



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

**DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE TRAZAS DE COBRE (I)  
CON NEOCOPRUOÍNA COMO AGENTE CROMOGÉNICO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA:**

**JUAN MANUEL MORALES HERNÁNDEZ**

**Asesores:**

**M. en C. Pablo Hernández Matamoros  
Dra. Guadalupe Pérez Caballero**

**CUAUTILÁN IZCALLI. EDO DE MÉX.**

**2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

"Determinación espectrofotométrica de trazas de cobre (1) con neocopruofina como agente Cromogénico"

que presenta El pasante: Juan Manuel Morales Hernández  
con número de cuenta: 40000453-6 para obtener el título de :  
Ingeniero Químico

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

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Marzo de 2009.

PRESIDENTE	<u>QFB. Elia Granados Enríquez</u>	
VOCAL	<u>Dra. Alma Revilla Vázquez</u>	
SECRETARIO	<u>M.C. Pablo Hernández Matamoros</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dra. Gabriela Vargas Martínez</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. Martha Angélica Villegas González</u>	

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento en primer lugar a los asesores de tesis, Dra. Guadalupe Pérez Caballero y M.C. Pablo Hernández Matamoros por el esfuerzo continuo que les implico la supervisión de este trabajo, por sus consejos y sugerencias sin los cuales no hubiera sido posible su elaboración.

Al departamento de química analítica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por su soporte técnico, por su gran disponibilidad y su hospitalidad, así como por la gran calidad humana de sus investigadores y docentes, en especial a las Doctoras Gabriela Vargas y Alma Revilla por su invaluable ayuda.

A cada uno de los Docentes e investigadores de la sección de Química Analítica de la FES-Cuautitlán que de una u otra manera contribuyeron con su granito de arena a la realización de esta tesis, así como también por su apoyo y muestras de simpatía que hicieron más acogedor y agradable el lugar de trabajo y el tiempo dedicado a la realización de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, Vanesa, Frida, Irma y Claudia y al resto de compañeros con los que he compartido tan buenos momentos durante este tiempo.

A mi esposa, por su preocupación y su apoyo, así como también por el cariño y la alegría que me proporciona.

A la U.N.A.M. - D.G.A.P.A. por el apoyo a los proyectos:

PAPIME PE-207606 y PE-203405,

De forma especial quiero expresar mi agradecimiento al M.C. Pablo Hernández Matamoros, y a la Dra. Guadalupe Pérez Caballero y a quienes considero ejemplo de dedicación y con una gran calidad humana.

**A MIS PADRES**

**Especialmente a mi madre, que no logró vivir lo suficiente para ver los resultados de su apoyo.**

### **Itaca**

Cuando salgas de viaje para Ítaca,  
desea que el camino sea largo,  
y lleno de aventuras y de conocimientos.  
A los lestrigones y a los cíclopes,  
al irascible Poseidón no temas,  
pues nunca encuentros tales tendrás en tu camino,  
si tu pensamiento se mantiene alto, si una exquisita  
emoción te toca cuerpo y alma.  
A los lestrigones y a los cíclopes,  
al fiero Poseidón no encontrarás,  
a no ser que los lleves ya en tu alma,  
a no ser que tu alma los ponga en pie ante ti.  
Desea que el camino sea largo.  
Que sean muchas las mañanas estivales  
en que -¡y con qué alegre placer!-  
entres en puertos que ves por vez primera.  
Detente en los mercados fenicios  
para adquirir sus bellas mercancías,  
madreperlas y nácares, ébanos y ámbares,  
y voluptuosos perfumes de todas las clases,  
todos los voluptuosos perfumes que te puedas comprar.  
Y vete a muchas ciudades de Egipto  
y aprende, aprende de los sabios.  
Mantén siempre a Ítaca en tu mente.  
Llegar allí es tu destino.  
Pero no tengas la menor prisa en tu viaje.  
Es mejor que dure muchos años,  
y que viejo al fin arribes a la isla,  
rico por todas las ganancias de tu viaje,  
sin esperar que Ítaca te vaya a ofrecer riquezas.  
Ítaca te ha dado un viaje hermoso.  
Sin ella no te habrías puesto en marcha.  
Pero no tiene ya más que ofrecerte.  
Aunque la encuentres pobre, no hubo engaño.  
Rico en saber y en experiencia,  
ya habrás comprendido el significado de las Ítacas.

Constantino Cavafis

## ÍNDICE

CAPÍTULO	TEMA	PAG.
1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCION	2
3.	OBJETIVOS	6
3. 1.	OBJETIVO GENERAL	6
3. 2.	OBJETIVOS PARTICULARES	6
4.	GENERALIDADES	7
4. 1.	TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE TRAZAS METÁLICAS	7
4. 2.	ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.	7
4. 2. 1.	EMPLEO DE REACTIVOS CROMOGÉNICOS EN ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.	11
4. 2. 2.	COMPLEJO Cu - NEO-CUPROÍNA	13
5.	METODOLOGÍA	14
6.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	15
6. 1.	MATERIAL Y EQUIPO	15
6. 2.	PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	15
6. 3.	PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	16
7.	DETERMINACIÓN DE CU EN MUESTRAS DE POLIVITAMINAS	17
7. 1.	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA	17
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
8. 1.	JUSTIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REACCIÓN	18
8. 1. 1.	DIAGRAMAS DE ZONAS DE PREDOMINIO	19
8. 2.	ANÁLISIS ESPECTRAL DEL COMPLEJO	23
8. 3.	ORDEN DE LOS REACTIVOS	24
8. 4.	ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL COMPLEJO Cu-(Ncup) <sub>2</sub>	25
8. 5.	ESTUDIOS DE INTERFERENCIA	26
8. 6.	TIEMPO ÓPTIMO DE AGITACIÓN	28
8. 7.	CURVA DE CALIBRACIÓN.	29
8. 8.	DETERMINACIÓN DE Cu EN MUESTRAS DE MULTIVITAMÍNICOS	31
8. 8. 1.	STRESSTABS	31
8. 8. 2.	TERAGRÁN Y MINERALES	32
8. 8. 3.	ENERTÓN	33
9.	CONCLUSIONES	37
10.	REFERENCIAS	38
	ANEXO I. CALCULO DEL POTENCIAL NORMAL Y CONDICIONAL	42
	ANEXO II. PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DEL CLOROFORMO	46
	ANEXO III. COMPOSICIÓN DE MULTIVITAMÍNICOS SEGÚN EL MARBETE	47
	ANEXO IV. SOLUCIONES UTILIZADAS	50
	ANEXO V. NMX-AA-066-1981	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

NUMERO	NOMBRE	PAG.
Figura 1	ESPECTRO DE LA RADIACIÓN VISIBLE	8
Figura 2	RELACIÓN ENTRE LA LONGITUD DE ONDA Y LA ENERGÍA DEL FOTÓN	9
Figura 3.	VARIACIÓN DEL ESPECTRO CON EL CAMBIO GRADUAL DE LIGANDOS AGUA POR LIGANDOS AMINO.	11
Figura 4.	VARIACIÓN DEL ESPECTRO CUANDO SE COMPLEJA $\text{Cu}^{2+}$ CON DISTINTOS LIGANTES.	11
Figura 5.	ESTRUCTURA DE LA NEO-CUPROÍNA	13
Figura 6.	DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA UTILIZADA	14
Figura 7.	ESCALA DE POTENCIAL DE LOS PARES $\text{Cu(II)/Cu(I)}$ y $\text{Cu(I)/Cu(0)}$	18
Figura 8.	DIAGRAMA DE ZONAS DE PREDOMINIO DE $\text{Cu(II)OHCitNeo(L)}$	20
Figura 9.	DIAGRAMA DE ZONAS DE PREDOMINIO DE $\text{Cu(II)OHCitNeo}$	20
Figura 10.	ESCALA DE POTENCIAL TRICONDICIONAL DE LOS PARES $\text{Cu(II)/Cu(I)}$ y $\text{Cu(I)/Cu(0)}$	21
Figura 11.	ESPECTRO DEL COMPLEJO $\text{Cu(Neo)}_2$ EN $\text{CHCl}_3$ A pH DE 4 EN FASE ACUOSA	23
Figura 12.	DIAGRAMA DE ADICIÓN DE LOS REACTIVOS	24
Figura 13.	ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL COMPLEJO $\text{Cu(Neo)}_2$ A 457 nm Y pH's DE 4, 5 y 6	25
Figura 14.	PRUEBAS DE INTERFERENCIA DE METALES COMUNES EN MULTIVITAMÍNICOS	26
Figura 15.	INFLUENCIA DEL TIEMPO DE AGITACIÓN	28
Figura 16.	GRÁFICA DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE Cu EN FUNCIÓN DE LA $A_{\text{experimental}}$ una $\lambda = 457 \text{ nm}$	29
Figura 17.	CURVA DE CALIBRACIÓN POR EL MÉTODO DE ABSORCIÓN ATÓMICA	33
Figura 18	CURVA DE ADICIONES PATRÓN PARA LA MARCA "ENERTON"	35

## INDICE DE TABLAS

NUMERO	NOMBRE	PAG.
Tabla 1	RECOMENDACIONES OFICIALES ESTADOUNIDENSES PARA LA INGESTA DE COBRE.	4
Tabla 2	COLORES DE LA LUZ VISIBLE	10
Tabla 3	INTERVALOS DE LONGITUD DE ONDA EN DISTINTOS TIPOS DE RADIACIÓN	10
Tabla 4	VOLÚMENES REQUERIDOS PARA LA PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	16
Tabla 5	VOLÚMENES REQUERIDOS PARA LAS MUESTRA PROBLEMA	17
Tabla 6	CONSTANTES DE FORMACIÓN GLOBAL PARA CU(II) Y CU(I) CON ALGUNOS AGENTES COMPLEJANTES	19
Tabla 7	VALORES DE pka PARA ÁCIDO CÍTRICO H <sub>3</sub> CIT Y NEO	19
Tabla 8	DATOS EXPERIMENTALES DE CONCENTRACIÓN DE. CU (PPM) Y ABSORBANCIA A UNA $\lambda = 457$	29
Tabla 9	PARÁMETROS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS PARA EL POLIVITAMÍNICO STRESSTABS	31
Tabla 10	PARÁMETROS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS PARA EL POLIVITAMÍNICO TERAGRAN	32
Tabla 11	CUANTIFICACIONES DE COBRE PARA EL POLIVITAMÍNICO ENERTON	33
Tabla 12	DETERMINACIÓN DE CU EN EL POLIVITAMÍNICO MARCA ENERTON POR ABSORCIÓN ATÓMICA.	34
Tabla 13	ABSORBANCIAS Y CONTENIDO DE COBRE OBTENIDOS POR EL MÉTODO DE ADICIONES PATRÓN.	35
Tabla 14	COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE CU PARA LA MARCA ENERTON.	36

## 1. RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló un método para la determinación espectrofotométrica de cobre en multivitamínicos, los cuales debido a su composición (18 compuestos en promedio) y variedad de componentes (vitaminas, minerales, etc.) tienen una matriz de naturaleza compleja. En este sentido, se aprovechó el hecho de que el ion cuproso, en solución neutra o ligeramente ácida, reacciona de manera específica con la 2,9 dimetil-1,10-fenantrolina (la que en adelante se denominará neo-cuproína) para formar un complejo colorido, el cual es extraído con cloroformo lo que permite eliminar interferencias en la determinación de este metal.

El objetivo del presente trabajo fue establecer las condiciones experimentales óptimas de reacción (pH, concentración de reactivos, etc.) del Cu con la neo-cuproína, así como, de extracción del complejo (tiempo de agitación, orden de adición, etc.) para su utilización en la determinación del Cu en tres polivitamínicos de marcas y presentaciones distintas, todas de venta libre en el mercado mexicano. Estas marcas son:

- Enertón, cápsulas de gel
- Stresstabs 600 con zinc, tabletas
- Teragrán y minerales, grageas.

La técnica desarrollada, puede emplearse como una alternativa en la determinación selectiva de este catión metálico en muestras con bajas concentraciones y de matrices complejas.

## **2. INTRODUCCIÓN.**

El cobre es un oligoelemento esencial para la vida humana, al igual que el hierro (para cuya absorción es necesario) contribuye a la formación de glóbulos rojos y al mantenimiento de vasos sanguíneos, nervios, sistema inmunológico y huesos. Este elemento es transportado en su mayor parte por el flujo sanguíneo en una proteína denominada ceruloplasmina; sin embargo cuando es absorbido en el intestino es transportado hasta el hígado unido a la albúmina. Se conoce que por lo menos veinte enzimas contienen cobre (como por ejemplo la citocromo c oxidasa, la lisil oxidasa y la superóxido dismutasa) y que al menos diez de ellas dependen del cobre para funcionar. Hay evidencia creciente del rol de la superóxido dismutasa (enzima cobre dependiente) en la toxicidad crónica del cobre sobre el sistema nervioso.<sup>1</sup>

### **Deficiencia de cobre.**

Los síntomas más frecuentes de deficiencia de cobre se encuentran asociados con la deficiencia de hierro: anemia, leucopenia (bajo recuento de glóbulos blancos), fatiga, fracturas óseas. Dentro de los síntomas menos frecuentes se destacan alteraciones del crecimiento, hipopigmentación, alteraciones del metabolismo de glucosa y colesterol, y alteraciones del electrocardiograma. La carencia de cobre, asimismo podría a través de una disminuida actividad de la superóxido dismutasa (CuZnSOD), vincularse con el desarrollo de un subtipo de la enfermedad de esclerosis amiotrófica lateral.<sup>1</sup>

La importancia de un adecuado consumo de cobre fue demostrada durante los años 60 en niños peruanos desnutridos y, en la década de los 70, en niños desnutridos chilenos<sup>2</sup>. Estos niños presentaban una anemia refractaria al tratamiento con hierro, disminución de los glóbulos blancos (leucopenia) y alteraciones óseas, todo lo cual se normalizaba con la suplementación por cobre. Las causas principales de la deficiencia de cobre adquirida en los niños son depósitos disminuidos de cobre al nacer (niños prematuros), una ingesta insuficiente de cobre, un aumento de los requerimientos impuestos por el crecimiento y aumento de las pérdidas por diarreas a repetición. En los niños desnutridos se asociaban muchas de estas causas.

### **Absorción del cobre**

El cobre es absorbido preferentemente a nivel del duodeno y es excretado principalmente por la bilis. La absorción de cobre es influenciada por la ingesta y el estado nutricional respecto a cobre. Cuando el aporte de cobre de la dieta es bajo, aumenta el porcentaje de cobre absorbido y disminuye la excreción de cobre.

Lo contrario se produce cuando la ingesta de cobre es excesiva. El aumento de la absorción de cobre es el mecanismo más importante cuando la ingesta es baja y un aumento de la excreción de cobre es el mecanismo predominante cuando la ingesta es elevada.

