreo se utiliza una rampa de escalera como señal de excitación. Con la polarografía de muestreo la intensidad de corriente en el tiempo de medición se mide siempre al final del escalón de potencial (la rampa de potencial está sincronizada con el tiempo de vida de

la gota de mercurio), lo que reduce a un mínimo la contribución de la corriente capacitiva en la señal medida. En comparación con la polarografía clásica, la polarografía de muestreo produce polarogramas suavizados (libres de la oscilación de la intensidad de corriente por el crecimiento de la gota) y es más sensible por cerca de un orden de magnitud.



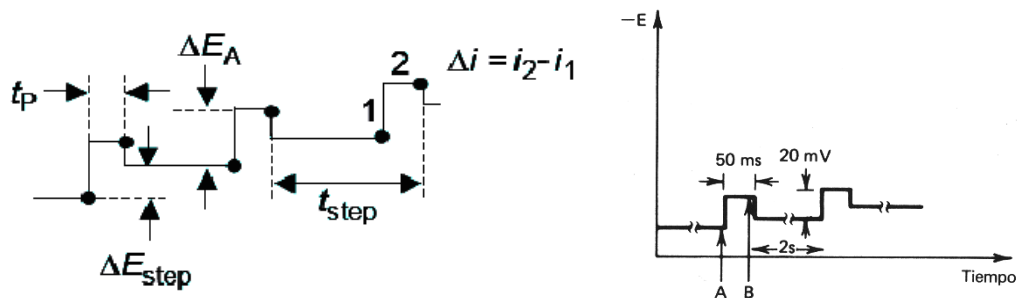
**Figura 26**

Técnica de medición para la polarografía de muestreo (PDM).

A) Perfil de voltaje de tipo escalera usado en la PDM. B) Polarograma de muestreo donde a) es la señal del analito de interés y b) es la señal del electrolito soporte sin analito (curva residual)

### 8.6.2. Polarografía diferencial de impulsos (PDI).

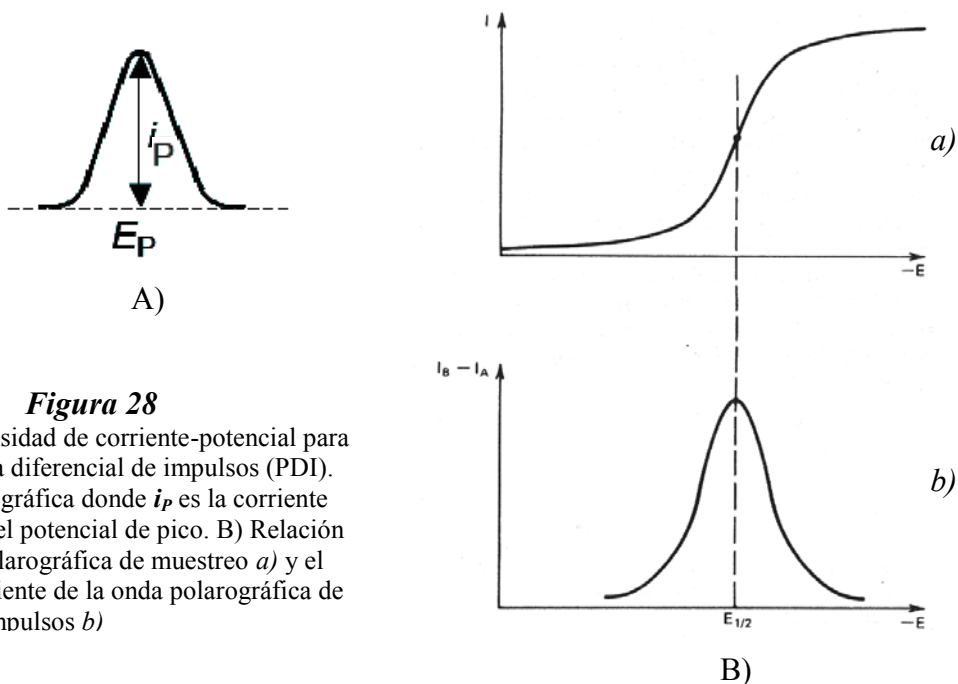
La *polarografía diferencial de impulsos* es el más común y eficiente método de impulsos para determinaciones cuantitativas. En este método la señal de excitación consiste de un incremento en escalera del potencial (escalón de potencial  $\Delta E_{step}$ ), al cual se le aplican en sucesión periódica, pulsos de potencial constante (amplitud del impulso  $\Delta E_A$ ). La superimposición está sincronizada con el tiempo de goteo y con la superficie del electrodo. En la figura 27 se muestra la técnica de medición para la polarografía diferencial de impulsos.



