

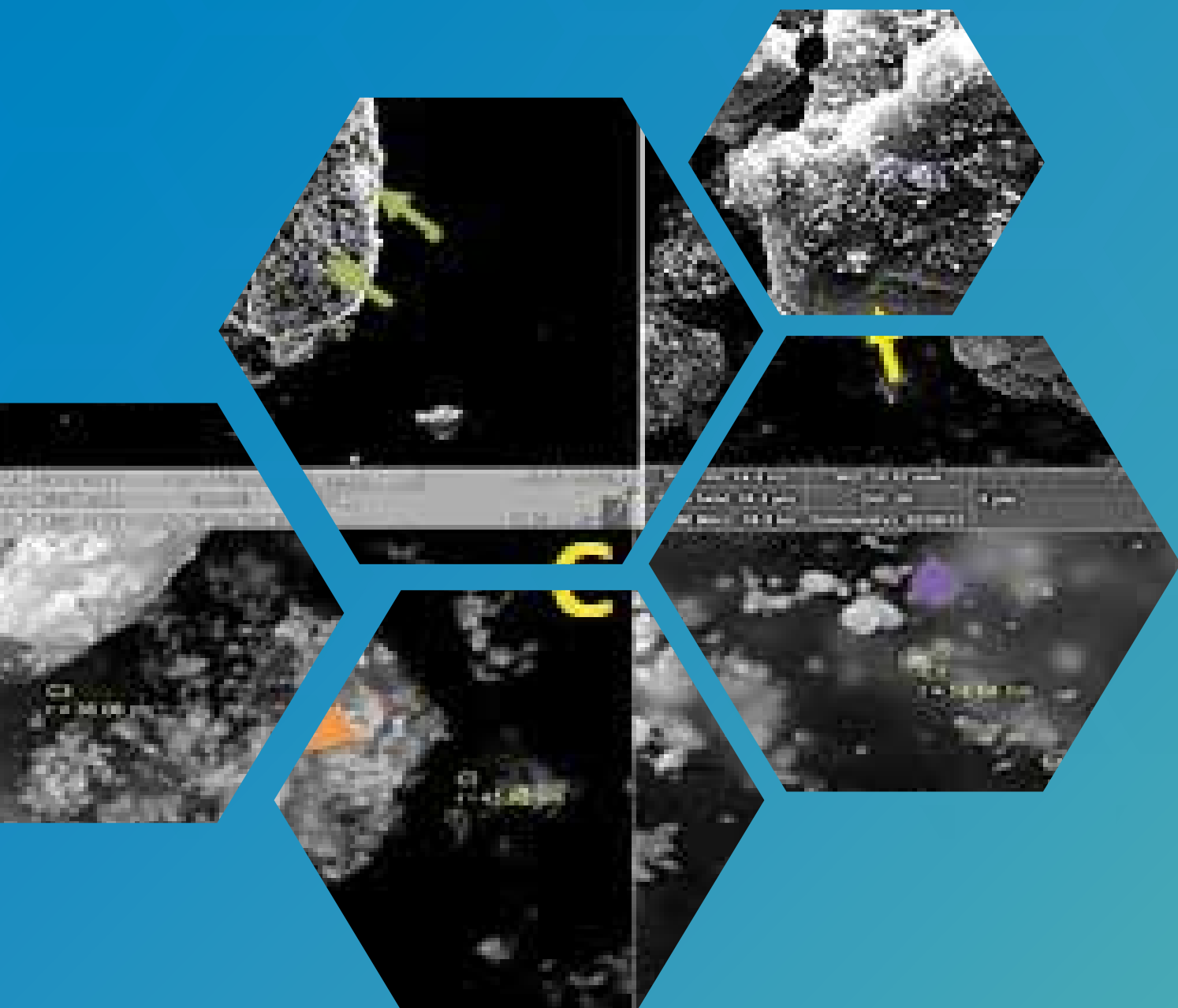
3

R C Q

VOL. 52 NÚM. 3 - 2023

# Revista Colombiana de Química

ISSN: 2357-3791





VOL. 52 NÚM. 3 - 2023

# Revista Colombiana de Química

Revista cuatrimestral del Departamento de Química  
Facultad de Ciencias

© Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

ISSN En línea: 2357-3791

DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim>

Correo electrónico: [rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)

## Indexada

Publindex - Índice Bibliográfico Nacional (categoría C)

Scielo Colombia

Scopus Q4 (SJR/2023: 0,16)

Redalyc

Chemical Abstracts Service (CAS) Source Index

Latindex

Directory of Open Access Journals (DOAJ)

BIBLAT

## Consulta Open Access

Todos los ejemplares de la Revista Colombiana de Química se encuentran disponibles en estos sitios web:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/index>

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0120-2804&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=en&nrm=iso)

<http://www.redalyc.org/revista.oa?id=3090>

El contenido se encuentra bajo una licencia de Creative Commons tipo Atribución Internacional (CC BY 4.0) que permite el acceso abierto con cualquier fin, siempre que se de el reconocimiento apropiado

## Director de la revista

Carlos Eduardo Narváz Cuenca, Ph. D  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

## Asistentes editoriales

Angie Carolina Guevara  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá  
Carolina Gómez Pulido  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

## Comité editorial y científico

Ajjamada Kushalappa

McGill University, Canadá

Sonia Moreno Guaquetá

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Hector Fabio Zuluaga Corrales

Universidad del Valle, Colombia

Ljubisa R. Radovic

Pensilvania State University, Estados Unidos

Gustavo Adolfo González Aguilar

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, México

Juscelino Tovar

Lund University, Suecia

Leonardo Castellanos Hernández

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Francisco Carrasco Marín

Universidad de Granada, España

Pedro Joseph-Nathan

Instituto Politécnico Nacional, México

Cristian Ochoa Puentes

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Cristian Blanco Tirado

Universidad Industrial de Santander, Colombia

Augusto Rivera Umaña

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

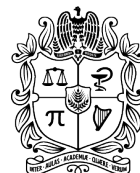
## Preparación editorial

Corrección de estilo:

Angie Carolina Guevara y Carolina Gómez Pulido

Diseño y maquetación:

Carolina Gómez Pulido



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA

### Química Orgánica y Bioquímica

#### Materiales conductores eléctricos compuestos de poliestireno reciclado y alótropos amorfos de carbono

3-10

Electrically conducting materials based on recycled polystyrene and amorphous carbon allotropes

Materiais condutores elétricos baseados em poliestireno reciclado e alótropos de carbono amorfo

*Alma Rosa Torres-Rodríguez, Francisco José González-González, Adali Oliva Castañeda-Facio y Aidé Sáenz-Galindo*

### Química Aplicada y Analítica

#### Biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de queñua y su aplicación antibacteriana en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del departamento de Cusco, Perú

11-20

Biosynthesis of silver nanoparticles with queñua extract and its antibacterial application in the influent of the Wastewater Treatment Plant of the department of Cusco, Peru

Biossíntese de nanopartículas de prata com extrato de queñua e sua aplicação antibacteriana no afluente da Estação de Tratamento de Águas Residuais do departamento de Cusco, Peru

*Natally Gutierrez-Sierra, Nestor J. Mesco-Aquise, Amanda R. Maldonado-Farfán y Sonia Aragón-Mamani*

#### Preparación de muestras sólidas para el análisis por fluorescencia de rayos X: una revisión

21-40

Solid sample preparation for X-ray fluorescence analysis: a review

Preparação de amostras sólidas para análise de fluorescência de raios X: uma revisão

*Linda Alejandra Pérez Díaz, Juliana Serna Saiz y Henry Torres Quezada*

#### Nanopartículas de iones de cobre para el control de *Fusarium sp.* en piña para exportación

41-50

Copper ion nanoparticles against *Fusarium sp.* in pineapple for export

Nanopartículas de íons de Cobre para o controle de *Fusarium sp.* em abacaxi para exportação

*Hugo Romero, Edison Jaramillo, Joseph Medina, María J. Farias y Humberto Ayala*

#### Migración específica de N-nitrosaminas en productos elastoméricos

51-58

Specific migration of N-nitrosamines in elastomeric products

Migração específica de N-nitrosaminas em produtos elastoméricos

*Diana Cristina Sinuco León, Diego Alejandro Mora Rojas y Felipe Rico Sarmiento*

### Fisicoquímica y Química Inorgánica

#### Efecto del dopaje con Al, C y Si en nanojaulas de nitrato de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) para mejorar la adsorción de gases tóxicos ambientales: técnica de simulación en un sensor de gas de alto rendimiento

59-70

Effect of Al, C, and Si doping on  $B_5N_{10}$ -nanocages for enhancing environmental toxic gas adsorption: simulation technique in a high-performance gas sensor

Efeito da dopagem Al, C e Si no nanogaiolas de nitrato de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) para melhorar a adsorção de gases tóxicos ambientais: técnica de simulação em um sensor de gás de alto desempenho

*Fatemeh Mollaamin*



## Materiales conductores eléctricos compuestos de poliestireno reciclado y alótropos amorfos de carbono

### Resumen

La presente investigación tuvo como finalidad diseñar materiales compuestos utilizando poliestireno reciclado (PSR) e incorporando carbón activado (CA), carbón reciclado (CR) y coque de carbón (CQ) en concentraciones de 0,5 a 3% en peso. Para la obtención de los materiales compuestos utilizamos el método de mezclado en solución asistido por energía de ultrasonido. De acuerdo a los resultados de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), los alótropos amorfos no alteran la estructura del PSR, además el análisis termogravimétrico demostró que estos le brindan mayor estabilidad térmica. En cuanto al ángulo de contacto, se observó una tendencia hacia la hidrofobicidad al incorporar los alótropos: se obtuvieron valores menores de  $82^\circ$  respecto al PSR con  $126,2^\circ$ . El material compuesto con mejor conductividad fue el PS/CA al 3% con un valor de  $6,85 \times 10^{-4}$ , lo que indica una buena transferencia de carga del CA a la matriz polimérica. Los materiales compuestos obtenidos a partir de PSR le brindan propiedades mejoradas a este material, como la conductividad eléctrica, por lo tanto, el material puede ser utilizado para dispositivos de almacenamientos, conectores eléctricos, entre otros usos que le dan una nueva vida útil al material y disminuyen su impacto contaminante.

