



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Determinación de Constantes de Acidez y Estudio de la Estabilidad del  
(4-bromofenil) carbamato de etilo en Medio Acuoso Mediante  
Espectrofotometría UV-Vis.”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**Q U Í M I C A**

P R E S E N T A:

**SELENE ESQUIVEL GONZÁLEZ**

**ASESORES:**

Dra. Ana María Velázquez Sánchez

Dr. Julio César Botello Pozos



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Tesis y Examen Profesional**

**Determinación de Constantes de Acidez y Estudio de la Estabilidad del (4-bromofenil) carbamato de etilo en Medio Acuoso Mediante Espectrofotometría UV-Vis.**

Que presenta la pasante: **Selene Esquivel González**  
Con número de cuenta: **308086030** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura de Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 15 de Agosto de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Ana María Velázquez Sánchez	
<b>VOCAL</b>	M. en Ed. Victoria Oralia Hernández Palacios	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Adriana Morales Pérez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dra. Esther Agacino Valdés	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dra. Berenice Gómez Zaleta	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo del proyecto **DGAPA-PAPIIT: IT202015**, llevado a cabo en el Laboratorio Experimental Multidisciplinario Nave 3000 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.

# Agradecimientos

Primero que nada agradecer a la UNAM, que desde que me gané un lugar en la preparatoria me hizo crecer de muchas maneras, logrando así llegar a este esperado momento en mi vida profesional.

Obviamente quiero agradecer de manera específica a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, que a pesar de las carencias que puede llegar a tener, me brindó lo mejor de ella; siendo el lugar donde crecí como profesionista, lleno de experiencias buenas y experiencias difíciles, que en conjunto me forzaron a crecer y a exigirme más a mí misma.

A todos y cada uno de los profesores, ya que cada uno, en mayor o menor proporción contribuyeron en mi formación tanto profesional como personal, ofreciéndome todo su conocimiento e incluso algunos de ellos su valiosa amistad.

A mi asesora Ana María Velázquez, por las oportunidades y el apoyo que me brindó, por todo el conocimiento que me compartió y la amistad que creció entre nosotras. Y por supuesto, por la calidad de clase que usted ofrece día a día a nosotros sus alumnos, al entregarse a su trabajo más por vocación que por profesión.

A Julio Botello y Rosario Moya que en conjunto contribuyeron en gran manera a la elaboración de este trabajo, brindándome sus conocimientos, apoyo y amistad.

A mis sinodales, por el tiempo que me dedicaron y por cada comentario, y corrección que ayudaron a enriquecer este trabajo.

A todos aquellos compañeros de mi carrera y generación, compañeros de distintas generaciones, e incluso de diferentes carreras que en algún momento me ofrecieron su amistad con agradables pláticas, apoyo académico, e incluso algún consejo: Ely, Gaby, Miri,

Andrés, Verito, Daniel, Teresa, Emanuel, Rafa, Víctor Castillo, Víctor Valadez, Pablo, Víctor Vázquez, Sebastián, Arturo. A todos ellos y a los que me faltó por mencionar muchas gracias.

A mis porristos y a los que contribuyeron en este proyecto tan único de nuestra Facultad una gran, divertida e inolvidable experiencia.

A mis roomies directos e indirectos: Cecilia, Montse, Miriam, Oyuki, Sergio, Armando que llegaron a ser como una familia para mí, compartiendo reuniones infinitas de estudio, pláticas interminables, comidas colectivas, fiestas, viajes e innumerables experiencias con cada uno de ellos. De verdad espero que esa amistad, que en esta etapa de nuestras vidas creció, no termine.

A Emmita y a Diego, dos grandes amigos, los cuales no puedes tener en mente a uno sin pensar en el otro. Amigos con los que más que nada al final de la carrera compartí muchas experiencias de laboratorio y de amistad; ofreciéndome siempre su apoyo e importantes consejos.

A todos ustedes que formaron parte de esta etapa en mi vida, un placer conocerlos.

A Dios por bendecirme día a día, por todas las oportunidades y personas que has puesto en mi vida.

A mis padres que siempre me han ofrecido su apoyo, amor y confianza de manera incondicional, los responsables de la persona que soy ahora, contribuyendo siempre en cada uno de mis logros. De corazón, los amo!

A mi hermana que a pesar de que en ocasiones tenemos muchas diferencias y choques, también tenemos muchos momentos de risas, te quiero mucho. Sabes que hoy y siempre te desearé lo mejor en todos y cada uno de los aspectos en tu vida. De verdad deseo verte convertirte en una mujer exitosa.

A mis abuelos, tíos y primos que sin importar distancias siempre me han demostrado su cariño y apoyo, que junto con mis padres han contribuido en mi formación.

Yol, te agradezco por todo el apoyo que siempre me has dado. En todo el tiempo que llevamos juntos hemos compartido muchas experiencias importantes en nuestras vidas, y sin lugar a dudas en cada una de ellas me has demostrado la gran persona que eres. De todo corazón mis mejores deseos para ti y toda tu familia. Cariño, sigamos creciendo juntos.

Obviamente no podías faltar tú, él que siempre me acompañó en mis desvelos, quien desde que llego a mi vida se dedicó a darle un importante giro a mis días y a mi vida, llenando siempre de alegría a toda la casa, quien me hizo llorar de risa, tú ganándote siempre el corazón de quien te conocía, siempre tan único, tan especial, en mi corazón estarás. Eternamente mi gordito bebé.

A esas estrellas que quise mucho y que ahora cuidan de mí, gracias por haber formado parte de mi vida, los amo.

# Índice

Agradecimientos.....	3
1. Resumen.....	8
2. Introducción .....	9
2.1 Hipótesis .....	11
2.2 Objetivo general.....	12
2.2.1 Objetivos particulares .....	12
3. Antecedentes .....	13
3.1 Garrapatas y sus consecuencias .....	13
3.2 Control de garrapatas .....	16
3.2.1 Control biológico.....	17
3.2.2 Control químico.....	18
3.2.3 Control químico natural .....	20
3.2.4 Vacunas .....	21
3.3 Resistencia .....	22
3.4 (4-bromofenil) carbamato de etilo .....	23
4. Marco teórico.....	25
4.1 Métodos espectrofotométricos.....	25
4.2 Espectrofotometría UV-Vis .....	26
4.3 Ley de Lambert-Beer .....	27
4.4 Determinación de constantes de acidez.....	28
4.4.1 Determinación de constantes de acidez mediante espectrofotometría UV-Vis ...	29
4.5 TRIANG .....	30
4.6 SQUAD (Stability Quotients from Absorbance Data).....	30
5. Metodología .....	33
5.1 Equipo y reactivos.....	33
5.2 Pruebas de solubilidad.....	33

5.3 Cálculo de la concentración de trabajo .....	34
5.4 Preparación de las soluciones.....	35
5.5 Estudio de estabilidad.....	37
5.6 Especiación química.....	38
5.7 TRIANG .....	40
5.8 SQUAD.....	41
6. Resultados y análisis de resultados.....	43
6.1 Pruebas de solubilidad.....	43
6.2 Cálculo de concentración de trabajo .....	44
6.3 Estudio de estabilidad.....	45
6.4 Estudio de los espectros de absorción durante la especiación .....	47
6.5 Estimación de número de especies .....	52
6.6 Especiación química.....	55
Conclusiones.....	61
Anexos .....	62
Referencias .....	74

# 1. Resumen

En México como en otras zonas tropicales y subtropicales del mundo a partir del siglo XIX hasta ahora, uno de los principales problemas en el sector ganadero es la infestación por garrapatas, debido a la gran pérdida económica que éstas ocasionan. Con el paso del tiempo el uso de diferentes agentes químicos para su control ha ocasionado resistencia hacia estos parásitos; de aquí la importancia del desarrollo de nuevas moléculas con propiedades ixodicidas<sup>[1]</sup> más eficientes y con menos efectos tóxicos.

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, se han sintetizado una serie de nuevos carbamatos, siendo desarrollados por el grupo de investigadores del Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Ángeles, 2000). Entre estos compuestos sintetizados se encuentra el (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM 919) el cual presenta actividad ixodicida con una eficacia *in vivo* del 99.97%.

Con la finalidad de ayudar a la caracterización del LQ M 919, en el presente trabajo se realizó el estudio de algunas propiedades fisicoquímicas, llevando a cabo el estudio de estabilidad, especiación en función del pH y la determinación de las constantes de acidez; aportando así información necesaria del compuesto con la finalidad de tener mejor caracterización fisicoquímica de este, que apoye el diseño de formulaciones farmacéuticas.

Los estudios fueron realizados empleando la técnica instrumental de espectrofotometría UV/Vis y el uso de programas computacionales para la determinación de las tres especies presentes en el sistema en función del pH para el refinamiento de las dos constantes de acidez encontradas en medio acuoso a una temperatura de 25°C.

[1] Ixodicidas: Compuestos químicos que actúan en contra de las garrapatas.

## 2. Introducción

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten son uno de los grandes problemas de salud pública y veterinaria, afectando a los productores bovinos, ya que, tienen un efecto costo-beneficio en la producción; una vez que están infestadas, el efecto directo resulta en el daño de las pieles por la picadura y abscesos que se desarrollan en esos sitios, además de la disminución de producción láctea, pérdida de sangre y el efecto de toxinas (Alonso, 2006).

En México, se han identificado 77 especies de garrapatas donde la *Boophilus microplus* presenta un área de distribución, que abarca zonas tropicales, templadas y áridas; en conjunto se considera que cubre el 53% del territorio nacional (Solis, 1991), siendo con ello uno de los agentes patógenos más comunes de este rubro.

El principal método de control de la *Boophilus microplus* es mediante el uso de ixodicidas, sin embargo, el tipo de control químico se ha vuelto ineficaz en ciertas regiones ya que algunas garrapatas han desarrollado resistencia a estos compuestos, esto debido a que el uso frecuente de los ixodicidas ha ocasionado que diversas especies de garrapatas logren sobrevivir mediante un proceso de adaptación gradual, provocando una evolución de la especie; es por esto que se busca una constante innovación (George, Pound, & Davey, 2004).

Por lo tanto, en el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM se sintetizaron diversos derivados del ácido carbámico, los cuales presentaron actividad biológica ixodicida. Uno de estos compuestos es el (4-bromofenil) carbamato de etilo.

Con dicho fármaco se han realizado pruebas *in vivo* en ganado infestado, obteniéndose que inhibe la oviposición un 60%, y al 100% la eclosión de los huevos producidos por las garrapatas tratadas con el carbamato, mismos que mostraron apariencia oscura y seca (Prado, O. M. G. et al.; Pérez, G. I. E. et al; 2013).

Tomando en cuenta las distintas etapas del insecto, en su totalidad el compuesto tiene una eficacia calculada del 99.97%; además de ser un débil inhibidor de la acetilcolinesterasa (Iturbe, R. S.; 2014;) con un peligro oral bajo de LD<sub>50</sub> 300-2000 mg/kg y con una baja toxicidad aguda dérmica (LD<sub>50</sub> > 5000 mg/kg) de acuerdo a Globally Harmonized System (GHS) (Prado, O. M. G.; et al. 2014).

En este trabajo de investigación se llevará a cabo el estudio de algunas de las propiedades fisicoquímicas del compuesto, como son las constantes de acidez y la estabilidad del mismo en solución con la finalidad de caracterizar una estructura química nueva; empleando para ello técnicas espectrofotométricas, así como también los programas computacionales TRIANG y SQUAD para realizar la determinación de las especies presentes que absorben radiación electromagnética y la determinación de la(s) constante(s) de acidez, respectivamente.

Dentro de la caracterización fisicoquímica del (4-bromofenil)carbamato de etilo, primero se llevó a cabo un estudio espectrofotométrico a distintas condiciones de pH en función del tiempo para poder conocer la estabilidad cualitativa del carbamato y entonces saber si el compuesto sufrirá o no descomposición de algún tipo a lo largo de la especiación química.

Posteriormente se llevó a cabo la determinación de las constantes de acidez, las cuales son propiedades fisicoquímicas importantes, ya que ayudan tanto a la caracterización de la molécula como a la obtención de información acerca de las especies químicas que se producen en los procesos de disociación, es decir nos permite conocer el proceso de protonación/desprotonación de la estructura química para entonces determinar las especies que están presentes en una reacción ácido-base.

## 2.1 Hipótesis

Si el compuesto LQM 919 presenta absorción en el intervalo de UV-Vis entonces será posible estudiar la hidrólisis de la molécula con la finalidad de determinar su(s) constante(s) de acidez apoyándose para ello en los programas computacionales TRIANG Y SQUAD en un estudio a temperatura constante.

## 2.2 Objetivo general

Determinar la estabilidad química y los valores de  $pK_a$  del (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM919) a diferentes valores de pH a una temperatura constante de 25°C, mediante el uso de espectrofotometría UV-Vis, con el apoyo de los programas computacionales TRIANG y SQUAD, contribuyendo a la caracterización fisicoquímica del compuesto.

### 2.2.1 Objetivos particulares

- Estudiar la estabilidad en solución del (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM 919) de manera cualitativa a temperatura de 25°C en función del pH, mediante el uso de la espectrofotometría UV-Vis.
- Obtener el número de especies que absorben radiación electromagnética de forma diferente en el sistema, alimentando los datos espectrofotométricos obtenidos al programa computacional TRIANG.
- Obtener y estudiar los espectros de absorción del (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM 919) a diferentes valores de pH empleando la técnica espectrofotométrica UV-Vis y alimentar estos datos para calcular los valores de las constantes de acidez empleando el programa SQUAD.

## 3. Antecedentes

### 3.1 Garrapatas y sus consecuencias

Las garrapatas son artrópodos hematófagos pertenecientes a la clase de los arácnidos (Figura 3.1), y de estadios longevos de alimentación periódica, teniendo grandes ingestas del huésped; estos organismos son ectoparásitos que se alimentan de la sangre de los vertebrados especialmente mamíferos y aves (Rodríguez, 2012).

Las garrapatas tienen cuatro estadios evolutivos en su ciclo vital: huevo, larva, ninfa, y adulto. El ciclo biológico comprende de 4 a 10 meses, compuesta de dos fases: la fase de vida libre o fase no parásita, y la fase parásita. La fase de vida libre inicia cuando la hembra repleta se desprende del hospedero y busca lugar para ovipositar. El periodo de oviposición está compuesto por dos partes: el periodo de preoviposición el cual consta de 2 a 39 días y el periodo de oviposición que es de 4 a 44 días, en el periodo de oviposición cada hembra de *Boophilus microplus* puede poner entre 3500 y 4400 huevos, estos huevos se incuban de 14 a 146 días hasta la eclosión de las larvas (Soulsby, 1988).

En la fase de vida libre se presentan dos etapas: la etapa pasiva y la etapa de búsqueda. Durante la etapa pasiva las larvas recién nacidas adquieren la madurez para buscar el hospedero alimentándose de su vitelo (parte del citoplasma del cigoto que contiene elementos nutritivos), dentro de la etapa de búsqueda, las larvas suben a las puntas del pasto para encontrar su hospedero. (Anderson, 2008).

La fase parásita comienza una vez que las larvas han hallado su hospedero, se adhieren a su pelaje insertan sus pinzas bucales y comienzan a alimentarse; mientras se alimenta, la larva realiza la muda a ninfa y posteriormente a adulto (Quiroz, 1984).

La *Boophilus microplus* es una garrapata dura, de color café oscuro donde las hembras llegan a medir hasta 1.5 cm cuando están repletas y los machos 0.5 cm (Figura 3.1).

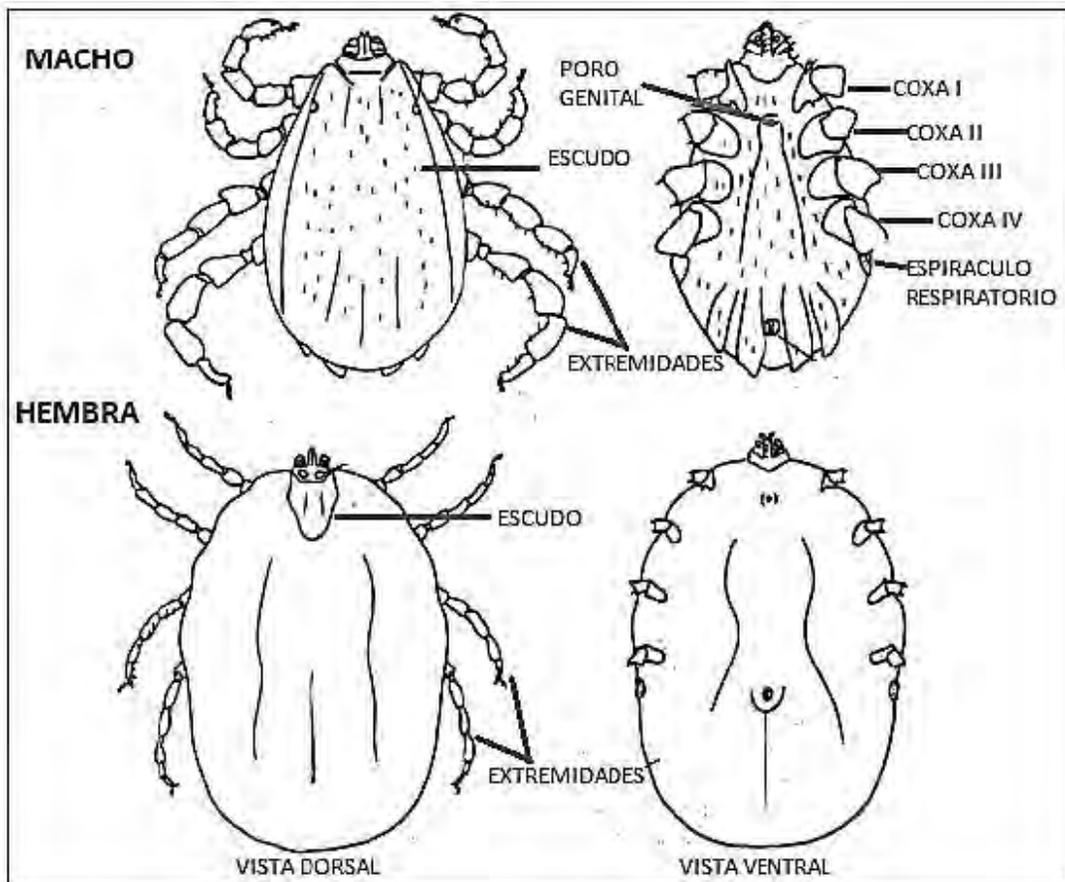


Figura 3.1: Morfología externa de *Boophilus microplus*. Vistas dorsal y ventral de macho y hembra adultos (adaptado de Quiroz, 1984).

En México, se ha encontrado que la *Boophilus microplus* en su mayoría se aloja en ganado bovino, además de otros mamíferos, destacando por su importancia los caprinos, equinos, porcinos, perros, rumiantes silvestres (principalmente venados) y en menor grado el humano, cuya importancia es más por vía de transportación de larvas de un predio a otro (Quiroz, 1984).

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten son uno de los grandes problemas de salud pública y veterinaria en el mundo; la severidad depende de la región, especies involucradas, agente transmisor, población de hospederos, situación socioeconómica y el avance tecnológico en las medidas de control (Solís, 1991).

Enfocándonos en las afectaciones en el ganado bovino, una manera de clasificar los daños ocasionados por la infestación de la *Boophilus microplus*, es con base a las acciones patogénicas que causa: traumática, expoliatriz, inoculatriz, tóxica y antigénica.

La acción traumática es causada por la perforación de la piel del hospedero al momento de que la garrapata se alimenta, misma que puede ocasionar irritación, inflamación o hipersensibilidad, provocando disminución en la producción de carne y de pieles; causando importantes problemas en la industria ganadera (Sutherst, 1983); adicionalmente a estas pérdidas, se tiene que tomar en cuenta que también existirá un incremento en el costo de producción por el empleo obligado de productos químicos y mano de obra para el control de las garrapatas, así como también los costos por tratamientos de los microorganismos que transmiten, como son protozoarios, algunos virus, etc.

La acción expoliatriz consiste en la sustracción de sangre y líquidos tisulares, donde una hembra en estado adulto es capaz de consumir entre 0.5 mL y 1.2 mL de sangre al día, cuyo principal efecto es la anemia y como consecuencia la baja producción de leche, y pérdida de peso; en un estudio realizado en ganado Holstein-Fresian, se demostró que por cada hembra repleta, hubo una pérdida productiva de hasta 2.86 mL de leche por día (Jonsson, 1998; Jonsson, 2000) y la pérdida de peso de un bovino parasitado por garrapatas *Boophilus microplus* se calcula en 0.26 kg garrapata / año y se ha observado que animales infestados con garrapatas reducen su consumo de alimento a 4.37 Kg en comparación con animales no expuestos con un consumo de 5.66 Kg (Rodriguez, 2005 y Jonsson, 2006), teniendo una pérdida de 40-60 kg de peso vivo por año (SENASICA, 2013).

La acción inoculatriz, corresponde a la introducción de agentes patógenos causantes de enfermedades al hospedero, ya que en comparación a cualquier otro artrópodo de su grupo, las garrapatas transmiten una gran variedad de microorganismos tales como protozoarios, rickettsias, espiroquetas y virus, generando enfermedades que afectan al ganado, animales de compañía y a humanos; además de que pueden causar severas condiciones tóxicas como son la parálisis y toxicosis, irritación y alergia (Jongejan, 2004). La especie *Boophilus microplus* es el principal transmisor de *Babesia bigemina* en Australia,

Panamá y América, *Babesia argentina* en Australia y Argentina, y *Anaplasma marginale* en Australia y América (Soulsby 1988; Ulienberg 1995; De Castro, 1997).

Las acciones tóxica y antigénica son asociadas a las secreciones salivales de la garrapata que son inyectadas en la herida y que contribuyen a prevenir la coagulación de la sangre y la reacción inflamatoria, además de inhibir el dolor causado por la presencia de la garrapata (Quiroz, 1984).

## 3.2 Control de garrapatas

Durante el siglo XIX, la cantidad del consumo de ganado para alimentar a las poblaciones humanas fue aumentando, y con ello el aumento del conocimiento de la relación entre las infestaciones de ganado con garrapatas con las desastrosas epizoóticas enfermedades en los rebaños de bovinos. Los problemas con las enfermedades transmitidas por los artrópodos fueron relacionados con la introducción de razas de ganado mejoradas en áreas infestadas de estos insectos, además de que ganado infestado con garrapatas e infectadas con enfermedades transmitidas por las mismas fueron trasladadas en áreas donde ese tipo de especies de ectoparásitos no existía previamente (Shaw, 1969).

Por lo tanto, desde ese entonces se han considerado los beneficios económicos que resultan de resolver problemas acerca de la epidemiología y el control de las enfermedades transmitidas por garrapatas en las áreas de producción de ganado, siendo motivadas por la investigación nacional e internacional de los países afectados, creando productos y técnicas para proveer la protección del ganado (George, 2004).

### 3.2.1 Control biológico

El control biológico puede ser una alternativa para el manejo de las garrapatas; el cual se basa en el manejo de diversos métodos; en los que se ven implicados la manipulación de cruza, modificación del hábitat, entre otros.

La cruce del ganado se emplea para aumentar la resistencia natural del bovino determinada por la raza, aunque según Shaw R. D. (1969) esta técnica se encuentra relacionada con los problemas de transmisión de enfermedades.

Las praderas con alta vegetación y arbustos proporcionan a este tipo de insectos un hábitat ideal para el desarrollo de las mismas; es por eso que, se han implementado métodos de rotación para el descanso y quema de praderas de pastaje. El sistema de rotación se basa en descansos obligados de las praderas con la finalidad de presionar a las garrapatas en su etapa de vida libre al impedir o retardar que como larvas activas encuentren a su hospedero para que mueran por hambre y deshidratación (Wilkinson, 1970); donde el tiempo promedio de descanso de los pastizales para reducir el número de larvas presentes en las praderas debe de ser de 45 a 60 días (Furlong, 1998).

El fuego afecta directamente a las garrapatas por la exposición que sufren a las altas temperaturas en los estadíos de larvas, las hembras adultas y los huevos (Rodríguez, 2005). Sin embargo, en California, EUA se realizó un estudio para evaluar el efecto del fuego sobre las poblaciones de las garrapatas; los autores concluyeron que a pesar de las quemaduras prescritas en los hábitats no se traduce en una disminución de abundancia de adultos ixódidos sobre la vegetación y al parecer no afecta las garrapatas argásida e ixódidas que se refugian en el suelo (Padgett, 2009).

La composición del hábitat tiene un efecto directo en la sobrevivencia de las garrapatas repletas, huevos y larvas. En algunos lugares como en México y en América Latina existen algunas garzas, pájaros, y algunas especies de hormigas que son depredadores naturales de garrapatas (Wilkinson, 1970 y Verrismo, 2011). Así como también existen algunas leguminosas con capacidad para atrapar las larvas, mediante pelos y secreciones

glandulares viscosas presentes en sus hojas y que tienen la capacidad de inmovilizar entre un 12-27% de larvas de *Boophilus microplus* (Wilson, 1989). En México se ha evaluado el efecto de las gramíneas forrajeras: *Melinis minutiflora* y *Andropogon gayanus*, las cuales poseen la capacidad de repeler, atrapar u obstaculizar a las garrapatas que buscan hospedero; siendo la primera más eficaz para su control; este tipo de plantas, cultivadas en potreros estratégicamente utilizados, puede reducir el encuentro garrapata-bovino y así contribuir a disminuir el uso de ixodicidas (Cruz, 2000 y Fernandez, 2004).