Cuando el aporte de cobre de la dieta es bajo y los mecanismos compensatorios antes mencionados no son suficientes, se produce la deficiencia de cobre, que puede llegar a ser severa. La deficiencia puede ir desde alteraciones muy leves, en las que sólo se aprecia una disminución de la actividad de algunas enzimas cobre dependientes, pasando por deficiencia moderada a severa, en la que se agrega una disminución de la concentración de cobre y de ceruloplasmina (proteína transportadora de cobre) en el plasma, hasta llegar a deficiencia severa, en la que se añaden las manifestaciones clínicas anteriormente descritas.

### **Toxicidad**

La toxicidad de este metal puede estar relacionada con una ingestión excesiva del mismo, por encima de los requerimientos nutricionales, en forma aguda provoca hemólisis, necrosis hepática, hemorragias gastrointestinales, etc. Si se produce intoxicación crónica aparecen localmente irritación respiratoria, alteraciones gastrointestinales y dermatitis por contacto<sup>3</sup>.

Recientemente se ha demostrado que algunos metales de transición como el cobre, el hierro y el cinc, que se acumulan en las placas seniles, se asocian al péptido Beta Amiloide, induciendo su agregación y la producción de especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto, la interacción entre estos metales de transición y el péptido Beta Amiloide podría explicar en parte la lesión neuronal y la presencia de daño oxidativo detectado en el cerebro de pacientes que presentan Enfermedad de Alzheimer.<sup>1,4</sup>

### **Ingestión de cobre**

El aporte dietético de cobre depende de la calidad y variabilidad de la dieta. Así los mariscos, las vísceras y los granos son ricas fuentes de él, estando en menor proporción en nueces, cereales con trigo, frutas secas, aves de corral, pescado, carnes, legumbres, verduras de tubérculo y de hojas. Los factores ambientales (fertilizantes, insecticidas, fungicidas, alguicidas, etc.) también afectan el contenido de cobre de la dieta. Estos productos contaminan el agua e influyen en el contenido de cobre en el suelo y éste en el contenido de cobre en los alimentos.

Tabla 1. Recomendaciones oficiales estadounidenses para la ingesta de cobre.

Grupo	Cu (mg/diarios)	Grupo	Cu (mg/diarios)
Lactantes		Adultos	
0-6 meses	0.20	>18 años	0.90
7-12 meses	0.22		
Niños		Embarazo	1.0
1-3 años	0.34		
4-8 años	0.44	Lactancia	1.30
9-13 años	0.70		
14-18 años	0.89		

Debido a su importancia nutricional el cobre es adicionado también en complementos alimenticios. Existen en el mercado diverso multivitamínicos cuyo contenido de cobre no esta regulado y en los que además no se advierte sobre los riesgos potenciales de la ingestión en exceso de este catión metálico.

En base a lo anterior es importante contar con métodos analíticos sencillos que permitan determinar el cobre presente en estos productos.

Algunas técnicas analíticas aplicadas actualmente a la determinación de cobre incluyen la espectrometría molecular con distintos reactivos cromogénicos,<sup>5,6</sup> la espectrometría de absorción atómica con flama<sup>7</sup> y sin llama,<sup>8</sup> el análisis por activación neutrónica<sup>9</sup> y la voltamperometría de redisolución anódica.<sup>10</sup> El costo de los equipos e insumos de algunas de estas técnicas es considerable, y prohibitivo en muchos casos para países en vías de desarrollo como el nuestro, es por ello que se deben desarrollar métodos analíticos sencillos, sensibles y selectivos además de económicos que permitan la determinación de este catión. Algunos antecedentes en la determinación de este metal son:

García, Mario; Holst, Ileana; Schosinsky, Karl; Rodríguez, Rocío.; Rev. costarric. cienc. méd;14(3/4):33-42, sep.-dic. 1993; "Optimización de un método espectrofotométrico para la cuantificación de cobre en suero".

López Martínez Leticia; López de Alba Pedro Luís; Urbina Zárate Bárbara; Centro de Investigaciones científicas de la Universidad de Guanajuato; "Determinación Espectrofotométrica

de Cobre con la tiosemicarbazona del 4-carboxibenzaldehído en agua potable y chocolate en polvo". *Journal of the Mexican Chemical Society*, año/vol. 44, número 002; Sociedad Química de México; pp 163-167.

Norma mexicana para la cuantificación de trazas de cobre en agua "NMX-AA-066-1981" basada en el método de la neo-cuproína presentado en el *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*;<sup>9</sup> método que sirve de base también al presente trabajo, ya que la selectividad del método nos permite suponer que puede aplicarse también en matrices complejas conservando un buen nivel de sensibilidad.

De lo anteriormente expuesto, el presente trabajo de tesis propone el desarrollo de un método analítico sencillo, económico, sensible y confiable que permite determinar cobre en diversas matrices, aún cuando éstas sean complejas. En este sentido, se aprovecha el hecho de que el ion cuproso, en solución neutra o ligeramente ácida, reacciona con la neo-cuproína para formar un complejo colorido el cual se extrae en cloroformo para eliminar interferencias. Por consiguiente, se presenta un estudio que establece las condiciones óptimas de reacción y extracción del complejo formado para determinar Cu mediante espectrofotometría UV-Vis en tres muestras reales.

### **3. OBJETIVOS:**

#### **3.1. *Objetivo General***

Desarrollar un método espectrofotométrico para la determinación trazas de Cu en multivitamínicos usando la neo-cuproína como agente cromogénico.

#### **3.2. *Objetivos Particulares***

- 3.2.1.** Establecer las condiciones experimentales óptimas para la formación y extracción del complejo.
- 3.2.2.** Adecuar el método a micro escala con la finalidad de disminuir los residuos generados y el impacto ambiental producidos por estos, además del ahorro económico.
- 3.2.3.** Estudiar las interferencias posibles de acuerdo con la composición de las matrices de los polivitamínicos.
- 3.2.4.** Elaborar una curva de calibración espectrofotométrica considerando las condiciones óptimas de reacción y extracción.
- 3.2.5.** Aplicar el método desarrollado en la determinación de Cu en muestras reales.
- 3.2.6.** Comparar estadísticamente los contenidos de Cu experimentales con los reportados en los marbetes, para concluir sobre la reproducibilidad y repetitividad del método.

## **4. GENERALIDADES**

### **4.1. Técnicas analíticas para la determinación de trazas metálicas**

Dada la importancia del cobre, no sólo en los seres humanos sino también en plantas y animales, se revisaron distintos métodos para su determinación. Existen diferentes métodos analíticos suficientemente sensibles para medir concentraciones muy pequeñas, como las que dan carácter a los elementos traza; cada uno de ellos aporta sensibilidades especialmente grandes según los elementos, los tipos de matrices y los tipos de condiciones.

### **4.2. Espectrofotometría UV-VIS**

La espectrofotometría se refiere a los métodos, cuantitativos, de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como métodos espectrofotométricos y, según sea la radiación utilizada, como espectrofotometría de absorción visible (colorimetría), ultravioleta, infrarroja.

Los modelos explicativos de la estructura de la materia que tienen como fundamento las características ondulatorias de las partículas que la constituyen proporcionan un marco de referencia conveniente para describir las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia. Estas interacciones a su vez son el fundamento de las aplicaciones espectroscópicas.

Una descripción simplificada de la estructura de la materia permite explicar los enlaces entre los átomos para formar moléculas en términos de la localización de ciertas partículas subatómicas, los electrones, entre esos átomos. Esas "partículas" evidencian sus características ondulatorias ya que interactúan con la radiación electromagnética. La molécula en su forma estable bajo las condiciones ambientales corrientes se encuentra en un determinado nivel energético. Si se logra hacer incidir sobre esa molécula un fotón de radiación electromagnética con la energía apropiada, la molécula incrementa su contenido energético absorbiendo ese fotón. Se dice entonces que la molécula pasó a un estado excitado.

La molécula energizada se encuentra en un estado que no es estable en las condiciones ambientales corrientes; por lo tanto tiende a regresar a la condición estable y para lograrlo emite un fotón con la energía que logró excitarla antes.

La materia absorbe radiación de diversas regiones del espectro electromagnético, estas absorciones se originan en diferentes tipos de interacciones entre la materia y la radiación

electromagnética. Dependiendo del tipo de interacción se pueden analizar las transiciones electrónicas que se pueden causar con la radiación ultravioleta o visible. La radiación infrarroja interactúa con los estados rotacionales y vibracionales de las moléculas. Si el fotón que llega a afectar a una molécula tiene un alto contenido de energía, por ejemplo de la región de rayos X o de los rayos gamma, no se produce absorción que se pueda emitir luego, sino que se modifica la estructura de la sustancia.

Las radiaciones que van desde el violeta al rojo se dice que forman el espectro visible, pues proceden de la descomposición de la luz blanca.

La luz visible es una región muy estrecha pero la más importante, ya que nuestra retina es sensible a las radiaciones de estas frecuencias. A su vez, se subdivide en seis intervalos que definen los colores básicos (rojo, naranja, amarillo, verde, azul y violeta).

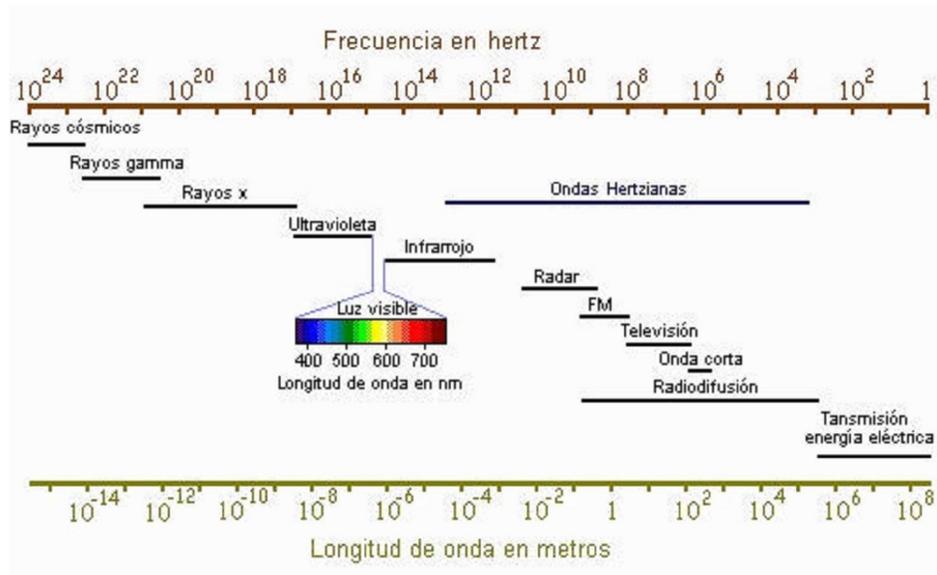


Figura 1. Espectro de la radiación visible

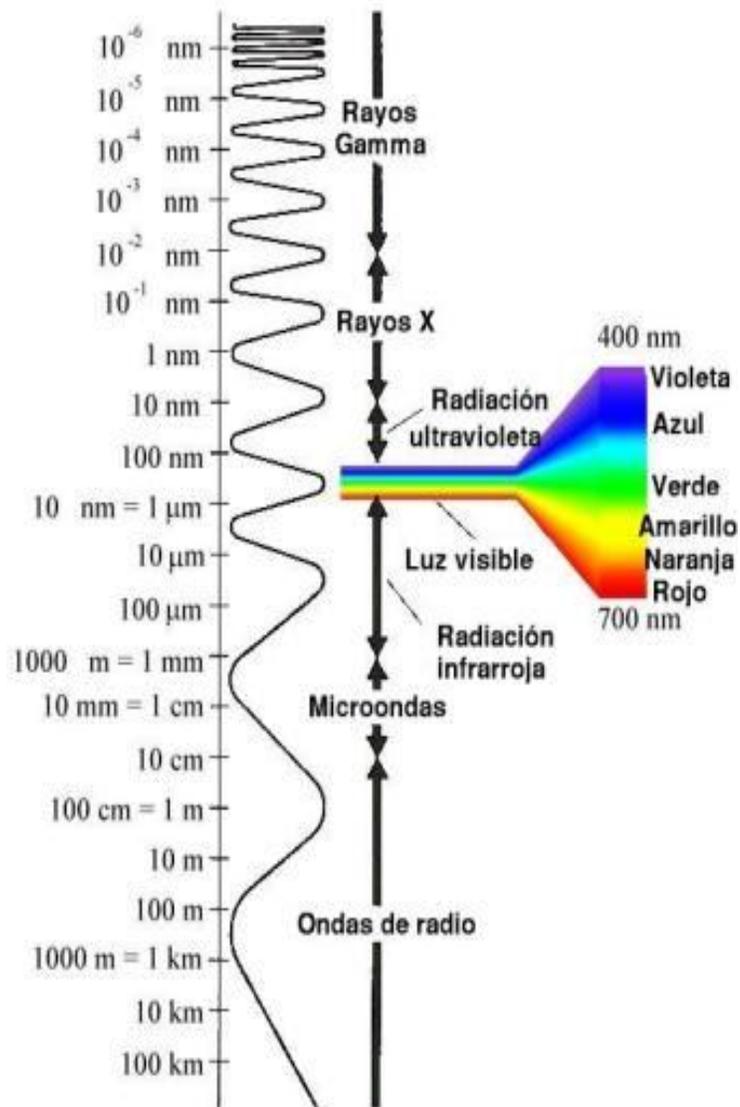


Figura. 2. Relación entre la longitud de onda y la energía del fotón correspondiente

Existe una relación inversa entre la longitud de onda y la energía del fotón correspondiente.

El instrumento utilizado en la espectrometría ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV-Vis. Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra ( $I$ ), y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la muestra ( $I_0$ ). La relación  $I / I_0$  se llama transmitancia, y se expresa habitualmente como un porcentaje (%T). La absorbancia ( $A$ ) se basa en la transmisión:

$$A = -\log (\%T)$$

Tabla 2. Colores de la luz visible

$\lambda$ absorción máxima (nm)	Color absorbido	Color observado
380 – 420	Violeta	Amarillo - verdoso
420 – 440	Azul – violeta	Amarillo
440 – 470	Azul	Naranja
470 – 500	Verde – azulado	Rojo
500 – 520	Verde	Púrpura
520 – 550	Verde amarillento	Violeta
550 – 580	Amarillo	Azul – violeta
580 – 620	Naranja	Azul
620 – 680	Rojo	Verde – azulado
680 – 780	Púrpura	Verde

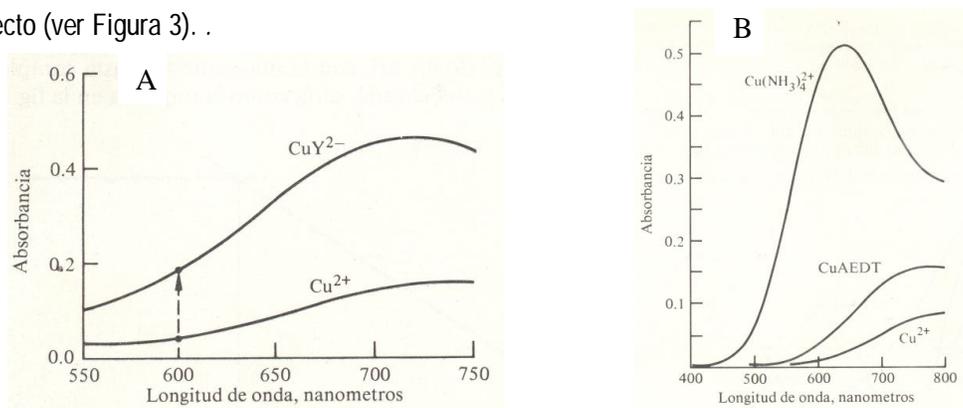
Tabla 3. Intervalos de longitudes de onda en distintos tipos de radiación.