**Palabras clave:** poliestireno; coque de carbón; carbón activado; carbón reciclado; material compuesto.

## Electrically conducting materials based on recycled polystyrene and amorphous carbon allotropes

### Abstract

The purpose of this research was to design composite materials using recycled polystyrene (PSR) and incorporating activated carbon (CA), recycled carbon (CR) and carbon coke (CQ) in concentrations of 0.5 to 3% by weight. To obtain the composite materials, we used the solution mixing method assisted by ultrasound energy. According to the results of Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), the amorphous allotropes do not alter the structure of the PSR, and the thermogravimetric analysis showed that they provide greater thermal stability. As for the contact angle, a tendency towards hydrophilicity was observed when incorporating the allotropes: values lower than  $82^\circ$  were obtained with respect to the PSR with  $126,2^\circ$ . The composite material with the best conductivity was the PS/CA at 3% with a value of  $6.85 \times 10^{-4}$ , which indicates a good charge transfer from the CA to the polymeric matrix. The composite materials obtained from PSR provide improved properties to this material, such as electrical conductivity, therefore, the material can be used for storage devices, electrical connectors, among other uses that give a new useful life to the material and decrease its polluting impact.

**Keywords:** polystyrene; carbon coke; activated carbon; recycled carbon; composite material.

## Materiais condutores elétricos baseados em poliestireno reciclado e alótropos de carbono amorfo

### Resumo

O objetivo desta pesquisa foi projetar materiais compostos usando poliestireno reciclado (PSR) e incorporando carvão ativado (CA), carvão reciclado (CR) e coque de carvão (CQ) em concentrações de 0,5 a 3% em peso. Para obter os materiais compostos, usamos o método de mistura de solução assistida por energia de ultrassom. De acordo com os resultados da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), os alótropos amorfos não alteram a estrutura do PSR, e a análise termogravimétrica mostrou que eles proporcionam maior estabilidade térmica. Quanto ao ângulo de contato, foi observada uma tendência à hidrofobicidade ao incorporar os alótropos: foram obtidos valores inferiores a  $82^\circ$  em relação ao PSR com  $126,2^\circ$ . O material composto com a melhor condutividade foi o PS/CA a 3% com um valor de  $6,85 \times 10^{-4}$ , o que indica uma boa transferência de carga do CA para a matriz polimérica. Os materiais compostos obtidos a partir do PSR proporcionam propriedades aprimoradas a esse material, como a condutividade elétrica, portanto, o material pode ser usado para dispositivos de armazenamento, conectores elétricos, entre outros usos que dão uma nova vida útil ao material e diminuem seu impacto poluente.

**Palavras-chave:** poliestireno; coque de carvão; carvão ativado; carvão reciclado; material composto.



## Introducción

La contaminación por residuos plásticos es un problema global al que nos enfrentamos hoy en día. En 2019, la producción de plástico alcanzó los 9,1 millones de toneladas [1]. La principal desventaja para el medio ambiente ocasionada por los plásticos se debe a su larga vida útil, que oscila entre cientos y miles de años [2, 3]. Entre los plásticos que más contaminan encontramos los plásticos de un solo uso o también llamados plásticos desechables, que deben su nombre a que tras su primer uso se tiran a la basura. En 2021 se realizó una investigación sobre el impacto generado por los plásticos de un solo uso tras el paso de la pandemia de COVID-19, donde se destacó que tan solo en China su uso diario aumentó de 40 a 240 toneladas durante ese período [3]. Cabe señalar que el impacto contaminante provocado por la cantidad de residuos generados tras la pandemia perdurará por muchos años. Por otro lado, del total de plásticos producidos anualmente, 10 millones de toneladas métricas terminan en ecosistemas marinos, lo que representa el 4,7% del total de residuos plásticos generados en el mundo [4, 5], lo cual provoca no solo contaminación, sino también que animales marinos se enreden en residuos plásticos o que los ingieran y se asfixien [6].

Hay dos categorías principales dentro de los polímeros: naturales y sintéticos. A su vez, existen dos grupos de polímeros: los termoplásticos, que son un grupo que se pueden fundir y enfriar repetidamente sin sufrir cambios estructurales, por lo que pueden ser reciclados y reprocesados; y los termoestables, los cuales son polímeros que una vez calentados sufren cambios químicos creando una red tridimensional, evitando que se vuelvan a deformar una vez enfriados, por lo que no pueden volver a calentarse ni deformarse. La **figura 1** muestra los principales tipos de polímeros utilizados en la producción de plásticos de un solo uso, así como ejemplos de su aplicación [7]:



**Figura 1.** Principales polímeros utilizados para la fabricación de plásticos de un solo uso. Adaptado de [7].

Con el tiempo, en lugar de desaparecer, los plásticos se dividen en fragmentos más pequeños llamados microplásticos o nanoplásticos, que tienen un tamaño de partícula inferior a 5 nm. La contaminación por microplásticos está muy extendida y provoca grandes impactos ecológicos en todo el mundo. Como han demostrado numerosos estudios, los microplásticos están presentes en todos los océanos y continentes del planeta, ya que continuamente se van fragmentando y distribuyendo, y logran llegar a zonas remotas como los glaciares [8, 9].

Una gran cantidad de plásticos de un solo uso son elaborados a base de poliestireno (PS), el cual ha resultado una excelente opción para el uso diario por su estructura, rigidez, ligereza y, sobre todo, su bajo costo de producción [10]. Sin embargo, el PS es un tipo de plástico que genera una contaminación ambiental considerable porque, a diferencia de los monómeros y oligómeros de estireno, el PS no se descompone debido a su alto peso molecular y estabilidad estructural [11].

Con el fin de mitigar su impacto contaminante, el PS se ha utilizado

como matriz polimérica para obtener nuevos materiales compuestos. Los materiales compuestos son materiales multifásicos que se obtienen de forma artificial; están formados por dos fases, una llamada matriz o fase continua, y la otra llamada fase dispersa o discontinua. Ambas fases deben ser químicamente diferentes y estar separadas por una interfaz para proporcionar al material propiedades que normalmente no tendría [12–14]. La obtención de nuevos materiales ha sido beneficiosa, ya que al mezclar polímeros con refuerzos u otros polímeros, se han obtenido materiales compuestos con propiedades mejoradas respecto a las propiedades de los constituyentes primarios, lo que permite reutilizar los polímeros.

La fase discontinua en ocasiones está formada por partículas a base de carbono, ya que tienen excelentes propiedades físicas y químicas, entre ellas una alta densidad, la capacidad de transmitir el calor, estabilidad térmica, capacidad de conducción, dureza, flexibilidad, resistencia química, entre otras. Si la fase discontinua tiene un tamaño nanométrico, el material se denomina nanocompuesto [15, 16]. Entre las partículas a base de carbono que se han utilizado como fase discontinua se encuentran los alótropos de carbono, que se clasifican en alótropos cristalinos y amorfos. Entre los alótropos cristalinos más populares encontramos el grafeno y los nanotubos, que representan la forma híbrida  $sp^2$  del carbono; también podemos encontrar dentro de este grupo los fullerenos, el grafito y el diamante [17]. Por otro lado, dentro de los alótropos amorfos encontramos el coque (CQ), el carbón mineral (CR) y el negro de humo, además de formas alternativas como el carbón activado (CA), que es una forma sólida de carbono que tiene una microestructura no gráfica desordenada y una estructura de superficie abierta [18].

El CA se consigue realizando una activación física o química. Si es por medios físicos, el CR es sometido a un tratamiento térmico a altas temperaturas, lo que le permite incrementar sus propiedades fundamentales como mayor porosidad, área superficial y alta capacidad de adsorción [19–21]. En cambio, si se realiza una activación química, el factor principal será el grado de impregnación mediante un reactivo (o sustancia química); es decir, a mayor reactivo, mayor será el pH superficial y, por tanto, la pérdida de rendimiento en la materia prima de origen para su obtención [22]. Entre sus usos, el CA se ha utilizado para la eliminación de agentes contaminantes en agua, así como soporte de nuevos catalizadores de mayor superficie y menos costosos, los cuales ya se encuentran actualmente en el mercado [20, 23].

Para reducir el impacto ambiental y mejorar la dispersión en la obtención de materiales compuestos, se han utilizado tecnologías alternativas, entre las que encontramos la tecnología de ultrasonidos. Esta no altera las características y propiedades de los productos. Además, se considera una tecnología sostenible y ecológica, tiene bajo costo, corto tiempo de tratamiento, mayor rendimiento, genera menos solventes tóxicos y reduce los riesgos químicos [24–26].

El propósito de esta investigación es desarrollar materiales compuestos poliméricos a base de poliestireno reciclado (PSR) y alótropos de carbono amorfos como CA, CR y CQ para aplicaciones futuras. El CR y el CQ, al igual que el PS, fueron reciclados, lo cual minimiza los costos de los materiales compuestos y fomenta el reciclaje. Además, el proceso fue asistido por tecnología de ultrasonido, con el objetivo de mejorar las propiedades conductoras de los materiales para que puedan ser utilizados a futuro en, por ejemplo, el desarrollo de fibras a base de PS decoradas con CA para la absorción de tintes orgánicos contaminantes como el violeta cristal, el cual está presente en aguas residuales [27], o como espumas a base de PS/nanofibras de carbono, utilizadas como aislantes térmicos para la gestión del calor en diversas industrias, es decir, que permitan transferir el calor de un lugar a otro, lo cual ayuda a disminuir la huella de carbono y promueve el desarrollo sostenible [28, 29].



## Materiales y métodos

### Materiales

Para el desarrollo experimental se utilizó carbón activado (CA) grado reactivo marca Analytika (P.A. 12,01, lote C04FAK2201, No. CAS 7440-44-0 UN 1362), carbón reciclado (CR) y coque de carbón (CQ). También se usó acetato de etilo marca Jalmek como solvente y se usó PS recolectado de productos desechados dentro de la Universidad Autónoma de Coahuila como matriz polimérica.