Los agentes biológicos que potencialmente se pueden usar para el control de garrapatas se clasifican en hongos entomopatógenos (*Metahizium* sp; *Beauveria* sp), bacterias (*Cedecea lapagei*, *Escherichi coli* y *Enterobacter aglomerans*), nemátodos entomopatógenos (*Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*) y hormigas reguladoras (*Solenopsis germinata*, *S. saevissima*, *Camponotus rengira* y *Ectatomma quadridens*) (Ojeda, 2011). Todos estos agentes afectan principalmente a los estadios de vida libre de las garrapatas (Fernandes, 2012).

Así como también el uso de inmunógenos con base en antígenos provenientes de células intestinales de las garrapatas, el uso de determinados tipos de forrajes en los potreros, el empleo de biopesticidas y también el control por medio de patógenos para estos ectoparásitos (Samish, 1999), son empleados para el control no químico, o como un complemento para un tratamiento químico.

### 3.2.2 Control químico

Los métodos de control químico para estos insectos hematófagos tienen como función romper los ciclos de la vida de los mismos a través de la aplicación de ixodicidas a intervalos determinados por la región ecológica, especies a las que se va a combatir, eficacia residual o persistencia del antiparasitario.

A partir del siglo XIX hasta la fecha se han desarrollado diversos métodos químicos para el control de las garrapatas así como las enfermedades transmitidas por las mismas; reduciendo la pérdida de producción y ganado.

El primer tratamiento químico data del año 1893 en Estados Unidos, el cuál consistía en untar las patas y los costados del ganado con una mezcla que contenía: keroseno, aceite de semilla de algodón o aceite de pescado, petróleo crudo y azufre. Dicha mezcla era aplicada al ganado dos o tres veces por semana mediante el uso de esponjas, cepillos, madejas o escobas. Más tarde, en Australia en el año de 1895, sumergieron al ganado en mezclas que contenían este tipo de sustancias (Angus, 1996).

Posteriormente en 1896 en una granja Australiana fue revolucionada la manera en la que se controlaban las garrapatas, el cual consistía en sumergir al ganado en baños de arsénico, desplazando así los remedios anteriores, ya que se había demostrado que era altamente efectivo. Sin embargo, otras referencias (Shaw 1969) indican que los baños de arsénico habían sido utilizados desde el año de 1893, para el control de parásitos en ovejas. Posteriormente el empleo de baños de arsénico fue remplazado debido a los estrechos límites entre la concentración de arsénico efectiva para el control de las garrapatas y la concentración tóxica para el ganado, además de los residuos tóxicos en las pieles del ganado (Graham, 1977).

A mediados de la década de 1940 fue cuando aparecieron los primeros productos organoclorados, estos insecticidas fueron los primeros insecticidas orgánicos sintetizados disponibles en el mercado, muchos de ellos formulados para el control de las garrapatas; donde el diclorodifeniltricloroetano (DDT) y hexacloruro de benceno (BHC) fueron los químicos de este grupo empleados como ixodicidas. Posteriormente también fueron ampliamente empleados los compuestos ciclodienos, la dieldrina, la aldrina y el toxafeno (Norris, 1956). Actualmente los productos que contienen compuestos organoclorados han sido prohibidos y retirados del mercado, debido su persistencia en el medio ambiente (Kunz, 1994); en cuanto a los ciclodienos, su prohibición fue debida a que estos presentaban acumulación en el tejido adiposo de los animales (Ware, 2000).

A diferencia de los organoclorados; los organofosfatos como el etión, clorpirifós, clorfenvinfós y coumáforos, fueron retirados del mercado al ser categorizados como los más tóxicos de los pesticidas, al estar relacionados como agentes nerviosos, como son el sarín, soman y tabun (Ware, 2000).

En 1970 se sintetizaron las formamidas y cicloamidinas como: clordimeform, clenpyrim y clormetiuron, sin embargo en el año 1976 fue removido del mercado debido a que mostró evidencia de tener efectos carcinogénicos.

En 1986 el amitraz y los piretroides sintéticos como son la cipermetrina, deltametrina, flumetrina, pemetrina y cialotrina fueron introducidos al mercado, posteriormente en 1993 la resistencia a los piretroides sintéticos fue detectada por lo cual el uso del amitraz se volvió más frecuente (Rodríguez, 2012).

A principios del siglo XX comenzaron a ser utilizados otros compuestos derivados de benzoil fenil urea, como son el lufenurón, flufenoxuron, diflubenzuron y fluazuron.

### 3.2.3 Control químico natural

Un método de control químico natural de garrapatas se basa en el uso de extractos de plantas. Se ha estudiado la eficacia de extractos de plantas (*Kalea serrata*), para el control de *Boophilus microplus* y *Boophilus sanguineus*, obteniendo una reducción del 11 al 14% en la oviposición y 100% de mortalidad en larvas de *Boophilus microplus* y *Boophilus sanguineus*, a concentraciones entre 6.25 -50 mg / mL (Sardá, 2007). En Colombia, se evaluó en efecto de la tinta de tabaco (*Nicotina tabacum*) en el control de la garrapata en caninos frente al tratamiento clásico con amitraz y los resultados de efectividad obtenidos fueron de un 70% para larvas, 61.79% en ninfas y 64.9% para adultos a una concentración de 0.0117% de nicotina comparados con un 92% de efectividad promedio del amitraz en los tres estados larvas, ninfas y adultos (Neira, 2009). También se ha reportado que los extractos metanólicos de hojas y corteza de Neem (*Azadirachta indica*) son eficaces para el

control de garrapatas (Pathak, 2004). Así mismo los aceites de *Azadirachta indica* y *ocimum* han mostrado eficacia como ixodicidas (Ndumu, 1999 y Kaaya, 2000).

En México se evaluaron la eficacia de 45 extractos metanólicos de plantas en larvas *Boophilus microplus* reportando eficacia de 5-99%; y en adultas (utilizando los extractos de *Petiveria alliacea*) reportando un 86% de eficacia y un 91% de reducción en el índice de eficiencia reductiva; además, en estos extractos se identificaron, mediante cromatografía de gases, el benciltrisulfuro y bencildisulfuro como los posibles compuestos responsables del efecto ixodicida (Rosado, 2010 ab). Martínez, Velázquez, et al (2011ab) reportaron un 100% de eficacia para el control de larvas usando aceites esenciales extraídos de *Cuminum cyminum* y *Pimienta dioca*; además estudiaron el efecto acaricida de aceites esenciales de hojas de orégano (*Lippia graveolens*), hojas de romero (*Rosmarinus officinalis*) y bulbos de ajo (*Allium sativum*) encontrando eficacias de 85 a 100% contra las larvas de *Boophilus microplus*. Asimismo se ha reportado de cuatro plantas tropicales ricas en taninos, las cuales fueron eficaces en el control de larvas de *Boophilus microplus*, confirmando la participación de los taninos en el efecto ixodicida mediante el uso de inhibidores específicos (Fernández, 2011).

Hasta la fecha, el uso de extractos de plantas para el control de *Boophilus microplus* en México ha tenido resultados importantes; sin embargo, es necesario estudiar algunos aspectos relacionados con la variación de los metabolitos secundarios en las plantas a través del año, aislar y evaluar los metabolitos activos, así como realizar los estudios *in vivo*.

### 3.2.4 Vacunas

Actualmente se cuenta comercialmente con dos vacunas contra la *Boophilus microplus* denominadas TickGARDPLUS® en Australia y Gavac™ en América Latina. Las vacunas contienen el antígeno Bm86 que es una glicoproteína aislada de *Boophilus microplus* que se encuentra predominantemente en las células del intestino de la garrapata. Los anticuerpos anti-Bm86 aparentemente se unen a la superficie de las células epiteliales del intestino de

la garrapata e interrumpen la endocitosis causando la lisis de las células y reduciendo la capacidad reproductiva de las hembras repletas (Willadsen, 1997).

Los efectos de la vacuna sobre la garrapata *Boophilus microplus* son reducciones de la capacidad reproductiva (50-90%), del número de garrapatas repletas (20-30%), del peso de las garrapatas (30%) y del peso de los huevos (60-80%), sin embargo no produce la mortalidad (Jonsson, 2000 y De la Fuente 2007).

### 3.3 Resistencia

La resistencia se define como la capacidad adquirida por individuos de una población parásita que les permite sobrevivir a dosis de químicos que generalmente son letales para una población normal (Woodham, 1983; Nari 1999).

La resistencia a los acaricidas en garrapatas está soportada principalmente por dos mecanismos fisiológicos importantes: Insensibilidad en el sitio de destino, como son las mutaciones en la acetilcolinesterasa, ácido aminobutírico, genes receptores de octopamina y hasta la fecha se han confirmado diez mutaciones en el canal de sodio (Rodríguez, 2012).

En la Tabla 3.1 se aprecia como al paso del tiempo la garrapata de esta especie ha generado resistencia a distintos tipos de ixodicidas.

Tabla 3.1: Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en Queensland, Australia.

<b>Ixodicida</b>	<b>Año de introducción</b>	<b>Año de reconocimiento de resistencia</b>
Arsénicos	1895	1937
DDT	1946	1954
BHC	1950	1952
Diazinón	1956	1963
Dioxation	1958	1963
Cumafos	1959	1966
Clorpirifos	1966	1970

Tomado de Angus (1996).

### 3.4 (4-bromofenil) carbamato de etilo

Uno de los logros tecnológicos más importantes del siglo XX es el desarrollo de fármacos cada vez más eficaces en el control de una amplia gama de especies parasitarias. Para la industria farmacéutica el desarrollo y la innovación de productos químicos es cada vez más preocupante por el frecuente desarrollo de resistencia, y en consecuencia, la presencia de residuos en productos de origen animal (Nari, 1999).

En trabajo en conjunto con químicos, médicos veterinarios y otros profesionales de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se diseñaron, sintetizaron y probaron una serie de compuestos para tal fin. Los cuales posteriormente fueron evaluados en el laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de Parásitos de la UNAM-FESC, entre esta serie de compuestos se encuentra el (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM 919); (Figura 3.2).

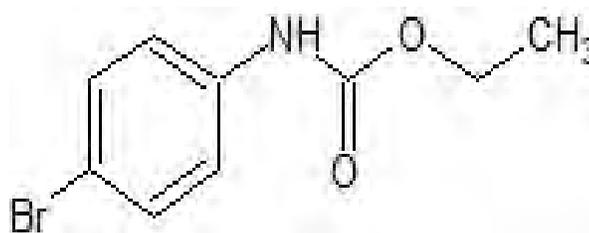


Figura 3.2: Estructura química del (4-bromofenil) carbamato de etilo.

Se ha demostrado que de las garrapatas tratadas con el (4-bromofenil) carbamato de etilo (LQM 919) inhibe el desarrollo casi en su totalidad en fase de larvas, mientras que la cantidad de esta plaga tratada en fase de ninfas y adultas la repleción se ve disminuida. En cuanto a los huevos ovipositados por estos hectoparásitos tratados con el compuesto mostraron serias alteraciones morfológicas, teniendo una apariencia opaca reseca y más oscura siendo menos viables, además de que son menos adherentes en comparación a los huevos ovipositados por garrapatas sin tratamiento; por lo que hubo una elevada inhibición de la oviposición, así como una disminución de la eclosión de larvas. Teniendo en total una eficacia ixodocida del compuesto del 99.97%; en la Tabla 3.2 se muestran la eficacia obtenida en distintos parámetros para cada uno de los estadios estudiados del parásito (Iturbe, R. S. 2014).

Tabla 3.2: Eficacia obtenida en cada parámetro evaluado (datos expresados en porcentaje).

Parámetros medidos	Larvas	LQM 919	
		Ninfas	Adultas
Reproducción de hembras repletas	99.09	87.99	36.80
Disminución de oviposición	100.00	75.00	0.00
Inhibición de la oviposición	100.00	60.48	75.62
Reducción en la eclosión de larvas	100.00	100.00	99.73
Reducción total de larvas disponibles para la siguiente generación	100.00	100.00	99.93

Tomado de Iturbe (2014).

## 4. Marco teórico

### 4.1 Métodos espectrofotométricos

La espectroscopía es una ciencia que estudia las interacciones que suceden entre la radiación y la materia. Los métodos analíticos espectroscópicos se fundamentan en medir la cantidad de radiación electromagnética que producen o absorben las especies moleculares o atómicas de interés, por medio de un detector fotoeléctrico o con un dispositivo electrónico. Es posible clasificar los métodos espectroscópicos según la región del espectro electromagnético utilizado para la medida. Las regiones del espectro (Figura 4.1) que se han utilizado abarcan los rayos gamma, rayos X, radiación ultravioleta (UV), radiación infrarroja (IR), microondas y radiofrecuencias (RF) (Skoog, 2001).

Debido a que cada especie molecular puede absorber luz a frecuencias características, estos métodos son muy utilizados por los químicos, para la identificación y determinación de sustancias presentes en distintas formas de la materia (Skoog, 2001).

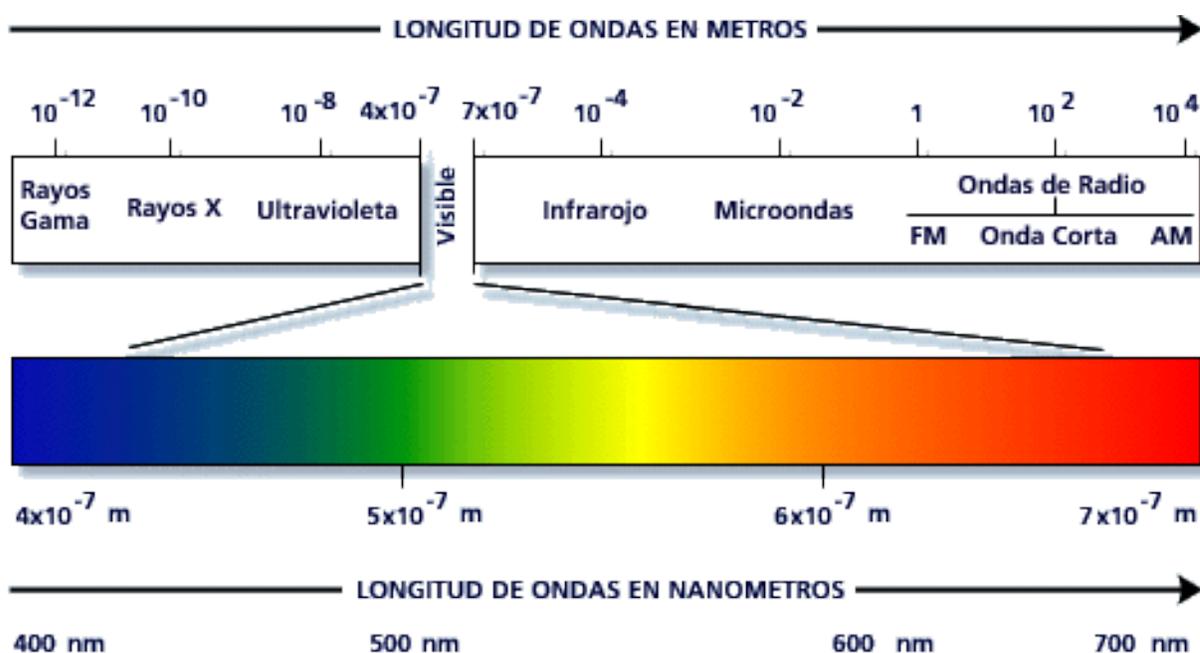


Figura 4.1: Espectro electromagnético.

## 4.2 Espectrofotometría UV-Vis

La región ultravioleta visible (UV-Vis) se define como la radiación monocromática con una longitud de onda en un intervalo de 180 a 780 nm; ésta región está constituida por la región UV cercano que cubre la región de 180 a 380 nm y por la región del visible que comprende un intervalo de longitudes de onda es de 380 a 780 nm (Harris, 1992).

La espectrofotometría de absorción en la que se emplea luz ultravioleta y visible ha sido uno de los primeros métodos físicos empleados en la caracterización de estructuras moleculares (Silverstein, 1964).

La absorción molecular en la región ultravioleta y visible del espectro electromagnético es dependiente de la estructura electrónica de la molécula; y dicha energía de absorción es cuantificada por el resultado del movimiento de electrones de orbitales en estado basal a orbitales de mayor energía, es decir en estado excitado (Figura 4.2) (Silverstein, 1964).

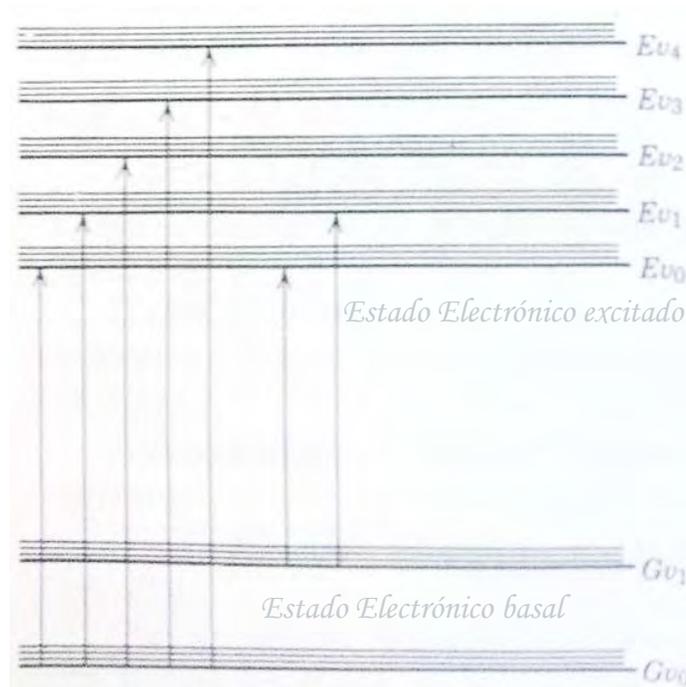


Figura 4.2: Diagrama de nivel energético de una molécula diatómica. (Tomada de Silverstein, 1964).

## 4.3 Ley de Lambert-Beer

Las principales características de una banda de absorción son la posición y la intensidad. La posición de la absorción corresponde a la longitud de onda de la radiación cuya energía es igual a la requerida para una transición electrónica. La intensidad de la absorción depende de dos factores: la probabilidad de interacción entre la energía de radiación y el sistema electrónico, además de la diferencia entre el estado basal y el excitado (Silverstein, 1964).

La intensidad de absorción puede expresarse como transmitancia, la cual es definida por la Ecuación 4.1:

$$\text{Transmitancia } (T) = \frac{I}{I_0} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

Donde  $I_0$  es la intensidad de la energía radiante que impacta la muestra e  $I$  es la intensidad de radiación emergente de la muestra.

Una expresión más conveniente para la intensidad de absorción es la que deriva de la ley de Lambert-Beer, la cual establece una relación entre la transmitancia, el ancho de la muestra y la concentración de la(s) especie(s) absorbente(s). Esta relación se expresa en la Ecuación 4.2:

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = kcb = A \quad \text{Ecuación 4.2}$$

En donde:

$k$  = Constante característica del soluto

$c$  = Concentración del soluto

$b$  = Longitud de paso óptico

$A$  = Absorbancia

Cuando  $c$  se expresa en moles por litro y la longitud del paso óptico ( $b$ ) en centímetros, la expresión anterior se convierte en:

$$A = \epsilon cb \quad \text{Ecuación 4.3}$$

En donde el término  $\epsilon$  se conoce como el coeficiente de absortividad molar, anteriormente conocido como coeficiente de extinción molar.

La ley de Lambert-Beer describe el comportamiento de absorción solo en soluciones diluidas y, en este sentido, es una ley límite, ya que por lo general en concentraciones superiores a 0.01 M, la distancia promedio entre los iones o moléculas de la especie absorbente disminuye hasta tal punto que cada partícula afecta a la distribución de las cargas y por tanto a la magnitud de la absorción de las partículas vecinas. La magnitud de la interacción depende de la concentración, por lo que la aparición de este fenómeno causa desviaciones en la relación lineal de la absorbancia con la concentración. Cuando los iones están muy cerca unos de otros, el coeficiente de absortividad molar del analito puede alterarse debido a las interacciones electrostáticas, lo que da lugar a desviaciones respecto de la ley de Lambert-Beer (Skoog, 2005).

Además también existen variables que influyen en la absorbancia, las más comunes que afectan al espectro de absorción de una sustancia son la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las concentraciones altas del electrolito y la presencia de sustancias interferentes (Skoog, 2005).

## 4.4 Determinación de constantes de acidez

Las constantes de acidez son una medida cuantitativa de la fuerza que tiene un ácido para disociarse en solución. Estas constantes de disociación no son fijas, ya que dependen de otras variables como es la temperatura.

El estudio de equilibrios ácido-base es de gran importancia, debido a las formas iónicas y neutras de un compuesto, las cuales presentan diferentes propiedades fisicoquímicas como solubilidad, coeficiente de distribución, etc. En otras palabras el predominio de alguna de

las especies químicas condicionará su distribución en el ambiente, su actividad biológica o reactividad química, entre otras (Amador; Rojas, 2014).

A través de tantos años de investigación para la determinación de constantes de acidez, se han desarrollado distintas metodologías basadas en técnicas como Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopía Electrónica, Electroforesis Capilar, Cromatografía de Gases, Espectrofotometría UV-Vis, por mencionar algunos (Amador; Rojas, 2014).

#### 4.4.1 Determinación de constantes de acidez mediante espectrofotometría UV-Vis

Para poder realizar la determinación experimental de las constantes de acidez por medio de espectrofotometría UV-Vis se deben cumplir al menos dos requisitos en el sistema. El primero de ellos es que el sistema se encuentre en estado de equilibrio (o al menos en estado estacionario) y que se tenga una estimación previa de la cantidad de equilibrios químicos independientes en el mismo. El segundo requisito es que se cumplan las leyes ideales de absorción, lo que implica la verificación de la ley de Lambert-Beer y la ley de la aditividad de las absorbancias (Morales, 1993).

Una vez obtenida la información espectrofotométrica, es posible determinar experimentalmente los valores de las constantes de equilibrio mediante métodos gráficos o métodos computacionales.

Algunos métodos gráficos son por relaciones molares, valoraciones continuas o métodos de Bjerrum, Leden y Froneaus. Las principales limitaciones para los métodos gráficos es que se requiere que exista un solo equilibrio representativo en el sistema, que la estequiometría de la reacción no sea muy complicada y que la reacción sea cuantitativa.

Por otro lado, los métodos computacionales tienen la ventaja de que permiten el estudio de sistemas complicados (multirreaccionantes y multicomponentes), así como también, te

permiten realizar un estudio estadístico de la información resultante, lo cual es muy importante, ya que con esta información estadística se puede determinar la calidad de los resultados obtenidos. Existen varios programas para el mismo fin, los cuales varían de acuerdo al algoritmo matemático que emplean y la información experimental que se utiliza.

## 4.5 TRIANG

TRIANG es un programa computacional escrito en lenguaje FORTRAN el cual estima el número de especies que absorben radiación electromagnética en el sistema, a partir de los valores de absorbancia a diferentes longitudes de onda para distintas soluciones, y considerando el error en las lecturas de transmitancia (Morales, 1993).

La forma de establecer si una especie química absorbe radiación electromagnética involucra una comparación entre valores de absorbancia y los errores asociados a las mismas, suponiendo el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer y la de aditividad (Morales, 1993).

TRIANG calcula los elementos de una matriz de error, considerando el valor de  $\Delta T$ , después se busca la absorbancia (P): Si el elemento diagonal de la matriz del error  $E_{jj}$  multiplicado por tres es menor que el elemento  $P_{jj}$  correspondiente entonces se considera este  $P_{jj} \neq 0$ . El número de especies que absorben en el sistema como la suma de los elementos  $P'_{jj}$  diferentes de 0 (Gómez, 2006).

Para datos espectrofotométricos obtenidos experimentalmente el valor de  $\Delta T$  debe encontrarse en el intervalo  $0.003 \leq \Delta T \leq 0.010$  (Morales, 1993).

## 4.6 SQUAD (Stability Quotients from Absorbance Data)

SQUAD es un programa computacional creado por Legget, escrito en lenguaje FORTRAN. Está diseñado para refinar constantes de equilibrio de un modelo químico propuesto, a

partir de datos de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y a diferente composición del sistema (Morales, 1993).

Este programa puede utilizarse para el estudio de equilibrios ácido-base, para ligandos que son ácidos o bases débiles, complejos con diferentes ligandos, complejos protonados o hidroxocomplejos (Leggett, 1985).