Tipo de radiación	Intervalos de $\lambda$
Rayos Gamma	$< 10^{-2}$ nm
Rayos X	$10^{-2}$ nm - 15 nm
Ultravioleta	15 nm - $4 \cdot 10^2$ nm
ESPECTRO VISIBLE	400 nm - 780 nm
Infrarrojo	entre 780 nm y $10^6$ nm
Región de Microondas	entre $10^6$ nm y $3 \cdot 10^8$ nm
Ondas de Radio	mayores de $3 \cdot 10^8$ nm

#### 4.2.1. Empleo de los reactivos cromogénicos en espectrofotometría uv-vis.

Como ya se mencionó, la espectrofotometría UV-VIS se fundamenta en la absorción de radiación en esta región de compuestos coloridos, algunos iones metálicos no poseen la propiedad de absorber o lo hacen a rangos muy bajos y no pueden ser determinados directamente por esta técnica. Sin embargo estos iones metálicos se coordinan con ligantes de tipo orgánico e inorgánico, estos complejos presentan color los que permite determinarlos en la región visible de manera instrumental.

En el caso del cobre, por tratarse de un metal de transición presenta absorbancia en el visible aunque es tan baja que no es posible su cuantificación a nivel de trazas por un método directo (ver Figura 3).



Una forma de incrementar la absorptividad molar de las especies, en particular de los iones metálicos es formando complejos, como se aprecia en la figura 4, donde se observan incrementos en la absorbancia al aumentar el número de ligandos amino coordinados al metal.

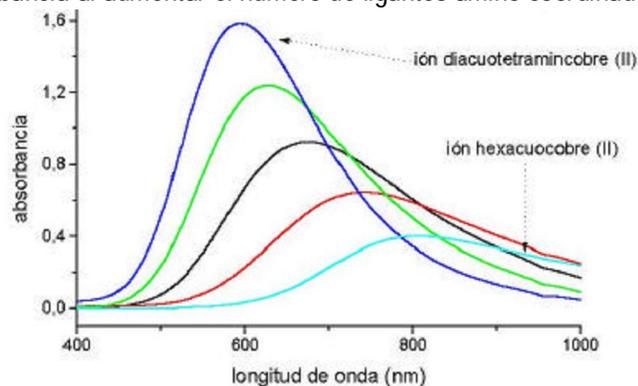


Figura 4. Variación del espectro con el cambio gradual de ligandos agua por ligandos amino

Es por lo anterior que se han propuesto distintos ligantes para su cuantificación espectrofotométrica en el caso particular del Cu(II) se mencionan como dato informativo los complejantes de mayor importancia como son:

- **Ditizona.**

Aunque el cobre puede extraerse utilizando ditizona, y separarse satisfactoriamente de zinc, cadmio y otros metales con pequeños valores de  $k$ , (cuando se utiliza ditizona como extractante la extracción de cobre varía desde 0 % a pH = 2, hasta un 99 % a pH = 7.)<sup>14</sup>.

El método de la ditizona es menos selectivo, y se le emplea mucho mejor en la determinación de plomo, como por ejemplo el Método General de la Ditizona, 934.07 para la determinación del plomo en los alimentos AOAC (1990, 15ª edición).

- **Ditiocarbamatos**

Los ditiocarbamatos tienen la propiedad de producir quelatos de cobre (II) muy insolubles en agua, de color marrón intenso que pueden extraerse con una variedad de disolventes orgánicos como alcohol amílico, acetato de amilo, xileno, tetracloruro de carbono y cloroformo.

Los ditiocarbamatos no son muy selectivos, aunque algunas de las dificultades asociadas a la utilización de una suspensión coloidal se pueden evitar y hay que modificar las condiciones para evitar la injerencia de determinados colores de sustancias tales como el hierro.

- **1-pinidilazo, 2- naftol (PAN)**

Se le utiliza principalmente en espectrofotometría en fase sólida (SPS). Con PAN se obtiene entre un 51 a un 98 % de extracción de cobre variando el pH desde 2 a 7 respectivamente, aunque su desventaja es que debe utilizarse sobre una resina muy específica, como por ejemplo AMBERLITE XAD-7<sup>15</sup>.

- **Reactivos derivados de la biperidina y la fenantrolina**

Se les ha llamado específicos del cobre (I). Los complejos de color son del tipo  $(L_2Cu)$ . Inmiscibles en disolventes orgánicos como los alcoholes superiores. Los complejos se extraen en forma de sal,  $L_2CuX$ , donde  $x$  puede ser un haluro u otros aniones.

#### 4.2.2. Complejo cu – Neo-cuproína.

La neo-cuproína es un compuesto heterocíclico derivado de la fenantrolina, que a temperatura ambiente se presenta como un sólido color amarillo pálido de olor característico, poco soluble en agua y soluble en etanol cuya estructura es aprecia en la figura siguiente:

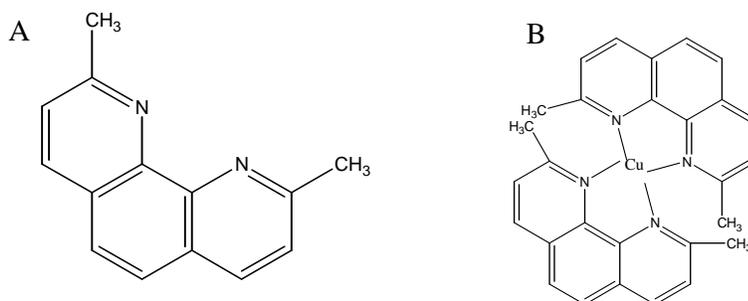


Figura 5. A, Estructura de la neo-cuproína; B Estructura del complejo Cu-(Neocup)<sub>2</sub>

El ion cuproso, en solución neutra o ligeramente ácida, reacciona con el 2,9 dimetil-1,10 fenantrolina (neo-cuproína) para formar un complejo en el que se unen dos moles de neo-cuproína a un mol de ion cuproso (ver figura 5). El complejo se puede extraer por gran número de disolventes orgánicos entre los cuales se encuentra una mezcla de cloroformo-etanol, para dar una solución amarilla con una capacidad de absorción molar de  $8000(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$  a  $457 \text{ nm}^{11}$ . La reacción es virtualmente específica para cobre; el color sigue la ley de Beer hasta una concentración de  $0.8 \text{ mg Cu/L}$  de disolvente; se obtiene un desarrollo completo del color cuando el pH de la solución acuosa está entre 3 y 9; el color es estable en el disolvente anterior durante varios días.

Se trata la muestra con clorhidrato de hidroxilamina para reducir los iones cúpricos a cuprosos. Se emplea citrato sódico para complejar los iones metálicos que pueden precipitar al aumentar el valor de pH. Se ajusta el pH entre 4 y 6 con ácido clorhídrico y/o hidróxido de amonio, se añade una solución de neo-cuproína en etanol, y el complejo resultante se extrae con cloroformo. Después de diluir el cloroformo hasta volumen exacto con etanol, se mide la absorbancia de la solución a  $457 \text{ nm}$

Se evitan las interferencias añadiendo ácido sulfuroso para reducir el ión cromato y el crómico complejo. En presencia de cantidades excesivas de otros iones oxidantes, se utiliza hasta  $20 \text{ ml}$  adicionales de solución de clorhidrato de hidroxilamina. También interfieren cianuro, sulfuro y materia orgánica, pero pueden ser eliminados por digestión.

## 5. METODOLOGÍA.

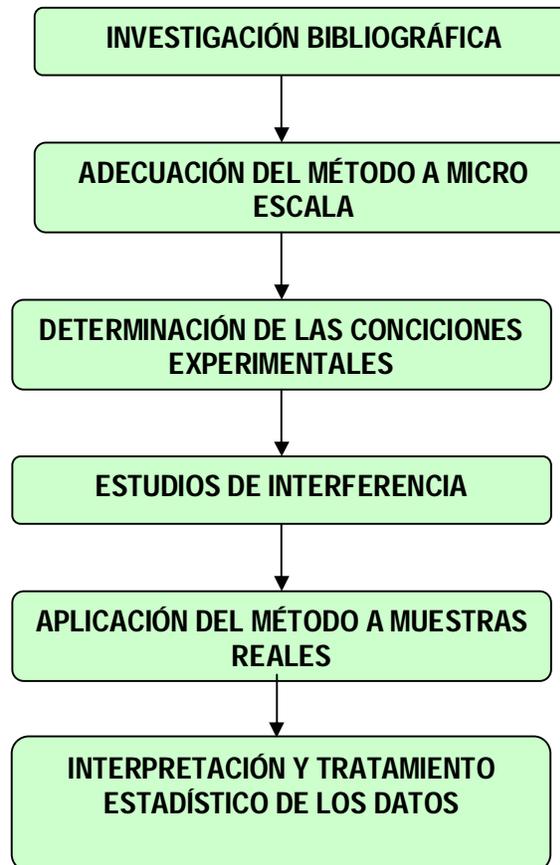


Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología utilizada.

## 6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 6.1. *Material y Equipo:*

- Espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 18 de doble haz
- Celdas de cuarzo de 10 mm de paso óptico.
- pH metro marca "Metler Toledo", modelo 230
- Sonicador Bransonic modelo 2210R-MT a 50/60Hz y 1 ampere
- Agitador magnético
- Material de vidrio diverso

### 6.2. *Preparacion de Soluciones*

- Solución A. Estándar de Cu de concentración 11.18 ppm
- Solución B. Clorhidrato de Hidroxilamina de concentración 1.6 M
- Solución C. Solución de citratos de concentración total de 1.275 M
- Solución D. 2,9-dimetil 1, 10-fenantrolina (neo-cuproina) de concentración 0.0067 M

\* Para la preparación de las soluciones ver el anexo IV.

### 6.3. Preparación de la curva de calibración

Para la curva de calibración se mezclan los volúmenes de soluciones indicados en la siguiente tabla:

Tabla 4. Volúmenes requeridos para la preparación de la Curva de Calibración

Sistema	mL solución A	mL solución B	mL solución C	mL solución D	mL agua
0	0	3	4	3	6
1	1	3	4	3	5
2	2	3	4	3	4
3	3	3	4	3	3
4	4	3	4	3	2
5	5	3	4	3	1
6	6	3	4	3	0

Los sistemas se preparan en un embudo de separación, se homogeneizan y se ajusta el pH = 4.0 con ácido clorhídrico y/o amoníaco según lo requiera el sistema. Por último a la solución anterior se le realizan dos extracciones sucesivas: la primera con 5 mL y la segunda con 4 mL de cloroformo, con un tiempo de agitación de 1 minuto para cada extracción, las cuales se recolectan y aforan a 10mL con etanol.

La fase orgánica se lee en el espectrofotómetro en un intervalo de longitud de onda de 300-600 nm contra el sistema 0 como blanco.

Cabe mencionar que el procedimiento reportado es el resultado del análisis de diversos factores que afectan esta determinación como son: pH, tiempo de agitación, orden de adición de los reactivos, cationes interferentes y disolventes. El análisis de los factores estudiados se discute en el capítulo siguiente.

## 7. DETERMINACIÓN DE CU EN MUESTRAS DE POLI VITAMINAS

Las muestras analizadas corresponden a diferentes presentaciones, sin embargo todas se expenden libremente en el mercado farmacéutico mexicano, al ser complementos alimenticios se comercializan sin receta médica. Los multivitamínicos analizados son:

1. Enertón, que se comercializa en forma de cápsulas blandas de gel.
2. Stresstabs 600 con zinc; Presentación con 30 Tabletas.
3. Teragrán y Minerales; Presentación con 60 Grageas.

### 7.1. Tratamiento de la muestra

El tratamiento para las tres presentaciones se describe a continuación: Se toma una unidad del multivitamínico y se le adiciona aproximadamente 3 mL de ácido clorhídrico concentrado y 3 mL de agua, se dejan en reposo 24 horas, tiempo suficiente para la disolución total del suplemento, sin embargo aquellas disoluciones que presenten turbidez se someten al ultrasonido por 20 minutos. La solución resultante se filtra, lavando consecutivamente con agua para evitar pérdidas de materia y por último se lleva a un aforo de 100mL (Solución Problema). Se realizan de 4-6 repeticiones de cada muestra.

Para la interpolación del problema en la curva de calibración se mezclan los volúmenes reportados en la tabla 5.

Tabla 5. Volúmenes requeridos para las muestra problema

Medicamento	mL solución Problema	mL solución B	mL solución C	mL solución D
Enerton	4	3	4	3
Stresstabs	3	3	4	3
Teragran	4	3	4	3

Los sistemas problema se preparan en un embudo de separación, se homogeneizan y se ajusta el pH = 4.0 con ácido clorhídrico y/o amoníaco según se requiera, posteriormente se realizan dos extracciones sucesivas: con 5 mL y 4 mL de cloroformo, agitando por 1 minuto, se recolectan y lleva a un aforo de 10mL con etanol. La fase orgánica se lee en el espectrofotómetro en un intervalo de longitud de onda de 300-600 nm contra el sistema 0 de la curva de calibración como blanco.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Justificación de las condiciones de reacción.

Fundamento de las condiciones óptimas de reacción en la formación del complejo de Cu(I) con el ligante 2,9 dimetil 1,10 fenantrolina llamado también neo-cuproína.

En medios ácidos, el Cu<sup>+</sup> es un ión inestable, tal como lo indica la siguiente escala de potencial a pH de 0. El Cu(I) dismuta espontáneamente en Cu(II) y Cu<sup>0</sup>.

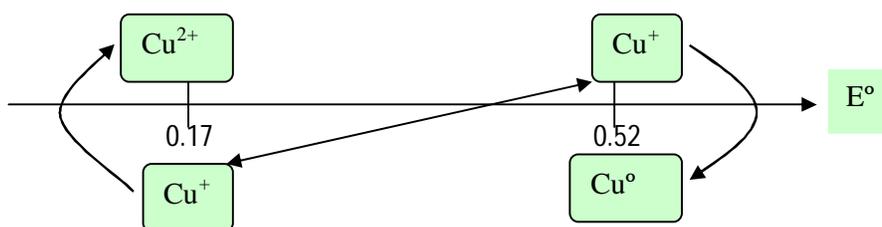


Figura 7. Escala de potencial de los pares Cu(II)/Cu(I) y Cu(I)/Cu(0)

Por tanto, la reacción de dismutación de Cu<sup>+</sup> y su Keq en medio ácido es:



Esto indica que la especie de Cu<sup>+</sup> no existe en solución, la especie estable es Cu<sup>2+</sup> como lo indica un gran número de referencias. Sin embargo, la especie de Cu(I) se estabiliza mediante su complejación con la neo-cuproína a un pH de 4.0, esta reacción la literatura reporta como una prueba de identificación selectiva y sensible para el elemento cobre.