### Preparación de CR y CQ

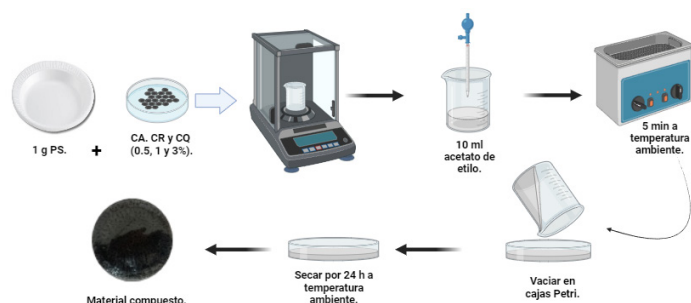
Para incorporar el CR y el CQ, que eran materiales reciclados, se trituraron en un mortero de ágata. En el caso del CA, no requirió ninguna preparación ya que se adquirió comercialmente.

### Recolección, limpieza y desinfección de poliestireno reciclado (PSR)

Se recogieron plásticos de un solo uso a base de PS a partir de productos desechados. Posteriormente, estos fueron lavados con agua corriente y jabón. Para el proceso de desinfección se utilizó una solución de hipoclorito de sodio y agua en proporción 2:100 y los materiales se sumergieron durante 1 min. Finalmente, el PSR se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 h [30].

### Diseño y producción de materiales compuestos alótropos de PS/carbono

Como se muestra gráficamente en la **figura 2**, para la preparación de los materiales se pesó 1 g de PSR al que se le agregaron CA, CR y CQ en concentraciones de 0,5, 1 y 3% en peso (las muestras se pesaron por triplicado). Posteriormente, las muestras se diluyeron con acetato de etilo y luego se colocaron en un baño de ultrasonido Branson modelo 5510 durante 5 min a temperatura ambiente. Además, a modo de comparación, se prepararon muestras de PS blanco sin la adición de ninguno de los alótropos de carbono.



**Figura 2.** Preparación de materiales compuestos basados en PSR y alótropos de carbono.

### Caracterización de alótropos y materiales poliméricos

#### Tamaño de partícula

La medición de tamaño de partícula se realizó a los alótropos de carbono amorfos utilizando el instrumento de dispersión de luz dinámica Litesizer DLS 500 marca Anton Paar, por lo que se pesaron 50 mg de muestra, posteriormente se adicionaron 5 mL de solución de agua estéril. La muestra se agitó en vórtex y se transfirió a una celda Univette, la cual se colocó en el equipo previamente configurado para la medición de tamaño de partícula.

#### Análisis espectroscópico por transformada de Fourier (FTIR)

La caracterización se realizó mediante espectroscopia infrarroja utilizando un equipo GX-Perkin-Elmer, con un *pellet* de KBr (para CA, CR y CQ, que son polvos) y Reflexión Total Atenuada (ATR) con un accesorio de punta de diamante (para películas). Las muestras fueron procesadas en un rango de 450 a 580  $\text{cm}^{-1}$ , con resoluciones de 2  $\text{cm}^{-1}$  y con 32 escaneos.

#### Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico o TGA se realizó utilizando un equipo Pyris-Perkin-Elmer con una velocidad de calentamiento de 20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , un rango de temperatura de 30 a 800  $^{\circ}\text{C}$  y bajo una atmósfera de nitrógeno.

#### Medición del ángulo de contacto

Se realizó la medición del ángulo de contacto, para lo cual, en el caso de CA, CR y CQ se colocaron sobre cinta doble cara y se compactaron con ayuda de unas pinzas. Para la medición se utilizó un goniómetro Drop Shape Analyzer marca KRUSS, con el cual se añadió una gota de agua de 2  $\mu\text{L}$  a los alótropos compactados, con lo que se identificó y midió el ángulo entre la superficie y la gota. En el caso de los materiales diseñados se cortaron muestras de 1 cm y se siguió el mismo procedimiento que para los alótropos compactados. El software del equipo permite la detección de la gota formada y el ángulo formado.

#### Conductividad eléctrica

Para realizar la medición de la resistividad eléctrica de los materiales compuestos se utilizó un multímetro convencional AstroAl modelo DM6000AR de dos sondas, para lo cual se diseñaron películas circulares con un diámetro de 10 cm. Para la medición se colocaron las dos puntas del multímetro sobre las películas en diferentes secciones de la muestra hasta obtener un total de 5 lecturas. Para medir la resistividad del PS puro se utilizó el método ASTM D257-14(2021) midiendo con un electrómetro High Resistance Meter 6517B marca Keithley, para lo cual se realizaron películas de 6  $\times$  6 cm del nanocompuesto para cubrir el área de contacto de los electrodos del electrómetro. A partir de los datos obtenidos se utilizó la Ec. (1), donde  $\rho$  es el valor de resistividad ( $\Omega\cdot\text{cm}$ ) y  $\sigma$  es la conductividad eléctrica (S/cm):

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (1)$$

## Resultados y discusión

### Tamaño de partícula

En la **figura 3** se muestran las gráficas obtenidas de los valores promedio medidos de los tamaños de partícula de los alótropos amorfos de carbono para CA, CR y CQ. En el caso de CA se obtuvieron valores entre 443 y 1633 nm, siendo el primero el más frecuente con un porcentaje del 46,36%. Para el CR el mayor tamaño de partícula se centró en un 80,63% en 772,01 nm y para CQ los valores estuvieron entre 919 y 1252 nm con una frecuencia 46,04%, con un valor medio de 1075 nm. Para que un material sea considerado dentro de la escala nano se debe encontrar dentro de valores de 1 a 100 nm [31], de lo contrario son considerados como materiales, de este modo, al analizar los resultados de los tamaños de partícula obtenidos logramos observar que todos están muy por encima del tamaño máximo para ser considerados como nanoestructuras.

### Espectroscopia FTIR (KBr)

La **figura 4** muestra el grupo de espectros de los alótropos de carbono utilizados en la investigación (CA, CR y CQ). El CA no mostró ninguna señal característica de grupos funcionales, por lo que se puede deducir que no está modificado sino estructuralmente compactado. Por el contrario, el CR y el CQ, que son materiales reciclados, mostraron bandas en los espectros. En el CR se observaron bandas a 3697  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a las vibraciones de estiramiento O-H, las cuales podrían corresponder a la presencia de grupos hidroxilo, carboxilo o agua que ha sido quimisorbida. A 1606  $\text{cm}^{-1}$  se observa la banda de estiramiento de C=O, lo que se atribuye a la presencia de grupos como lactonas o quinonas. A 1423  $\text{cm}^{-1}$  se observa el estiramiento de grupos C-H, y a 1018  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye al estiramiento

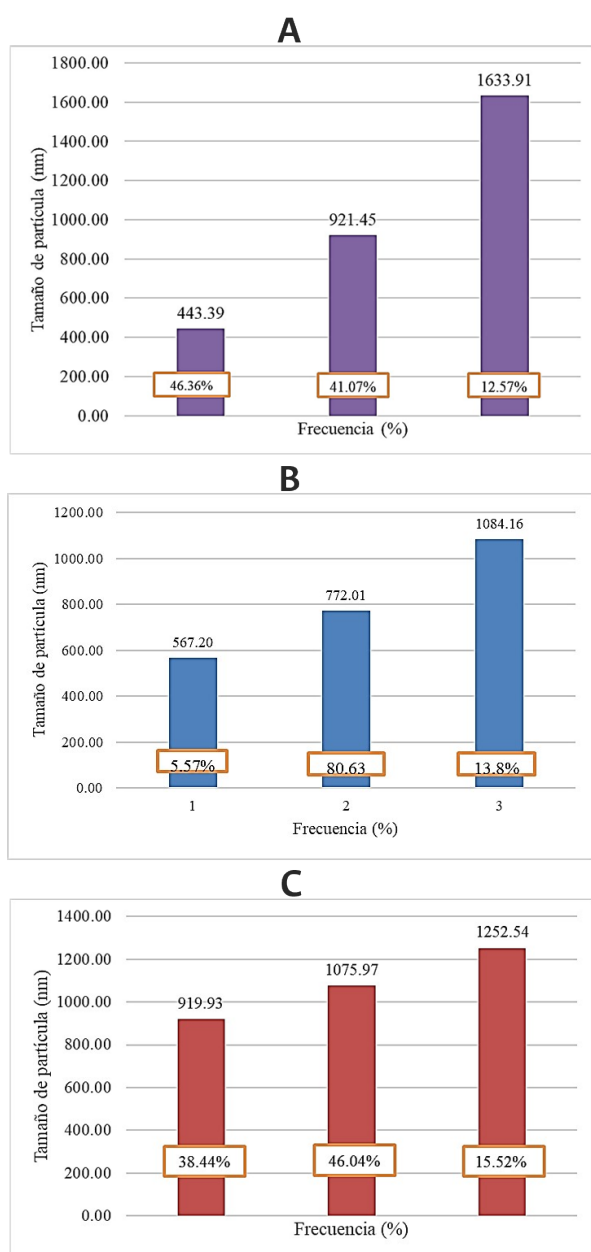


Figura 3. Gráficos tamaños de partícula A: CA, B: CR y C: CQ.

de vibraciones C–O correspondientes a ácidos carboxílicos, fenoles o éteres.

Se han hecho investigaciones recientes en donde se han mostrado resultados similares al caracterizar el CR con óxidos metálicos. H. Niu *et al.* obtuvieron bandas a  $3430\text{ cm}^{-1}$  por la vibración de estiramiento de O–H, a  $1628\text{ cm}^{-1}$ , causadas por la presencia de C=O, debido a la vibración de estiramiento de diferentes grupos funcionales como las quinonas, y a  $1400\text{ cm}^{-1}$  debido a C–H estirándose en  $-\text{CH}_2-$  o  $-\text{CH}_3$ . Además, obtuvieron bandas a  $1089\text{ cm}^{-1}$  de la vibración de estiramiento C–O [25].

Por otro lado, el CQ presentó bandas a  $1590\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a las vibraciones de estiramiento de C=O, y a  $1423\text{ cm}^{-1}$  debido a las vibraciones de estiramiento de C–H. De acuerdo con algunas investigaciones, al analizar carbón elemental, CA y grafito se han obtenido resultados similares en  $1384\text{ cm}^{-1}$  vibraciones de tensión simétricas de  $\text{CH}_3$ . Así como en  $1630\text{ cm}^{-1}$  la presencia de picos correspondientes a anillos de benceno, razón por la cual se incluyen estructuras aromáticas en el compuesto [32].