**Figura 27**

Señal de excitación para polarografía diferencial de impulsos

La corriente se mide dos veces para cada gota de mercurio: primero antes de cada pulso (punto 1 de la figura 27) y después al final del tiempo del pulso  $t_p$  (punto 2 de la figura 27). Las diferencias entre las mediciones ( $\Delta i$ ) se grafican contra el potencial y producen polarogramas en forma de picos (ver *b*) de la figura 28). De esta manera también se reduce la contribución de la corriente capacitiva y por lo tanto se aumenta la sensibilidad. El límite de detección para este método es de  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  mol/L. En la figura 28 se muestra el tipo de curvas de intensidad de corriente-potencial que se obtienen con la PDI; la altura máxima de la señal es proporcional a la concentración de la especie que se analiza.



**Figura 28**

Curvas de intensidad de corriente-potencial para la polarografía diferencial de impulsos (PDI). A) Curva polarográfica donde  $i_p$  es la corriente de pico y  $E_p$  es el potencial de pico. B) Relación entre la onda polarográfica de muestreo *a*) y el máximo de corriente de la onda polarográfica de diferencial de impulsos *b*)



*La conciencia de una colmena, no de las abejas individuales, es de una naturaleza muy elevada y esta emparentada con la del hombre. La humanidad no obtendrá la sabiduría de tal conciencia sino después de una larga evolución.*

*Las abejas han acompañado al ser humano en todo su camino de desarrollo en la Tierra, de una manera más estrecha de lo que comúnmente se considera hoy día y habrá de acompañarlo en futuras etapas como apoyo para el desarrollo de una nueva conciencia social, basada en el desinterés personal para permitir el bienestar colectivo.*

*Las abejas son seres solares que en su trabajo con las plantas se guían por los ritmos lunares y estelares para beneficio del hombre.*

*Rudolf Steiner*

*Filósofo austriaco, científico, erudito literario, educador, artista, pensador social.*



## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. CONABIO, “Mieles Peninsulares y diversidad”, *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad* (México: 2008).
2. Norma Mexicana de Miel, *NMX-F-036-NORMEX-2006*.
3. Juárez M. D., “Determinación electroquímica de HMF (5-(hidroximetil)-2-furancarboxialdehído) en miel de abeja” (Tesis de licenciatura, UNAM, 2003), 1-83.
4. Preza De la Vega J., “Estudio Electroquímico de azúcares en miel” (Tesis de licenciatura, UNAM, 2007), 1-79.
5. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, *Boletín 089/08 México, tercer lugar mundial como exportador de miel de abeja*. (México: SAGARPA, 14 de Mayo de 2008), 1 y 2.
6. Pineda G. A., *et. al.*, “Calidad de miel de abeja producida en zonas apícolas de: Milpa Alta, Tlalpan y Xochimilco, D.F.” (Informe:”Gestión de la Calidad e Inocuidad de los productos Agrícolas”, Universidad Autónoma Metropolitana, diciembre 2006), 3-5, 12.
7. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, *Manual de buenas prácticas de producción de Miel*. (México: SAGARPA-SENASICA, 2003), 6 y 7.
8. Barceló R., “La miel en occidente y oriente: historia y mitología”, *Cuadernos de nutrición* 29. 6 (México: Noviembre/Diciembre 2006), 254.
9. Belitz H.-D. y Grosch W., *Química de los alimentos*, 2ª edic. España: Acribia, 1997, 946-953.
10. *Diccionario de los alimentos*, 2ª edic. México: Editia Mexicana, 1984, 430-449.

11. Astiasarán A. I. y Martínez H. J. A., *Alimentos. Composición y propiedades*, España: McGraw-Hill, 1999, 229.
12. Marcos de Oliveira A. R., *et. al.*, “Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae)”, *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 25. 4 (Oct./Dec. 2005), 646.
13. Kirk S. R., Sawyer R. y Egan H., *Composición y análisis de alimentos de Pearson*, 2<sup>a</sup> edic. México: Compañía Editorial Continental, 1996, 237.
14. Thun M. K., *La Abeja. Conducta y cuidados*. Argentina: Antroposófica, 2005, 231-232, 237-238, 264-265, 287.
15. Coe P., “Medicine from the Hive. An introduction to apitherapy”, *LILIPOH, The Spirit in Life* 52. 13 (United States: Summer 2008), 12-17.
16. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, *Boletín 194/07 México tercer exportador y quinto productor de miel de abeja a nivel mundial*. (México: SAGARPA, 25 de Agosto de 2007), 1 y 2.
17. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, *Programa Nacional Pecuario 2007-2012*. (México: SAGARPA, 2007), 34.
18. Lewkowski J., “Synthesis, chemistry and applications of 5-hydroxymethylfurfural and its derivatives”, *ARKIVOC*. (2001), 19-21.
19. Juárez M. D., “Determinación electroquímica del 5-(hidroximetil)-2-furancarboxialdehído (HMF) y de ácido ascórbico (vitamina C) en jugo de naranja envasado” (Tesis de maestría, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, 2007), 1-107.
20. Winkler O. “Beitrag zum nachweis und zur bestimmung von oxymethylfurfurol in honig und kunsthoning”, *Lebensmittel-Untersuchungund-Forschung* 120 (1955), 161-167.