El fundamento de la cuantificación del cobre se basa en la reducción de la especies de Cu(II) a Cu(I) mediante clorhidrato de hidroxilamina en medios ácidos y su posterior complejación con neo-cuproína como agente cromogénico, es importante analizar las condiciones experimentales bajo las cuales se favorecen estas reacciones.

### 8.1.1. Diagramas de zonas de predominio (DZP)

A fin de justificar la estabilidad del Cu(I) con la neo-cuproina se realiza un estudio en base a los Diagramas de Zonas de Predominio (DZP), se identifican las especies predominantes y se calculan los valores de los potenciales normales termodinámicos y en condiciones de amortiguamiento experimentales (tri-condicionales).

La tabla 6 y 7 resume los valores de las constantes de formación sobre el par redox Cu(II) / Cu(I) con los diferentes ligantes involucrados en la reacción, los valores de constante se toman del libro de Anders Ringbom<sup>10</sup> y se utilizan para la construcción de los diversos DZP.

Tabla 6. Constantes de formación global para Cu(II) y Cu(I) con algunos agentes complejantes

COMPLEJOS	Log $\beta_1$	Log $\beta_2$
<b>Cu(II)</b>		
OH <sup>-</sup>	6.0	-----
Cit <sup>3-</sup>	6.1	-----
Neo	5.2	11.0
<b>Cu(I)</b>		
Neo	-----	19.1

Tabla 7. Valores de pKa para ácido cítrico H<sub>3</sub>Cit y Neo

Ácidos	pKa
H <sub>3</sub> Cit	3.00
H <sub>2</sub> Cit <sup>-</sup>	4.40
HCit <sup>2-</sup>	6.10
HNeo <sup>+</sup>	5.85

Además se reportan la constante de formación del complejo ácido de Cu(Cit)



Con estas constante se elaboran los DZP para las especies de Cu(II) con el programa ALPHA y se transfieren los datos a una hoja de cálculo de MS-Office Excel. Los diagramas se presentan en las siguientes figuras.

El diagrama Cu(II)/OHCit tiene la siguiente forma:

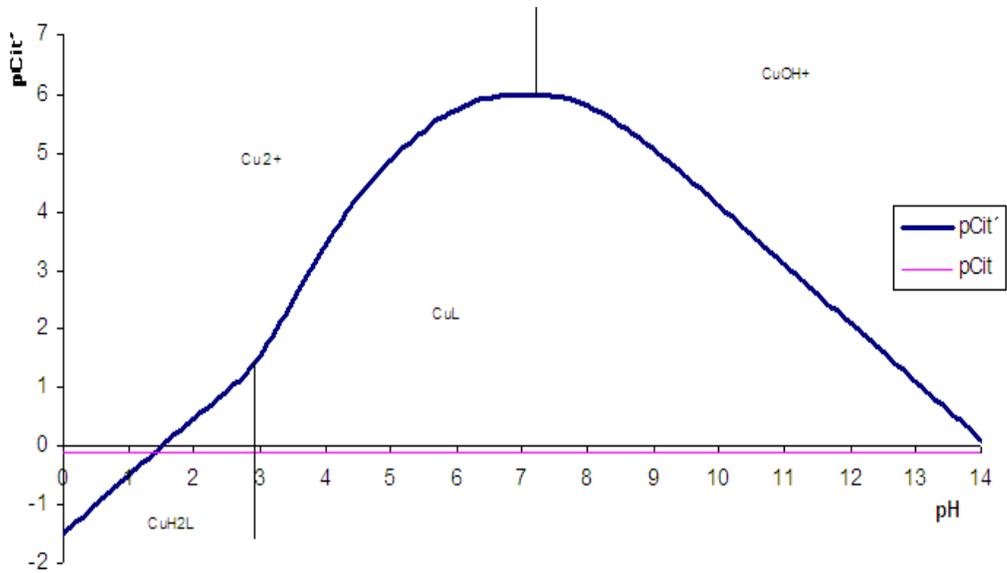


Figura 8. Diagrama de zonas de predominio de Cu(II)OHCitNeo (L corresponde al citrato)

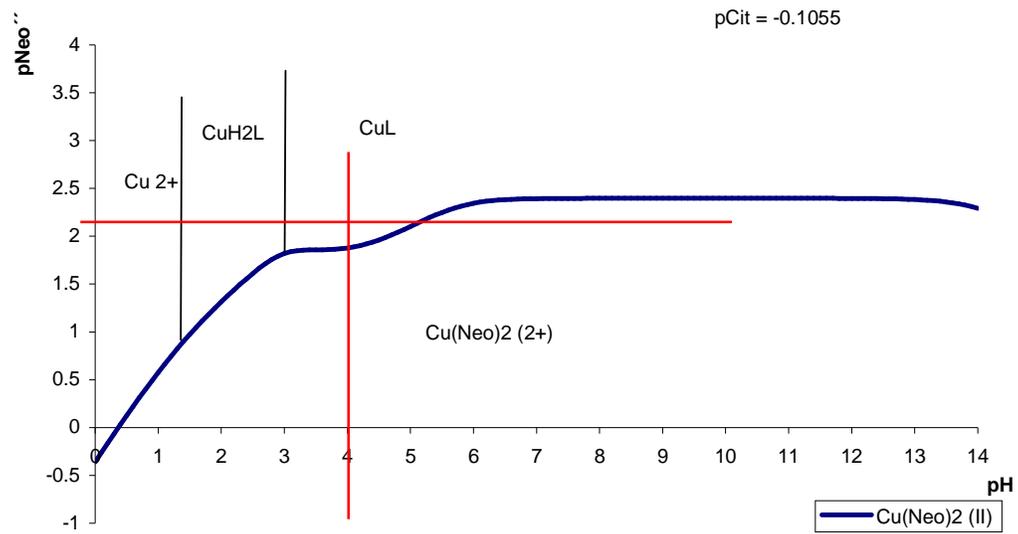


Figura 9. Diagrama de zonas de predominio de Cu(II)OHCitNeo

A partir de los Diagramas de Zonas de Predominio, bajo las condiciones de amortiguamiento que son  $p_{\text{Cit}} = -0.1055$ ,  $p\text{H} = 4.0$  y  $p_{\text{Neo}} = 2.1739$  la especie predominante de  $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{II})$  es  $\text{CuCit}^-$  como se muestra en la figura 8-9 y a las mismas condiciones para  $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{I})$  se deduce que la  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  debido a que el DZP es trivial para esta especie generalizada.

A partir del conocimiento de la forma química de las especies se procede al cálculo de los potenciales normales y condicionales de los sistemas  $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{II})/\text{Cu}^{\text{III}}(\text{I})$  y  $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{I})/\text{Cu}^{\text{III}}(\text{0})$ , obteniéndose que los potenciales normales de las especies participantes son de 0.884V para el par  $\text{CuCit}^-/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+ = \text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ , y de 0.07V para el par  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+/\text{Cu}^{\circ} = \text{Cu}(\text{I})/\text{Cu}(\text{0})$ .

Los potenciales a las condiciones de trabajo son de +0.747 V para el par  $\text{CuCit}^-/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+ = \text{Cu}^{\text{III}}(\text{II})/\text{Cu}^{\text{III}}(\text{I})$  y de -0.149 V para el par  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+/\text{Cu}^{\circ} = \text{Cu}^{\text{III}}(\text{I})/\text{Cu}^{\text{III}}(\text{0})$ . (ver al cálculo de los potenciales normales termodinámicos y condicionales en el anexo II). De acuerdo con los nuevos valores de potencial se tiene que la escala es:

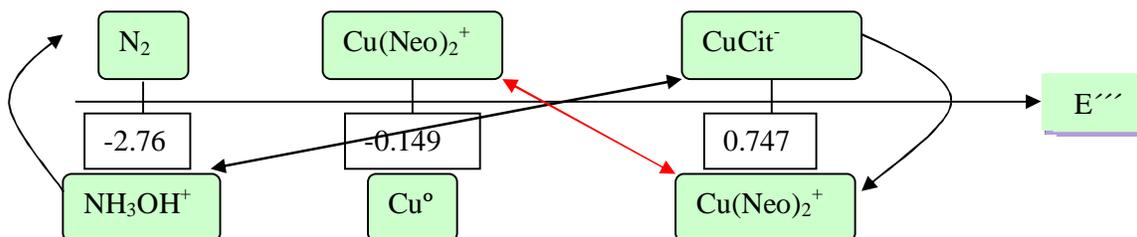
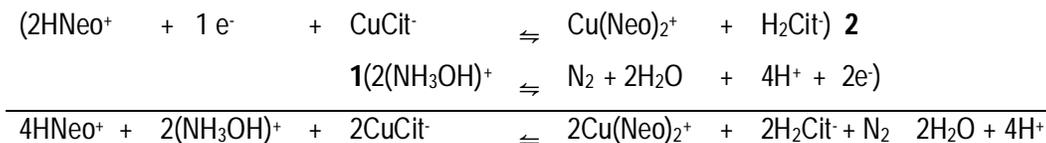


Figura 10. Escala de potencial tricondicional de los pares  $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$  y  $\text{Cu}(\text{I})/\text{Cu}(\text{0})$

Se toma en cuenta el potencial del clorhidrato de hidroxilamina que es el reductor de  $\text{Cu}^{2+}$  y se infiere que ahora  $\text{Cu}(\text{I})$  en forma de complejo de  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  es estable en estas condiciones experimentales, por lo tanto la reacción presente en los sistemas es:



La constante de equilibrio calculada es de  $10^{91.8}$  lo que implica que la reacción es espontánea, se forma un anfolito  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  estable, de color amarillo, además se extrae selectivamente en fase orgánica en forma de par iónico, lo que permite la determinación espectrofotométrica y selectiva de Cu.

## 8.2. Análisis espectral del complejo $\text{Cu}(\text{neo})_2^+$

Se obtiene el espectro de absorción de la fase orgánica utilizando el blanco respectivo. La figura 11 muestra el espectro de absorción del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  en cloroformo, que es el mismo espectro para la mezcla cloroformo-etanol.

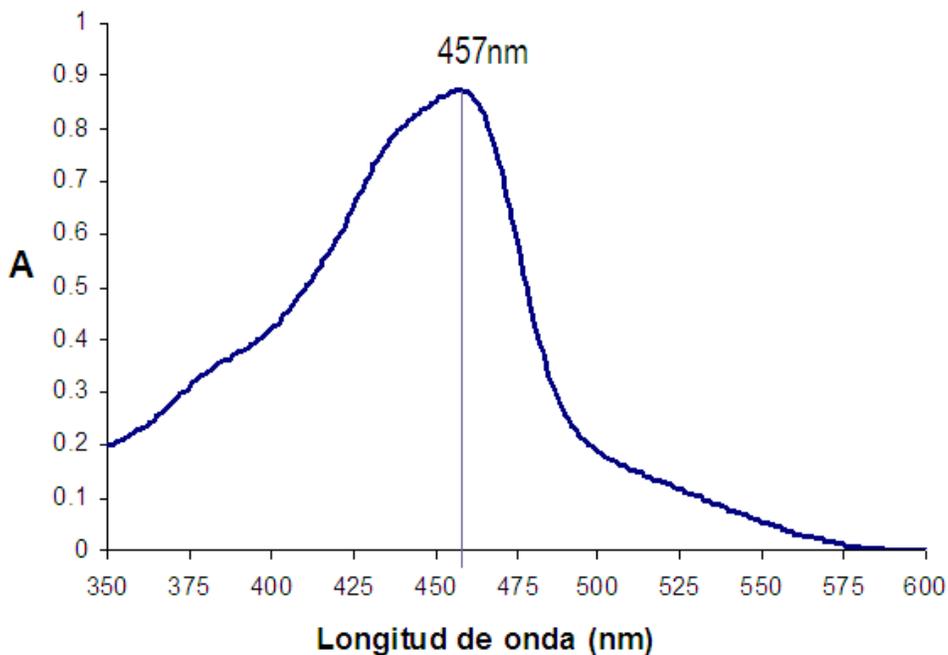


Figura 11. Espectro de absorción del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2$  en cloroformo, a  $\text{pH} = 4$  en fase acuosa.

El espectro muestra una banda de absorción típica de la técnica espectrofotométrica, con una longitud de onda máxima de 457 nm en este medio, exactamente igual que para la mezcla cloroformo-etanol y que coincide con la reportada en la literatura<sup>11</sup> para este sistema. Es por lo anterior que para los estudios posteriores la  $\lambda$  se mantiene constante en 457 nanómetros.

### 8.3. Orden de adición de los reactivos.

La secuencia en la adición de los reactivos es importante en la formación del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$ . Esta secuencia se presenta en la figura 12.

Se toma una alícuota de solución estándar o de muestra problema que contiene iones cúpricos, se agrega la clorhidrato de hidroxilamina con el fin de reducir los iones  $\text{Cu}(\text{II})$  a  $\text{Cu}(\text{I})$ . Posteriormente se añade el citrato que es un ligante capaz de enmascarar iones que interfieran en la determinación (por ejemplo  $\text{Fe}(\text{II})$ ,  $\text{Zn}(\text{II})$ ,  $\text{Mn}(\text{II})$ , etc.), por último se adiciona la neo-cuproína que es el reactivo cromogénico para los iones cuprosos.

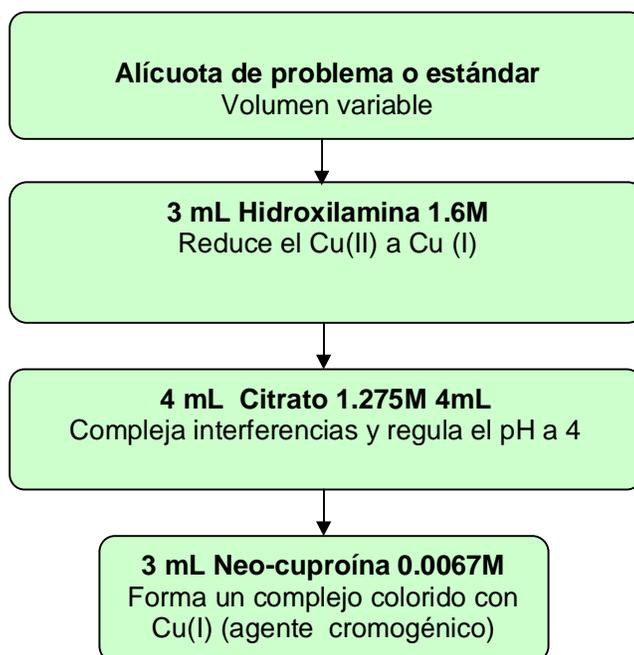


Figura 12. Diagrama de adición de los reactivos

Es importante mencionar que este orden de adición de los reactivos se debe respetar estrictamente para la formar el complejo, puesto que algún cambio se corre el riesgo inhibir su formación. Adicionalmente se propone una reducción en los volúmenes utilizados de acuerdo a la NMX-AA-066-1981, que en promedio propone volúmenes totales de 75 mL a diferencia de este trabajo que los volúmenes totales utilizados son de 25 mL, reducción significativa.