Por otro lado, en la figura 5 se muestra el espectro del PS blanco, con el fin de explicar las interacciones entre alótropos con el PSR en la obtención de los materiales compuestos. De  $3200$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$  se identifican tres bandas que corresponden al estiramiento de los

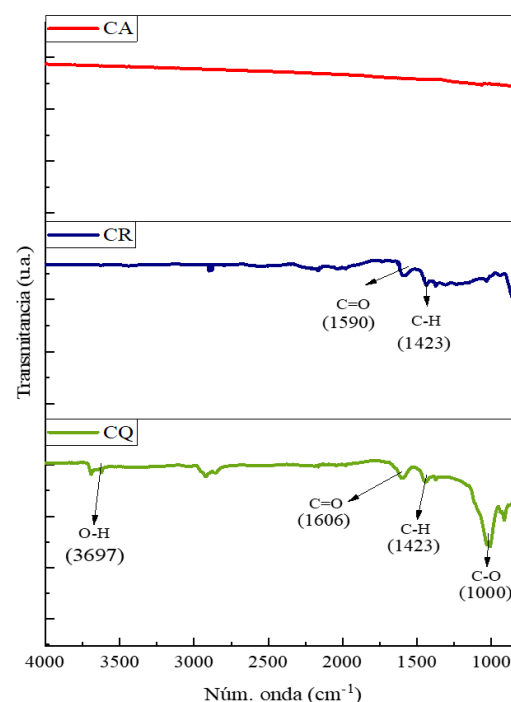


Figura 4. Espectro FTIR (KBr) alótropos amorfos de carbono.

enlaces  $-\text{CH}_2-$ , entre  $1800$  y  $1400\text{ cm}^{-1}$  las bandas corresponden a los enlaces C=C y C–C debido a las vibraciones de estiramiento, y entre  $1000$  y  $650\text{ cm}^{-1}$  las bandas en esa región corresponden a la tensión del anillo aromático. En 2015, se caracterizó por FTIR PS expandido reciclado, el cual mostro bandas similares entre  $3100$  y  $3000\text{ cm}^{-1}$  y entre  $1600$  y  $1450\text{ cm}^{-1}$  correspondientes al anillo aromático, mientras que entre  $760$  y  $700\text{ cm}^{-1}$  se refieren a la región misma del PS en donde se encuentran las vibraciones del anillo monosustituido [33].

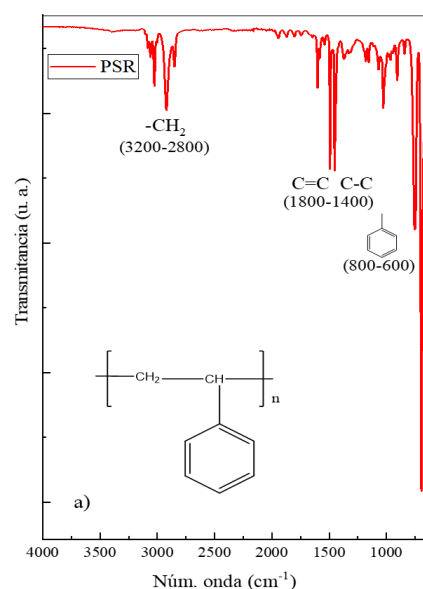


Figura 5. Espectro FTIR (ATR) de PSR.

La figura 6 muestra los grupos de espectros FTIR (ATR) de los materiales compuestos obtenidos de PSR con CA, CR y CQ en concentraciones de 0,5, 1 y 3% en peso, donde no hay presencia de desplazamiento de las bandas debido a la adición de los alótropos de carbono. Se han desarrollado nanomateriales basados en PS con óxido de grafito, donde las bandas del espectro FTIR que se obtuvieron al caracterizar en  $3026\text{ cm}^{-1}$ ,  $2924\text{ cm}^{-1}$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento simétrico y asimétrico del anillo de benceno. La vibración, así como la posición en  $1492\text{ cm}^{-1}$  se atribuyó al estiramiento C=C y a la posición máxima de la vibración  $\text{CH}=\text{CH}$  en el anillo de benceno. Finalmente, se observaron vibraciones de deformación fuera del plano  $=\text{CH}$  en anillos de benceno a  $757$  y  $700\text{ cm}^{-1}$  [34].

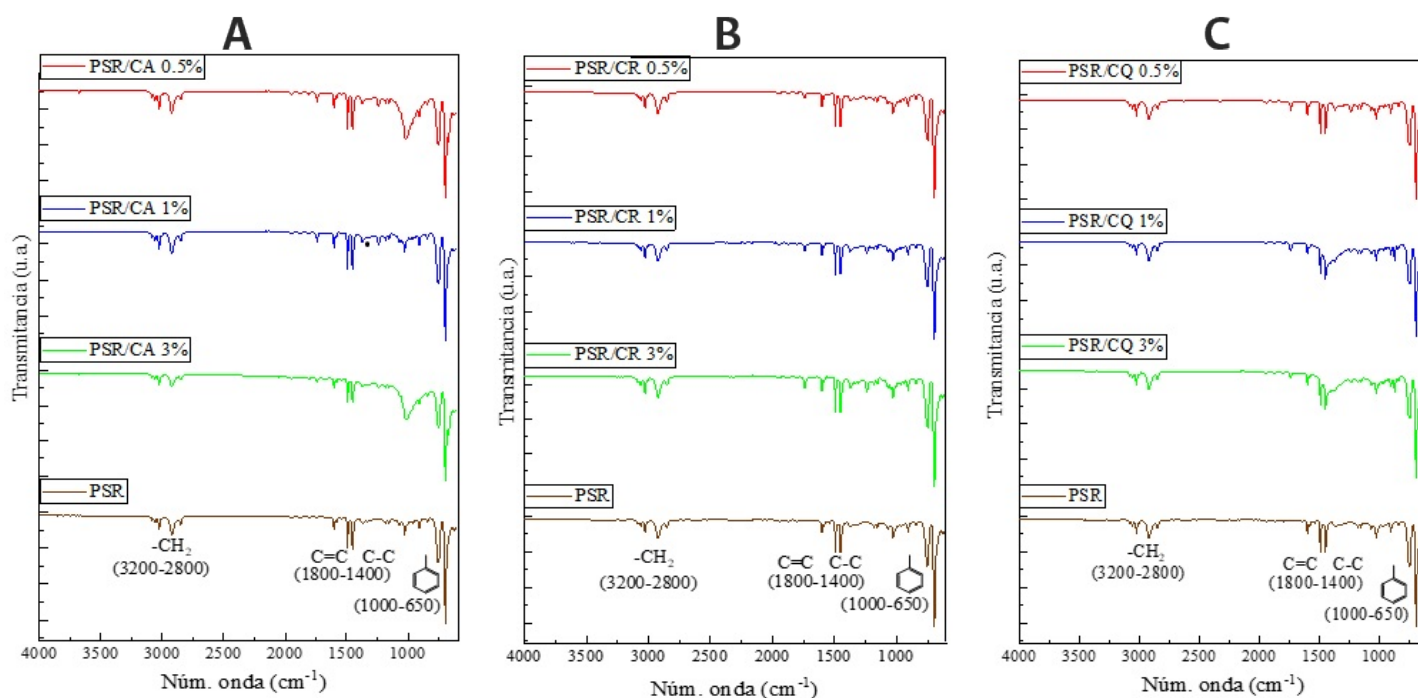


Figura 6. Espectros FTIR (ATR) de A: PSR/CA, B: PSR/CR y C: PSR/CQ.

### Análisis termogravimétrico (TGA)

La figura 7 muestra los termogramas de PS, alótipos de carbono (CA, CR y CQ) y materiales compuestos, que indican la descomposición de cada uno de estos con respecto a la temperatura. Se puede observar que los alótipos presentaron dos pérdidas de masa. El primero entre 145 y 335 °C, el cual corresponde a la pérdida de humedad en porcentajes que oscilan entre el 9 y el 13% en peso. Como se ha informado, el carbono tiende a adsorber agua. Por lo tanto, alrededor de los 175 a 200 °C, el material comienza a perder humedad y se da el inicio de su descomposición, lo cual provoca la formación de CO, CO<sub>2</sub> y compuestos volátiles presentes. A partir de los 650 °C la mayor parte del material se ha descompuesto y únicamente queda carbono residual.

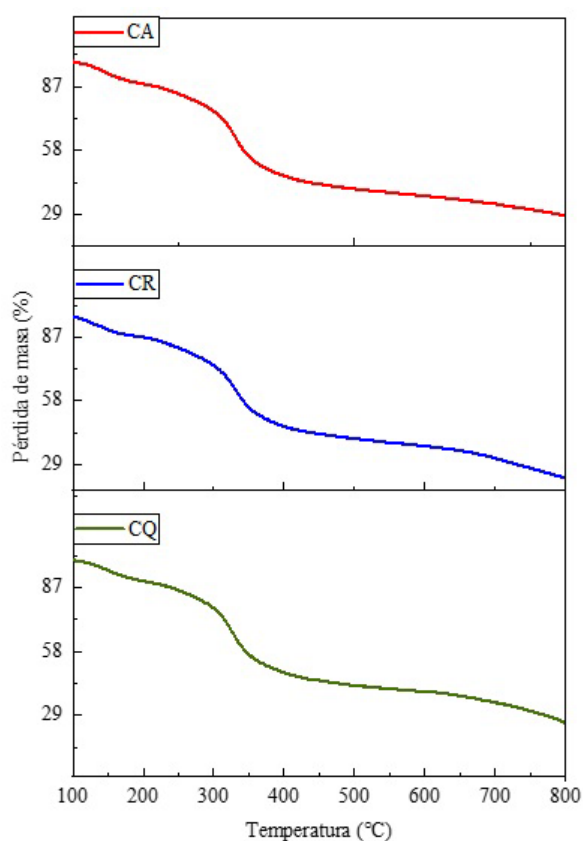


Figura 7. Termogramas de los alótipos de carbono CA, CR y CQ.

Tabla 1. Valores de  $T_{max}$  y pérdida de masa de alótipos de carbono.

Alótropo	$T_{max}$	% Pérdida de masa
CA	145,00	11,99
	335,66	48,52
	668,00	2,82
CR	148,66	12,59
	333,66	51,62
	706,66	9,78
CQ	168,00	12,43
	320,33	49,95
	745,66	12,37

$T_{max}$ : temperatura máxima.