Además, SQUAD calcula parámetros estadísticos que pueden ser empleados para determinar la validez de un modelo en particular los cuales determinan si el modelo químico propuesto explica la información experimental alimentada, dichos parámetros son los siguientes:

- La minimización de la suma de los cuadrados  $U$
- La desviación estándar sobre los datos de la absorbancia ( $\sigma_{\text{datos}}$ ), y de las constantes ( $\sigma_{\text{ctes}}$ ).
- La desviación estándar por espectro ( $\sigma_{\text{espectro}}$ ).
- La desviación estándar sobre los coeficientes de absortividad molar ( $\sigma_{\text{coef}}$ ).

El refinamiento de las constantes se realiza por medio de una minimización de la suma de los cuadrados de la diferencia de los residuos de absorbancia empleando el algoritmo de Gauss-Newton.

$$U = \sum_{I=1}^I \sum_{K=1}^{NW} (A_{i,k}^T - A_{i,k}^E)^2 \quad \text{Ecuación 4.4}$$

En donde  $i$  = Todas las soluciones;  $NW$  = todas las longitudes de onda;  $A_{i,k}^T$  = absorbancia calculada por SQUAD en la  $i$ -ésima solución a la  $k$ -ésima longitud de onda;  $A_{i,k}^E$  = absorbancia experimental en la  $i$ -ésima solución a la  $k$ -ésima longitud de onda. La resolución de la minimización requiere el cálculo de las absorbancias a la  $k$ -ésima longitud de onda en la  $i$ -ésima solución (Gómez, 2006).

La desviación estándar de los datos de absorbancia ( $\sigma_{\text{datos}}$ ) provee información de manera general el ajuste del modelo a los datos, asumiendo que el modelo correcto ha sido

encontrado; el intervalo en el cual se podrían encontrar los valores de  $\sigma_{\text{datos}}$  es de  $\pm 0.001$  a  $\pm 0.004$  (Leggett, 1985).

Braibanti y Brushei (1980) proponen que valores de  $\sigma_{\text{ctes}}$  del orden del 1% son aceptables, aunque esto no siempre es fácil de lograr.

Los dos últimos parámetros estadísticos  $\sigma_{\text{espectro}}$  y  $\sigma_{\text{coef}}$  dependen de las desviaciones estándar en los datos de absorbancia y de las constantes (Morales, 1993).

Una vez que se han descrito los valores estadísticos que el programa calcula, debe de considerarse como mejor modelo para interpretar los resultados experimentales, aquél que presente el menor valor de "U", combinando con las desviaciones estándar más pequeñas y el menor número de restricciones posibles. (Morales, 1993).

El análisis estadístico que presenta SQUAD así como los intervalos que propone, depende de gran medida de la precisión del espectrofotómetro empleado, la cantidad de datos alimentados y, sobre todo, de la complejidad química del sistema en estudio (Morales, 1993).

SQUAD propone los coeficientes de absortividad molar por especie química y determina la concentración de cada una empleando el algoritmo de Newton-Raphson, donde la convergencia se da si la diferencia en la minimización de un ciclo iterativo a otro difiere como máximo 0.001 unidades. Sin embargo es importante señalar que el criterio anterior se cumpla, no significa que se tiene el mejor refinamiento de constantes; debido a que se puede caer en el caso de una convergencia en un mínimo local (Gómez, 2006).

# 5. Metodología

## 5.1 Equipo y reactivos

Equipos:

- Recirculador Cole-Parmer DT-15
- Sonicador Cole-Parmer Ultrasonic Model 08849-00 cleaner
- Espectrofotómetro UV-Vis Beckman Coulter DU800
- pHmetro Beckman  $\phi$  350 pH/Temp/mV/Meter
- Balanza Analítica Boeco, Germany

Reactivos:

- (4-bromofenil) carbamato de etilo
- Biftalato de potasio Meyer solución 0.1M
- Hidróxido de sodio Meyer solución 0.1M
- Ácido clorhídrico Meyer 38%
- Etanol Prolabo Chromanorm 95.5%
- Agua desionizada

## 5.2 Pruebas de solubilidad

Para poder realizar los estudios planteados, primero se llevaron a cabo pruebas de solubilidad con la finalidad de conocer el medio adecuado en el cual preparar las soluciones. En dichas pruebas se emplearon tres tubos de ensayo, en cada uno de ellos se colocó una cantidad aproximadamente igual del compuesto; posteriormente se agregó aproximadamente 1 mL de un solvente diferente en cada tubo (agua, acetona y etanol).

Una vez preparados los sistemas anteriores, se agitaron los tubos para buscar solubilizar el compuesto en el solvente y determinar así el medio de disolución adecuado.

### 5.3 Cálculo de la concentración de trabajo

Debido a que la técnica a emplear es la espectrofotometría UV-Visible y que la eficiencia de la misma está directamente relacionada con la concentración, se realizaron lecturas de absorbancia a distintas concentraciones del compuesto con el propósito de estudiar y encontrar la concentración de trabajo, además de que dicha concentración cumpla con la Ley de Lambert y Beer.

Por lo tanto, se preparó una solución a una concentración de  $8.9310 \times 10^{-5}$  M, y se determinó el espectro de absorción del sistema. Se obtuvo el máximo de absorbancia a una longitud de onda de 241nm con una absorbancia de 1.87, una vez obtenidos estos datos se empleó la ecuación de la ley de Lambert y Beer para calcular el coeficiente de absorptividad molar de este compuesto.

Una vez obtenido el valor del coeficiente de absorptividad molar se realizaron los cálculos pertinentes para preparar nueve sistemas de tal manera que la concentración del sistema cuatro tenga una absorbancia aproximada de uno, buscando tener un comportamiento acorde a la Ley de Lambert y Beer; en la Tabla 5.1 se muestran las concentraciones trabajadas.

Tabla 5.1: Concentraciones de estudio.

Número de sistema	Concentración [M]
1	$1.4626 \times 10^{-4}$
2	$1.2536 \times 10^{-4}$
3	$1.0865 \times 10^{-4}$
4	$8.7755 \times 10^{-5}$
5	$6.8532 \times 10^{-5}$
6	$4.8474 \times 10^{-5}$
7	$2.9252 \times 10^{-5}$
8	$9.7408 \times 10^{-6}$
9	$7.1959 \times 10^{-6}$

Una vez preparados los sistemas se obtuvieron los valores de absorbancia a una longitud de onda de 241nm, longitud a la cual el compuesto tiene su máximo de absorbancia.

## 5.4 Preparación de las soluciones

Una vez realizadas las pruebas de solubilidad y de haber encontrado la concentración de trabajo, se procedió a la elaboración de las distintas soluciones stock del LQM 919 para así realizar los estudios a cada una de las condiciones de trabajo; procediendo de la siguiente manera:

Como medio de solución (solución MS) se preparó un litro de medio ácido y otro litro de medio básico, ambas a una concentración de 0.1M, empleando como solución básica hidróxido de sodio el cual fue previamente estandarizado con biftalato de potasio y como ácido se empleó ácido clorhídrico el cual a su vez fue valorado con el hidróxido, esto para determinar las concentraciones reales.

Ambas soluciones fueron preparadas con agua desionizada y posteriormente fueron llevadas a sonicación por un periodo de 20 minutos, además de implementar un sistema de

burbujeo de nitrógeno durante la experimentación, todo lo anterior con la finalidad de evitar la carbonatación de los sistemas.

#### - ESTABILIDAD (pH NEUTRO, ÁCIDO Y BÁSICO)

En lo correspondiente a este estudio se midió una masa de 0.0250 g del LQM 919 la cual se llevó a un aforo de 25.0 mL con una proporción de 50:50 de etanol-agua (Solución A). Posteriormente de la Solución A se tomaron 700  $\mu$ L y se llevaron a un aforo de 50 mL con agua desionizada para la preparación de la solución a pH neutro (Solución B<sub>N</sub>).

Las soluciones finales ácida y básica (Solución B<sub>A</sub> y B<sub>B</sub>) se aforaron con la solución MS ácida y básica respectivamente.

A continuación se muestra la memoria de cálculo empleada para la preparación de las tres soluciones empleadas en el estudio de estabilidad.

$$\left(\frac{0.0250g}{25mL}\right) \left(\frac{1 \text{ mol LQM919}}{244.09g \text{ LQM919}}\right) \left(\frac{1000mmol}{1mol}\right) = 4.0968 \times 10^{-3}M$$

$$4.0968 \times 10^{-3}M \times 0.7mL \left(\frac{2.8677 \times 10^{-3}mmol}{50mL}\right) = 5.7355 \times 10^{-5}M$$

#### - ESPECIACIÓN (SISTEMAS ÁCIDO Y BÁSICO)

Para el estudio de especiación, en el cual se determinan los espectros de absorción como función del pH, la preparación de la solución es muy similar a lo anteriormente descrito. De tal forma que para la solución ácida se midió una masa de 0.0250 g del LQM 919 y se llevó a un aforo de 25 mL con una proporción de 50:50 etanol-solución MS ácida (Solución A). Posteriormente de la Solución A se toman 1.4 mL y se llevó a un aforo de 100 mL con la Solución MS ácida (Solución B<sub>A</sub>); para la solución en medio básico se procedió de la misma manera solo que empleando la solución MS básica.

## 5.5 Estudio de estabilidad

Antes de iniciar el estudio de estabilidad, se realiza el montaje experimental necesario y se establecen las condiciones de experimentación para el sistema; manteniendo la temperatura a 25°C, agitación y burbujeo de nitrógeno constantes. De manera gráfica en la Figura 5.1 se muestra el montaje experimental. La celda de doble camisa se encuentra provista con una tapa de vidrio esmerilada de cuatro bocas, en una de ellas se introdujo el electrodo, y en otra se introdujo una sonda de material quirúrgico, permitiendo así el burbujeo de nitrógeno, ambas selladas con parafilm; en el resto de las boquillas se colocaron tapones de hule manteniendo el sistema cerrado.



Figura 5.1: Montaje experimental para el estudio de estabilidad.

Para el estudio de estabilidad en primer lugar se preparó la solución neutra y se vertió la solución en la celda de doble camisa; misma que ya se encontraba conectada a un baño recirculador a una temperatura de 25°C, posteriormente se tomó una alícuota para realizar la lectura en el espectrofotómetro UV-Visible en un intervalo de 200 a 800 nm; además de realizar una lectura de pH.

A partir de la primer lectura se realizaron más mediciones de la misma manera en los siguientes periodos de tiempo: 0, 2, 4, 6, 8, 13, 18, 23, 28, 38, 48, 58, 88, 118, 148, 178, 208, 238, 1445, 1505, 1565, 1625, 1685, 1745, 2807, 2927, 3047, 3167, 4234, 4354, 4474 minutos. Teniendo así un periodo de estudio de cuatro días interrumpidos.

Dicho esquema de trabajo se repitió por triplicado para cada uno de los pH's de estudio (medio ácido, medio neutro y medio básico).

## 5.6 Especiación química

Para el estudio de especiación se realizó un montaje experimental muy similar al empleado para el estudio de estabilidad, colocando una bureta en una de las boquillas de la celda de doble camisa para poder llevar a cabo la adición de solución de compuesto de estudio en medio básico y cambiar el pH del sistema; en la Figura 5.2 se muestra a detalle el montaje experimental.



Figura 5.2: Montaje experimental para la especiación.

La bureta de 10 mL se llenó con la solución de LQM 919 en medio básico (solución B<sub>B</sub>) y en la celda de doble camisa se colocó una alícuota de 5mL de la solución en medio ácido (solución B<sub>A</sub>), misma que se encontraba conectada al recirculador a una temperatura de 25°C, con agitación constante, para mantener el sistema homogéneo y burbujeo de nitrógeno, con la finalidad de desplazar el CO<sub>2</sub> presente en la alícuota, evitando así la posibilidad de que la solución se carbonate. Una vez preparado el sistema se realizó una lectura de pH, y una lectura espectrofotométrica sin agregar nada de la bureta, midiendo tal cual se encuentra la solución del analito. Una vez realizadas las mediciones, se agregó

de la bureta cantidad suficiente para que el pH cambiara 0.3 unidades aproximadamente; una vez logrado el cambio se volvieron a realizar ambas mediciones; bajo este mismo esquema de trabajo se realizaron mediciones hasta llegar a un pH cercano a 13.

La metodología descrita anteriormente se realizó por triplicado.

## 5.7 TRIANG

Una vez obtenidos los espectros de cada valoración se trataron los datos, con el programa TRIANG, para determinar el número de especies diferentes que absorben radiación electromagnética y poder establecer un modelo químico del equilibrio ácido base que puede estar presente en solución.

Se eligió como intervalo de trabajo uno en donde se observan las bandas de absorbancia del compuesto; es decir de 220 a 310 nm en incrementos de 3 nm. Se construyó una matriz de entrada, con los datos de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y pH, además de colocar en la parte superior izquierda el valor que corresponde al número de columnas (longitudes de onda) y filas (pH) respectivamente separados con un solo espacio; en la Figura 5.3 se muestra un ejemplo de cómo fue elaborada la matriz de entrada.

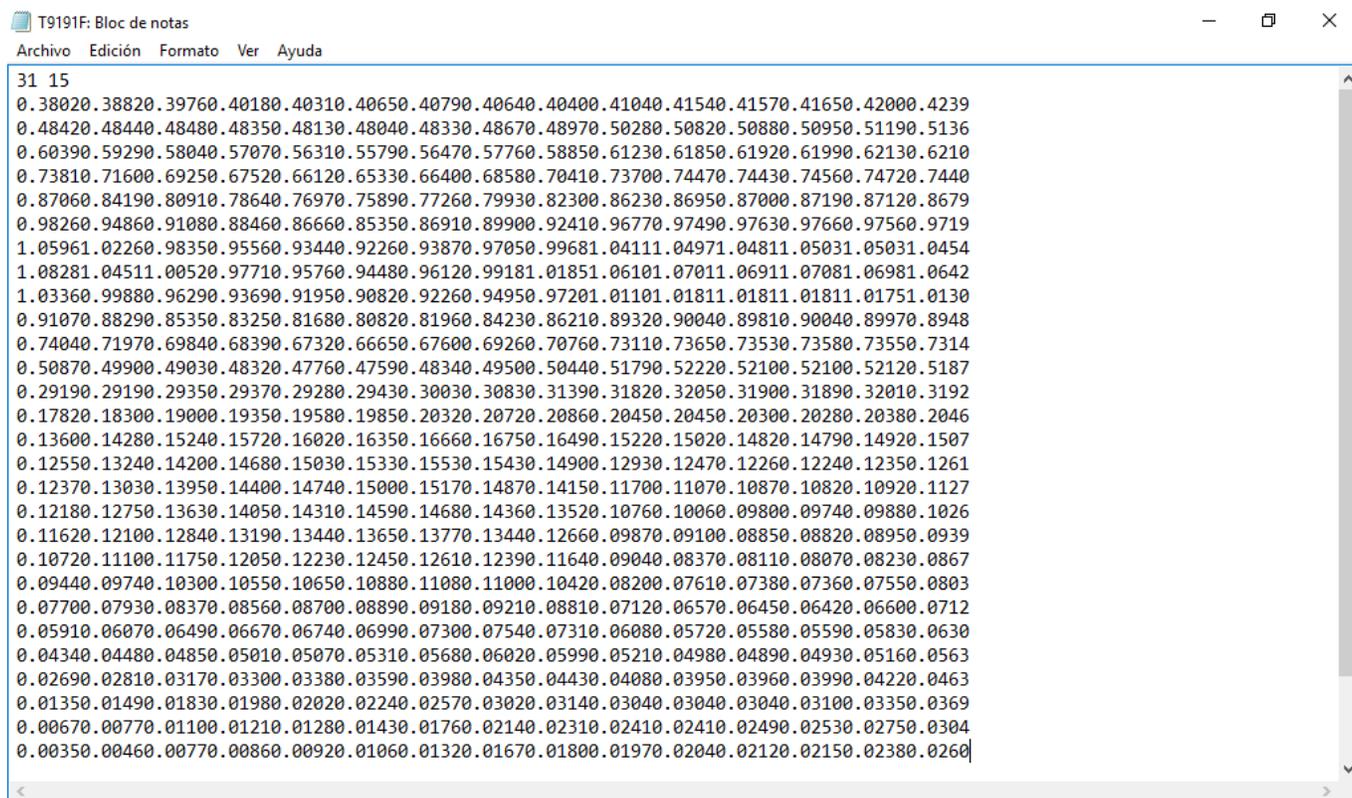


Figura 5.3: Matriz de entrada de TRIANG.

Posteriormente, se ingresa al programa el valor de  $\Delta T$  tomando en cuenta un intervalo de error de transmitancia de entre 0.003 a 0.010 ( $\Delta T$ ).

## 5.8 SQUAD

Para la determinación de los valores de  $pK_a$  se empleó el programa SQUAD para ello se ingresaron al programa los espectros de absorción empleados en TRIANG. SQUAD cuenta con un encabezado en el cual se ingresan datos de la molécula a estudiar y la fecha; así como también un diccionario, donde se ingresa información del modelo químico entre otros datos, como son las abreviaturas con las que será representada la molécula, los coeficientes estequiométricos, las especies formadas, los probables valores de logaritmo de  $\beta$ , el

intervalo de las longitudes de onda trabajadas; así como el intervalo en el que se encuentran, el valor de pH de cada lectura y el valor del ancho de la celda.

La interpretación así como la alimentación de SQUAD del modelo químico es de suma importancia, ya que el programa puede llevar a una convergencia adecuada, sin embargo se debe de cotejar que los resultados siempre sean congruentes con la estructura química del compuesto.

En la Figura 5.4 se muestra un ejemplo del archivo de entrada, que contiene los requisitos necesarios para que el programa computacional SQUAD lleve a cabo el análisis de los datos.

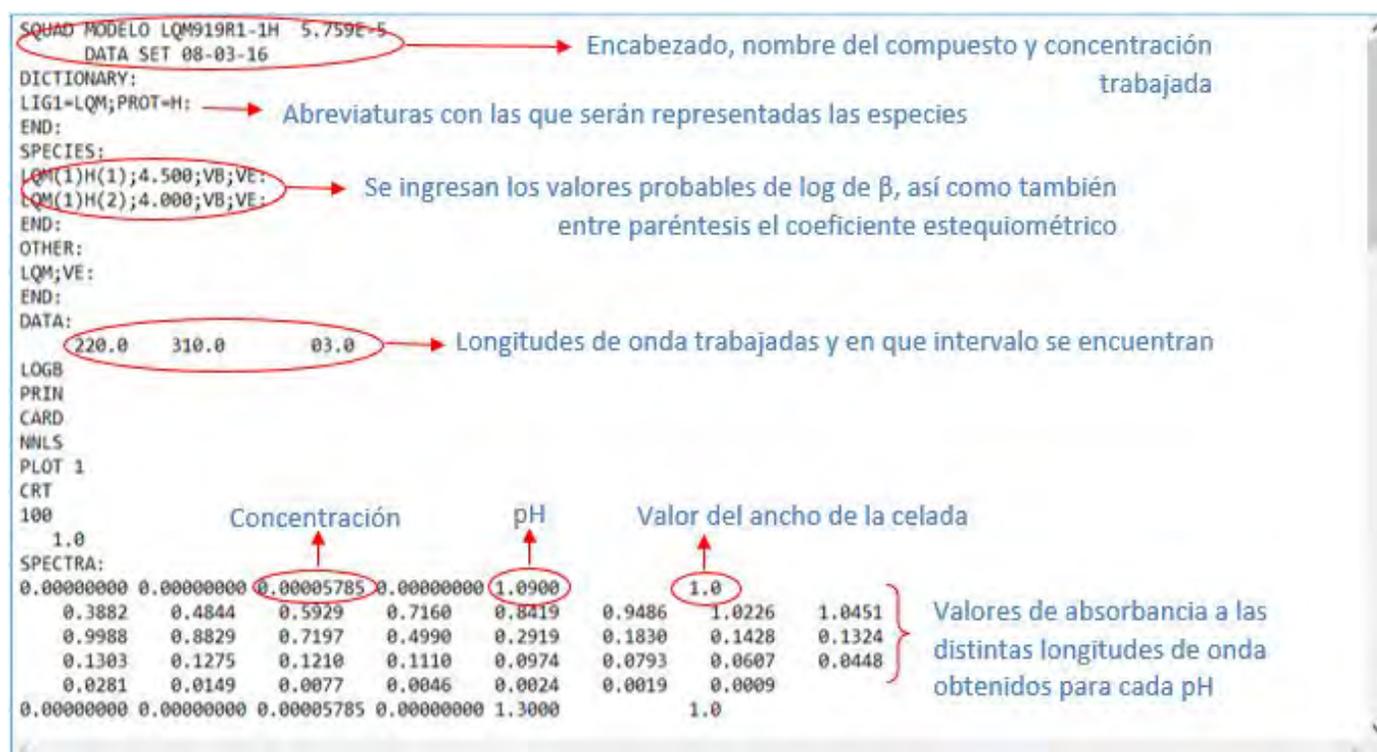


Figura 5.4: Matriz de entrada de SQUAD.

## 6. Resultados y análisis de resultados

### 6.1 Pruebas de solubilidad

Una vez que se agitaron los tubos se observó en cuál de los solventes se solubilizó por completo, teniendo como resultado: en agua no se solubilizó, en acetona y etanol es soluble.

Para elegir el solvente más adecuado se consideró el valor de la longitud de onda en la que absorbe el etanol y la acetona; eligiendo así el etanol, esto con la finalidad de no generar posibles interferencias de carácter espectrofotométrico en el sistema. Posteriormente de haber elegido el solvente, se realizaron pruebas de solubilidad para encontrar la proporción adecuada de agua y etanol sin que la solubilidad se pierda, es decir, tratando de emplear la menor cantidad de etanol posible.

Después de distintas pruebas se determinó que para tener el compuesto en solución en la menor cantidad de etanol, se obtuvo una mezcla de 50:50 de etanol-agua para la solución A, quedando con un porcentaje de etanol de 0.67% para la solución B.

$$\left(\frac{350 \mu\text{L Sol A}}{25 \text{ mL Sol B}}\right) \left(\frac{5 \mu\text{L EtOH}}{10 \mu\text{L Sol B}}\right) \left(\frac{1 \text{ mL EtOH}}{1000 \mu\text{L EtOH}}\right) \left(\frac{95.5 \text{ mL EtOH RP}}{100 \text{ mL EtOH RA}}\right) \times 100$$
$$= 0.6685 \% \text{ de EtOH}$$

De acuerdo a lo anterior se puede considerar que la solución es prácticamente acuosa.

## 6.2 Cálculo de concentración de trabajo

Ya que se realizaron las mediciones en el espectrofotómetro a una longitud de 241 nm; que es donde se encuentra el máximo de absorción, se realizó un gráfico de la absorbancia en función de la concentración del LQM 919 (Figura 6.1) y de esta manera observar y encontrar la concentración de trabajo, para lo que se consideró que el sistema tuviera una absorbancia de aproximadamente 1.0.

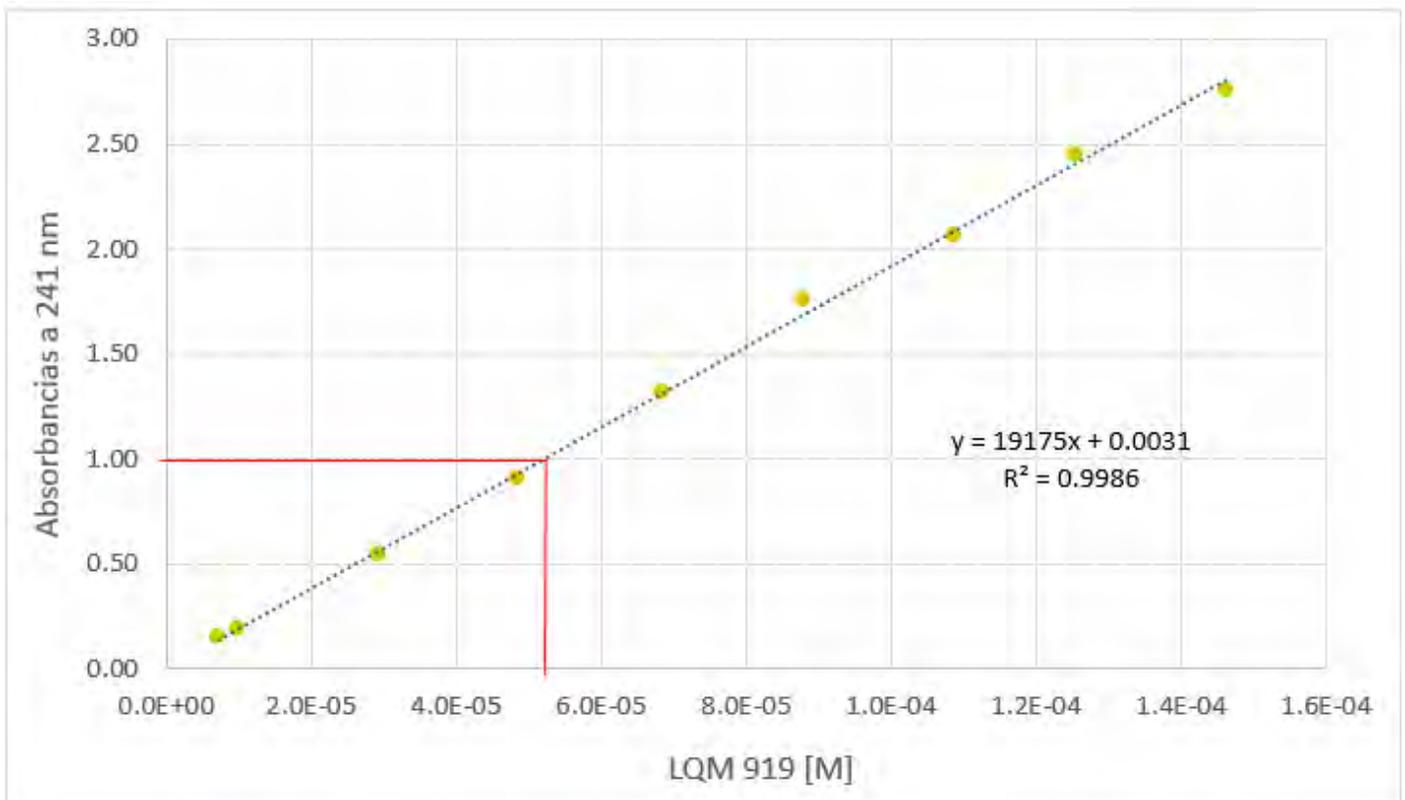


Figura 6.1: Concentraciones de estudio para el (4-bromofenil) carbamato de etilo.