#### 8.4. Estudio de estabilidad del complejo $\text{Cu}(\text{Neo})_2$ a distintos pH's

En el estudio teórico de reacciones se infiere que la formación del complejo esta función del pH, es por ello que se estudia la estabilidad del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2$  a tres pH's diferentes. La figura 13 muestra el comportamiento del sistema a pH de 4.0, 5.0 y 6.0

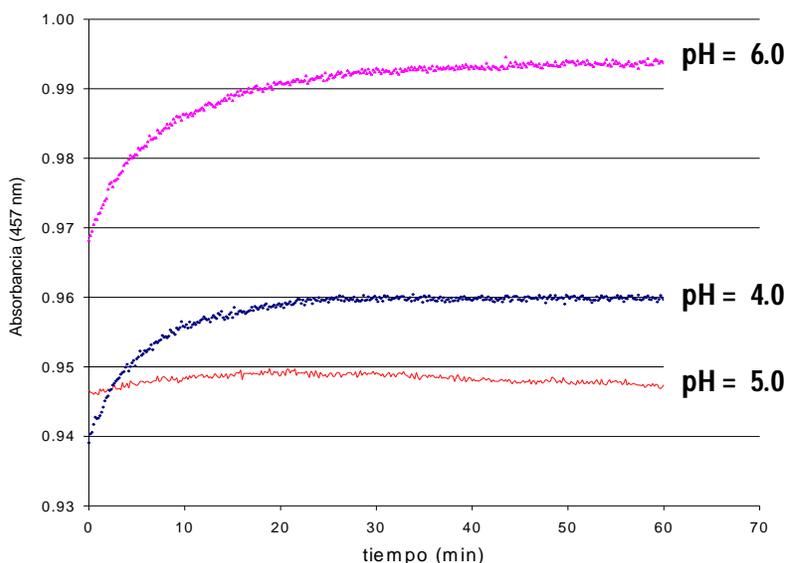


Figura 13. Estudios de estabilidad del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2$  a 457 nm a pH 4, 5 y 6.

Se constató que la estabilidad del complejo es función del pH. Aunque los valores de absorbancia a pH=6.0 son más altos, también se observa un incremento importante en función del tiempo sobre todo en periodo largos (60 minutos). A pH=5.0 la absorbancia es la más baja y poco estable, de hecho se incrementa y disminuye en relación con el tiempo. Para el sistema a pH = 4.0 presenta un incremento la absorbancia, que se mantiene invariable después de 20 minutos confirmando la estabilidad del complejo a este pH. En base a lo anterior, el pH elegido para la formación y extracción del complejo es de 4.0. Por otra parte, el porcentaje de extracción a este valor de pH, fue satisfactorio.

### 8.5. Estudios de interferencia

La matriz de los multivitamínicos es compleja, contiene numerosos metales que podrían interferir con la cuantificación del cobre, como por ejemplo: Calcio, Potasio, Magnesio, Manganeseo, Hierro y Zinc entre otros. Para probar la selectividad del método se hicieron pruebas de interferencia con estos metales, efectuando la determinación del cobre por pares, es decir a una cantidad conocida de cobre se le adiciona algún metal interferente (por ejemplo  $\text{Ca}^{2+}$ ) y se observan las desviaciones presentadas. La figura 14 muestra las curvas obtenidas en las pruebas de interferencia para diverso cationes.

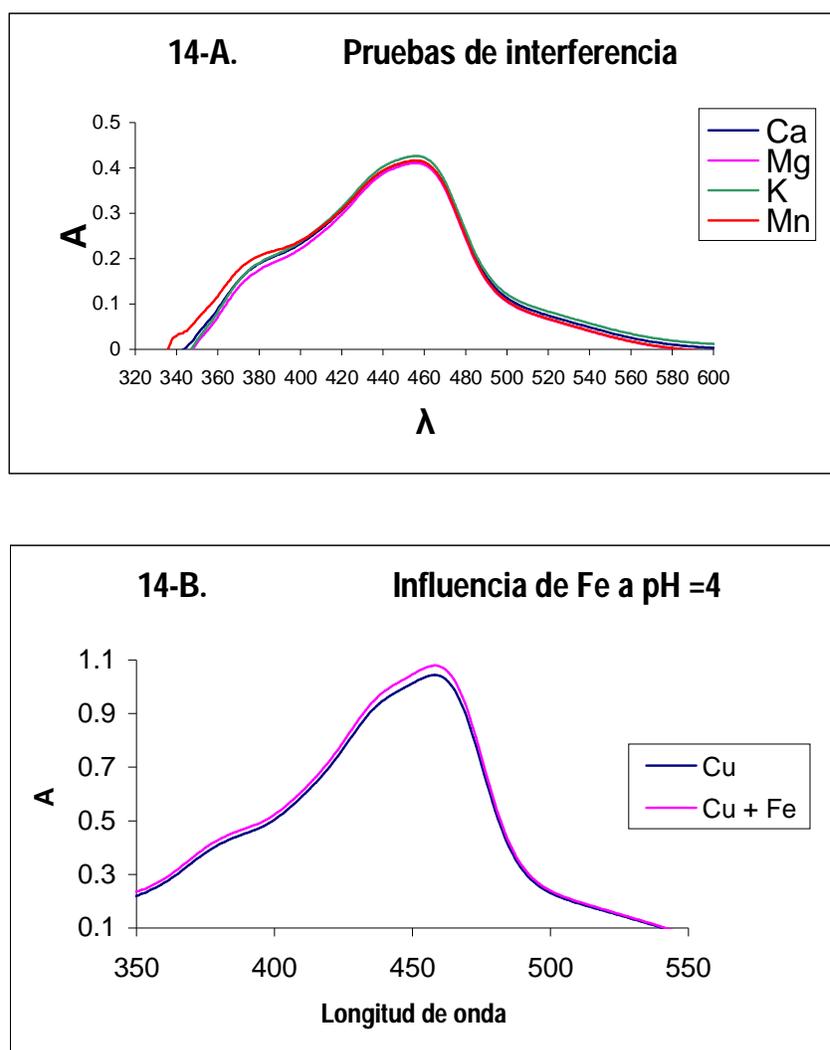


Figura 14. Prueba de interferencia con metales comunes en multivitamínicos. A) los cationes  $\text{Ca}(\text{II})$ ,  $\text{Mg}(\text{II})$ ,  $\text{Mn}(\text{II})$ ,  $\text{K}(\text{I})$  para Cu de concentración 5.76 ppm. B) al ion  $\text{Fe}(\text{II})$  para Cu de concentración 10.18 ppm

En la figura anterior se observa que la presencia de estos cationes metálicos no afectan de manera significativa en aspecto de la banda de absorción para el complejo formado, de la misma manera no cambia la  $\lambda$  óptima o máxima del  $\text{Cu}(\text{NeO})_2^+$  y tampoco se observa un incremento significativo en los valores de absorbancia por lo tanto se concluye que la presencia de estos iones metálicos, no interfiere en la determinación de Cu y que las desviaciones observadas pueden deberse a la volatilidad del disolvente. Por otra parte confirma que la reacción en las condiciones propuestas en este trabajo de tesis es específica para el catión Cu.

Puesto que se involucran procesos de extracción esto hace que el método sea selectivo en la determinación de Cu, ya que el cloroformo<sup>1</sup> como disolvente reúne muchas de las características deseables para un buen proceso de extracción: Baja solubilidad y reactividad con agua, punto de ebullición moderado, presión de vapor y viscosidad moderadas, densidad adecuada para originar una correcta separación de fases, baja tendencia a formar emulsiones y alta estabilidad química.

La separación se llevó a cabo en dos extracciones sucesivas, con 5 mL y 4 mL respectivamente aforando con etanol a volumen total de 10 mL, se elige al etanol por su carácter no tóxico y polaridad, además de que la mezcla estos solvente orgánicos (etanol-cloroformo) permite más fácilmente, la co-existencia de pares iónicos, dicha forma química es la reporta la literatura para la extracción del complejo de  $\text{Cu}(\text{NeO})_2^+$  a diversas fases orgánicas<sup>12</sup>.

---

<sup>1</sup> Propiedades termodinámicas del cloroformo en anexo 1

### 8.6. Tiempo de agitación óptimo:

Con la finalidad obtener el tiempo de agitación óptimo para lograr el equilibrio de reparto en la extracción líquido-líquido, se toman las lecturas de absorbancia a la fase orgánica a diferentes tiempos de agitación. La figura 15 muestra los datos obtenidos de este experimento

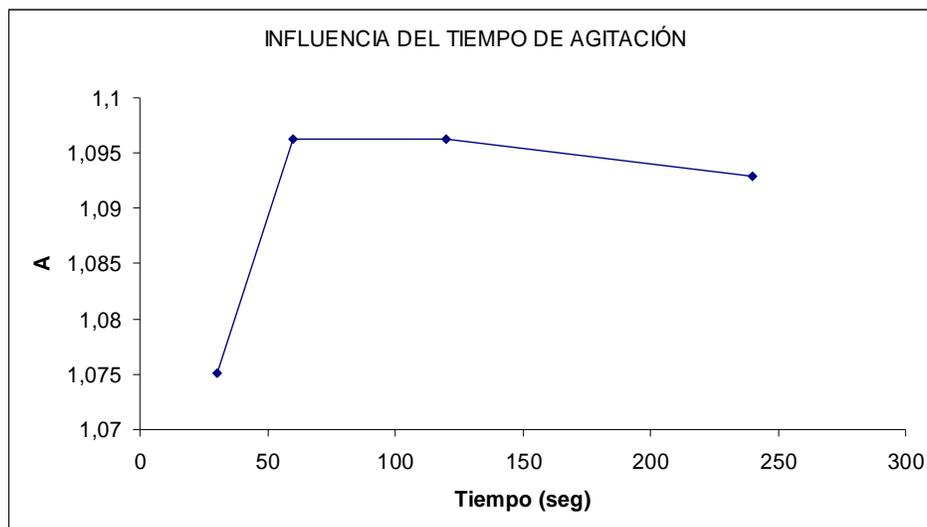


Figura 15. Gráfica de absorbancia de fase orgánica vs tiempo de agitación ( $\lambda = 457\text{nm}$ )

De la figura anterior se observa que la absorbancia no presenta cambio en tiempos de agitación mayores a un minuto, esto implica que con un minuto se alcanza en equilibrio en la distribución del complejo en las dos fases. Por lo tanto con agitación promedio de un minuto se encuentran en equilibrio la especie  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  en las dos fases.

### 8.7. Curva de Calibración.

Una vez estudiados los factores que afectan la reacción en la formación del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  que sirve de base en la determinación espectrofotométrica de Cu, se preparó una curva de calibración en las condiciones óptimas estudiadas; como se indica en la sección experimental.

La tabla 8 presenta los valores experimentales de concentración en parte por millón de Cu y absorbancia a una  $\lambda$  de 457 nanómetros de los sistemas preparados, los valores de concentración de Cu estándar están referidos al volumen de fase orgánica. Se obtiene la curva de calibración experimental misma que se presenta en la figura 16.

Tabla 8, Datos experimentales de concentración de Cu (ppm) y Absorbancia a una  $\lambda = 457$

SISTEMA	mL std Cu (11.18 ppm)	Cu (ppm)	Absorbancia
0	0	blanco	-----
1	1	1.1118	0.14655
2	2	2.2236	0.28285
3	3	3.3354	0.43181
4	4	4.4472	0.57756
5	5	5.5590	0.71905
6	6	6.6708	0.87319

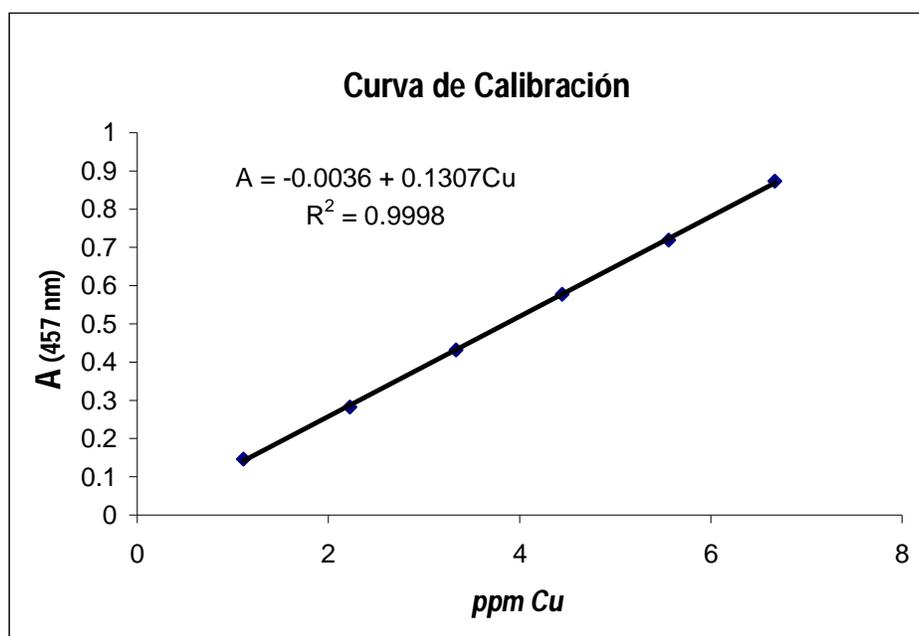


Figura 16. Gráfica de la Curva de calibración de Cu en función de la  $A_{\text{experimental}}$  una  $\lambda = 457$  nm

En la figura 16 se infiere un modelo de tipo lineal para las variables involucradas, esto es que existe una relación proporcional y directa entre la concentración catión  $\text{Cu}$  y la absorbancia del sistema, adicionalmente se obtiene la regresión lineal (ver grafica 16) que reporta un coeficiente de determinación de 0.9998 ( $r^2 > 0.99$ ), una ordenada al origen cercana a cero ( $b = -0.0036$ ) y una pendiente de 0.1307 ( $m = 0.1307$ ), como es bien conocido con  $r^2 > 0.99$  podemos indicar que efectivamente existe una respuesta directa entre la concentración y la absorbancia del sistema.

## 8.8. DETERMINACIÓN DE Cu EN MUESTRAS DE MULTIVITAMÍNICOS.

### 8.8.1. Multivitamínico STRESSTABS

Para la cuantificación de este polivitamínico se analizaron tres muestras independientes, se aplicó en el método propuesto y se interpola los valores de absorbancia en la Curva de calibración. La tabla 9 presenta los valores de absorbancia experimentales de las tres muestras, así como, el contenido de Cu en mg por unidad.