Como se ve en la figura 8A, la estabilidad térmica del PS se observa hasta 556 °C. Por otro lado, según la segunda derivada, se muestra una temperatura máxima de pérdida de masa ( $T_{max}$ ) en 440,66 °C, además de tener una pérdida de masa del 94,23%, con una temperatura inicial de 281,33 °C y una temperatura final de 555,33 °C. Se sabe que el PS presenta degradación en un solo paso con una temperatura entre 400 y 440 °C.

Para los materiales compuestos, como se muestra en la figura 8, en el caso de PSR/CA 1%, la  $T_{max}$  de degradación se alcanzó a 451,66 °C en comparación con PSR/CA 3%, que fue de 456 °C. PSR/CA 1% presentó un porcentaje de pérdida de masa de 91,85% con una  $T_{inicial}$  de 271,33 °C y una  $T_{final}$  de 557 °C lo que lleva a determinar un 8,15% de materia inorgánica. En el caso de PSR/CA 3%, el porcentaje de pérdida de masa fue del 91,27% con una  $T_{inicial}$  de 165,66 °C y una  $T_{final}$  de 575,33 °C, y un 8,73% de materia inorgánica. Se determinó que el aumento de concentración afecta la pérdida de masa del material compuesto. Hasta ahora se han descrito muchos materiales compuestos basados en PSR con alótipos de carbono, como los nanotubos de carbono de paredes múltiples. Sin embargo, todavía hay pocos informes sobre la estabilidad térmica de los alótipos utilizados en la presente investigación. En resumen, se puede observar que a medida que aumentó la concentración de CA, aumentó la estabilidad térmica del material compuesto en comparación con el PS puro, por lo que podemos atribuir que la presencia de alótipos de carbono permite que el PS sea más estable térmicamente a altas temperaturas [35].



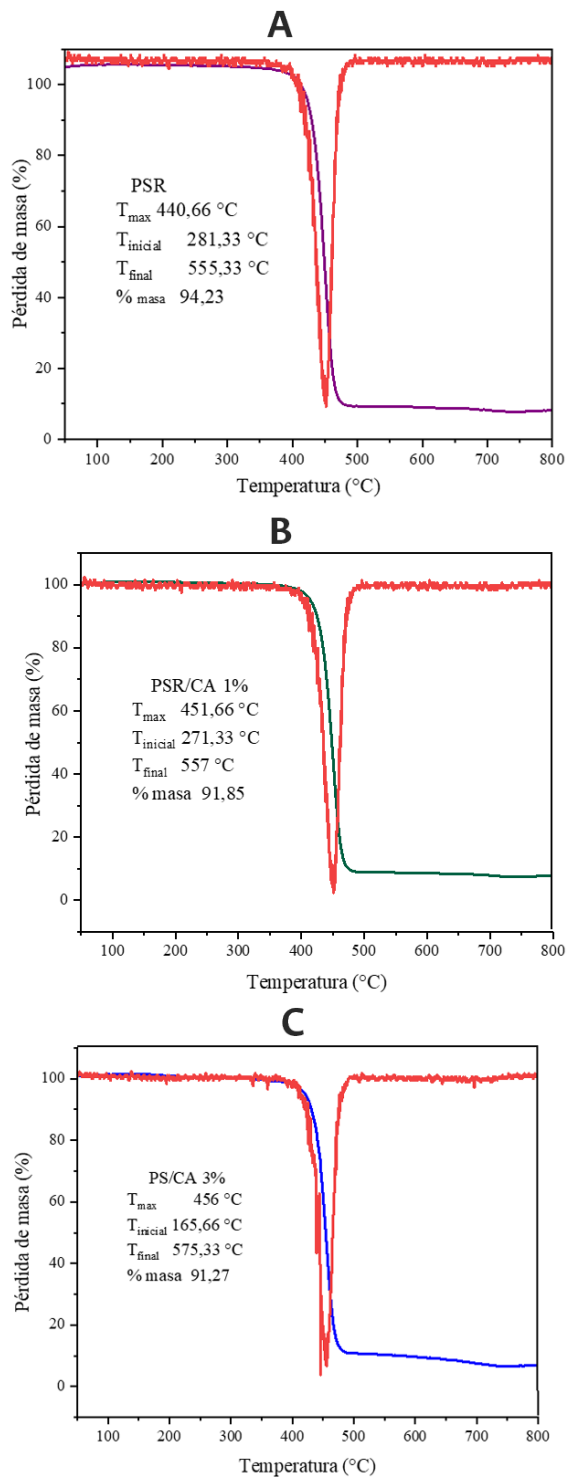


Figura 8. Termogramas A: PSR, B: PSR/CA 1% y C: PSR/CA 3%.

### Ángulo de contacto

Otra técnica de caracterización que se realizó fue la medición del ángulo de contacto. Como se puede observar en la figura 9, el CA muestra un carácter polar, por lo que es altamente hidrófilo con un ángulo de 30°. Sin embargo, el CR y el CQ presentaron ángulos de 103 y 91,8° respectivamente, valores mayores en comparación con CA, cercanos a la hidrofobicidad, que muestran una formación de gotas más definida debido a la repulsión con el agua por el cambio de polaridad. Este cambio posiblemente ocurre porque los alótipos de carbono, al estar dispersos en la matriz polimérica, transfieren la carga, permitiéndole compartir su hidrofiliidad con el PS debido a las interacciones  $\pi$  entre los anillos aromáticos de su estructura y la del PS.

En la figura 9, el ángulo de contacto obtenido para el PSR también muestra un comportamiento hidrofóbico, lo que indica que la superficie no tiene afinidad por el agua, por lo que no existe interacción

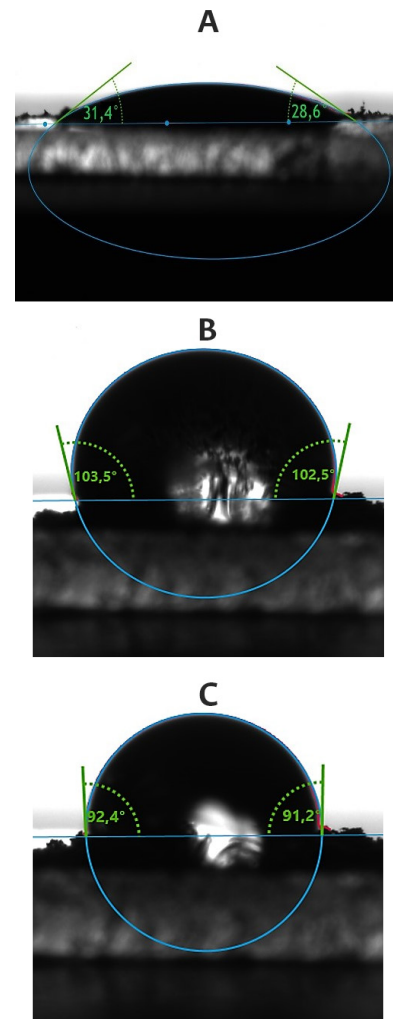


Figura 9. Ángulo de contacto del A: CA, B: CR y C: CQ.

entre ambas fases (líquida y sólida). Se han realizado algunas investigaciones en donde se ha determinado la hidrofobicidad del PS utilizando diferentes disolventes, incluida el agua, donde obtuvieron valores entre 115 y 130°, aproximadamente [36]. En el caso de los materiales compuestos, se obtuvo un valor mínimo de 81° para PSR/CR al 3% y 93,7° para PSR/CQ al 0,5% como valor máximo, comparado con el valor del PSR blanco, que tuvo un ángulo de 126,2° (tabla 2). La disminución del ángulo está estrechamente relacionada a la adición de la fase de refuerzo o discontinua a la matriz polimérica, esto permite un cambio en la polaridad de la superficie y confiriendo un aumento en su humectabilidad [37].

Tabla 2. Ángulo de contacto de los materiales compuestos PSR/alótipos de carbono.

Material compuesto	Concentración (%)		
	0,5	1	3
PSR/CA (°)	82,3	82,3	82,4
PSR/CR (°)	83,2	82,8	81,0
PSR/CQ (°)	93,7	83,2	82,3

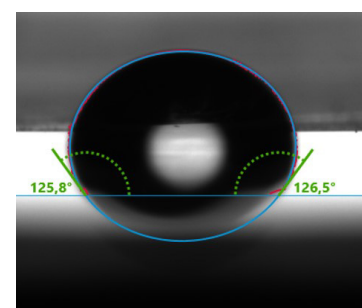


Figura 10. Ángulo de contacto de PSR blanco.

## Conductividad eléctrica

En la **tabla 3** se muestran los valores de conductividad obtenidos a partir de la resistividad de los materiales compuestos poliméricos, PSR y alótropos amorfos de carbono. De las muestras preparadas, sólo las que tenían CA mostraron un valor de resistencia en los límites de detección del instrumento; por lo tanto, sólo para estas muestras se midió la conductividad. Los resultados sugieren que se necesita una concentración de 1% en peso de CA para superar el umbral de percolación y obtener valores de conductividad eléctrica medibles en nuestro límite de detección. Se observó que la mayor conductividad se obtuvo en PSR/CA al 3% con  $6,55 \times 10^{-4}$  S/cm; esto se puede atribuir a la dispersión homogénea gracias al tratamiento con ultrasonido, que permite dotar de propiedades eléctricas al material compuesto. En cambio, en el caso de PSR/CR y PSR/CQ no hubo resultado. Esto puede deberse a la naturaleza de los alótropos, que es más desordenada y menos conductora eléctrica, ya que se espera una dispersión similar del relleno con la matriz polimérica.

Tabla 3. Conductividad de los materiales compuestos, PSR y alótropos de carbono.

Material compuesto	Conductividad S/cm	Conductividad S/cm	Conductividad S/cm
	0,5%	1%	3%
PSR/CA	-	$1,93 \times 10^{-4}$	$6,55 \times 10^{-4}$
PSR/CR	-	-	-
PSR/CQ	-	-	-
PSR	$1,36 \times 10^{-14}$		
CA	$5,25 \times 10^{-5}$		
CR	-		
CQ	-		

(-) Límite fuera de la medición.