En la Figura 6.1 se realizó una interpolación para obtener la concentración que tiene una absorbancia de uno, encontrando que la concentración del carbamato LQM919 con absorbancia de valor uno, es cercana a  $5.00 \times 10^{-5} M$ .

Con base en el gráfico obtenido (Figura 6.1) se trabajó con una concentración para el compuesto de  $5.759 \times 10^{-5} M$  cumpliendo con la Ley de Lambert y Beer.

### 6.3 Estudio de estabilidad

El estudio de estabilidad se realizó para asegurar que el compuesto no se descompone como función del tiempo a diferentes valores de pH.

Por lo cual, dicho estudio del compuesto se siguió de manera espectrofotométrica a 2 longitudes de onda donde presenta máximos que son a 241nm y 275nm además de realizar mediciones de pH durante cuatro días controlando el sistema, esto por triplicado para corroborar la reproducibilidad de los resultados. Después, para cada una de las réplicas se realizaron los gráficos correspondientes para observar sus cambios a través del tiempo, mismos que se encuentran en los anexos 1 y 2 del presente trabajo.

A continuación en la Figura 6.2 se muestra una sola réplica del estudio de estabilidad del pH en función del tiempo del LQM 919 para los distintos medios estudiados:

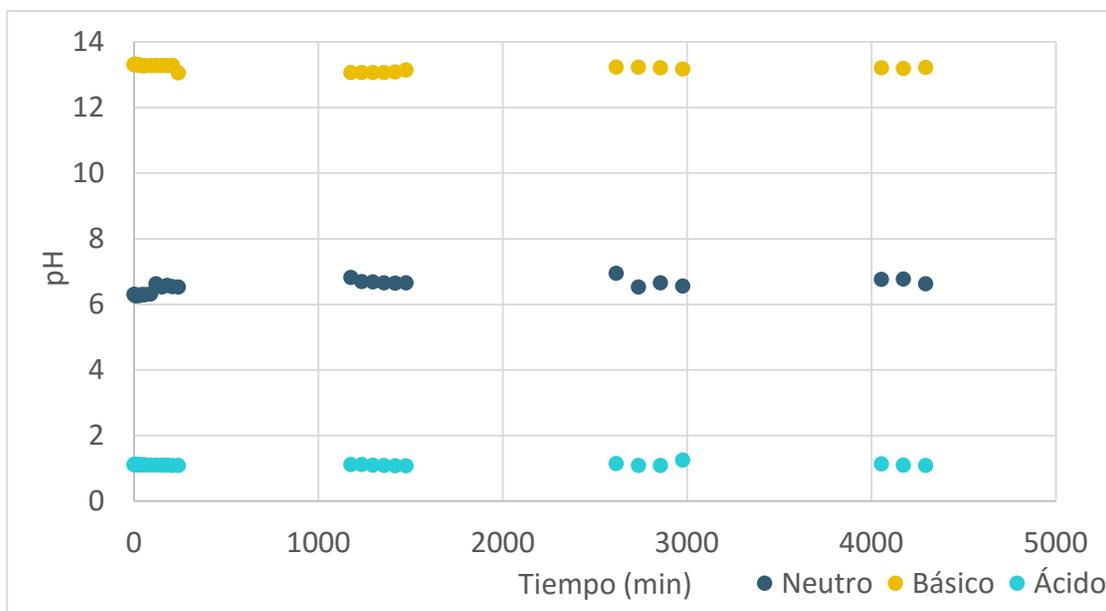


Figura 6.2: Estudio de estabilidad del LQM 919 [ $5.759E^{-5}$ ], evaluando diferentes valores de pH en función del tiempo.

En la Figura 6.3 se muestran para cada uno de los valores de pH estudiados las absorbancias que se obtuvieron al estudiar la estabilidad en los dos máximos de manera espectrofotométrica a las longitudes de onda anteriormente mencionados.

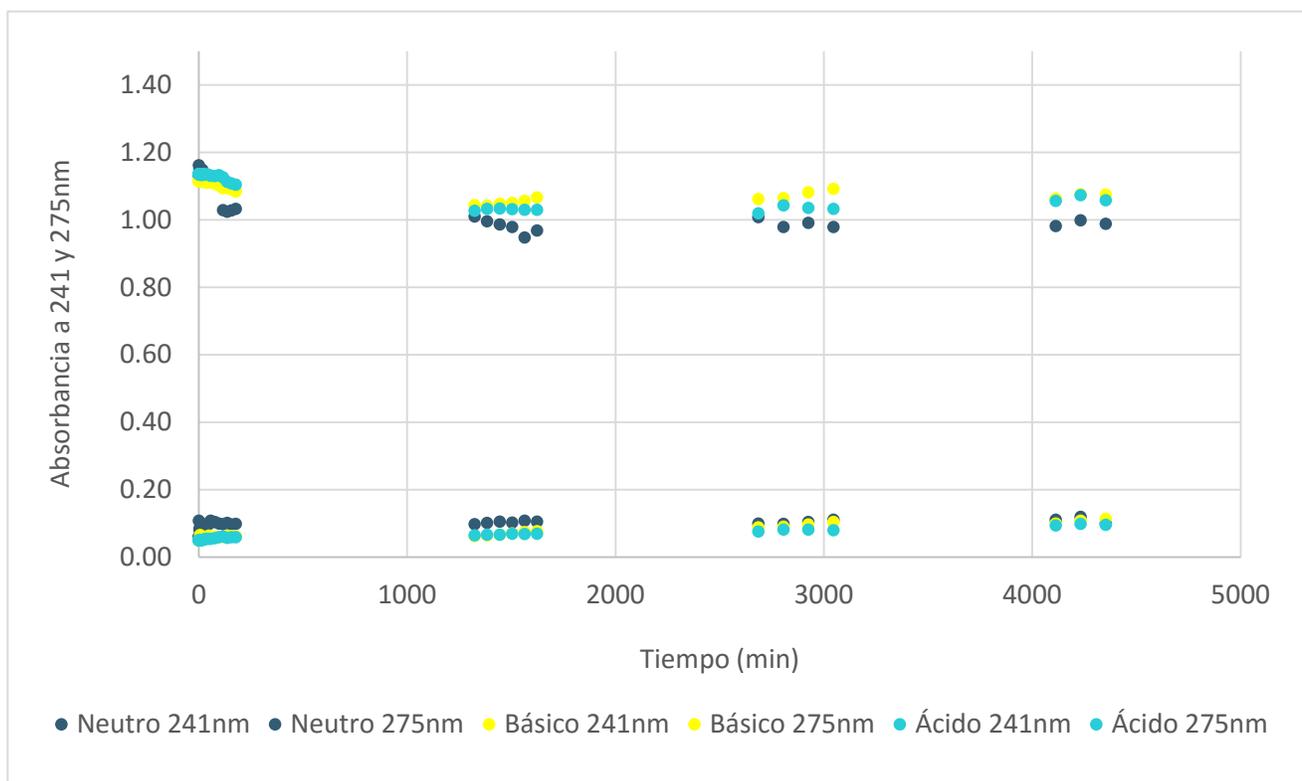


Figura 6.3: Estudio de estabilidad del LQM 919 [5.759E<sup>-5</sup>], evaluando absorbancias de dos longitudes de onda en función del tiempo.

Como se observa en las Figuras 6.2 y 6.3, los estudios realizados en el transcurso de cuatro días para los tres distintos medios, los valores de pH como los valores de absorbancia permanecen prácticamente constantes por lo que se puede establecer que en este periodo de tiempo y a las condiciones estudiadas, la molécula no se descompone.

Analizando los estudios de estabilidad se decidió realizar el estudio de especiación en el intervalo de 1300-1700 minutos (el segundo día) después de la elaboración de la solución, esto debido a que en ambos gráficos (Figuras 6.2 y 6.3), en dicho periodo de tiempo se observa que la señal espectrofotométrica permanece constante.

## 6.4 Estudio de los espectros de absorción durante la especiación

Una vez establecido el día de trabajo se prosiguió con el análisis de las bandas espectrales (Figura 6.4) obtenidas en el transcurso de la especiación ácido-base del LQM 919; donde se observaron tres cambios:

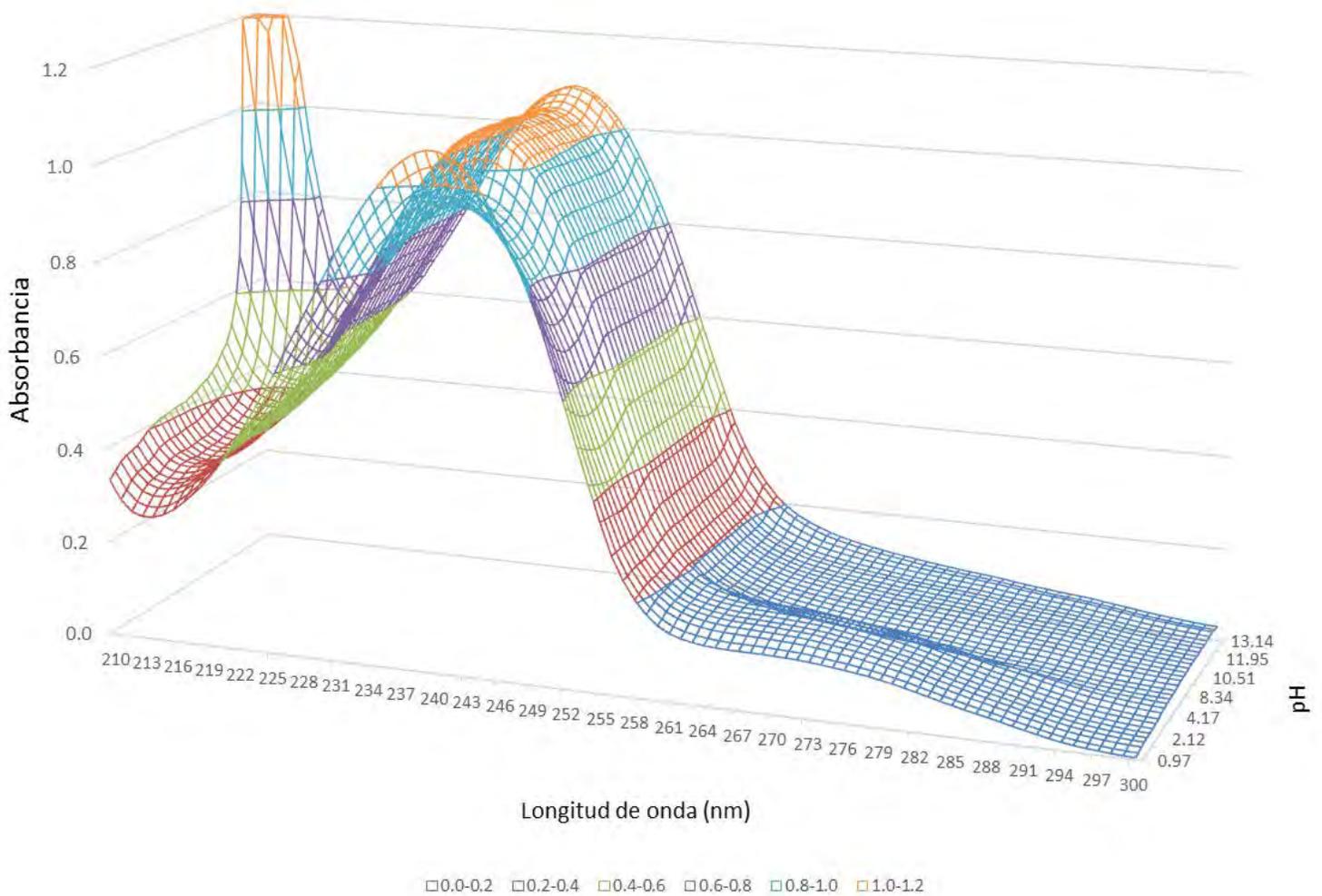


Figura 6.4: Bandas de absorción obtenidas durante el transcurso de la especiación del LQM 919 [ $5.759 \times 10^{-5}$ ].

- El primero de ellos en pH ácido, donde se observa un punto isobéptico a una longitud de onda de 223 nm (Figura 6.5) , seguido de un cambio en la banda de absorción máxima (241 nm), ya que se observa un comportamiento hipocrómico<sup>[2]</sup> y posteriormente un comportamiento hiperocrómico<sup>[3]</sup> a un pH cercano a 3 (Figura 6.6).

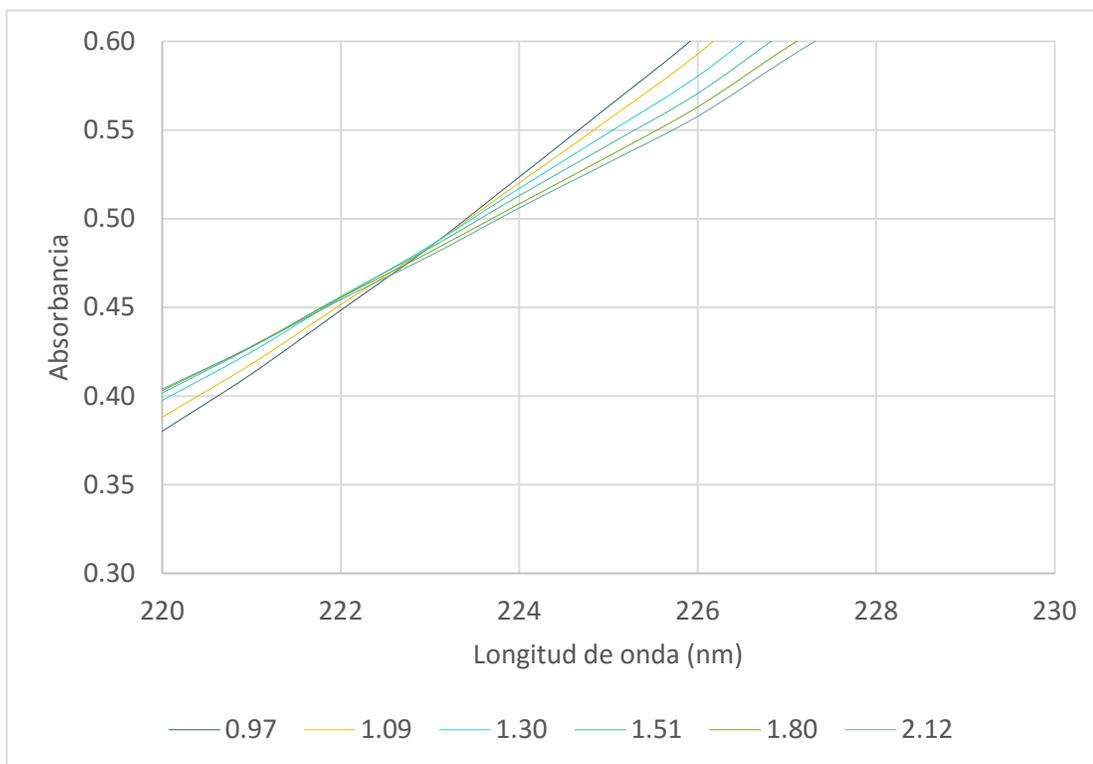


Figura 6.5: Punto isobéptico a 223 nm del compuesto LQM 919  $[5.759E^{-5}]$  en medio ácido.

[1] Hipocrómico: Decremento en la intensidad de absorción (Silverstein, 1964).

[2] Hiperocrómico: Incremento en la intensidad de absorción (Silverstein, 1964).

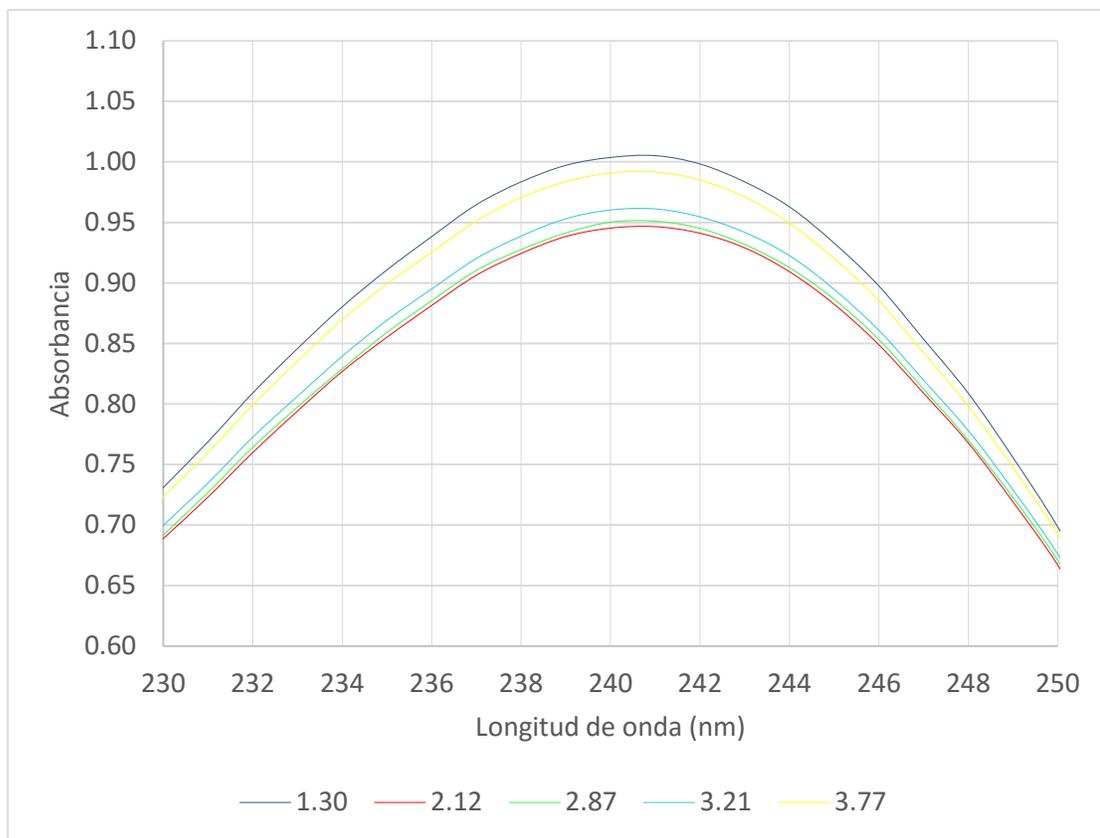


Figura 6.6: Comportamiento hipocrómico e hiperocrómico a 241 nm del LQM 919 [ $5.759 \times 10^{-5}$ ] en medio ácido.

- En el segundo cambio se observa que la banda de absorción máxima se mantiene, pero se presenta un cambio cercano a un pH de 5 a una longitud de onda de 275 nm (Figura 6.7), donde se observa que comienza a crecer una pequeña banda, percibiéndose ligeramente dos puntos isobásticos las longitudes de onda de 258 y 295 nm; ya que se encuentra en un intervalo pequeño de pH.

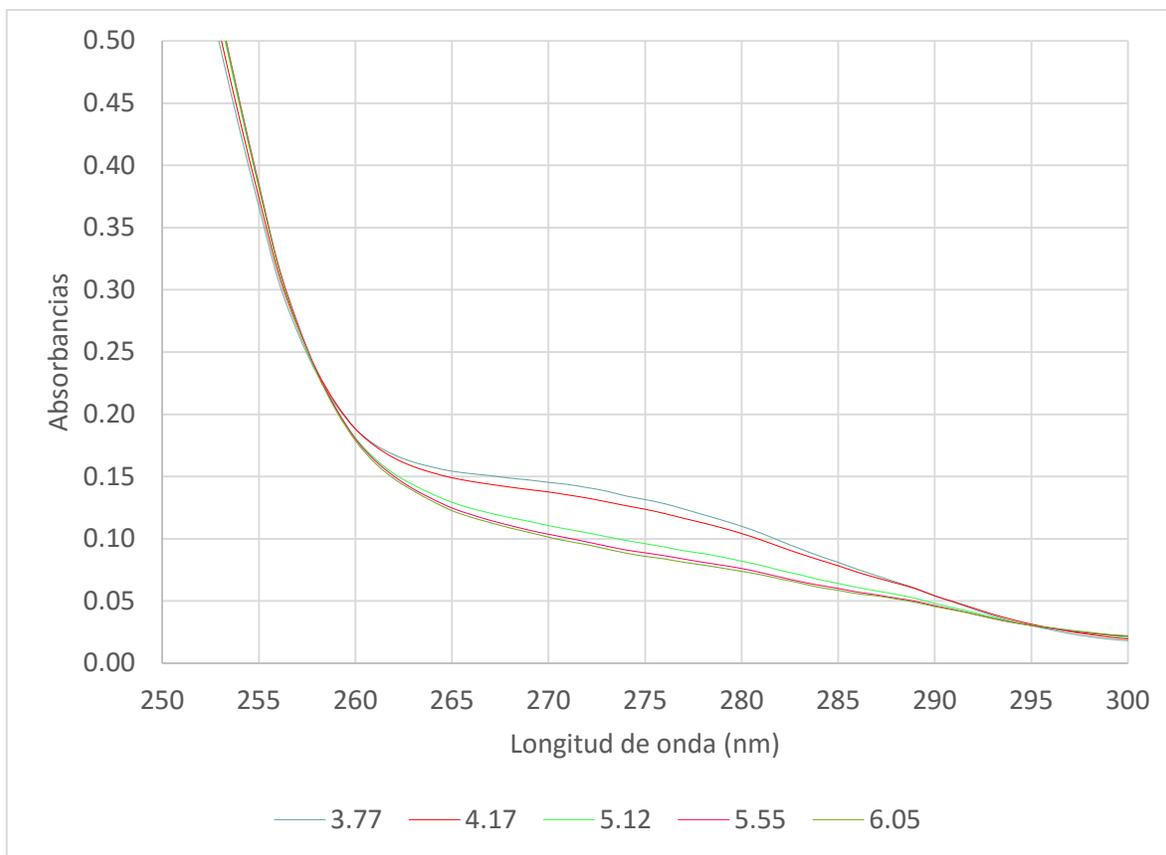


Figura 6.7: Puntos isobésticos a 258 y 295 nm del LQM 919 [ $5.759 \times 10^{-5}$ ] en un pH cercano a 5.

- El tercer cambio se presenta a pH básico, en un valor cercano a 12, donde se observa como la banda de absorción máxima muestra un comportamiento hipercrómico (Figura 6.8).