*Tabla 9. Parámetros estadísticos obtenidos para el polivitamínico Stresstabs*

Muestra	Absorbancia	mg por unidad experimental	mg Cu por unidad marbete
1	0.385	2.938	3.00
2	0.405	3.091	3.00
3	0.388	2.962	3.00
promedio		2.997	
desviación estándar		0.067	
C.V (%)		2.244	

\*C.V. coeficiente de variación y n = 3

La tabla 9 reporta las determinaciones de Cu por unidad de la marca STRESSTABS, siendo el contenido promedio de 2.997 mg. de cobre por tableta, una desviación estándar de 0.067 y un coeficiente de variación de 2.24% para tres muestras independientes, esto lleva a establecer una pureza con respecto a marbete de 99.9%, lo que indica que este multivitamínico si contiene la cantidad de Cu del marbete. Por otro lado podemos inferir que el método desarrollado es confiable en esta determinación y no hay interferencia de otros cationes.

### 8.8.2. Multivitamínico TERAGRÁN Y MINERALES

La determinación de este multivitamínico se analizaron cinco muestras independientes, La tabla 10 muestra los resultados de las cuantificaciones se presenta los valores de absorbancia de las muestras, así como, el contenido de Cu en mg por unidad.

Tabla 10. Parámetros estadísticos obtenidos para el polivitamínico TERAGRAN

Muestra	Absorbancia	mg por unidad (experimental)	mg Cu por unidad marbete
1	0.526	1.003	1.00
2	0.531	1.014	1.00
3	0.570	1.087	1.00
4	0.517	0.986	1.00
5	0.531	1.014	1.00
<b>promedio</b>		<b>1.021</b>	
<b>desviación estándar</b>		<b>0.039</b>	
<b>C.V (%)</b>		<b>3.819</b>	

\*C.V. coeficiente de variación y n = 5

La tabla anterior reporta los contenidos de Cu por unidad de la marca TERAGRAN, siendo relevante que el % con respecto al marbete es de 102.1% y un coeficiente de variación de 3.82% para las cinco repeticiones, lo que demuestra que el método propuesto permite determinar de manera confiable el cobre presente en este tipo de polivitamínicos.

### 8.8.3. Multivitamínico "Enertón"

La tabla 11 muestra las cuantificaciones de cinco unidades (cápsulas de gel) de la marca Enerton . Se observa además que el contenido en % de Cu con respecto al reportado por el fabricante es mucho menor (49%), en otras palabras, contiene la mitad de lo indicado, además de un incremento en la desviación estándar y del coeficiente de variación de las muestras (8.08%), lo que implica una variación importante en el contenido de cobre en este producto.

Tabla 11. Cuantificaciones de cobre para el polivitamínico ENERTON

Muestra	Absorbancia	mg por unidad experimental	mg Cu por unidad marbete
1	0.271	0.515	1.00
2	0.237	0.450	1.00
3	0.233	0.444	1.00
4	0.276	0.526	1.00
5	0.271	0.516	1.00
promedio		0.490	
desviación estándar		0.040	
C.V (%)		8.08	

\*C.V. coeficiente de variación y n = 5

De manera simultánea se elaboro una curva de calibración a partir de los estándares de Cu para determinarse la propiedad en el equipo de absorción atómica en las condiciones óptimas de operación del equipo para este elemento. La grafica 17 muestra la curva de calibración de Cu estándar en relación con la concentración en ppm de Cu.

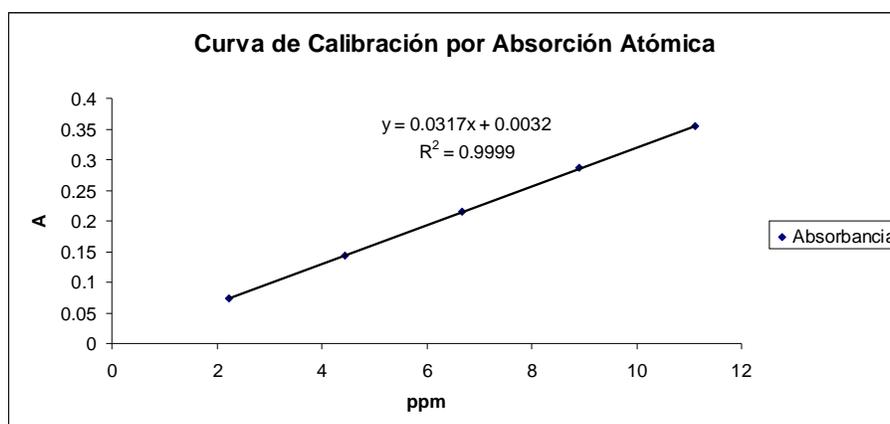


Fig 17. Curva de calibración de Cu estándar por absorción atómica utilizando Lámpara de 4 mA, longitud de onda de 324.7 nm y ancho de la ranura de 0.5 nm para lograr un intervalo óptimo de detección de 0.03 a 12 µg/mL

Como era de esperarse existe una relación lineal entre el Cu y la absorbancia del elemento a partir de esta curva se realiza la interpolación de las cinco muestras problema, mediante las diluciones adecuadas para su cuantificación.

Es importante hacer notar que para la elaboración de la curva por Absorción Atómica, se toma la línea más sensible que permite un intervalo de concentración de 2-20 ppm; en contraste con el método propuesto que permite un intervalo de concentración del orden de 1-7 ppm de Cu, lo que indica un incremento en la sensibilidad a muy bajo costo.

La tabla 12 presenta los resultados de las determinaciones por absorción atómica.

*Tabla 12. Determinación de Cu en el polivitamínico marca ENERTON por absorción atómica.*

	mg por unidad experimental	mg Cu por unidad marbete
promedio	0.545	1.0
desviación estándar	0.029	
C.V (%)	5.236	

\*C.V. coeficiente de variación y n = 5

Los resultados revelan un contenido bajo de Cu en esta muestra, aproximadamente contiene la mitad de lo que indica el fabricante. Entre los métodos aplicados los resultados no muestran una diferencia significativa para estas cápsulas de gel; lo que permite descartar la posibilidad de una mala preparación del problema. Esta variación en el contenido de Cu puede deberse, a que el fabricante adiciona una cantidad menor para el ahorro de los costos de producción (recordar que no existe regulación en este tipo de productos).

Sin embargo para verificar nuevamente la consistencia de los resultados se preparó una curva de adiciones patrón aplicando la metodología propuesta. Se decide preparar otra muestra problema con una digestión más agresiva, al adicionar 6 mL de ácido clorhídrico. Se hacen adiciones de Cu patrón de tal manera que se incremente la concentración estándar, se aplica el método desarrollado en este trabajo. La figura 18 presenta la curva de adiciones patrón para la muestra preparada.

### Enertón por Adiciones Patrón

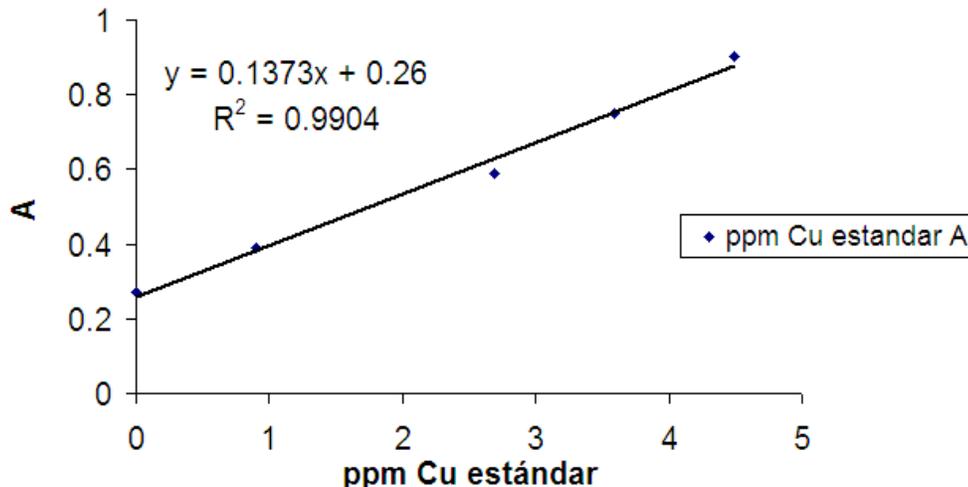


Figura 18. Curva de adición patrón para la marca Enertón utilizando el método propuesto.

Tabla 13. Absorbancias y cobre adicionado en el método de adiciones patrón.

ppm Cu estándar	A
0.000	0.271
0.898	0.392
2.693	0.589
3.590	0.748
4.488	0.903

La grafica anterior muestra un comportamiento lineal de la curva de adiciones patrón, presentando la ventaja de compensar los posibles efectos de matriz, el resultado en la cuantificación de la muestra se presenta en la tabla 14, en comparación con las curvas de calibración con la metodología propuesta y la técnica de absorción atómica respectivamente.

Para comprobar la importancia de los efectos de matriz en este polivitamínico se realizó un test de comparación de las pendientes entre ambas curvas, la curva de calibración y adiciones patrón<sup>16</sup> (como lo detalla el test de Crochran). Obteniéndose como resultado que no existen diferencias significativas entre las pendientes de ambas curvas en el caso de las capsulas de Gel, lo que indica que la baja concentración de Cobre de este producto (Enerton) no se debe a efectos de matriz. De hecho la matriz no tiene ningún efecto en la determinación.

Tabla 14. Comparación de los métodos de cuantificación de Cu para la marca ENERTON.

Contenido método	mg <sub>experimental</sub> por cápsula de gel (ENERTON)		
	Calibración	Calibración Abs Atómica	Adiciones Patrón
promedio	0.490	0.545	0.473
desv. estándar	0.040	0.029	-----
C.V (%)	8.08	5.236	-----
n	5	5	1
% marbete	49.0	54.5	47.3

\*C.V. coeficiente de variación

La tabla compara el contenido de Cu por unidad para la marca ENERTON, se nota que existe de este metal aproximadamente la mitad de lo declarado en el marbete, lo que indica una falla en su proceso de control de calidad atribuible a diversas causas por ejemplo: fallas en el mezclado, inadecuado análisis de sus muestras, etc.

Sin embargo este análisis demuestra la confiabilidad del método desarrollado para muestras complejas como es el caso de los polivitamínicos aquí analizados, sobretodo en la eliminación de interferencias (contienen entre 18 y 35 analitos), además que el costo en el análisis es menor y la sensibilidad en la determinación es mayor que en otras técnicas instrumentales por ejemplo absorción atómica.

## 9. CONCLUSIONES

Se optimizó el método espectrofotométrico por neo-cuproína de trazas de cobre en polivitamínicos a escala reducida.

Este método es reproducible en matrices de naturaleza tan complejas como las de los polivitamínicos analizados.

El contenido de cobre indicado en el marbete de los polivitamínicos Stresstabs y Teragrán concuerda con los resultados obtenidos experimentalmente por espectrofotometría uv-vis con neo-cuproína como agente cromogénico.

El polivitamínico Enertón no cumple con el contenido de cobre indicado en el marbete. La cuantificación por el método espectrofotométrico fue de 47.72% de lo reportado en el marbete, mientras que la cuantificación por Absorción Atómica fue de 54.87% de lo reportado en el marbete. En ambos casos un porcentaje cercano al 50% de lo indicado en el marbete.

No existen diferencias significativas entre las pendientes de la curva de calibración y la curva de adiciones patrón, lo que indica que la matriz del polivitamínico Enertón **no afecta** al realizarla determinación del cobre.

La precisión del método espectrofotométrico con respecto al método de Absorción Atómica fue de 86.96%, considerando promedios de muestras reales independientes entre sí.

Se establecieron las condiciones óptimas para la formación del complejo Cu – neo-cuproína, su extracción y su cuantificación espectrofotométrica

Se adecuó el método a escala reducida, utilizando como promedio la mitad de los volúmenes de reactivos utilizados en la cuantificación de trazas de cobre en agua (NMX-AA-066-1981).

Se estudiaron las interferencias que podrían encontrarse en los polivitamínicos, encontrando que la influencia de prácticamente todos los metales presentes en ellos es despreciable e incluso que la mayor parte de las desviaciones observadas podrían deberse a la volatilidad del disolvente.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Congreso Copper Transport and Its Disorders: Molecular and Cellular Aspects 21-24 mayo 1997, Sestri Levante, Italia. (Memorias en línea: [http://www.cobre-cta.cl/anm2/templates/cta\\_template01.asp?articleid=213&zoneid=8](http://www.cobre-cta.cl/anm2/templates/cta_template01.asp?articleid=213&zoneid=8)).
2. Olivares M, Araya M, Uauy R.; Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000; 31:102-111.
3. Rodríguez H. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregar, Tesis Doctoral, Barcelona, 2001
4. Sparks Larry D. and Schreurs Bernard G., Trace amounts of copper in water induce  $\beta$ -amyloid plaques and learning deficits in a rabbit model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003 100: 11065-11069; published online before print as 10.1073/pnas.1832769100
5. Peterson R.E. and Bollier M.E. Spectrophotometric determination of serum copper with bis-cyclohexanoneoxalyalyl dihydrazone. *American Chemical Society* 27: 1195-1197. 1965
6. Rice E.W. Spectrophotometric determination of serum copper with oxalyldihydrazide. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine American Medical Association*.Chicago.55:325-328, 1960
7. Sunderman F.W. Atomic Absorption spectrophotometry of trace metals in clinical pathology. *Human Pathology* 4:549-582,1973.
8. Alcock N.W. Matrix effects in flameless atomic absorption of copper. *Clinical Chemistry* 30:973, 1984.
9. Kaiser D.G. and Meinke W. W. Rapid activation analysis of trace copper in tissue using 5.1 minute Cu66. *Analytical Biochemistry* 6:77-81, 1973.
10. Environmental Sciences Associates, Direct determination of copper in serum by anodic stripping voltametry, Inc.Bedford, Mass, 1977.
11. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. *Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington D.C. 2005.
12. Ander Ringbom, Carlos Montuega. *Formación de Complejos en Química Analítica*. Alhambra. Madrid. 1979.
13. Sandel E.B.;*Colorimetric Determination of traces of metals*; 3° Interscience Publishers, Inc., New York; ;1961

14. Martha Claros, Pedro Robles, Elsa Flores, Héctor Galleguillos, Teófilo Graber; Extracción de metales con Líquidos iónicos. Aplicación a la industria minera; Depto. de Ingeniería Química, Univ. de Antofagasta, Angamos 601, Casilla 170, Antofagasta, Chile.