Hasta donde sabemos, existe poca información sobre materiales compuestos basados en PSR y CA. Sin embargo, se han desarrollado películas conductoras basadas en PS con óxido de grafeno para obtener un nanomaterial estable con capacidad conductora mejorada. Se dieron cuenta de que al agregar óxido de grafeno, el nanocompuesto logró obtener un valor de conductividad eléctrica de 8,16 S/cm, debido a las fuertes interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre ambos componentes, mejorando esto en un 30% con respecto a la resistividad eléctrica [38]. A pesar de que los valores en la literatura son superiores a nuestros resultados, se espera que la conductividad del CA puro sea menor que la del óxido de grafeno, ya que este presenta enlaces conjugados que promueven la carga entre partículas.

## Conclusiones

Se prepararon con éxito materiales compuestos basados en PSR y alótropos de carbono. Se observó que la incorporación de alótropos de carbono (CA, CR y CQ) al PSR no afecta su estructura, sino que lo hace más estable térmicamente. Por otro lado, al analizar los ángulos de contacto de los materiales compuestos, se determinó que los alótropos favorecen el cambio de la naturaleza hidrófoba a hidrófila del PS, porque cuando estos se dispersan en la matriz polimérica transfieren la carga, permitiendo que el PS tienda a la hidrofiliidad debido a las interacciones  $\pi$  presentes entre los anillos aromáticos de los alótropos.

En cuanto a los resultados de conductividad eléctrica, se logró obtener un material compuesto con capacidad conductora mezclando PSR/CA al 1 y 3% con  $1,93 \times 10^{-4}$  y  $6,55 \times 10^{-4}$  S/cm, respectivamente. Estos materiales podrían utilizarse en futuros diseños que actualmente se encuentran en desarrollo, por ejemplo, se han diseñado fibras de PS decoradas con CA para la adsorción de tintes orgánicos contaminantes que se encuentran en aguas residuales, también se han desarrollado espumas PS/nanofibras de carbono como aislante térmico ahorro energético en diversas industrias.

Por otro lado, el reutilizar plásticos de un solo uso a partir de PS nos permite plantear una alternativa sostenible para ayudar a la reducir de la contaminación generada por este tipo de plástico, que hoy en día es un tipo de agente contaminante que se incrementó a partir de la pandemia de COVID-19. Además, si para desarrollar los materiales compuestos se utilizan tecnologías alternativas como el ultrasonido, se generan aún más beneficios a nivel medioambiental, lo que favorece los principios de la química verde, así como los objetivos establecidos por la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Autónoma de Coahuila, a la Facultad de Ciencias Químicas, a la Maestría en Ciencia y Tecnología Química, y también agradecemos la beca número 816345 otorgada por el CONAHCYT para el desarrollo de esta investigación, así como el apoyo brindado por el CONAHCYT a través del proyecto SEP-CONAHCYT Ciencias Básicas 2017-2018 CB2017-2018 A1-S-44977.

## Referencias

- [1] Organisation for Economic Cooperation and Development, "Global Plastics Outlook", OECD iLibrary, 2023. [En línea]. Disponible en: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/data/global-plasticoutlook\\_c0821f81-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/data/global-plasticoutlook_c0821f81-en)
- [2] O. Rivera, L. Álvarez, M. Rivas, O. Garelli, E. Pérez y N. Estrada, "Impact of plastic pollution in Mexican protected natural areas", Greenpeace México, 2020. [En línea]. Disponible en: <https://www.greenpeace.org/static/planet4-mexico-stateless/2021/05/5f6396a6-reporte-anual-2021.pdf>
- [3] W. Leal, A. Salvia, A. Minhas, A. Paco y C. Dias, "The COVID-19 pandemic and single-use plastic waste in households: A Science of the Total Environment preliminary study", *Science of The Total Environment*, vol. 793, nro. 1, pp. 2-3, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148571>
- [4] L. Fuhr y M. Franklin, *PLASTIC ATLAS. Facts and figures from the world of Polymers*, Alemania, Heinrich Boll Stiftung, 2020.
- [5] A. Isobe y S. Iwasaki, "The fate of missing ocean plastics: Are they just a marine environmental problem?", *Science of The Total Environment*, vol. 825, nro. 153935, pp. 825, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153935>
- [6] P. Yose, G. Thondhlana y G. Fraser, "Conceptualizing the socio-cultural impacts of marine plastic pollution on human well-being - A perspective", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 194, nro. 115285, p. 194, sept. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115285>
- [7] UNEP, *SINGLE-USE PLASTICS: A roadmap for sustainability*, 2018.
- [8] G. Castañeda, A. Gutiérrez, F. Nacaratte y C. Manzano, "Microplastics: a contaminant that grows in all environmental spheres, its characteristics, and possible risks to public health from exposure", *Bolivian Journal of Chemistry*, vol. 37, nro. 3, pp. 160-175, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34098/2078-3949.37.3.4>
- [9] T. Walker y L. Fequet, "Current trends of unsustainable plastic production and micro(nano)plastic pollution", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 160, nro. 116984, pp. 1-3, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.116984>
- [10] D. Aldana, "Contaminación por microplásticos", *Ciencia. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, vol. 73, nro. 2, pp. 6-7, 2022.
- [11] J. W. Park, M. Kim, S. Kim, J. Bae y T. Kim, "Biodegradation of polystyrene by intestinal symbiotic bacteria isolated from mealworms, the larvae of *Tenebrio molitor*", *Heliyon*, vol. 9, nro. 6, jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17352>
- [12] J. Segovia, R. Narro, F. Avalos y A. Sáenz, "Poliestireno, innovaciones emergentes y daños a la salud: dos caras de la misma moneda", *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 20, nro. 1, pp. 13-20, 2019.
- [13] M. Olivares, C. Galán y J. Roa, "Los composites: características

- y aplicaciones en la edificación”, *Informes de Construcción*, vol. 54, nro. 484, pp. 46–61, 2003. DOI: <https://doi.org/10.3989/ic.2003.v54.i484.568>
- [14] N. Martín, “Z = 6, carbono, C El elemento químico más próximo al ser humano”, *Anales de química*, vol. 115, nro. 2, 2019.
- [15] L. Ramírez, A. Sáenz, L. López y P. González, “Nanomateriales poliméricos: Quitosán/ nanoestructuras de carbono”, *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 46, nro. 4, pp. 7–14, 2015.
- [16] E. Flores, “Polymeric compounds and their applications”, *Ciencia Cierta*, vol. 59, pp. 3–10, 2019.
- [17] K. Datta, P. Kumar y A. Rushi, “Introductory Chapter: Introduction to Carbon Nanotubes- Redefining the World of Electronics”, en *Carbon Nanotubes—Redefining the World of Electronics*. IntechOpen, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.99112>
- [18] A. Filippín, N. Luna, M. Pozzi y J. Pérez, “Obtaining and characterization of activated carbon from olive and olive oil residues by physical activation”, *Advances in Science and Engineering*, vol. 8, nro. 3, pp. 59–71, 2017.
- [19] S. Baig, M. Ahmed, A. Batool, A. Bashir, S. Mumtaz, M. Ikram, M. Saeed, K. Shahzad, M. Umer Farooq y A. Maqsood, “Introductory Chapter: Brief Scientific Description to Carbon Allotropes. Technological Perspective”, en *Graphene—Recent Advances, Future Perspective and Applied Applications*. IntechOpen, 2022. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.107940>
- [20] E. Moreno Santos, “Activated carbon: generalities and applications”, *Ciencia Cierta*, vol. 66, nro. 91, 2021.
- [21] M. Carriazo, “Adsorptive properties of activated carbon and determination of the Langmuir equation using low-cost materials”, en *How to experience it. Chemical education*, vol. 21, pp. 224–229, 2010.
- [22] J. Garzón Posada, “Polymer matrix composite materials used for electromagnetic interference shielding”, *New Granada Science and Engineering*, vol. 27, nro. 1, pp. 5–26, 2017.
- [23] E. Abad y J. León, “Disinfectants and antiseptics against coronavirus: Synthesis of evidence and recommendations”, *Clinical Nursing*, vol. 31, nro. 1, pp. 84–88, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.05.013>
- [24] H. Niu, H. Yang y L. Tong, “Structural Characterization and Adsorption Capability of Carbonaceous Matters Extracted from Carbonaceous Gold Concentrate”, *Minerals*, vol. 11, nro. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/min11010023>
- [25] M. Servili, G. Veneziani, A. Taticchia, R. Romaniello, A. Tamborrioc y A. Leona, “Low-frequency, high-power ultrasound treatment at different pressures for olive paste: Effects on olive oil yield and quality”, *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 59, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/min11010023>
- [26] A. Khataee, S. Rahim y A. Hassani, “Ultrasonic Nanotechnology: New insights into industrial and environmental Applications”, *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 66, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104878>
- [27] B. Thamer, F. Al-aizari, H. Abdob y A. Al-Enizi, “Fibras de poliestireno electrohiladas decoradas con carbón activado para una eliminación altamente eficiente del peligroso tinte violeta cristal del agua”, *Coloides y superficies: Aspectos fisicoquímicos y de ingeniería*, vol. 688, nro. 133612, 2024.
- [28] POLISANTAFE, “POLISANTAFE”, 2022. [En línea]. Disponible en: <https://polisantafe.com.ar/el-plastico-transmite-electricidad/>. [Último acceso: 12/04/2024].
- [29] J. Zhao, G. Wang, W. Zhu, Z. Xu, A. Zhang, G. Dong y G. Zhao, “Espumas nanocompuestas de poliestireno/nanofibra de carbono ultraligeras, superaislantes y resistentes fabricadas mediante espuma microcelular”, *Revista Europea de Polímeros*, vol. 173, nro. 111261, jun. 2022.
- [30] S. Kentish, “Engineering Principles of Ultrasound Technology. In Ultrasound: Advances for Food Processing and Preservation”, Elsevier, vol. 1, pp. 1–13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00001-4>
- [31] M. Medina, L. Galván y R. Reyes, “Las nanopartículas y el medio ambiente”, *Universidad, Ciencia y Tecnología*, vol. 19, nro. 74, mar. 2015.
- [32] M. Talha, H. Burak, H. Ulus, M. Okan, M. Emin y A. Avci, “Quasi-Static tensile loading performance of Bonded, Bolted, and hybrid Bonded-Bolted Carbon-to-Carbon composite Joints: Effect of recycled polystyrene nanofiber interleaving”, *Composite Structures*, vol. 323, nro. 117445, nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2023.117445>
- [33] F. Quiroz, P. Saltos, M. Aldas y J. Changó, “Recycling of expanded polystyrene by the dissolution precipitation method”, *Polytechnic Magazine*, vol. 36, nro. 2, sept. 2015.
- [34] L. Yang y W. Zhen, “Synthesis of Graphene Oxide-Polystyrene Graft Polymer Based on Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer and Its Effect on Properties, Crystallization, and Rheological Behavior of Poly (Lactic Acid)”, *Advances in Polymer Technology*, pp. 1–16, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/9364657>
- [35] J. Vega, F. Murillo y M. Esquivel, “L-poly(lactic acid (PLA) and multi-walled carbon nanotubes (NTCPM) with potential industrial applications”, *Revista Colombiana de Química*, vol. 50, nro. 1, pp. 20–39, 2021. DOI: <https://doi.org/10.15446/rcq.v50n1.89838>
- [36] J. D. Rathnaraj, C. Dinesh, R. Velmurugan y A. Adithya, “Effect of particle size on TiO<sub>2</sub>-polystyrene nanoparticles contact angle for hydrophobicity behavior”, *Materials Today: Proceedings*, vol. 66, pp. 1107–1111, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.906>
- [37] H. Butt, J. Liu, K. Koynov, B. Straub, C. Hinduja, I. Roismann, R. Berger, X. Li, D. Vollmer, W. Steffen y M. Kappl, “Contact angle hysteresis”, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol. 59, nro. 101574, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2022.101574>
- [38] J. Shi, J. Wang, Z. Zhao y F. Dong, “Fabrication of reduced graphene oxide doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene): Polystyrene (sulfonate-co-acrylic acid) conductive films with high conductivity and stability”, *Thin Solid Films*, vol. 762, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2022.139525>