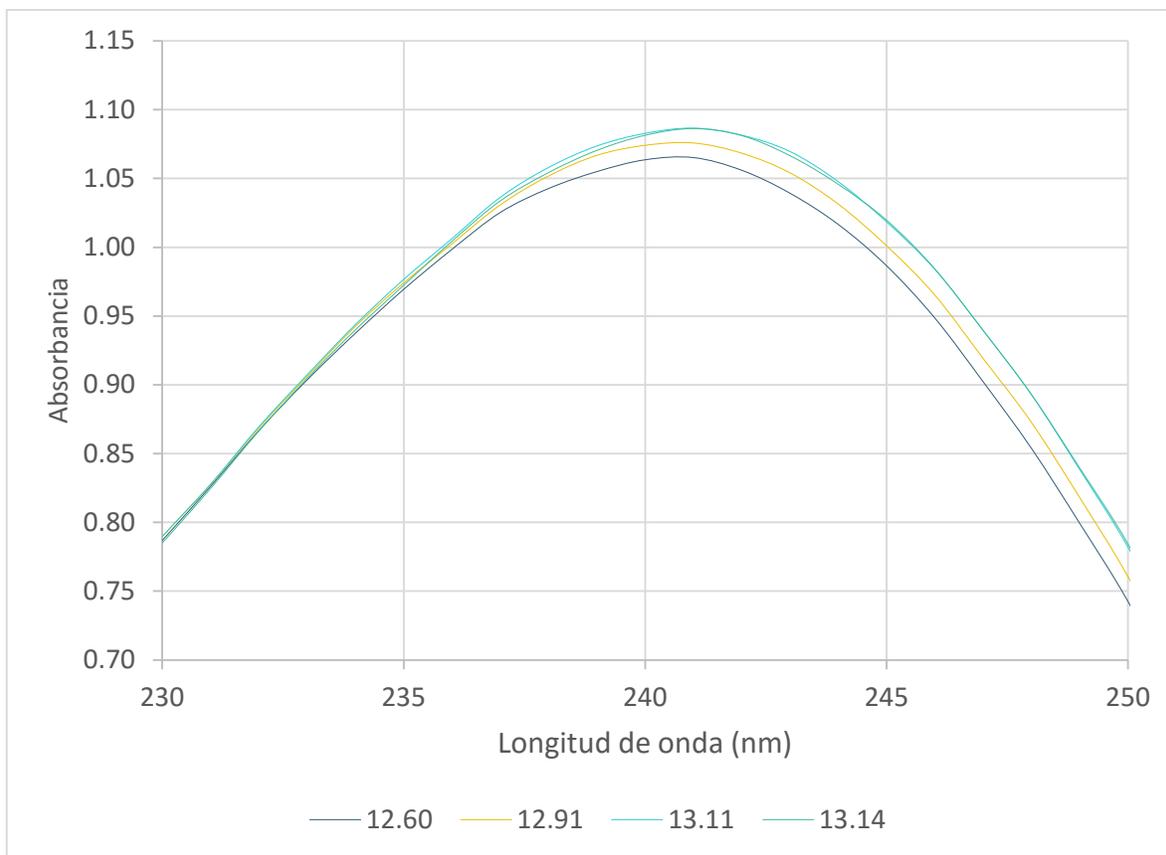


Figura 6.8: Comportamiento hipercrómico a 241 nm del LQM 919 [ $5.759 \times 10^{-5}$ ] en pH básico.

Después de haber analizado las bandas de absorción obtenidas durante la especiación se procedió a seleccionar las longitudes de onda en las que se observó un máximo de absorción, para posteriormente graficarlas en función del pH (Gráfico 6.9), corroborando así los valores de pH en los que se observaron los cambios durante la especiación.

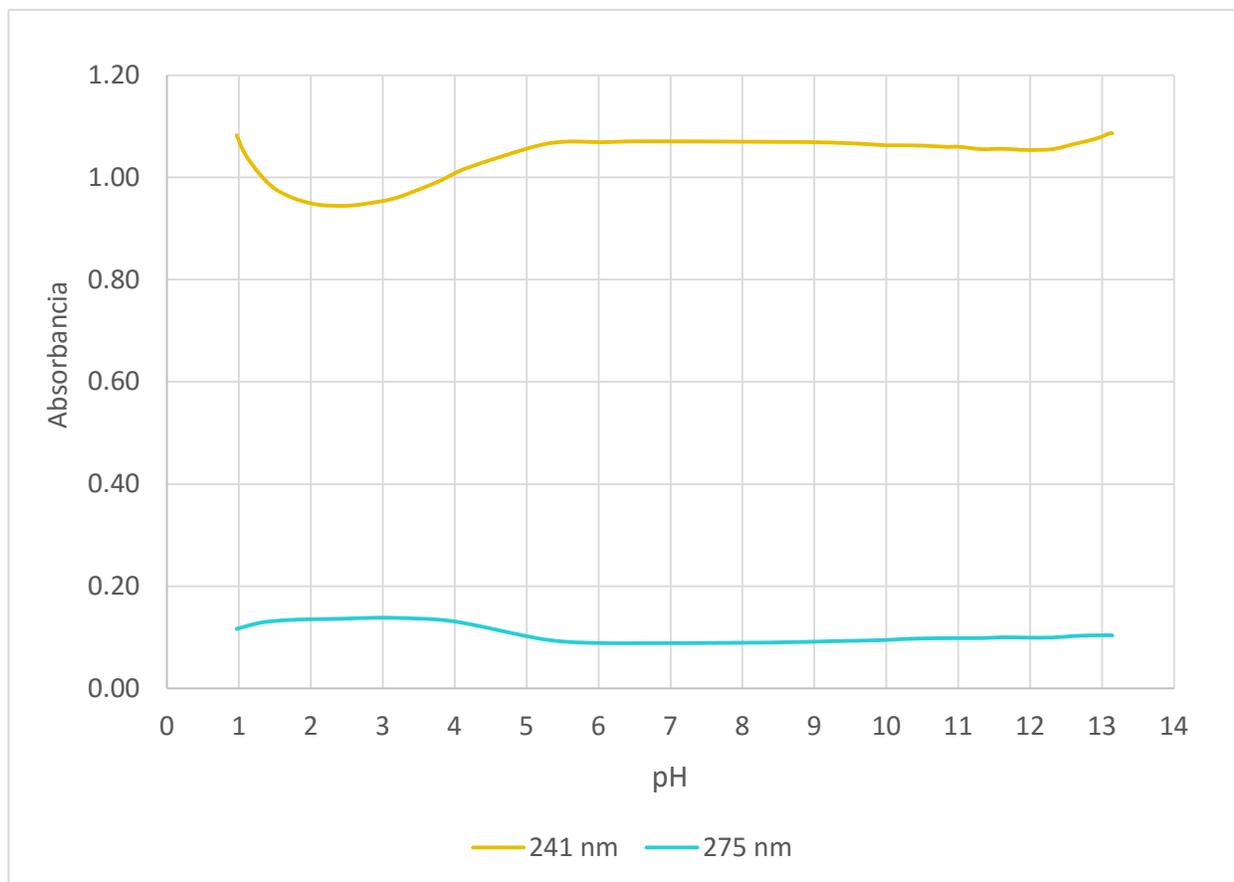


Figura 6.9: Absorbancia a 241 y 274 nm en función del pH del compuesto LQM 919 [5.759E<sup>-5</sup>].

En cuanto a la Figura 6.9 se observa la presencia de punto de inflexión a 275 nm en el intervalo de pH = 5 lo cual indica la presencia de un equilibrio ácido base en esta zona. Por otro lado en los valores de pH más ácidos trabajados, se observa un posible cambio de pendiente a una longitud de onda de 241nm, lo que podría indicar la presencia de otro equilibrio.

## 6.5 Estimación de número de especies

En cuanto a la determinación de las diferentes especies que absorben radiación electromagnética; se procedió a determinarlas mediante el programa computacional TRIANG. Debido a que el error del espectrofotómetro que se empleó es de 0.005, se trabajó con un intervalo de error de transmitancia de 0.003 al 0.010, para establecer un modelo

químico adecuado para el compuesto LQM 919. En la Tabla 6.1 se muestra el número de especies que absorben de forma diferente presentes en el sistema que determinó el programa para cada una de las réplicas.

Tabla 6.1: Número de especies calculadas para el LQM 919 [ $5.759E^{-5}$ ] por el programa TRIANG para cada una de las réplicas.

$\Delta T$	No. De especies		
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3
0.003	3	3	3
0.004	3	3	3
0.005	3	3	3
0.006	3	3	2
0.007	3	3	2
0.008	2	2	2
0.009	2	2	2
0.01	1	2	1

También se observa, que en la Tabla 6.1 conforme el error de la transmitancia aumenta el número de especies va decreciendo, lo cual es totalmente esperado ya que el error considerado omite ver cambios significativos en absorbancia. Para este modelo químico se puede observar que el programa TRIANG determina de manera reiterativa tres especies presentes en un intervalo de error de 0.003-0.007 en dos de las réplicas.

Las tres especies propuestas con la ayuda del programa TRIANG se pueden corroborar mediante la propuesta del equilibrio ácido-base mostrado en la Figura 6.10 en el cual se modifican las especies en función al pH. Por lo tanto este es el modelo que se empleó para alimentar al programa SQUAD con el propósito de refinar los valores de las constantes de acidez.

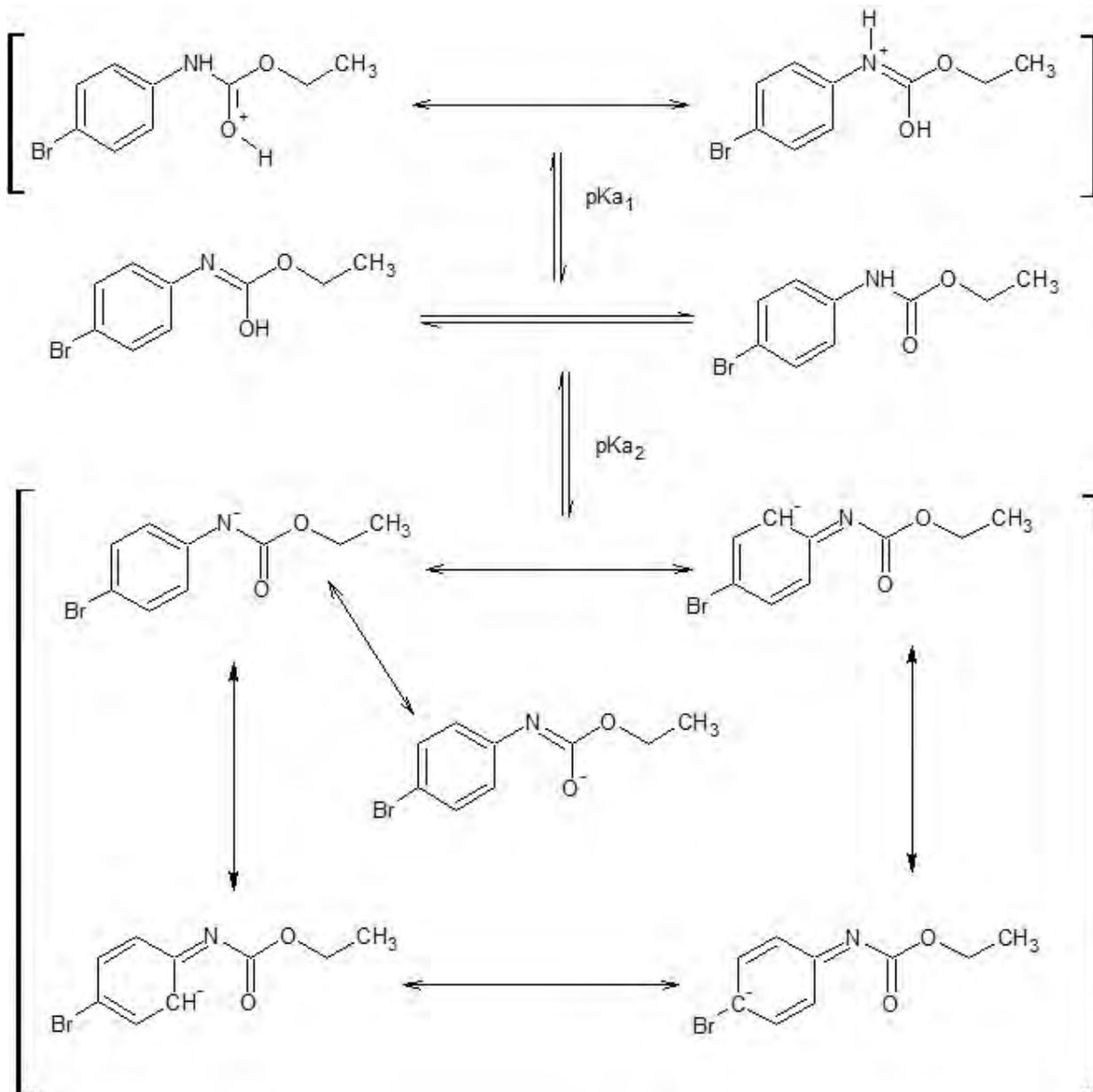


Figura 6.10: Propuesta del equilibrio ácido-base del (4-bromofenil) carbamato de etilo, con las posibles estructuras resonantes.

## 6.6 Especiación química

Al tratarse de un compuesto nuevo, del cual se tiene poca información se realizó una búsqueda de los probables valores de las constantes de acidez, encontrando estimaciones teóricas de  $pK_a$  empleando dos distintas fuentes: la primera por el programa ACD/Labs y la segunda por la página virtual Chemicalize.org, en la Tabla 6.2 se encuentran recopilados los datos obtenidos.

Tabla 6.2: Constantes estimadas teóricamente para el LQM 919.

Fuente	1° $pK_a$	2° $pK_a$
ACD Labs	-2.45	10.66
Chemicalize	-0.97	13.02

Con base en el número de especies que absorben radiación electromagnética diferente, en la propuesta del equilibrio de especiación y las estimaciones teóricas encontradas se considera contar con dos equilibrios, sin embargo considerando la información espectrofotométrica de la Figura 6.7, en el que se observa un cambio en el comportamiento espectral en las longitudes de onda 258 y 295 nm en un valor cercano a 5, se decidió considerar un valor de  $pK_a$  adicional a los anteriormente reportados en la Tabla 6.2, planteando el equilibrio siguiente:



Por lo tanto para la alimentación de SQUAD; en la Tabla 6.3 se muestran los valores ingresados y un resumen de los modelos químicos obtenidos, indicando los valores de  $\log \beta$ , así como también los parámetros estadísticos obtenidos en el refinamiento para cada una de las réplicas.

Tabla 6.3: Recopilación de datos obtenidos para un modelo de tres equilibrios.

Constantes	Log $\beta$	1° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
3 ctes	13	10.6388 ± 0.0558	10.6388		
	17	14.6405 ± 0.0570	4.0780	3.4200E-03	6.8539E-03
	17.5	15.0643 ± 0.0738	0.4238		
Constantes	Log $\beta$	2° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
3 ctes	13	10.5164 ± 0.0955	10.5164		
	17	14.0402 ± 0.0950	3.5238	4.5283E-03	1.2016E-02
	17.5	14.4358 ± 0.1160	0.3956		
Constantes	Log $\beta$	3° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
3 ctes	13	10.4282 ± 0.0497	10.4282		
	17	14.3793 ± 0.0515	3.9511	3.1897E-03	5.9619E-03
	17.5	14.7090 ± 0.0589	0.3297		

De acuerdo a los resultados que se muestran en la Tabla 6.3 se observa que el programa presenta un buen refinamiento con estos tres equilibrios, con valores adecuados para la suma de los cuadrados (U) tanto como de desviación estándar de los datos ( $\sigma$ ) los cuales se encuentran cercanos en el intervalo de  $\pm 0.001$  a  $\pm 0.004$ ; lo que indica que el modelo químico se ajusta.

Sin embargo, al realizar el gráfico de los coeficientes de absorptividad calculados por SQUAD (Figura 6.11) se observa que refina los mismos coeficientes de absorptividad molar para dos especies ácido-base distintas, ya que se obtiene una banda espectral similar para las especies HL y H<sub>2</sub>L.

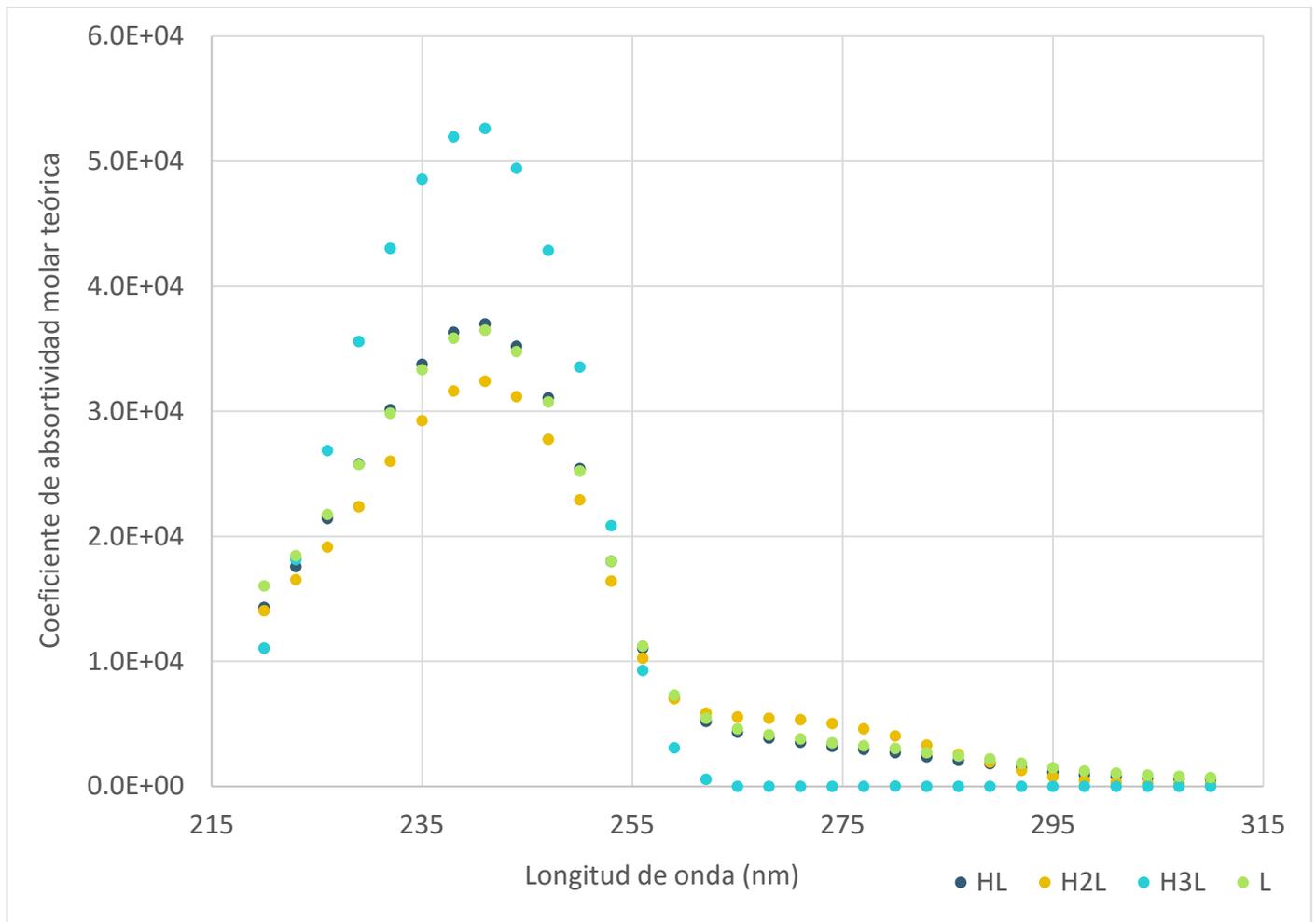


Figura 6.11: Coeficientes de absorptividad para el LQM 919 [ $5.759E^{-5}$ ] calculados por SQUAD para tres equilibrios.

Debido a que el programa SQUAD asocia coeficientes de absorptividad molar muy similares a dos especies distintas, se procedió a trabajar solo con dos constantes de equilibrio esto sin descartar la existencia de un tercer valor de  $pK_a$ , donde para poder refinar el tercer valor de  $pK_a$ , sería necesario extender el intervalo de pH trabajado y descartar la hidrólisis del compuesto; por lo que ahora se considerará el siguiente equilibrio:



En la Tabla 6.4 se muestra un resumen de valores alimentados, indicando los valores de  $\log \beta$ , y los parámetros estadísticos obtenidos para cada una de las réplicas.

Tabla 6.4: Recopilación de datos obtenidos para un modelo de dos equilibrios.

Constantes	Log $\beta$	1° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
2 ctes	4.5	4.0052 ± 0.0160	4.0052	3.4874E-03	4.1229E-03
	4	4.4345 ± 0.0351	0.4293		
Constantes	Log $\beta$	2° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
2 ctes	4.5	3.5271 ± 0.0166	3.5271	5.0837E-03	1.0363E-02
	4	3.9262 ± 0.0513	0.3991		
Constantes	Log $\beta$	3° Réplica			
	Propuesto	Log $\beta$	pK <sub>a</sub>	$\sigma$	U
2 ctes	4.5	3.9526 ± 0.0123	3.9526	3.1967E-03	4.4146E-03
	4	4.2838 ± 0.0283	0.3312		

Como se observa en la Tabla 6.4 el programa SQUAD refina y converge de manera adecuada para estos dos equilibrios estudiados, además de seguir contando con buenos valores estadísticos.

Para la propuesta de estudio de dos equilibrios se graficaron los coeficientes de absorción teóricos (Figura 6.12); observando así, que para este modelo químico el programa SQUAD puede distinguir entre las diferentes especies estudiadas.

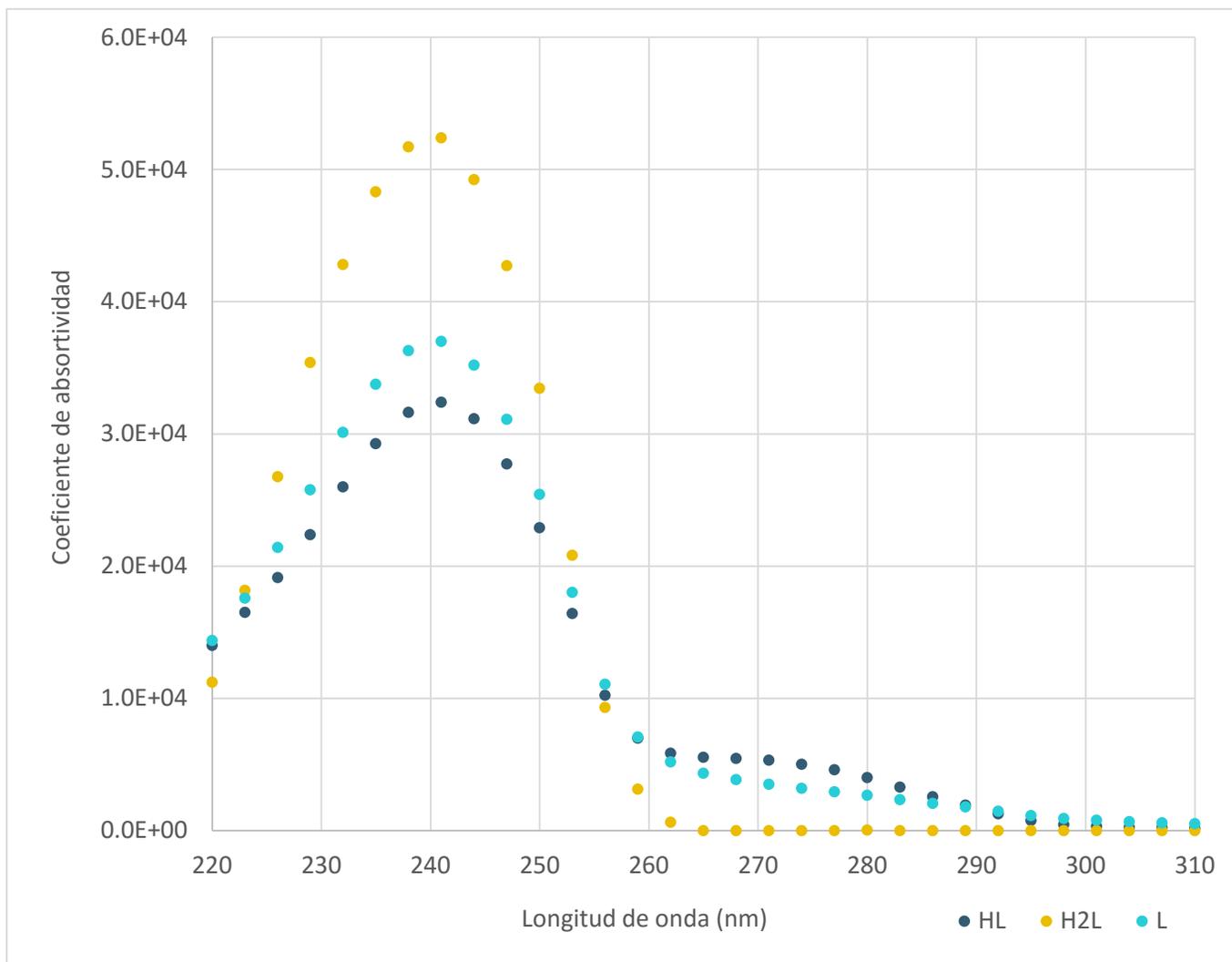


Figura 6.12: Coeficientes de absorptividad para el LQM 919 [ $5.759E^{-5}$ ] calculado por SQUAD para dos equilibrios.

Dado que el valor de  $U$  es la suma de parámetros residuales, es importante considerar el buscar el valor mínimo de  $U$ ; dicho valor indica que tan significativa es la diferencia entre el modelo teórico y los resultados experimentales.