15. Romero, Cesar H., Pellerano, Roberto G., - Vazquez, Francisco A., Determinación de Cobre en bajas concentraciones con PAN por espectrofotometría UV-visible con aplicación de SPS. Estandarización condiciones preliminares.; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura - UNNE.; Corrientes, Argentina

16. Massart D. L., Vandeginste B. G. M., Buydens L. M. C., De Jong S., Lewi P. J., Verbeke – Smeyers J.; Handbook of Chemometrics and Qualimetrics; Vol A, Esevier, 1997 p.208 - 210

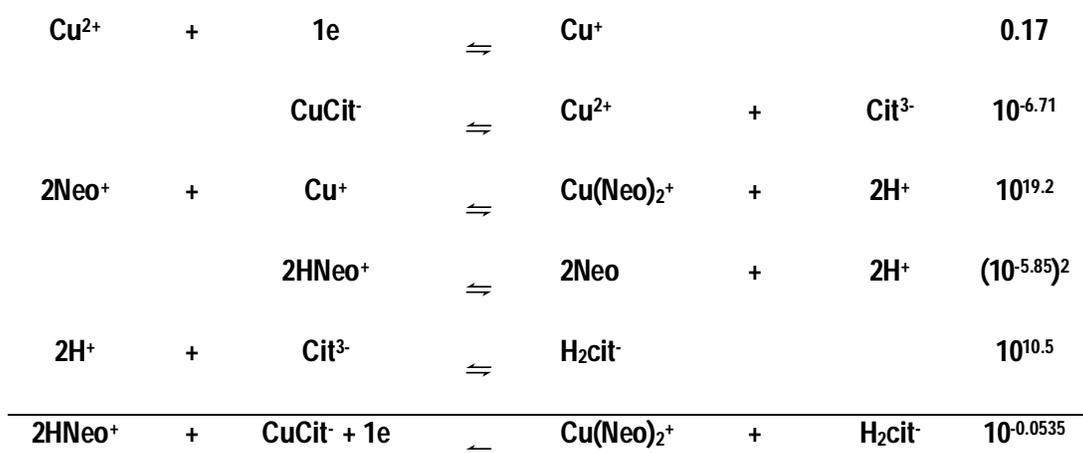
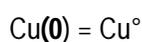
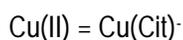
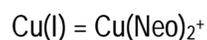
**En línea:**

- <http://enciclopedia.us.es/index.php/Cobre> Enciclopedia Libre - Cobre]
- Procobre <http://www.procobreperu.org/index.htm> Perú], <http://www.procobre.cl/> Chile], <http://www.procobrevenezuela.org/homevenezuela.htm> Venezuela]
- <http://www.copper.org/> La página del cobre]
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Copper> Wikipedia - Cobre]
- <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Cu/index.html> WebElements.com – Cobre]
- <http://environmentalchemistry.com/yogi/periodic/Cu.html> EnvironmentalChemistry.com – Cobre]
- [http://www.healingedge.net/briefs\\_copper\\_tox.html](http://www.healingedge.net/briefs_copper_tox.html) Síndrome de la toxicidad del cobre]
- Neuroscience letters. **ISSN** 0304-3940 . **CODEN** NELED5. 1988, vol. 92, nº3, pp. 247-253 (<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=7300015>)
- Acta neurologica scandinavica. **ISSN** 0001-6314. **CODEN** ANRSAS . 1995, vol. 91, nº3, pp. 165-168 (18 ref.)(<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=3466718>)
- Carlos S. China [DidacticaFisica@casanchi.com](mailto:DidacticaFisica@casanchi.com).

## ANEXO I

### *Cálculo de los potenciales normales y condicionales*

A continuación se calculan los potenciales normales y condicionales de los pares Cu(II)/Cu(I) y Cu(I)/Cu(0) tomando las condiciones de amortiguamiento del sistema. De acuerdo con los DZP y en condiciones de trabajo (pH = 4.0, pCit<sup>-</sup> = -0.1055, pNeo<sup>+</sup> = 2.1739) se tiene de las especies representativas a las condiciones de trabajo (pH, pCit, pNeo) son:

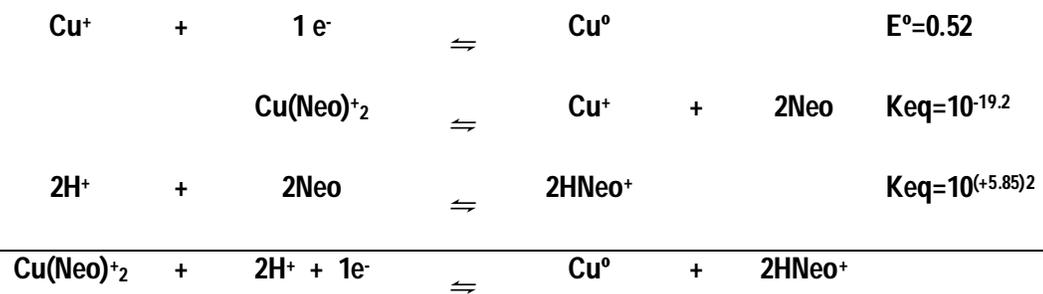


Calculando el potencial normal del nuevo par en base a los equilibrios implicados:

$$E^0_{\text{Cu(II)/Cu(I)}} = E^0_{\text{CuCit/Cu(Neo)}_2} = 0.17 + 0.06 \log 10^{11.9} = 0.884\text{V}$$

El equilibrio de complejación y el de pH, influye sobre el potencial normal  $E^0_{\text{Cu(II)/Cu(I)}}$ , desplazándolo y permitiendo que el Cu(I) exista como complejo con  $\text{Cu(Neo)}_2^+$ , que de otra manera sería inestable sino se formara el complejo.

El potencial normal del par  $\text{Cu}^+/\text{Cu}^0$  en medio ácido también se modifica por otros dos equilibrios, que se muestran a continuación:



El potencial normal del nuevo par Cu(I)/Cu(0) es ahora:

$$E_{\text{Cu(I)/Cu}^0}^0 = E_{\text{Cu(Neo)}_2^{+2}/\text{Cu}^+}^0 = 0.52 + 0.06 \log(10^{-7.5}) = 0.07\text{V}$$

Si estos nuevos valores de potencial estándar se colocan en una escala de potencial, se tiene:

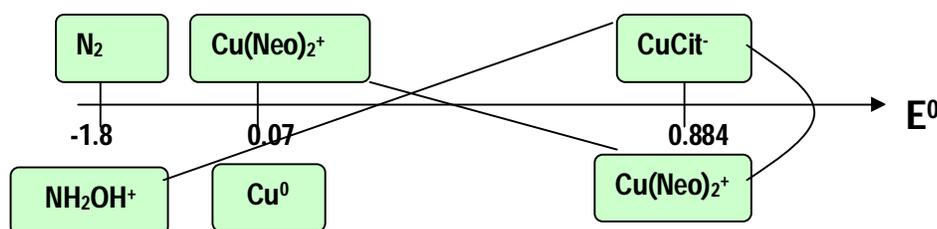
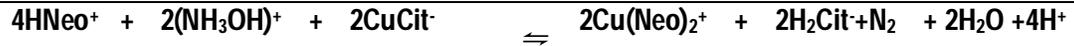
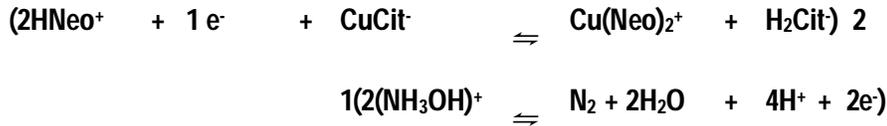


Figura 1. Escala de potencial normal de los nuevos pares Cu(I)/Cu(0) y Cu(II)/Cu(I)

Por lo que bajo estas condiciones de amortiguamiento, se muestra que el Cu(I) es estable.

Por otra parte, se sabe que la Neo-cuproína también forma un complejo con el Cu(II) que podría interferir con la determinación de Cu (I); sin embargo, la presencia de citratos, propicia el enmascaramiento del Cu (II), de tal forma que evita que este catión forme complejos con la Neo-cuproína. De esta manera se logra que sólo el Cu (I) reaccione con la Neo-cuproína. El DZP de pNeo vs pH indica que bajo las condiciones de amortiguamiento (pCit= -0.1055y pH=4) el complejo de Cu(II) que predomina es CuCit. Además, el Citrato es utilizado para evitar las interferencias de otros iones metálicos presentes en la matriz.

La reacción completa que se efectúa es la siguiente:

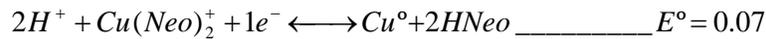


Y su constante termodinámica es:

$$K_{\text{eq}} = 10^{\frac{2(0.884 - (-1.84))}{0.06}} = 10^{91.8}$$

El valor de la constante de equilibrio muestra que la reacción es cuantitativa.

### Cálculos de potenciales condicionales



$$E''' = E^\circ + 0.06 \log \frac{[\text{Cu}(\text{Neo})_2^+][\text{H}^+]^2}{[\text{Cu}^0][\text{HNeo}]^2} = 0.06 \log \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{HNeo}]^2}$$

$$E''' = E^\circ + 0.06(2) \log [\text{H}^+] - 0.06(2) \log [\text{HNeo}] = 0.07 - 0.12 \text{pH} + 0.12 \text{p}(\text{HNeo})$$

$$\text{pH} = 4$$

$$\text{p}(\text{HNeo}) = -\log[\text{HNeo}] = -\log(0.0067\text{M}) = 2.1739$$

$$E''' = -0.1491$$



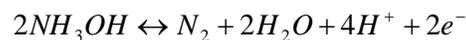
$$E''' = E^\circ + 0.06 \log \frac{[\text{HNeo}][\text{CuCit}^-]}{[\text{H}_2\text{Cit}][\text{Cu}(\text{Neo})^+]} = 0.06 \log \frac{[\text{HNeo}]}{[\text{H}_2\text{Cit}]}$$

$$E''' = E^\circ + 0.06 \log [\text{HNeo}] - 0.06 \log [\text{H}_2\text{Cit}] = 0.884 - 0.06 \text{p}(\text{HNeo}) + 0.06 \text{p}(\text{H}_2\text{Cit})$$

$$[\text{Neo}] = [\text{HNeo}] = 0.0067\text{M}; \text{p}(\text{HNeo}) = 2.1739$$

$$[\text{Cit}] = [\text{H}_2\text{Cit}] = 1.275\text{M}; \text{p}(\text{Cit}) = -0.1055$$

$$E''' = 0.884 - [0.06(2.1739)] + [0.06(-0.1055)] = 0.747$$



$$E''' = E'' = E^\circ + 0.06 \log \frac{[N_2][H_2O][H^+]^4}{[NH_3OH]^2} = (-1.8) + 0.06 \log [H^+]^4 = (-1.8) - 0.06(4) pH$$

$$= (-1.8) - 0.24(4) = -2.76$$

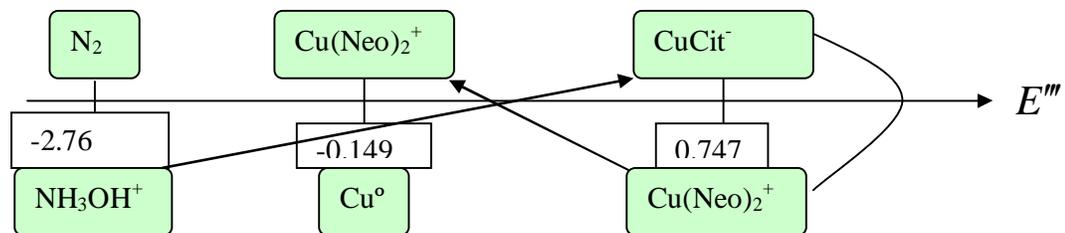


Figura 2. Escala de potencial tricondisional de los pares Cu(II)/Cu(I) y Cu(I)/Cu(0)

$$K''' = 10^{2 \times \frac{(0.884 - (-2.76))}{0.06}} = 10^{121.47}$$

## **ANEXO II**

### ***Propiedades físicas y termodinámicas del cloroformo.***

Punto de fusión: -63.5°C

Punto de ebullición: 61.26°C (760 mm de Hg)

Densidad: 1.498 g/ml (a 15°C); 1.484 (a 20°C)

Densidad de vapor (aire =1): 4.12

Índice de refracción (20°C): 1.4476

Temperatura de autoignición: mayor de 1000 °C

Viscosidad (cP): 0.855 (a -13°C), 0.70 (a 0°C), 0.563 (a 20°C) y 0.51 (a 30°C).

Tensión superficial respecto al aire (din/cm): 27.14 (a 20°C) y 21.73 (a 60°C); respecto al agua: 45.0 (a 20°C).

Capacidad calorífica (kJ/kg K): 0.979 (a 20°C)

Temperatura crítica: 263.4°C.

Presión crítica: 53.79 atm.

Volumen crítico: 0.002 m<sup>3</sup>/ kg

Conductividad térmica (W/m K): 0.13 (a 20°C)

Constante dieléctrica: 4.9 (a 20°C)

Momento dipolar (debye): 1.15

Calor de combustión (MJ/kg mol): 373

Calor de formación (MJ/kg mol) a 25°C: -89.66 (gas) y -120.9 (líquido)

Calor latente de evaporación en el p. de ebullición (kJ/kg): 247

Solubilidad: miscible con etanol, benceno, éter dietílico, éter de petróleo, tetracloruro de carbono, disulfuro de carbono y acetona.

Solubilidad en agua (g/kg de agua): 8.22 (a 20°C) y 7.76 (a 30°C).

Solubilidad de agua en cloroformo (g/kg de cloroformo): 0.806 (a 22°C).

Presión de vapor (mm de Hg): 0.825 (a -60°C), 2.03 (a -50°C), 4.73 (a -40°C), 9.98 (a -30°C), 19.58 (a -20°C), 34.73 (a -10°C), 60.98 (a 0°C), 100.5 (a 10°C), 159.6 (a 20°C), 246.0 (a 30°C), 366.38 (a 40°C) y 525.98 (a 50°C).

Forma azeótropo con agua de punto de ebullición 56.1°C y contiene 97.2 % de cloroformo.