**Citación del artículo:**

A. R. Torres-Rodríguez, F. J. González-González, A. O. Castañeda-Facio y A. Sáenz-Galindo, “Materiales conductores eléctricos compuestos de poliestireno reciclado y alótropos amorfos de carbono”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 3–10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.112674>



## Biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de queñua y su aplicación antibacteriana en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del departamento de Cusco, Perú

### Resumen

El propósito de este estudio es investigar la capacidad antibacteriana de las nanopartículas de plata (AgNPs), biosintetizadas con extractos de queñua (*Polylepis racemosa*), en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del departamento de Cusco, Perú. Los extractos de queñua se prepararon mediante maceración, utilizando como solventes agua destilada y una mezcla hidroetanólica al 50%. La biosíntesis se realizó mezclando  $\text{AgNO}_3$  0,1 M con los extractos preparados, después se estudió el efecto del pH de biosíntesis, la temperatura y el porcentaje de concentración de etanol sobre el tamaño de las AgNPs. Los resultados revelaron que las condiciones óptimas para obtener nanopartículas con tamaños hidrodinámicos de 58,68 nm, y estables después de 11 semanas de la biosíntesis, fueron cuando se usó extracto acuoso con pH de 10 y temperatura de 20 °C. Se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs en 500 mL de agua residual con una carga inicial de  $33 \times 10^6$  MP/100 mL de coliformes totales y termotolerantes, los hallazgos indicaron que las dosis de AgNPs erradicaron casi el 100% de estos contaminantes, lo que sugiere que las AgNPs son un potencial agente antibacteriano.

**Palabras clave:** queñua; biosíntesis verde; actividad antibacteriana; nanopartículas de plata.

## Biosynthesis of silver nanoparticles with queñua extract and its antibacterial application in the influent of the Wastewater Treatment Plant of the department of Cusco, Peru

### Abstract

The purpose of the study was to investigate the antibacterial capacity of silver nanoparticles (AgNPs), biosynthesized with extracts of queñua (*Polylepis racemosa*), in the influent of the wastewater treatment plant (WWTP) of the department of Cusco, Peru. The queñua extracts were prepared by maceration, using distilled water and a 50% hydroethanolic mixture as solvents. The biosynthesis was carried out by mixing 0.1 M  $\text{AgNO}_3$  with the prepared extracts, then the effect of the biosynthesis pH, temperature, and the percentage of ethanol concentration on the size of the AgNPs was studied. The results revealed that the optimal conditions to obtain hydrodynamic sizes of 58.68 nm and stable after 11 weeks of biosynthesis were when aqueous extract was used with pH of 10 and a temperature of 20 °C. The antibacterial activity of the AgNPs was evaluated in 500 mL of wastewater with an initial load  $33 \times 10^6$  NMP/100 mL of total and thermotolerant coliforms, the findings indicated that the doses of AgNPs eradicated almost 100% of these contaminants, suggesting that AgNPs are a potential antibacterial agent.

**Keywords:** queñua; green biosynthesis; antibacterial activity; silver nanoparticles.

## Biossíntese de nanopartículas de prata com extrato de queñua e sua aplicação antibacteriana no afluente da Estação de Tratamento de Águas Residuais do departamento de Cusco, Peru

### Resumo

O objetivo do estudo foi investigar a capacidade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs), biosintetizadas com extratos de queñua (*Polylepis racemosa*), no afluente da estação de tratamento de águas residuais do departamento de Cusco, Peru. Os extratos de queñua foram preparados por maceração, utilizando água destilada e mistura hidroetanólica 50% como solventes. A biossíntese foi realizada misturando  $\text{AgNO}_3$  0,1 M com os extratos preparados, em seguida foi estudado o efeito do pH da biossíntese, da temperatura e da porcentagem da concentração de etanol no tamanho dos AgNPs. Os resultados revelaram que as condições ótimas para obtenção de tamanhos hidrodinâmicos de 58,68 nm, e estáveis após 11 semanas de biossíntese, foram quando foi utilizado extrato aquoso com pH de 10 e temperatura de 20 °C. A atividade antibacteriana das AgNPs foi avaliada em 500 mL de água residual com carga inicial  $33 \times 10^6$  NMP/100 mL de coliformes totais e termotolerantes, os achados indicaram que as doses de AgNPs erradicaram quase 100% desses contaminantes, sugerindo que AgNPs são um potencial agente antibacteriano.

**Palavras-chave:** queñua; biossíntese verde; atividade antibacteriana; nanopartículas de prata.

## Introducción

La cantidad de bacterias en el agua indica su grado de contaminación; por ejemplo, identificar la presencia de coliformes totales en el agua permite evaluar la efectividad de un proceso de desinfección. Si estas bacterias no están presentes en el agua, es un indicativo de que el agua no contiene contaminación microbiológica, pues estas bacterias son más resistentes a los procesos de desinfección que las bacterias que causan enfermedades [1].

Las nanopartículas de plata (AgNPs) actúan contra las bacterias uniéndose a ellas y penetrando en su interior, allí liberan plata elemental ( $\text{Ag}^0$ ), la cual provoca cambios estructurales en la membrana celular bacteriana, conocidos como picaduras. Estas alteraciones modifican la permeabilidad celular, lo que conduce a la muerte de la bacteria [2]. Las AgNPs con una mayor área de superficie interactúan con los microorganismos de manera más efectiva, lo que les permite adherirse a la superficie bacteriana y atravesar la membrana celular, esto las hace extremadamente tóxicas para las bacterias [3].

La Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), ubicada en Cusco, Perú, trata las aguas residuales empleando métodos físicos, químicos y biológicos para mitigar los contaminantes físicos, químicos y microbiológicos. El tratamiento de aguas residuales ha mejorado en la PTAR, no obstante, existen obstáculos para eliminar los microorganismos patógenos que son dañinos para la salud. La implementación de técnicas basadas en nanotecnología podría ser una solución prometedora para perfeccionar la calidad de las aguas residuales y garantizar su reúso en el futuro. Con la nanotecnología se podrían mejorar los métodos tradicionales utilizados actualmente como la coagulación, floculación y la desinfección.

La nanotecnología es la investigación científica que permite comprender todos los fenómenos a escala nanométrica, a nivel atómico y molecular [4]. Las AgNPs son los nanomateriales más utilizados en la actualidad por el uso que se les puede dar como agentes antimicrobianos, obedeciendo a sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas y antiangiogénicas. Hay tres formas diferentes de producir AgNPs: la síntesis física, química y biológica.

La síntesis biológica es el método para la obtención de nanopartículas (NPs) más segura y respetuosa con el medio ambiente. Los métodos biológicos crean NPs únicas mediante la acción de enzimas, microorganismos, extractos de plantas y hongos [5]. Las AgNPs biosintetizadas requieren de iones de plata en solución y de la acción de agentes reductores biológicos; la síntesis de NPs con extractos de plantas se destaca como el método más eficiente, simple, rentable y que ofrece una mayor versatilidad, pues permite controlar más variables que la síntesis con microorganismos. Además, tiene fortalezas, por ejemplo, permite controlar el tamaño de las NPs sin depender de agentes externos como polímeros, estabilizantes o surfactantes [6]. También cabe mencionar que la formación de AgNPs inicia con la formación de átomos de plata (clústeres), que finalmente resulta en las formaciones de AgNPs energéticamente estables. Los compuestos bioactivos (flavonoides, alcaloides, polifenoles y terpenoides) presentes actúan como reductores y como protectores de los átomos de plata durante este proceso [7].

El agente reductor empleado en este estudio, la queñua (*Polylepis racemosa*), es una planta endémica de las altas elevaciones de los Andes, caracterizada por tener un tronco retorcido y una corteza de color café rojizo que se desprende en delgadas láminas y hojas con foliolos pequeños, gruesos y cubiertos por resina y tricomas [8]. Según Cubas y Huaman [9], esta especie vegetal contiene una variedad de metabolitos secundarios: ácidos fenólicos, terpenos, flavonoides, entre otros; y según el tamizaje fitoquímico que realizaron del extracto etanólico al 96% de las hojas de queñua, revelaron la

presencia significativa de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, flavonoides y saponinas, así como trazas de triterpenos y esteroides. Como es sabido, estos metabolitos desempeñan un papel crucial en la reducción de los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ), como se aborda en el presente estudio. En definitiva, este estudio marca un hito en la investigación sobre la síntesis verde de AgNPs al presentar el uso de la queñua como un agente reductor novedoso y prometedor, ya que presenta una composición rica en metabolitos con alta capacidad reductora.