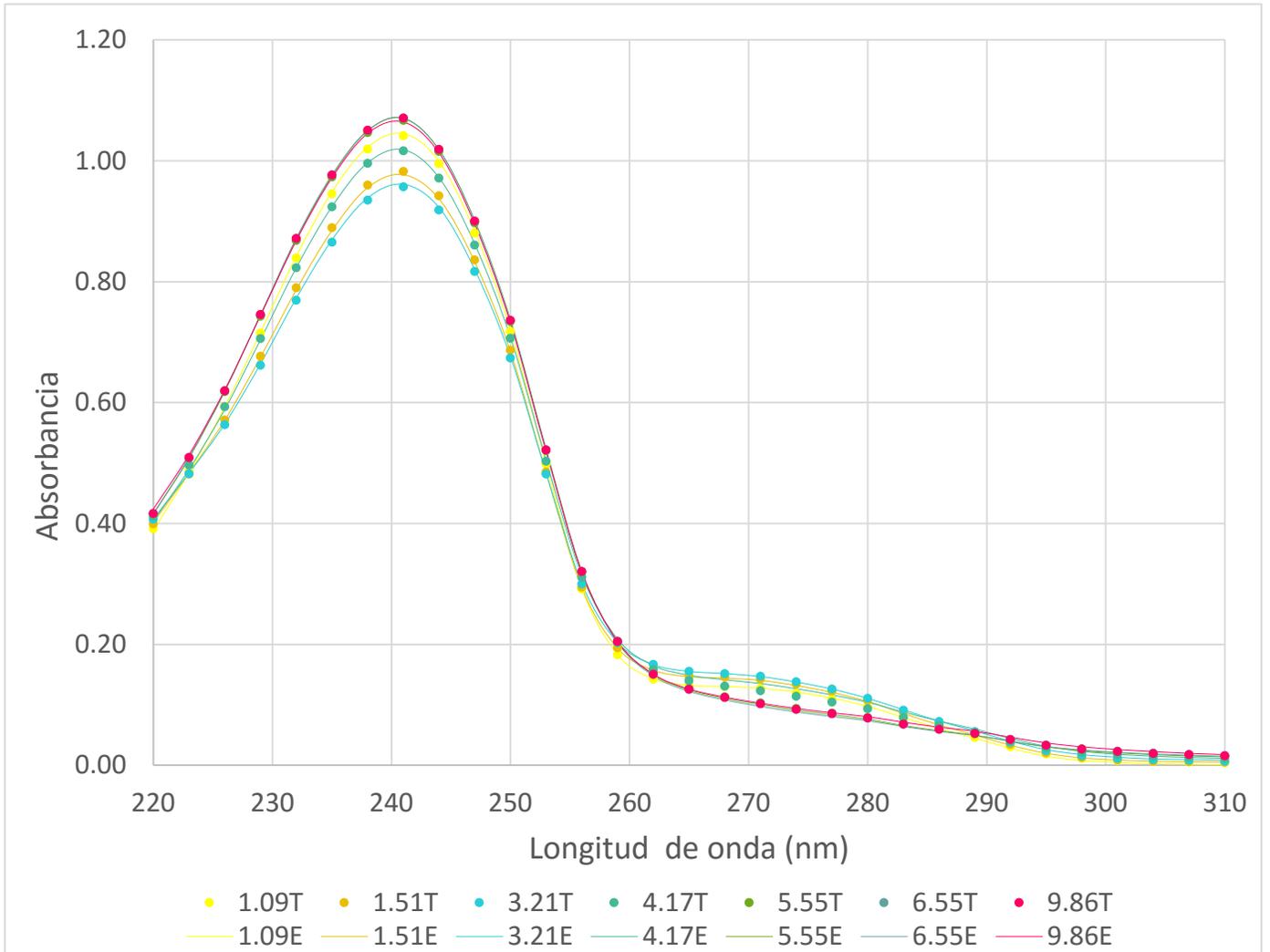


Figura 6.13: Absorbancias teóricas VS absorbancias experimentales del LQM 919 [ $5.759 \times 10^{-5}$ ].

Dicha significancia se puede observar en la Figura 6.13 al representar de manera gráfica las absorbancias experimentales y las absorbancias calculadas por SQUAD, donde se observa que ambas absorbancias son prácticamente iguales.

# Conclusiones

En este trabajo experimental se llevó a cabo el estudio de algunas propiedades fisicoquímicas en medio acuoso a 25°C, como son la estabilidad y la determinación de las constantes de acidez mediante el empleo de espectrofotometría UV-Vis y programas computacionales.

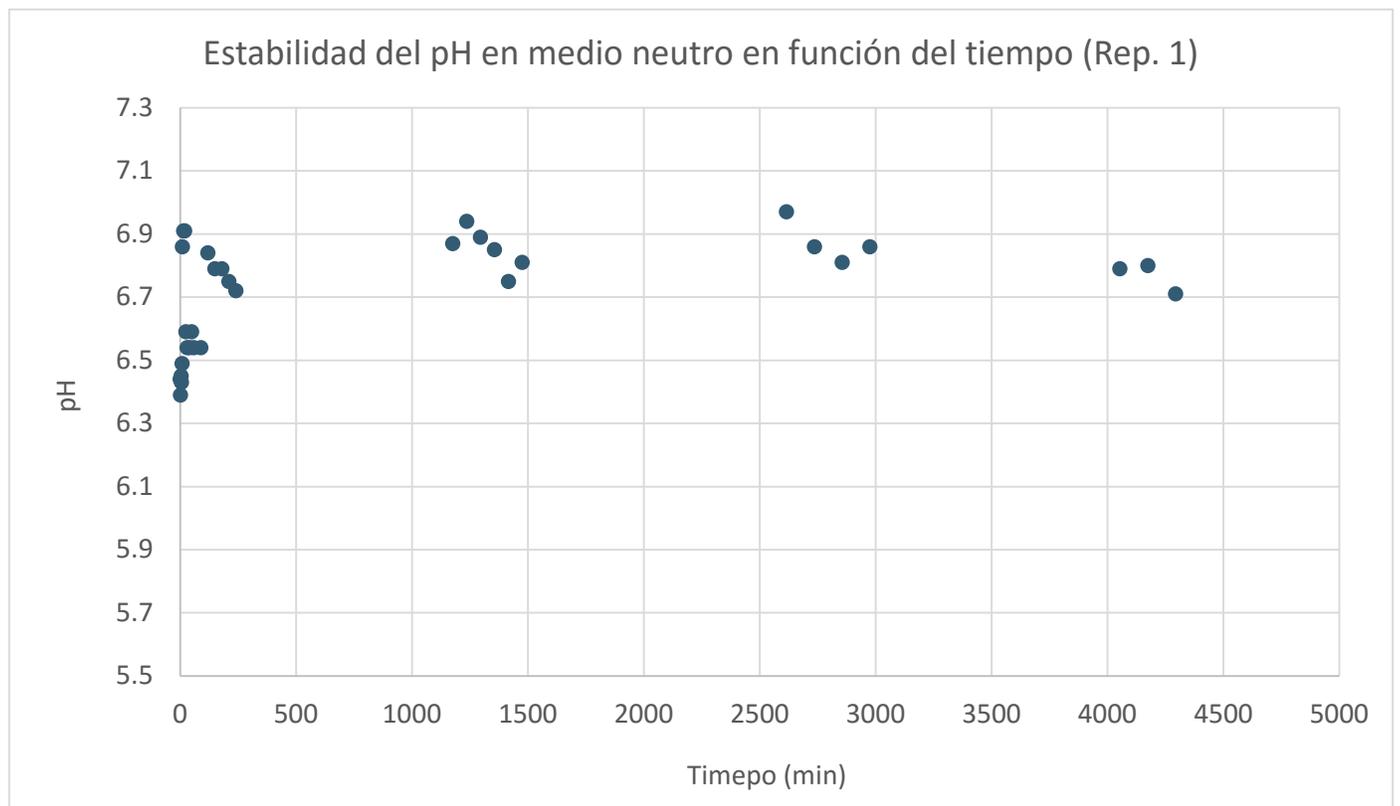
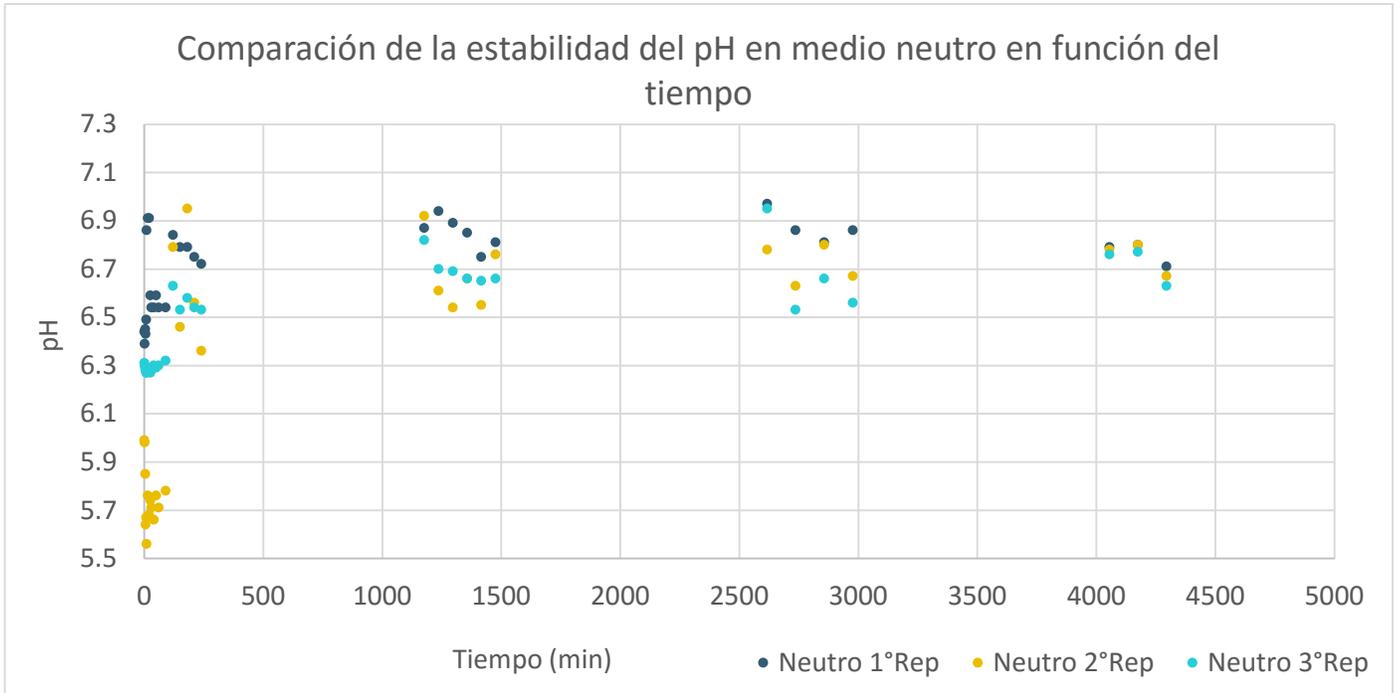
En el estudio de la estabilidad del (4-bromofenil) carbamato de etilo en función del pH, se determinó que el compuesto presenta una estabilidad en solución a partir del segundo día, ya que prácticamente no se tiene variación en los valores de absorbancia en dicho periodo de tiempo. Por lo tanto las especiaciones químicas se llevaron a cabo el segundo día garantizando estabilidad en el sistema durante la misma.

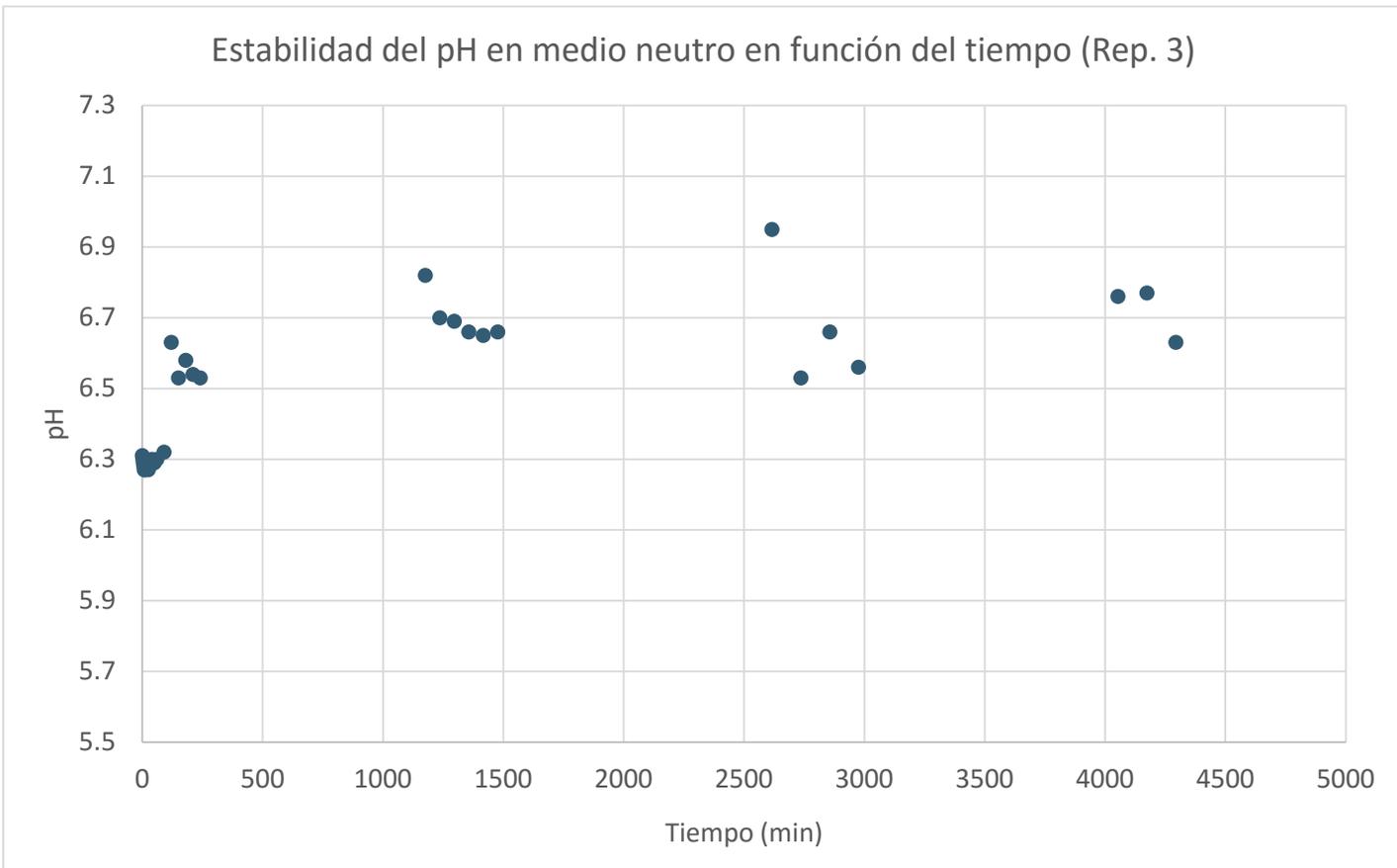
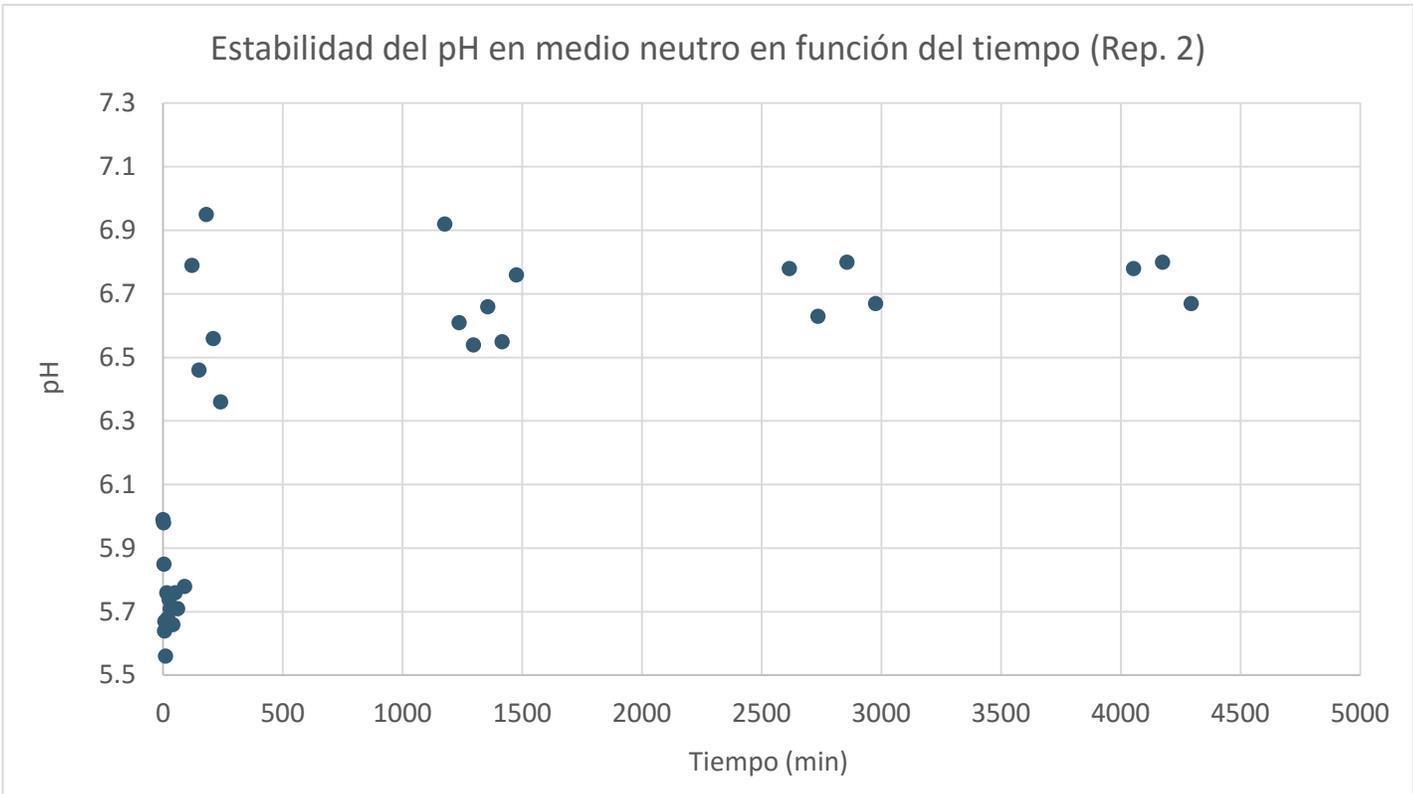
Con la ayuda del programa computacional TRIANG se determinó que se tienen 3 especies ácido-base que absorben radiación electromagnética de manera diferente, además de sustentarlo con la propuesta de un equilibrio ácido-base de la molécula.

Mediante los espectros de absorción se obtuvo el modelo químico que considera la presencia de dos equilibrios ácido-base, refinando dos constantes de acidez  $3.9526 \pm 0.0123$  y  $0.3312 \pm 0.0283$  con el uso del programa computacional SQUAD.

# Anexos

## Anexo 1: Estabilidad de pH

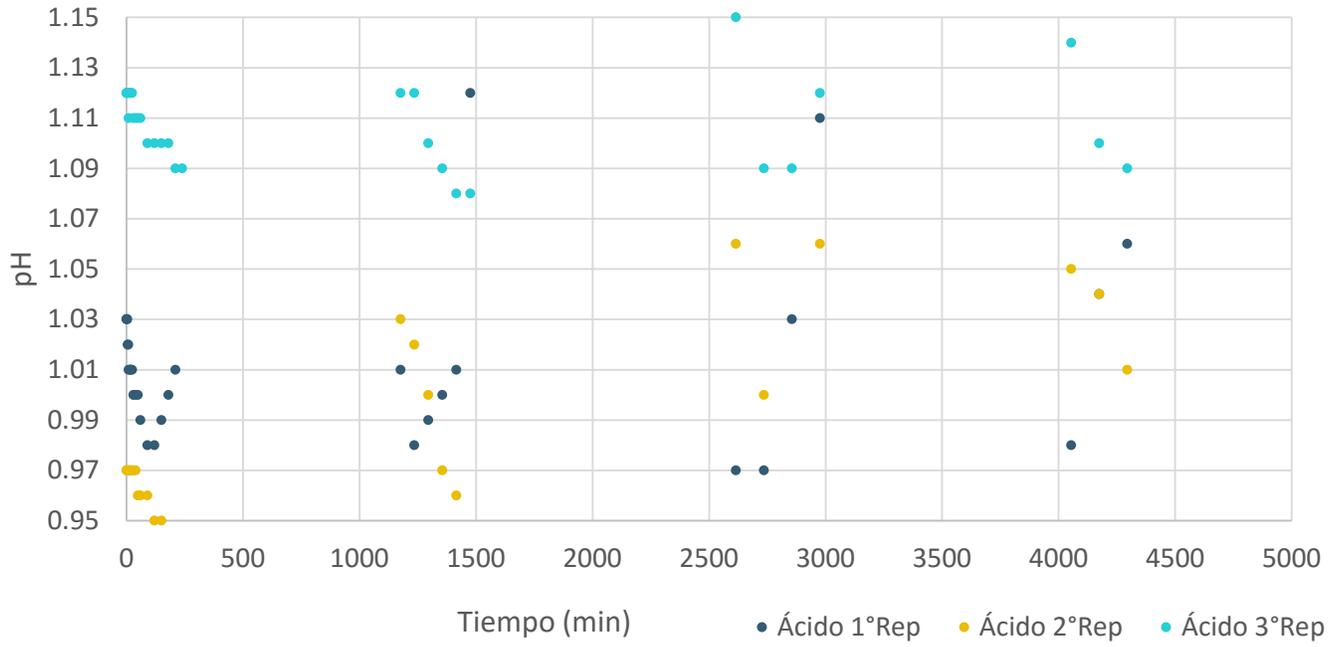




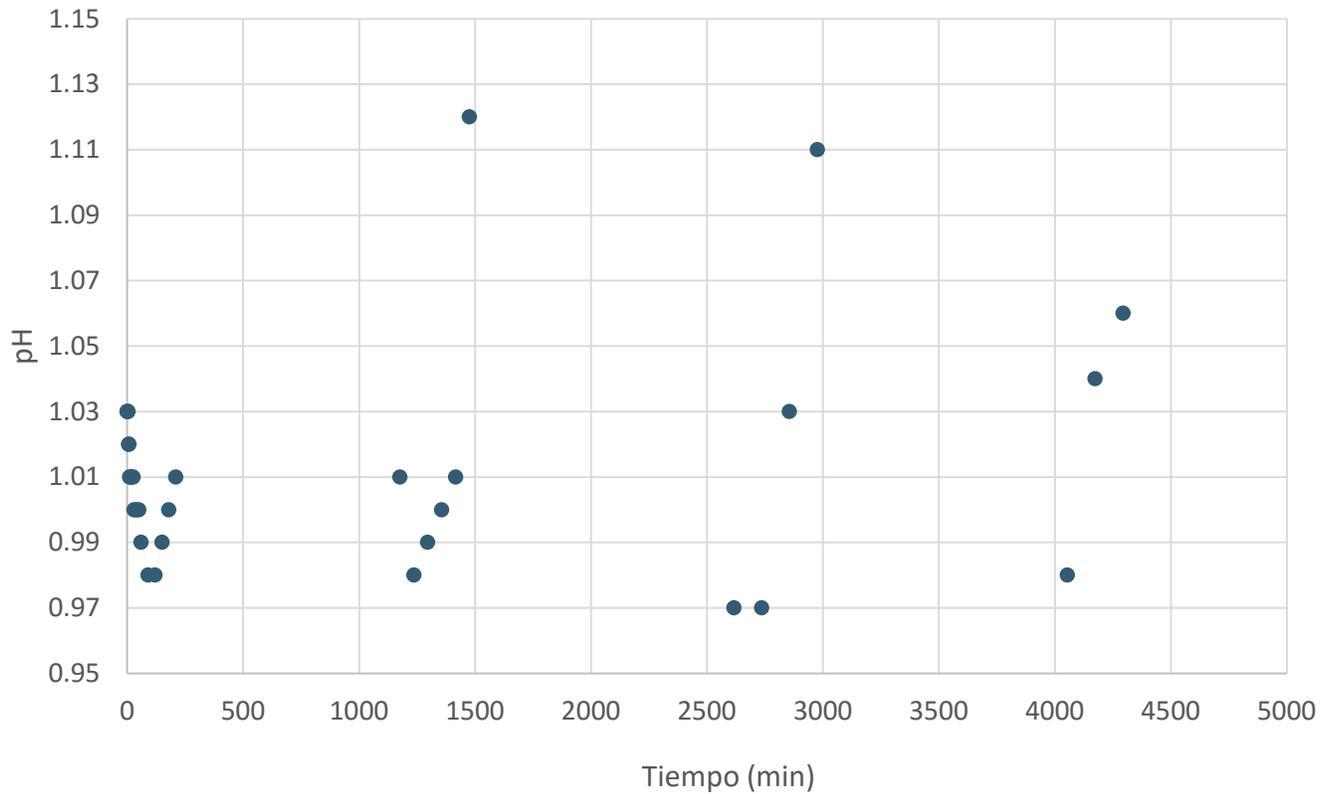




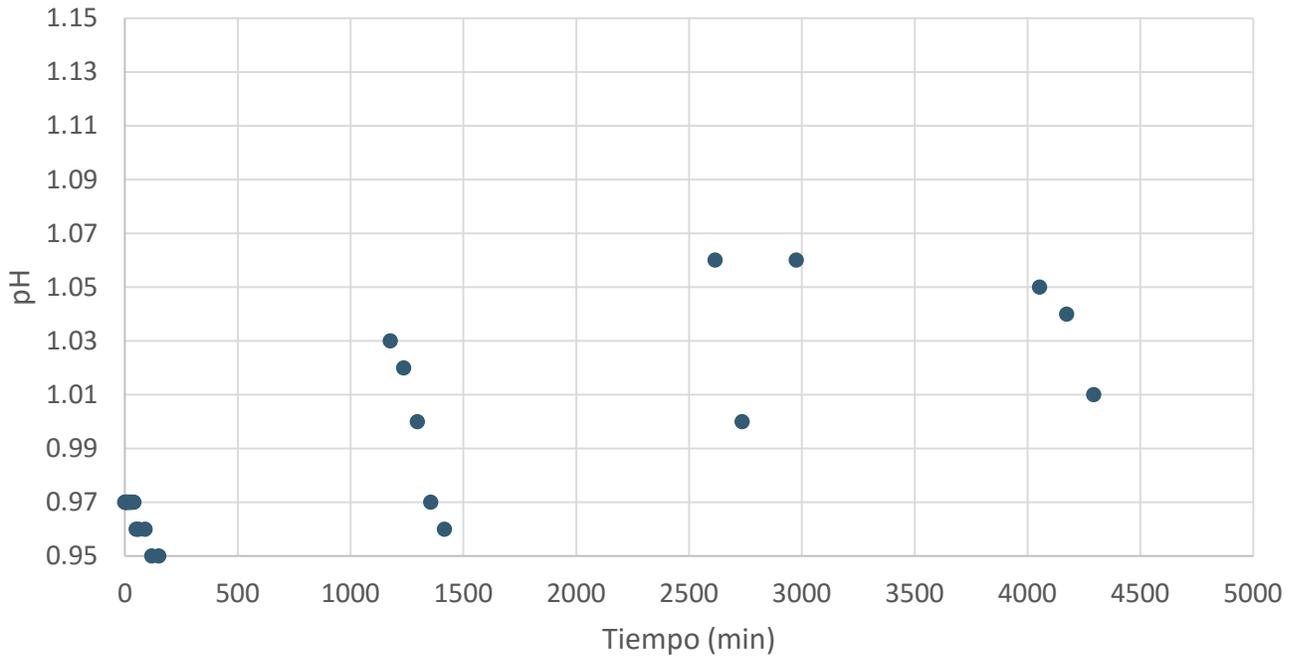
Comparación de la estabilidad del pH en medio ácido en función del tiempo