## ANEXO III

### Composiciones de los multivitamínicos analizados según su marbete.

*Tabla 1, Composición del polivitamínico Enertón según el marbete*

COMPONENTE	mg	µg
VITAMINA A, Palmitato	18,72	
VITAMINA D, Ergocalciferol	1,87	
VITAMINA B1, mononitrato de tiamina	1,5	
VITAMINA B2, Riboflavina	1,7	
VITAMINA B6, Clorhidrato de piridoxina	2	
VITAMINA B12, Cianocobalamina		6
VITAMINA C, Acido ascórbico	50	
VITAMINA E, Acetato de alfatocoferol	30	
Nicotinamida	20	
Pantotenato de Calcio	10	
Carbonato de Calcio	25	
Acido fólico		100
Ginseng	40	
Betacaroteno, (pureza de 30%)	0,999	
Jalea real	10	
Sulfato de Manganeso Seco	3,44	
Equivalente de Manganeso	1,25	
Sulfato de Magnesio Seco	54	
Equivalente de Magnesio	10,9	
Sulfato de potasio	11,14	
Equivalente de potasio	5	
Gluconato de Zinc	50	
Equivalente a Zinc	7,5	
Lecitina de Soya	20	
Hierro Reducido	10	
Sulfato de cobre	2,52	
Equivalente a Cobre	1	
Bitartrato de colina		10

**Tabla 2, Composición del polivitamínico Stresstabs según el marbete.**

<b>FORMULA</b>	<b>mg</b>	<b>µg</b>	<b>UI</b>
Mononitrato de tiamina (vitamina B1)	30		
Riboflavina (vitamina B2)	10		
Clorhidrato de piridoxina (vitamina B6)	10		
Cianocobalamina (vitamina B12)		25	
Acido ascorbico (vitamina C)	600		
Acetato de alfa tocoferol (vitamina E)			45
Niacinamida	100		
Acido Pantoténico (pantotenato de Ca)	25		
Acido fólico	0,5		
Oxido Cuprico eq. A de cobre	3		
Sulfato de Zn eq. A de Zn	24		
Exipiente cbp			

**Tabla 3, Composición del polivitamínico Teragrán y Minerales según su marbete.**

FORMULA	Mg	µg	UI
Retinol (acetato de vitamina A)			5000
Colecalciferol (vitamina D3)			400
Mononitrato de tiamina (vitamina B1)			3400
Riboflavina (vitamina B2)	10		
Clorhidrato de piridoxina (vitamina B6)	5		
Cianocobalamina (vitamina B12)		5	
Nicotinamida (Niacinamida)	100		
d-pantotenato de Ca (eq. A 7 mg de Acido pantoténico)	15,2		
Ascorbato de sodio (eq. a 200 mg de Ac. Ascorbico)	225		4000
Acetato de dl-alfa tocoferol al 50% (vitamina E)			5
Carbonato de Ca, (eq. A 131.84 mg de Ca)	329,585		
Sulfato ferroso (eq. A 15 mg de Fe)	50,994		
Yoduro de potasio (eq. A 0.15 mg de yodo)	0,2		
Sulfato cúprico pentahidratado (eq. a 1 mg de Cu)	3,929		
Sulfato de manganeso monohidratado (eq a 1 mg de manganeso)	3,08		
Sulfato de Zn monohidratado (eq. A 1.5 mg de Zn)	4,12		
Oxido de magnesio pesado (eq. A 6 mg de magnesio)	9,952		
Exipiente cbp			

## ANEXO IV

*Soluciones utilizadas.*

SOLUCION	CANTIDAD (ml)
<b>Hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH), 5N</b> Aforar 330 ml de hidróxido de amonio concentrado a 1L de agua	150
<b>Reactivo de neo-cuproína 0.0067M</b> Disolver 0.14 g. en 100 mL de etanol	100
<b>Clorhidrato de hidroxilamina 1.6M</b> Disolver 11.12 g. en 100 ml de agua.	100
<b>Citrato de sodio (pH=4) 1.275 M</b> Disolver 37.5 g. en 100 ml de agua.	100
<b>Solución stock de cobre 200ppm</b> Disolver 0.05 g. de Cu puro en ácido nítrico concentrado y aforar con agua desionizada a 250 ml.	250
<b>Solución patrón diluida de cobre 11.11 ppm.</b> Transferir 25 ml de la solución stock de cobre a un matraz aforado de 250 mL y aforar con agua desionizada.	250

**ANALISIS DE AGUA-DETERMINACION DE COBRE-METODO  
CLORIMETRICO DE LA NEOCUPROINA**

*ANALYSIS OF WATER-DETERMINATION OF COPPER-NEOCUPROINE  
COLORIMETRIC METHOD*

**1 OBJETIVO**

Esta Norma establece el método colorimétrico para la determinación de cobre en agua.

**2 CAMPO DE APLICACION**

Este método es aplicable para aguas, naturales y residuales, con un límite mínimo de detección de 0.003 mg de cobre para un paso de luz de 1 cm.

**3 PRINCIPIO O FUNDAMENTO.**

En soluciones neutras o ligeramente ácidas los iones cuprosos reaccionan con la neocuproína (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) para dar un complejo de cobre-neocuproína, de color amarillo, el cual se extrae con cloroformo y se cuantifica espectrofotométricamente a una longitud de onda de 457 nm.

**4 REFERENCIAS**

Esta Norma se complementa con las Normas Mexicanas en vigor siguientes:

NMX-AA-003 “Método de muestreo para aguas residuales”

NMX-AA-014 “Método de muestreo en cuerpos receptores superficiales”

- NMX-BB-014 “Clasificación y tamaños nominales para utensilios de vidrio utilizados en laboratorio”
- NMX-AA-051 “Análisis de aguas-Determinación de metales-Método espectrofotométrico de absorción atómica”. (Este método podría usarse en lugar de la NMX-AA-066, si se dispone del equipo apropiado).
- NMX-Z-001 “Unidades y magnitudes de base del sistema internacional (SI)”.

## 5 REACTIVOS

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa y cuando se hable de agua, se debe entender agua bidestilada o desionizada y exenta de cobre. Las soluciones preparadas para este análisis, deben almacenarse en recipientes de polietileno o de vidrio libre de cobre.

5.1 Cloroformo (CHCl<sub>3</sub>).

5.2 Alcohol metílico (CH<sub>3</sub>OH).

5.3 Acido nítrico (HNO<sub>3</sub>), concentrado.

5.4 Acido nítrico. (HNO<sub>3</sub>), 1:1.

5.5 Acido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), concentrado.

5.6 Hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH), concentrado.

5.7 Hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH), 5 N

Aforar 330 cm<sup>3</sup> de hidróxido de amonio concentrado a 1 litro con agua.

5.8 Reactivo de neocuproína

Disolver 0.10 g de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina semihidratada en 100 cm<sup>3</sup> de alcohol metílico.

NOTA 1: En las condiciones ordinarias de almacenamiento esta solución es estable por un mes.

5.9 Solución de clorhidrato de hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH . HCl)

Disolver 50 g de clorhidrato de hidroxilamina en 450 cm<sup>3</sup> de agua.

5.10 Solución de citrato de sodio (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> . 2H<sub>2</sub>O)

Disolver 150 g de citrato de sodio en 400 cm<sup>3</sup> de agua, agregar 5 cm<sup>3</sup> de reactivo de clorhidrato de hidroxilamina y 10 cm<sup>3</sup> de reactivo de neocuproína; extraer con 50 cm<sup>3</sup> de cloroformo la impureza de cobre de la solución y desechar la capa de cloroformo.

5.11 Solución patrón concentrada de cobre:

5.11.1 Pesar 0.200 g de cobre electrolítico pulido y pesarlo a un matraz Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup>

5.11.2 Agregar 10 cm<sup>3</sup> de agua y 5 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico concentrado y después que se estabiliza la reacción calentar suavemente para completar la disolución del cobre y hervir hasta el total desprendimiento de los óxidos de nitrógeno (ver 11.1).

5.11.3 Enfriar la solución y agregar 50 cm<sup>3</sup> de agua.

5.11.4 Transferir el contenido a un matraz volumétrico de un litro y aforar con agua; 1.00 cm<sup>3</sup> de esta solución equivale a 0.200 mg de cobre.

## 5.12 Solución patrón diluida de cobre

Transferir 50 cm<sup>3</sup> de la solución patrón concentrada de cobre a un matraz de cobre a un matraz volumétrico de 500 cm<sup>3</sup> y aforar con agua; 1.00 cm<sup>3</sup> de esta solución equivale a 0.020 mg de cobre.

## 6 MATERIAL Y EQUIPO

### 6.1 Material común de laboratorio

NOTA 2: Todo el material de vidrio o polietileno empleado en este método debe enjuagarse con HNO<sub>3</sub> 1:1 y enseguida con agua.

### 6.2 Equipo colorimétrico; se necesita uno de los siguientes:

6.2.1 Espectrofotómetro para usarse a una longitud de onda de 457 nm, provisto de un paso de luz de 1 cm con sus celdas correspondientes.

6.2.2 Fotómetro de filtro provisto de un paso de luz de 1 cm o mayor equipado con un filtro violeta de banda restringida, que tenga una transmitancia máxima en el ámbito de 450 a 460 nm, con sus celdas correspondientes.

### 6.3 Papel indicador para pH con ámbito de 4 a 6.

## 7 MUESTREO Y CONSERVACION DE LA MUESTRA

Las muestras se deben coleccionar en frascos de polietileno, preservarse añadiendo 5 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico concentrado por litro de muestra coleccionada y refrigerandose a 4 ó 5° C.

## 8 INTERFERENCIAS

8.1 La determinación del cobre por el procedimiento que se recomienda, se encuentra virtualmente libre de interferencias por otros iones metálicos.

8.2 La interferencia del cromo se puede evitar por la adición del ácido sulfuroso para reducir los cromatos y el ión crómico complejo.

8.3 En presencia de estaño y de cantidades excesivas de otros iones oxidantes se debe emplear un volumen adicional de clorhidrato de hidroxilamina no mayor de 20 cm<sup>3</sup>.

8.4 Las interferencias producidas por el cianuro y el sulfuro se eliminan durante el proceso de digestión.

## 9 PROCEDIMIENTO

9.1 Preparación de la curva de calibración.

9.1.1 Preparar un blanco de referencia, colocando 50 cm<sup>3</sup> de agua, 1 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico concentrado en un embudo de separación de 125 cm<sup>3</sup> y proceder como se indica en 9.3.2.

9.1.2 Colocar en una serie de embudos de separación de 125 cm<sup>3</sup> los volúmenes de solución patrón diluida de cobre indicados en la Tabla No. 1.

VOLUMENES PARA LA CURVA DE CALIBRACION.	
Solución Patrón Diluida de cobre (cm <sup>3</sup> )	Contenido de cobre (mg).
0.5	0.010
1.0	0.020
2.0	0.040
4.0	0.080
6.0	0.120
8.0	0.160
10.0	0.200

TABLA 1.

9.1.3 Diluir a 50 cm<sup>3</sup> con agua, agregando 1 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico concentrado y proceder como se indica del inciso 9.3.2 al 9.3.8.

9.1.4 Graficar las lecturas de absorbancia obtenidas contra los mg de cobre.

9.2 Tratamiento de la muestra

9.2.1 Digestión con ácido nítrico - ácido sulfúrico, (para muestras con materia orgánica fácilmente oxidable).

9.2.1.1 Transferir 100 cm<sup>3</sup> de muestra a un vaso de precipitados de 250 cm<sup>3</sup>, agregar 1 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico concentrado y 5 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico concentrado.

9.2.1.2 Evaporar en una parrilla o placa de calentamiento hasta que aparezcan humos blancos densos de anhídrido sulfúrico en el vaso de precipitados y no calentar más allá de este punto (ver 11.1).

9.2.1.3 Si la solución permanece colorida, enfriar y agregar 5 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico concentrado y repetir la evaporación hasta la aparición de humos blancos de anhídrido sulfúrico (ver 11.2), si fuera necesario repetir esta operación hasta que la solución se presente incolora.

9.2.1.4 Enfriar la solución a temperatura ambiente y diluir con agua cuidadosamente hasta tener un volumen de 80 cm<sup>3</sup>.

9.2.1.5 Calentar en placa de calentamiento a ebullición para disolver las sales solubles y enfriar.

9.2.1.6 Filtrar con crisol de vidrio poroso y transferir el filtrado a un matraz volumétrico de 100 cm<sup>3</sup>, enjuagar y aforar con agua.

9.2.1.7 Proceder a la determinación de cobre como se indica en el punto 9.3.

### 9.3 Determinación de cobre en la muestra

9.3.1 Tomar exactamente 50.0 cm<sup>3</sup> o una porción adecuada de la muestra digerida que contenga de 0.004 a 0.2 mg de cobre y transferirla a un embudo de separación de 125 cm<sup>3</sup>. Si ha sido usado un volumen pequeño, diluir 50 cm<sup>3</sup> con agua.

9.3.2 Agregar 5 cm<sup>3</sup> de solución de clorhidrato de hidroxilamina y 10 cm<sup>3</sup> de solución de citrato de sodio y mezclar bien.

9.3.3 Ajustar el pH de la muestra aproximadamente a 4, adicionando incrementos de 1 cm<sup>3</sup> de hidróxido de amonio 5 N (ver 11.3).

9.3.4 Agregar 10 cm<sup>3</sup> del reactivo de neocuproína y 10 cm<sup>3</sup> de cloroformo y agitar vigorosamente durante 30 segundos para extraer el complejo cobre-neocuproína en el cloroformo.

9.3.5 Dejar que la mezcla se separe en dos capas

Transferir la capa de cloroformo a un matraz volumétrico de 25 cm<sup>3</sup> (ver 11.4).

9.3.6 Repetir la extracción de la capa acuosa con una porción adicional de 10 cm<sup>3</sup> de cloroformo y agregar este extracto al anterior.

9.3.7 Diluir los extractos combinados con alcohol metílico y aforar a 25 cm<sup>3</sup>. Tapar y mezclar cuidadosamente.

9.3.8 Transferir una porción apropiada de la solución orgánica final a la celda de absorción.

9.3.9 Leer en el espectrofotómetro la absorbancia de esta solución a una longitud de onda de 457 nm usando el blanco como líquido de referencia.

## 10 CALCULOS

La concentración de cobre se calcula por las siguientes fórmulas:

a) Cálculo Directo.

$$\text{mg/l de cobre} = \frac{A \times 1000}{B}$$

b) Cálculo por Dilución

$$\text{mg/l de cobre} = \frac{A \times 1000}{B} \times \frac{100}{C}$$

Donde

A= contenido de cobre en mg leído en la curva de calibración;

B = volumen en cm<sup>3</sup> de muestra original;

C = volumen en cm<sup>3</sup> de la alícuota,

## 11 APENDICE

11.1 Este calentamiento debe realizarse bajo campana de extracción debido a que los vapores que se producen son tóxicos.

11.2 Se debe tener la seguridad de la eliminación total de ácido nítrico, según se indique por la claridad de la solución y por la ausencia de humos rojizos en el matraz.

11.3 Si se ha efectuado la digestión en ácido sulfúrico, se necesitan 5 cm<sup>3</sup> de hidróxido de amonio 5 N por cada 10 cm<sup>3</sup> de muestra.

11.4 Se debe tener cuidado que los extractos no arrastren gotas de agua.

## 12 BIBLIOGRAFIA

12.1 Standar Methods for the examination of Water and Wastewater 14 th Edition. APHA, AWWA, WPCF. American Public Health Association. Washington, D.C. 1976.

12.2 Sandell E. B. Colorimetric Determination of traces of Metals. Interscience Publishers, New York (3er. ed., 1959). Chap 23.

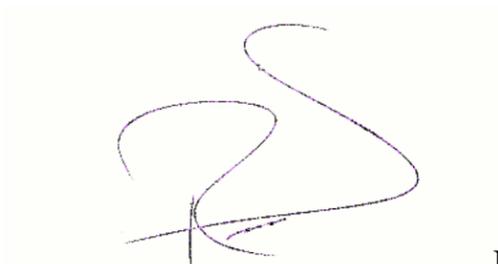
13 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

No concuerda con ninguna norma internacional por no existir sobre el tema.

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS  
COMERCIALES DE LA SECRETARIA



DE COMERCIO  
LIC. HECTOR VICENTE BAYARDO MORENO.



EL DIRECTOR DE NORMAS  
DR. ROMAN SERRA CASTAÑOS

Fecha de Aprobación y Publicación: Marzo 10, 1982