21. AOAC. Official Methods Of Analysis 980.23. "Hydroxymethylfurfural in Honey", chapter 44 (1990), 26.
22. Lo Coco F., *et. al.*, "High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey", *Journal of Chromatography A* 749. 1-2 (18 October 2006), 95-102.
23. **Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal** (en línea, disponible en [http://senasicaw.senasica.sagarpa.gob.mx/portal/html/portal/salud\\_animal/diagnostico\\_constatacion/centro\\_nacional\\_de\\_constatacion\\_en\\_salud\\_animal\\_cenapa.html](http://senasicaw.senasica.sagarpa.gob.mx/portal/html/portal/salud_animal/diagnostico_constatacion/centro_nacional_de_constatacion_en_salud_animal_cenapa.html); internet; accesado el 9 de diciembre de 2008).
24. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, "Procedimiento para la obtención de muestras de miel para la detección de residuos tóxicos", *Notiabeja*. 4 (México: SAGARPA, Julio-Agosto, 2006), 4 y 5.
25. Vorwohl G., "Die Beziehung zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft", *Ann de Abeille* 7 (1964), 301-309.
26. Piazza M., Accorti M. G. y Oddo L. P., "Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian uniflora honeys", *Apicoltura* 7 (1991), 51-63.
27. Proapis, **Enfermedades de la abejas** (en línea, disponible en <http://www.proapis.cl/chile/enferm.htm>; internet; accesado el 28 de febrero de 2007).
28. Bayer, **Abejas: Protección para los laboriosos insectos. Nuevas armas contra la varroa** (en línea, disponible en <http://www.bayer.cl/noticias/tema14-1.asp>; internet; accesado el 28 de febrero de 2007).
29. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, **Boletín Apícola. Dirección Nacional de Alimentos-Área apícola**. (Argentina: SENASA, Octubre 2007), 5 y 6.

30. Dirección general de control de alimentos, bebidas y medicamentos, *Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos*, 4ª edic. (México: Secretaría de salubridad y asistencia, 1974), 1122 y 1123.
31. *Medicamenta. Guía teórico-práctica para farmacéuticos y médicos*, 6ª edic. Tomo III (España: LABOR, 1962), 1257 y 1258.
32. Sharp, Miall D. W. A., *Diccionario de Química*. España: ALHAMBRA, 1989, 520.
33. Fessenden J. R. y Fessenden S. J., *Química orgánica*, México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1983, 653 y 654.
34. Morrison T. R. y Boyd N. R., *Química orgánica*, Estados Unidos: Addison-Wesley Iberoamericana, 1990, 954.
35. Bard J. A., *Electroanalytical chemistry*, tomo II (NY: Marcel Dekker, Inc., 1979), 321 y 322.
36. Barzer M., *Organic Electrochemistry*, (N.Y.: Marcel Dekker, 1973), 752.
37. Encyclopedia of Electrochemistry, *Organic Electrochemistry*, vol. 8 (Weinheim: John Wiley-VCH, 2004), 268.
38. Korshunov I. A., *et. al.*, Zhur. Obsch. Khim. 21: 565 (1951).
39. Reyes S. E. O., *et. al.*, “Direct Electrochemical Determination of Hydroxymethylfurfural (HMF) and its Application to Honey Samples”, *Analytical Letters* 39 (2006), 161-171.
40. Guerrero P. M. P., “Estudio electroquímico para el control de calidad en la producción de fosfatos grado alimentario. Determinación de trazas metálicas” (Tesis de licenciatura, UNAM, 2006), 1-94.
41. Costa J. M., *Fundamentos de electródica. Cinética electroquímica y sus aplicaciones*, España: Alhambra, 1981, 1-2, 4-8, 14, 115, 118, 173-174, 181-182, 184, 186, 188, 249, 268, 279.

42. Vassos B. H. y Ewin G. W., *Electroquímica analítica*, México: Limusa, 1987, 13-14, 17-19, 37-39, 41, 82-83, 85, 92.
43. Harris D. C., *Análisis químico cuantitativo*, España: Reverté, 2007, 373, 375-378, 388-389.