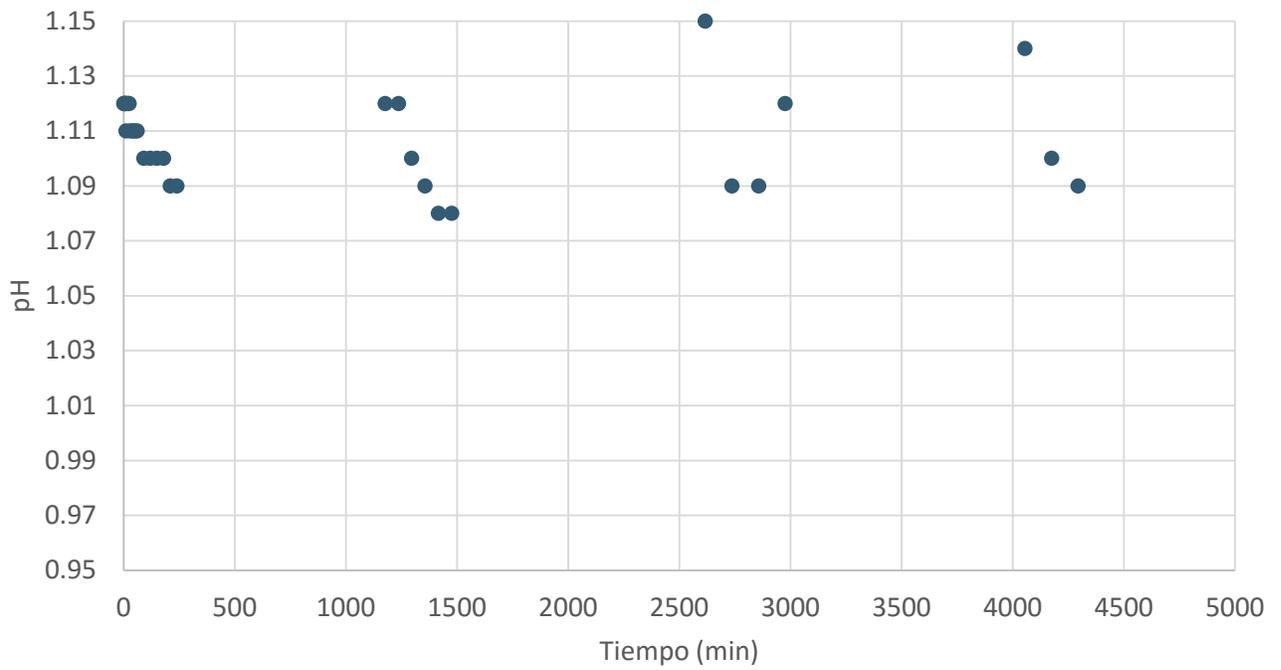
Estabilidad del pH en medio ácido en función del tiempo (Rep. 1)



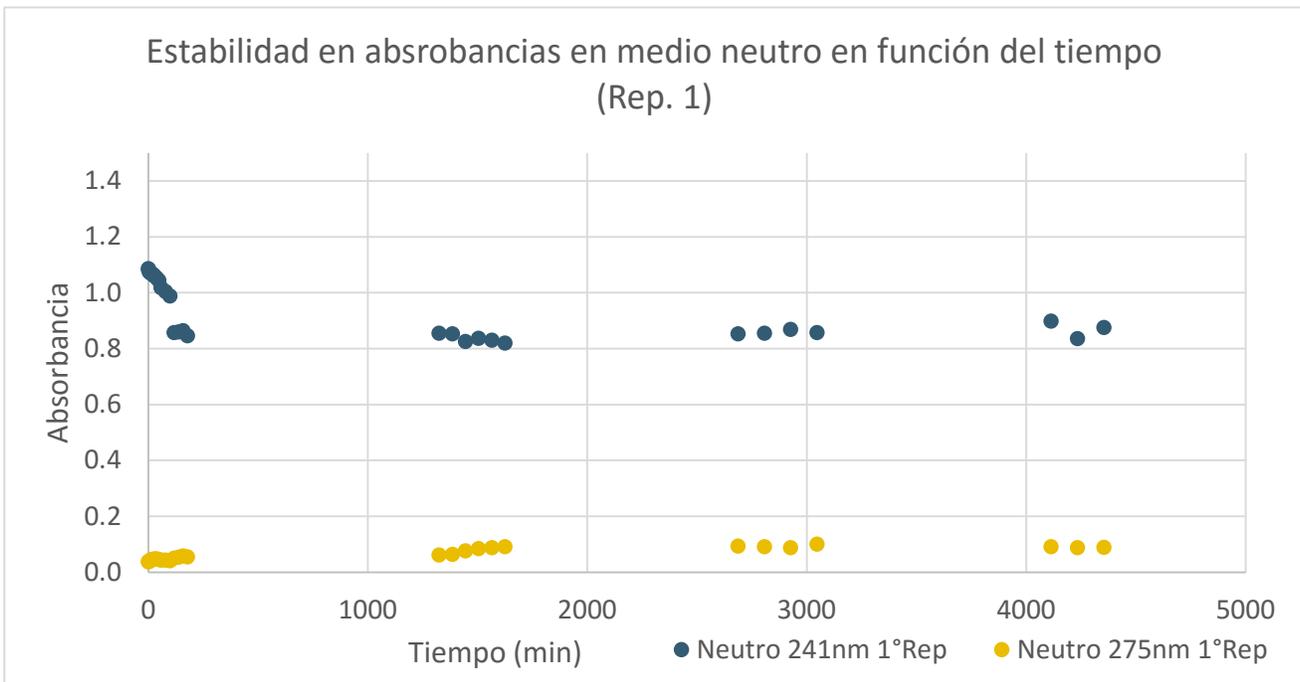
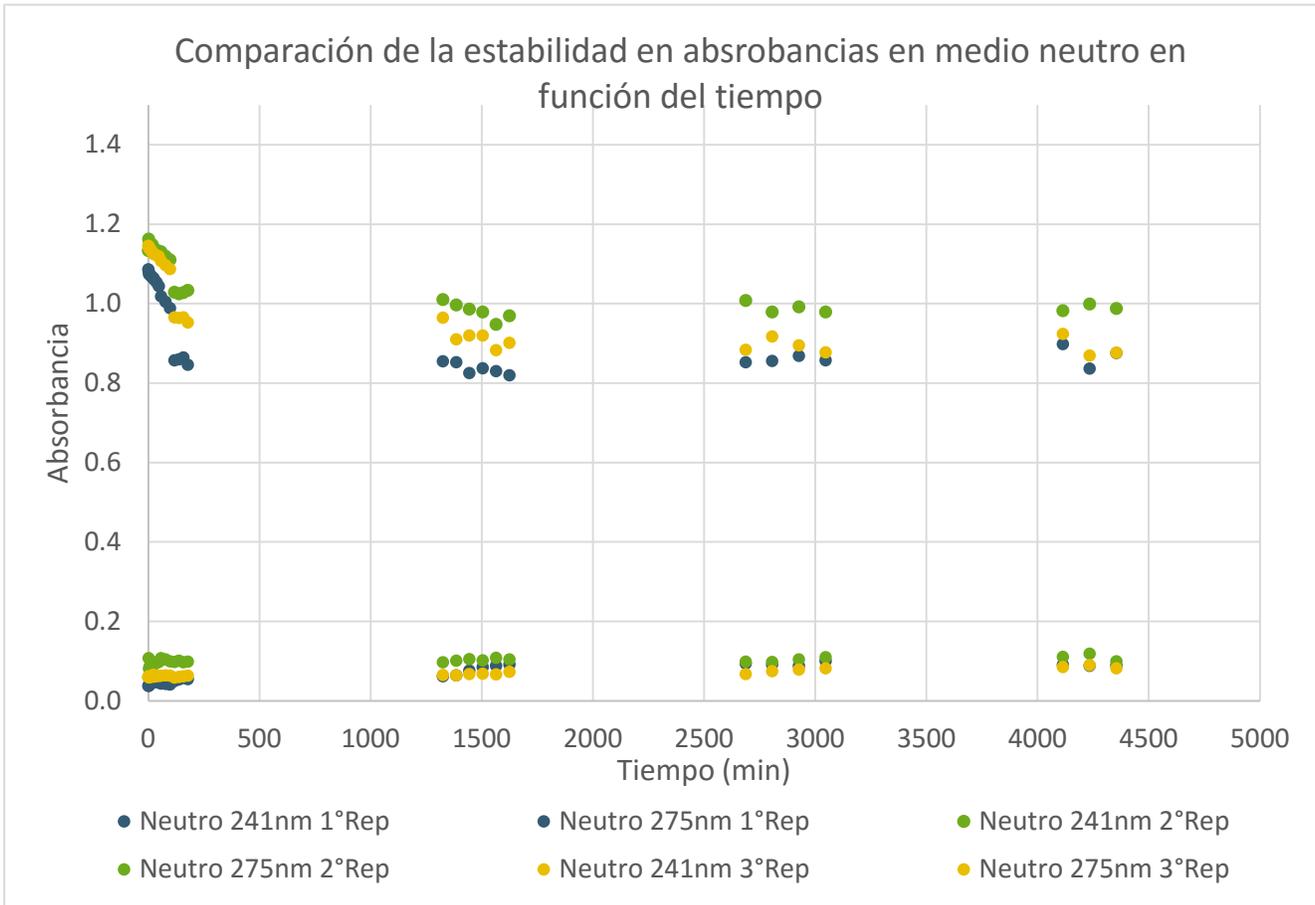
Estabilidad del pH en medio ácido en función del tiempo (Rep. 2)

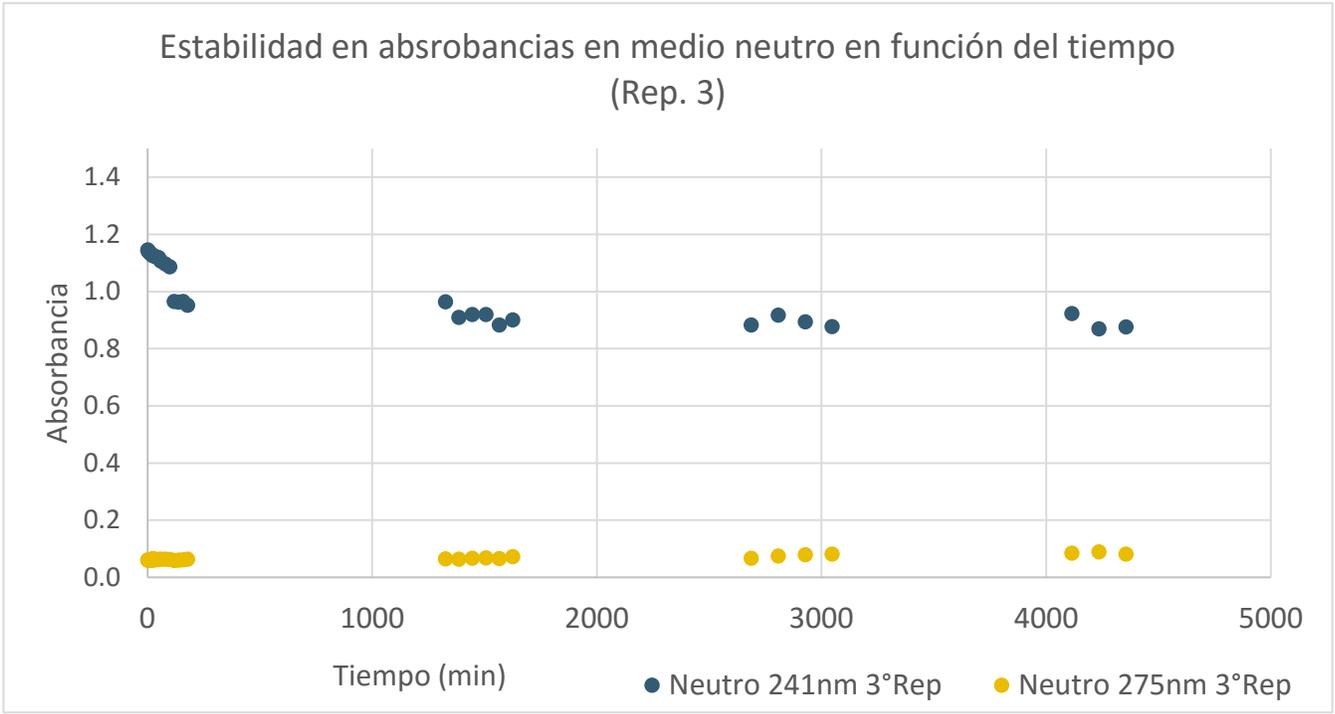
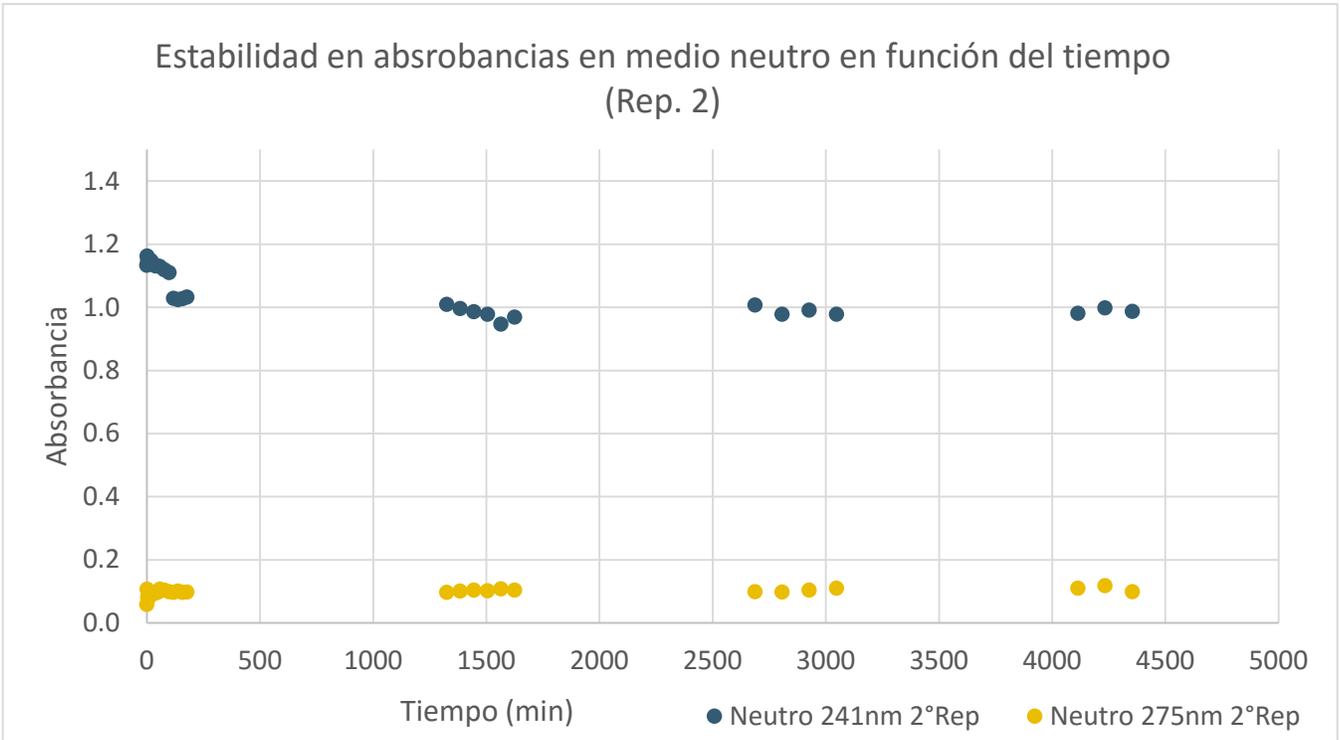


Estabilidad del pH en medio ácido en función del tiempo (Rep. 3)

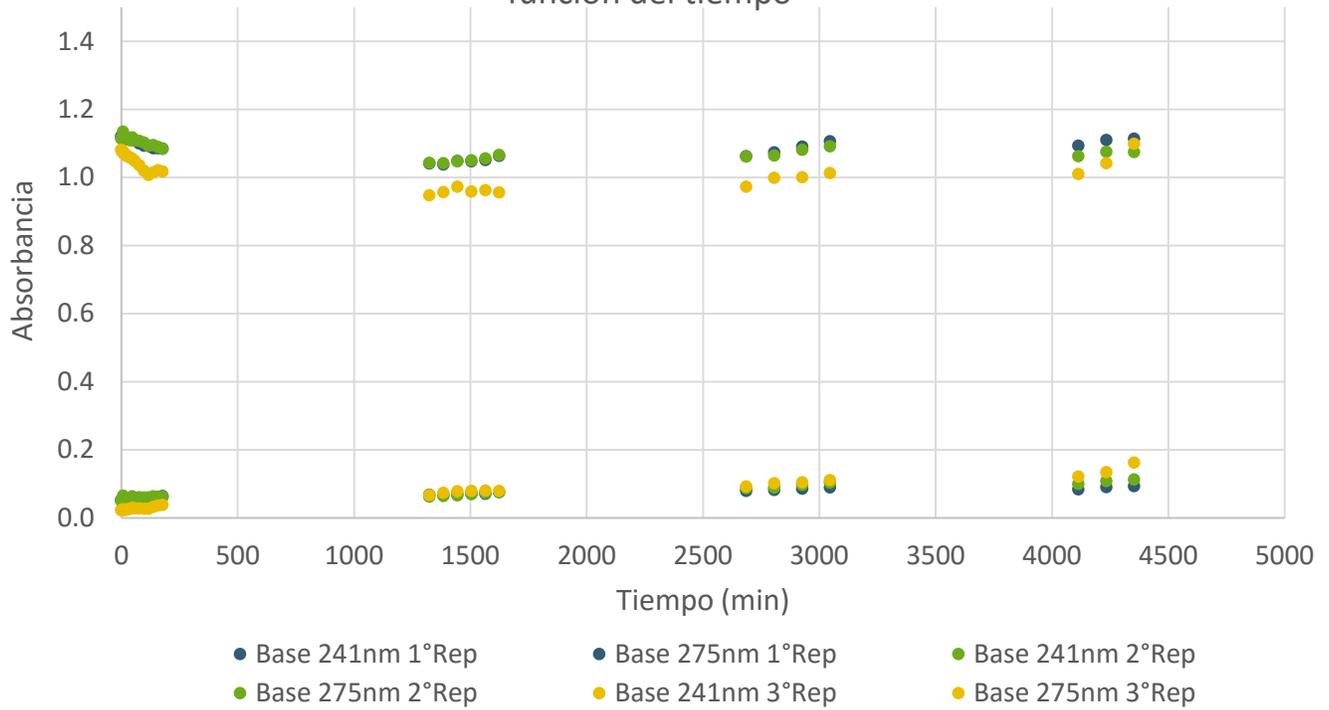


## Anexo 2: Estabilidad de Absorbancia

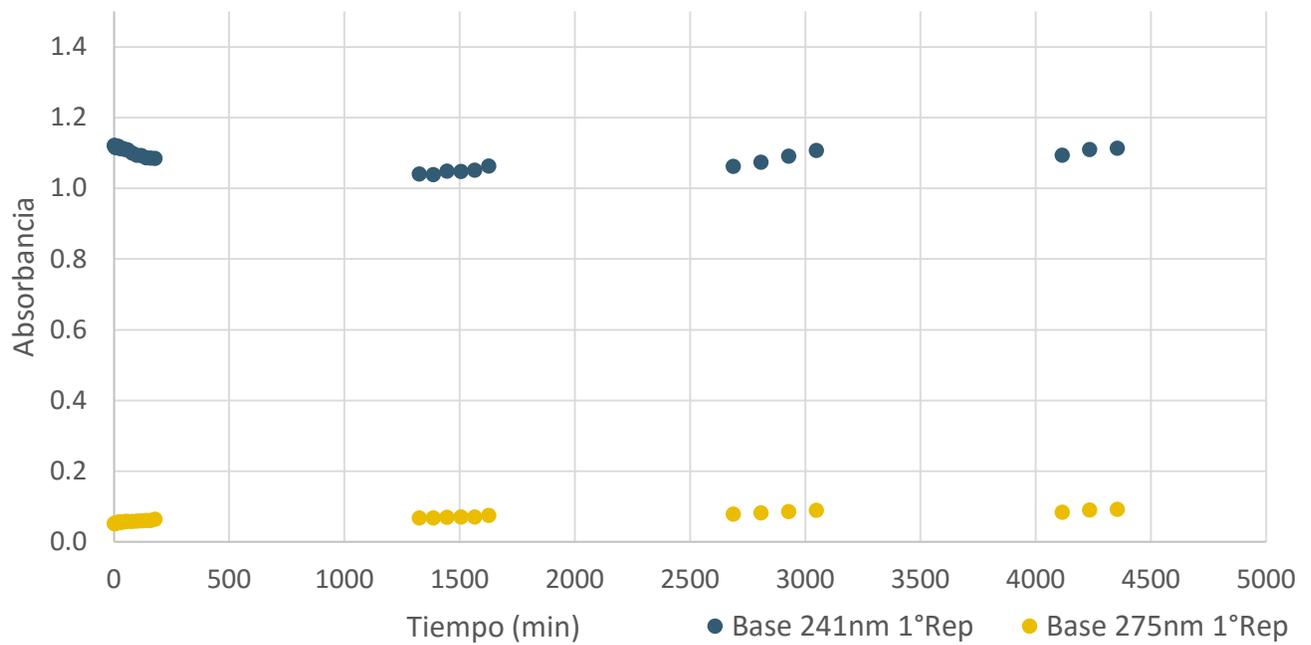




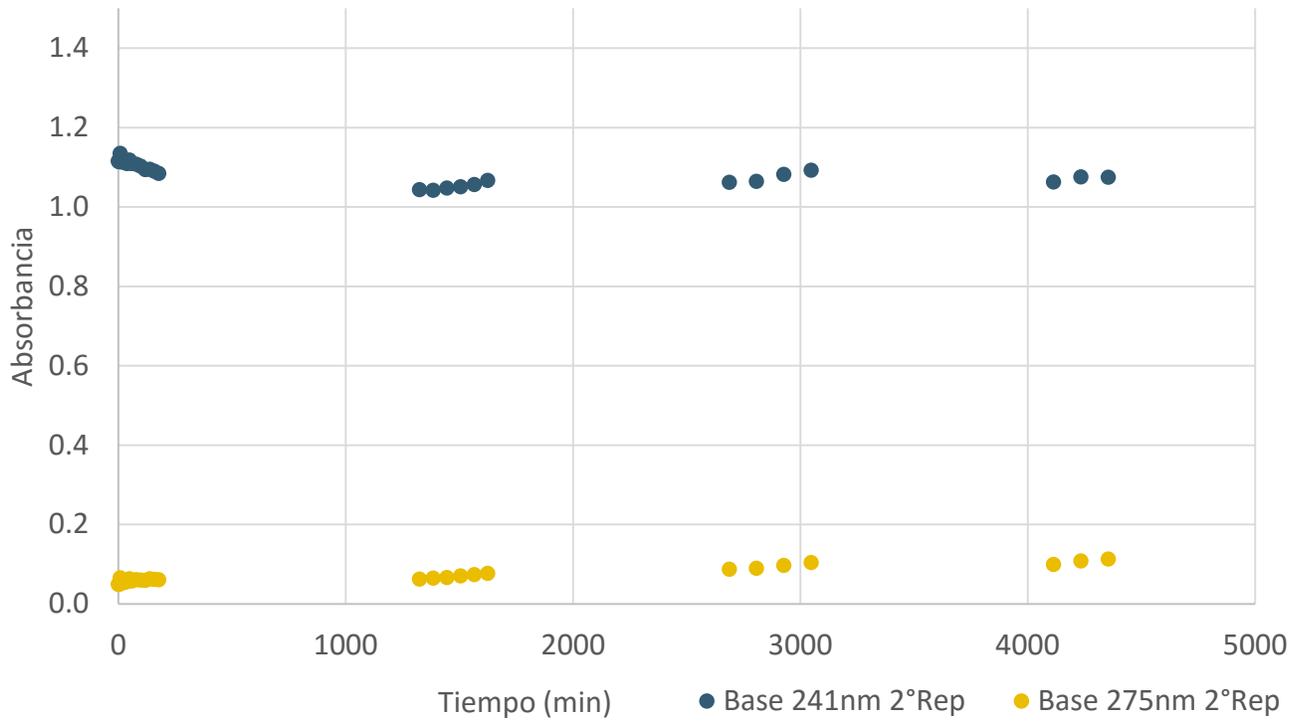
Comparación de la estabilidad en absorbancias en medio básico en función del tiempo



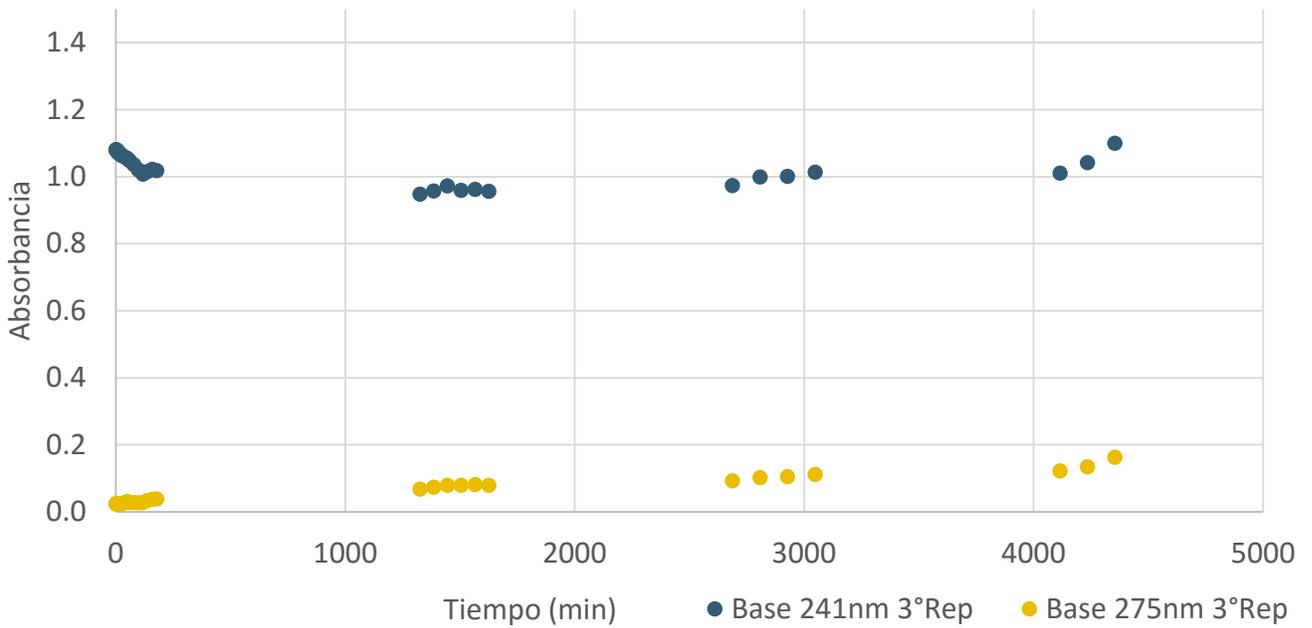
Estabilidad en absorbancias en medio básico en función del tiempo (Rep. 1)



Estabilidad en absorbancias en medio básico en función del tiempo  
(Rep. 2)



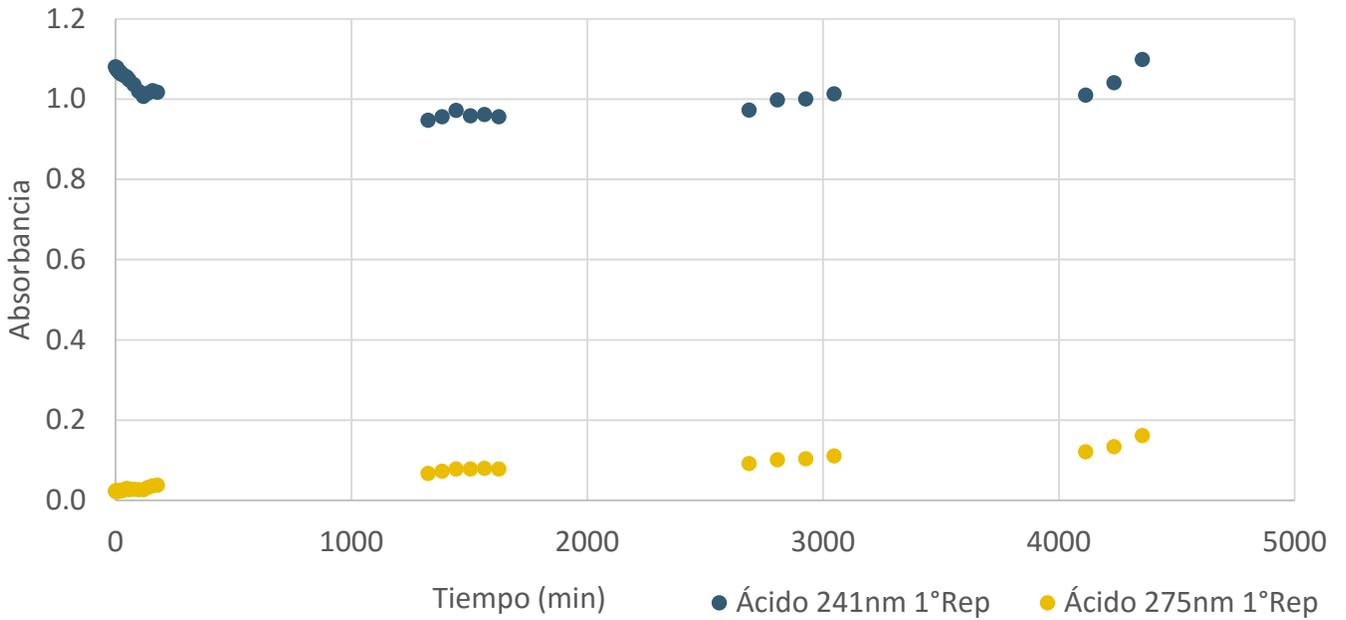
Estabilidad en absorbancias en medio básico en función del tiempo  
(Rep. 3)



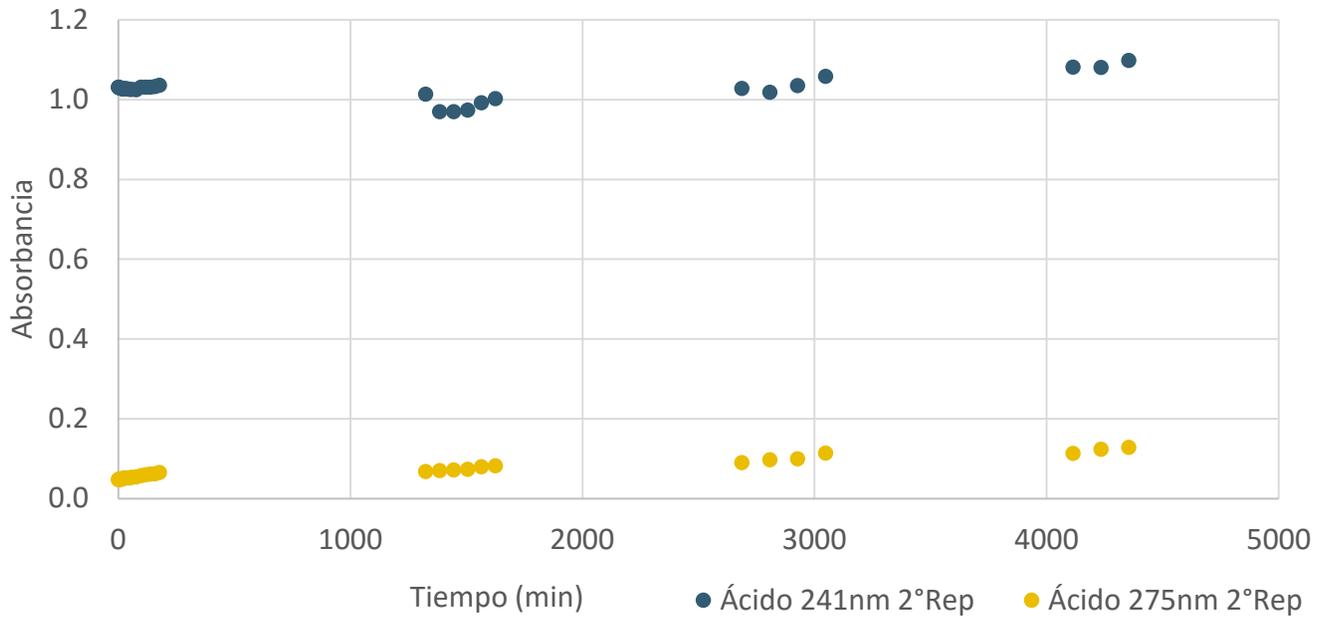
Comparación de la estabilidad en absrobancias en medio ácido en función del tiempo



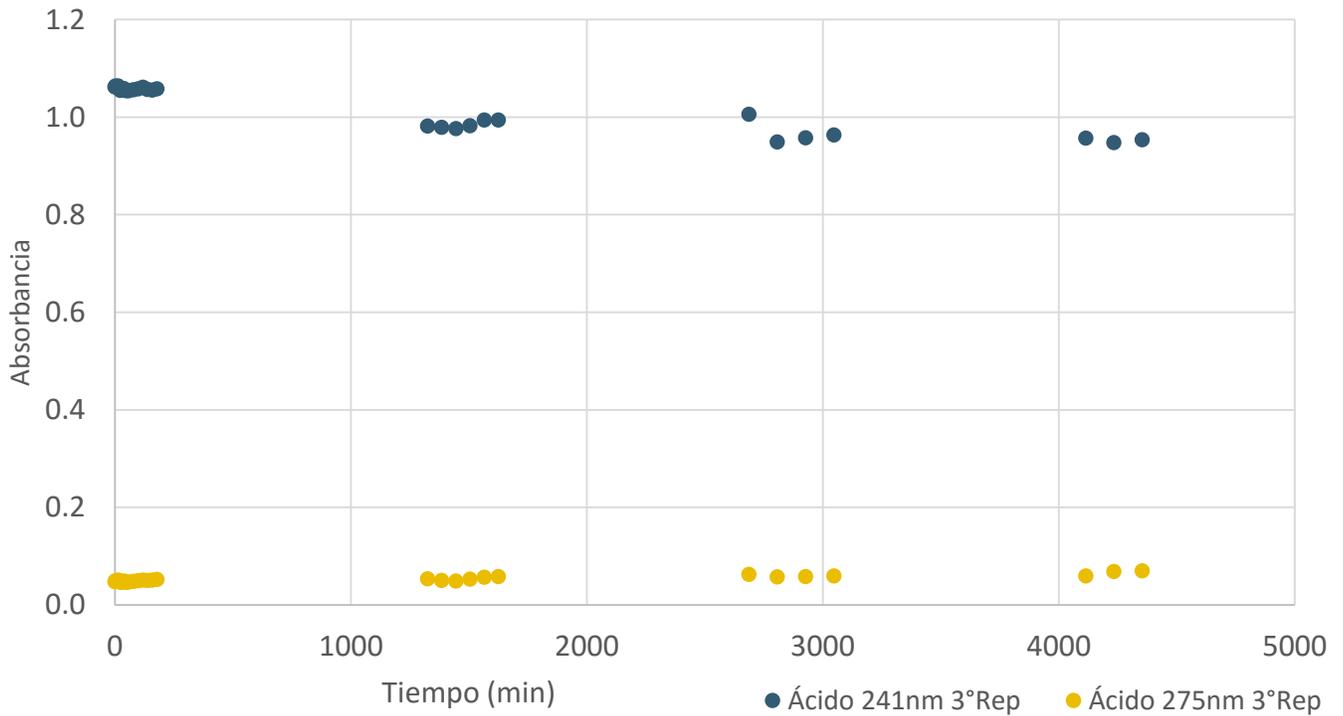
Estabilidad en absrobancias en medio ácido en función del tiempo (Rep. 1)



Estabilidad en absorbancias en medio ácido en función del tiempo  
(Rep. 2)



Estabilidad en absorbancias en medio ácido en función del tiempo  
(Rep. 3)



# Referencias

1. Alonso D. M. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Archivos de medicina veterinaria v.38 n.2 Valdivia.
2. Amador, H. J.; Rojas, H. A.; Colunga, U. E. M.; Garza, R. I. M.; Velázquez, M. M.; Medina, V. L. F. (2014). New chemometric strategies in the spectrophotometric determination of pK<sub>a</sub>. European Journal of Chemistry 5: 1-5.
3. Anderson, J. F.; Magnarelli, L. A. (2008). Biology of ticks. Insect Dis Clin N Am. 22: 195-215.
4. Angus, B. M. (1996). The history of the cattle tick *Boophilus microplus* in Australia and achievements in this control. International Journal for Parasitology; 26: 1341-1355.
5. Braibanti, D.; Brusen, J. (1980) Ann Chim 67.
6. Cruz, V. C.; Fernandez, R. M.; (2000). Anti-tick repellent effect of *Andropogon gayanus* grass on plots of different ages experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. Parasitologia al día 248: 3-4.
7. De Castro, J. J. (1997). Sustainable tick and tick-borne disease control in livestock improvement in developing countries. Vet Parasitol; 71: 77-97.
8. De la Fuente, J.; Almazan, C.; Canales, M.; Pérez de la Lastra, J. M.; Kocan, K. M.; Willadsen, P. (2007). A ten-year review of comercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. Animal Health Research Reviews 8-(1): 23-28.
9. Fernandes, E. K. K.; Bitencourt, V. R. E. P.; Roberts, D. W. (2012). Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of tick. Experimental Parasitology 130: 300-305.
10. Fernández, R. M.; Precicado, T. F.; Cruz, V. C.; García, V. Z. (2004). Anti-tick effects of *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* grasses on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. Experimental and Applied Acarology 32: 293-299.

11. Fernández, S. A.; Alonso, D. M. A.; Acosta, R. R.; Torres, A. F.; Sandoval, C. C.; Rodríguez, V. R. I. (2011). *In vitro* acaricidal effect of tannin-rich plants against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Veterinary Parasitology*. 175(1-2): 113-118.
12. Furlong, J. (1998). Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Barchiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. *Ciencia Rural*, Santa María 28 (4): 635-648.
13. George, J. E.; Pound, J. M.; Davey R. B. (2004). Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitol* 129: S353-S366.
14. Gómez, Z. B. (2006). Determinación de las constantes de acidez de la mangiferina y su interacción con algunos iones metálicos en medio acuoso. (Tesis de doctorado en ciencias). Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad de Iztapalapa.
15. Graham, O. H.; Hourrigan, J. L. (1977). Eradication programs for the arthropod parasites of livestock. *Journal of Medical Entomology* 13: 629-658.
16. Harris, D. C. (2007). Análisis Químico Cuantitativo. 3° Edición. Estados Unidos de América. Iberoamérica S. A. de C. V.
17. Iturbe R. S. (2014). Evaluación de la eficacia *in vivo* de dos carbamatos de nueva síntesis sobre *Rhipicephalus microplus* (Tesis de maestría) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México.
18. J. E. George; J. M. Pound; R. B. Davey (2004) Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acarides. *Paracitology*. United Kingdom 129/ S353-S366.
19. Jongejan, F.; Uilenberg, G. (2004). The Global Importance of Ticks. Department of Parasitology and Tropical Veterinary Medicine. 129 S3-S14.
20. Jonsson, N. N. (2006). The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Veterinary Parasitology*. 137: 1-10.

21. Jonsson, N. N.; Mayer, D. G.; Matschoss, A. L.; Green, P. E.; Ansell, J. (1998). Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Veterinary Parasitology*. 78: 65-77.
22. Jonsson, N. N.; Mayer, D. G.; Matschoss, A. L.; Pepper, P.; Green, P. E.; Ansell, J. (2000). Resistance of Holstein –Fresian cows to infestation by the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Veterinary Parasitology*. 89: 297-305.
23. Kaaya, G. P.; Hassan, S. (2000). Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and Applied Acarology* 24: 913-926.
24. Kunz, S. E.; Kemp, D. H. (1994). Insecticides and acaricides: Resistance and environmental impact. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*. 13: 1249-1286.
25. Leggett, J. D. (1985). *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*. USA.
26. Martínez, V. M.; Castillo, H. G. A.; Rosario, C. R.; Flores, F. J. M.; López, R. J.; Hernández, G. R.; Lugo, C. E. C. (2011a) Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research* 108(2): 481-487.
27. Martínez, V. M.; Rosario, C. R.; Castillo, H. G. A.; Flores, F. J. M.; Alvarez, A. H.; Lugo, C. E. C. (2011b) Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*. 48(4): 822-827.
28. Morales, P. A. (1993). Estudio de Sistemas Químicos Multirreaccionantes en Soluciones Acuosas por Métodos Espectrofotométricos con el Programa SQUAD y Otros Métodos Computacionales. (Tesis de Maestría en Ciencias Físicoquímicas) UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

29. Nari, A.; Hansen H. J. (1999). Resistencia de los ecto y endoparásitos: soluciones actuales y futuras. 67° sesión general. Organización Internacional de Epizootias. Paris, Francia.
30. Ndumu, P. A.; George, J. P. D.; Choudhury, M. K. (1999). Toxicity of neem seed oil (*Azadirachta indica*) against the larvae of *Amblyomma variegatum*, a three-host tick in cattle. *Phytotherapy Research*. 13: 532-534.
31. Neira, J.; Carvajal, L.; Cala, F.; Gómez, J. (2009). Evaluación del efecto de la tintura de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en el control biológico de la garrapata. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 3(22): 552-552.
32. Norris, K. R.; Stone, B. F. (1956). Toxaphene-resistant cattle ticks (*Boophilus microplus*(Canestrini)) occurring in Queensland. *Australian Journal of Agricultural Research*. 7: 211-226.
33. Ojeda, C. M. M.; Rodríguez, V. R. I.; Galindo, V. E.; Lezama, G. R.; Cruz, V. R. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2(2): 177-192.
34. Padgett, K. A.; Casher, L. E.; Stephens, S. L.; Lane, R. S. (2009). Effect of prescribed fire for tick control in California chaparral. *Journal of Medical Entomology* 46(5): 1138-1145.
35. Pathak, D.; Mathur, V. C.; Latha, B. R.; Johon, L. (2004). *In vivo* effect of indigenous plant extracts on ixodid ticks of small ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*. 74: 616-617.
36. Pérez, G. I. E.; Prado, O. M. G.; Muñoz, G. M. A.; Vázquez, V. V. H.; Velázquez, S. A. M.; Ávila, S. B. L.; Cuenca, V. C.; Angeles E.; Alba, H. F. (2013). Effect of new ethyl and methyl carbamates on *Rhipicephalus mircoplus* larvae and adult ticks resistant to conventional ixodicides. *Veterinary Parasitology*. 199:235-241.
37. Prado, O. M. G.; Abrego, R. V. H., Velázquez, S. A. M.; Muñoz, G. M. A.; Ramírez, N. P.; Angeles, E.; Alba, H. F. (2014) Subchronic Toxicity Study in Rats of Two New Ethyl-Carbamates with Ixodicidal Activity. *Bio Med Research International*.

38. Prado, O. M. G.; Muños, G. M. A.; Abrego, R. V. H.; Velazquez, S. A. M.; Lara, R. M.; Cuenca, V. C.; Angeles, E.; Alba, H. F. (2013). Effect of new ethyl and methyl carbamates on biological parameters and reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary Parasitology*. 194:49-57.
39. Quiroz, R. H. (1984). *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. México: Limusa
40. Rodríguez, V. R. I.; Hodkinson, J. E.; Trees, A. J.; (2012). Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Situación actual y mecanismos de resistencia. *Rev. Mex. Cienc. Pecu* 2012;3 (Supl 1): 9-24.
41. Rodríguez, V. R. I.; Quiñones, A. F.; Fragoso, S. H. (2005). Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus* en México. En: *Enfermedades de importancia económica en producción animal*. Rodríguez, V. R. I. México D.F. McGraw-Hill-UADY. pp: 571-592.
42. Rodríguez, V. R. I.; Rosado, A. J. A.; Ojeda, C. M. M.; Pérez, C. L. C.; Trinidad, M. I.; Bolio, G. M. E.; (2014). Control Integrado de Garrapatas en la Ganadería Bovina. 1(3): 295-308.
43. Rosado, A. J. A.; Aguilar, C. A.; Rodríguez, V. R. I.; Borges. A. R.; Garcia, V. Z.; Mendez, G. M.; (2010a). Acaricidal activity of extracts from *Petiveria allicea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Veterinary Parasitology* 168 (3-4): 299-303.
44. Rosado, A. J. A.; Aguilar, C. A.; Rodríguez, V. R. I.; Borges. A. R.; Garcia, V. Z.; Mendez, G. M.; (2010b). Screening of the acaricidal efficacy of phytochemical extracts on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (acari: ixodidae) by larval immersion test. *Tropical and Subtropical Agroecosystem* 12(1): 417-422.
45. Samish, M.; Rehacek, J. (1999). Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annu. Rev. Entomol*; 44: 159-182.
46. Sardrá, R. V. L. C.; Tiogo, E.; Bordignon, S. A. L.; Goncalves, K.; Poser, G. V. (2007). Acaridal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemun* on the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*. 147: 199-203.

47. SENASICA, (2013). *Garrapata Boophilus spp.* Retrieved marzo 14, 2015, de Servicio Nacional de Seguridad, Inocuidad y calidad Agroalimentaria: <http://www.senasica.gob.mx/?id=4373>.
48. Shaw, R. D. (1969). Tick control on domestic animals. A brief history of the economic significance of tick infestations. *Tropical Science* 11: 113-119.
49. Silverstein, M. R.; Clayton, B. G. (1964). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 2° Edition John Wiley & Sons. New York.
50. Skoog, A. D.; Holler, J. F. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. 5° Edición. Madrid. McGraw Hill Interamericana.
51. Skoog, A. D.; West, M. D.; Holler, J. F. (2005). *Fundamentos de Química analítica*. 8° Edición. México D.F.
52. Solís S. S. (1991) Ecología de las garrapatas *Boophilus*: Perspectivas de un programa. Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten. Morelos. México: 19-30.
53. Soulsby, E. (1988). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. México: Interamericana
54. Sutherst, R. W. (1983). Management of arthropod parasitism in livestock. *World association for the advancement of veterinary parasitology*. Ed. Dansmore: 41-56
55. Uilenberg, G. (1995). International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Vet parasitol*; 57: 19-41.
56. Verrismo, J. C., Machado, S. G.; (1995). Fase de vida libre do ciclo do evolutivo do carrapato *Boophilus microplus*. *Zootecnia* 33: 41-53.
57. Ware, G. W. (2000). *The Pesticide Book*, 5° Edition. Thomson Publications, Fresno, California.
58. Wilkinson, P. R. (1970). Factors affecting the distribution and abundance of the cattle tick in Australia: Observations and hypotheses. *France Acarology* 12(3): 492-508.
59. Willadsen, P. (1997). Novel vaccines for ectoparasites. *Veterinary Parasitology*. 71(2-3): 209-222.

60. Wilson, L. J.; Sutherst, R. W.; Kerr, J. D. (1989). Trapping of larvae of the cattle tick, *Boophilus microplus*, by *Stylosanthes scabra* under field grazing conditions. *Australian Journal Research* 40: 1301-1308.
61. Woodhan, C. B.; González, O. A.; López, L. A.; Guereña, M. R. (1983). Progresos en la erradicación de las garrapatas *Boophilus* en México 1960-1980. *Rev Mund Zoot* 48: 18-24.