En anteriores investigaciones, se han sintetizado AgNPs empleando como agente reductor residuos de té verde y se obtuvieron NPs de forma hexagonal con bordes truncados, estas NPs presentan alta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* [10]. En la literatura científica también se sintetizaron AgNPs usando extractos de moras andinas, arándanos, café y *Berberis vulgaris*. Todos estos se caracterizan por tener alto contenido de compuestos bioactivos, los cuales poseen componentes fenólicos que, debido a sus características, tienen la capacidad de llevar a cabo una reducción de  $\text{Ag}^+$ . Las AgNPs obtenidas removieron bacterias coliformes totales y termotolerantes [11–14].

En este trabajo se hizo una biosíntesis de AgNPs con extractos de queñua y se indagó sobre la influencia del pH y la temperatura de biosíntesis en el tamaño de las NPs. Además, se investigó la eficacia de las AgNPs en la eliminación bacterias (coliformes totales y termotolerantes) presentes en el agua residual del afluente de la PTAR de Cusco, Perú.

## Materiales y métodos

### Materiales y Reactivos

Etanol 96° ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ; Nro. CAS: 64-17-5, Perú), hidróxido de sodio 99% ( $\text{NaOH}$ ; Merck Nro. CAS 1310-73-2, Alemania), nitrato de plata 99% ( $\text{AgNO}_3$ ; Merck Nro. CAS: 7761-88-8, Alemania) y agua destilada.

### Recolección de las muestras

Se recolectaron ramas y hojas de queñua originarios de Perú en la zona de Cusco, provincia de Urubamba, específicamente en el distrito de Calca, a una altitud de 2926 msnm, una latitud de  $13^\circ 19' 0''$  Sur y una longitud de  $71^\circ 57' 14''$  Oeste. Se procedió a su identificación y clasificación taxonómica en el Herbario Vargas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, la muestra fue identificada como *Polylepis racemosa*. Adicionalmente, se recolectó una muestra compuesta del afluente al sedimentador primario de la PTAR de Cusco, Perú.

### Preparación de los extractos

La preparación del extracto acuoso e hidroetanólico se realizó según el método reportado por Caceda [15]. El solvente hidroetanólico se preparó mezclando etanol de 96° con agua destilada en una proporción del 50% v/v, seguidamente se prepararon extractos en concentraciones al 10% p/p con base al material seco de queñua. El extracto acuoso fue sometido a calentamiento en un baño termostático durante 40 min, alcanzando la temperatura de ebullición ( $84^\circ\text{C}$ ). El extracto hidroetanólico al 50% se dejó en maceración durante 5 días, luego se filtraron ambos extractos con papel filtro con la finalidad de separar el sobrenadante y el residuo sólido. Con el fin de evitar que los compuestos orgánicos de los extractos se oxidaran, particularmente los fenoles, se almacenaron en un ambiente fresco en botellas de color ámbar.

### Caracterización de los extractos de *Polylepis racemosa*

Para calcular la cantidad de compuestos fenólicos se empleó el método de Folin Ciocalteu, según Gutiérrez *et al.* [16]. La siguiente ecuación representa el modelo matemático de la curva patrón:



$$y = 0,0315(x) + 0,0692 \quad (1)$$

Donde  $x$  es la absorbancia a 765 nm,  $y$  es la concentración en mg de ácido gálico por litro (mg AG/L) y el valor de ajuste de  $R^2$  es de 0,99.

Se empleó la Ec. (2) para presentar los cálculos en mg AG/g de queñua [17].

$$C = c_1 * \frac{V}{M} \quad (2)$$

Donde  $V$  es el volumen de la muestra,  $M$  es la masa de la muestra,  $c_1$  es la concentración de ácido gálico en mg AG/L de extracto, y  $C$  es la concentración de ácido gálico en mg AG/g de queñua.

### Biosíntesis de AgNPs

Basados en experiencias previas de pruebas preexperimentales, se biosintetizaron las AgNPs mezclando en una proporción de 1:3 los extractos con el  $\text{AgNO}_3$  0,1 M. Después se ajustó el pH con NaOH 0,1 M hasta obtener un pH de 7, 10 y 12, seguido de una agitación constante a 350 rpm durante 24 h. En el caso de los ensayos de biosíntesis a temperatura de 60 °C, se usó una plancha calefactora de baño maría durante 30 min a temperatura constante controlada mediante un termómetro. Una vez finalizados, los experimentos se almacenaron en botellas color ámbar recubiertas con papel aluminio, la variable dependiente fue el tamaño de las AgNPs y las variables independientes se presentan en la **tabla 1**.

**Tabla 1.** Variables independientes y sus valores para los experimentos de biosíntesis de AgNPs.

Niveles (valores)	Variables independientes		
	Cantidad de etanol en el solvente (%)	pH	Temperatura (°C)
1	0	7	20
2	-	10	-
3	50	12	60

Se realizó un diseño factorial multinivel con base a las variables independientes y los niveles presentados en la **tabla 1**, el resultado fue un total de 12 experimentos presentados en la **tabla 2**.

**Tabla 2.** Experimentos de biosíntesis de AgNPs.

	N.º de ensayo											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cantidad de etanol (%)	50	50	50	0	0	50	0	50	0	0	50	0
pH	7	12	7	7	12	10	7	12	10	10	10	12
T (°C)	20	20	60	60	20	60	20	60	60	20	20	60

### Caracterización de las NPs

El espectrómetro modelo Thermo Evolution 3000 se utilizó para definir la banda de plasmón de superficie de las NPs mediante espectrofotometría UV-visible. Los espectros obtenidos se evaluaron utilizando el software Origin 2022b. Se tomaron muestras a dos intervalos de tiempo durante un mes para monitorear la evolución de las longitudes de onda en la solución de reacción. El objetivo era observar la estabilidad de las NPs a lo largo del tiempo.

El análisis DLS (*Dynamic Light Scattering*) se realizó 11 semanas después del inicio del proceso de biosíntesis, en un equipo del modelo Zetasizer Nano Z, con la finalidad de examinar y monitorear la polidispersidad, la distribución de tamaño y la estabilidad de los coloides. Los parámetros de operación del DLS fueron:

- Temperatura: 25 °C
- Medio dispersante: agua
- Índice de refracción del dispersante: 1,33
- Viscosidad: 0,89 cP
- Ángulo de medición: 90°

### Composición elemental y morfología de las AgNPs

La caracterización morfológica, se realizó utilizando un equipo de microscopía electrónica de barrido (SEM), modelo Tescan Mira 3. Mediante la técnica de Energy Dispersive X (EDX) y potencial Z, se evaluó la composición elemental y carga superficial de las NPs, respectivamente. Estos análisis se realizaron después de 14 semanas de la síntesis, para evaluar la morfología y la estabilidad de las AgNPs.

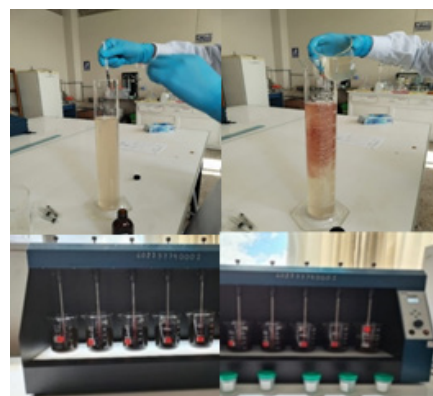
### Análisis estadístico

Se desarrolló el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de las variables, así mismo, se estudió el efecto de cada una de las variables sobre la dispersión de los tamaños hidrodinámicos de las AgNPs. Por otro lado, se estableció un modelo matemático para relacionar las variables investigadas. El software Statgraphics Centurion 18-X64 se utilizó para evaluar el análisis estadístico (la autorización de Software Shop fue adquirida en el año 2022).

### Aplicación de las NPs en el afluente de la PTAR

La aplicación antibacteriana se realizó sobre 10 L de agua residual filtrada que se obtuvo del ingreso al primer sedimentador de la PTAR. La **figura 1** muestra los pasos que se siguieron para tratar la muestra de agua de la PTAR.

Con base a pruebas preexperimentales, se expusieron 500 mL de agua filtrada a diferentes dosis de AgNPs en solución coloidal del extracto (50, 70, 90, 110 y 130 mL) para evaluar la actividad antibacteriana, se utilizó un equipo de pruebas de jarras para agitar las muestras durante 30 min a una velocidad constante de 250 rpm, luego se dejó reposar las muestras durante 20 min. La **figura 1** ilustra el proceso de dosificación de AgNPs en las muestras de agua de la PTAR.



**Figura 1.** Muestras de agua filtradas después de aplicar nanopartículas de plata (AgNPs). Se observa el agua previamente filtrada para después aplicar las AgNPs, las cuales se dispersan en el líquido. La solución formada es mezclada con agitación continua en los vasos precipitados.

Se utilizó el método de dilución en tubo múltiple para realizar el análisis bacteriano [18], el cual se realizó por triplicado para determinar la cantidad total de coliformes y termotolerantes, tanto en la muestra filtrada inicial como en las que fueron expuestas con dosis de AgNPs, con la finalidad de comparar los resultados.

Se utilizó la Ec. (3) para determinar el % de eliminación de bacterias:

$$\% \text{ de eliminación} = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (3)$$

Donde  $m_f$  son los coliformes totales en la muestra con dosificación de AgNPs y  $m_i$  son los coliformes totales en la muestra de agua filtrada.

**Tabla 3.** Cantidad de compuestos fenólicos en los extractos hidroetanólico 50% y acuoso de queñua.

	Cantidad total de compuestos fenólicos				
	R1 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	R2 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	R3 Equivalentes de AG mg/mL de extracto	Promedio Equivalentes de AG mg/mL de extracto	Promedio Equivalentes de AG mg/g de queñua
Extracto hidroetanólico 50% de queñua	19,09	19,21	19,04	19,11	95,58
Extracto acuoso de queñua	10,98	11,09	11,15	11,07	55,38

R: repetición por cada muestra.  
AG: ácido gálico.

## Resultados y discusión

### Determinación de compuestos fenólicos totales del extracto de queñua

En la **tabla 3** se proporciona información sobre la cantidad de compuestos fenólicos en los extractos de queñua.

El extracto hidroetanólico al 50% mostró mayor concentración de compuestos fenólicos totales que el extracto acuoso, esta diferencia podría explicarse a la distinta naturaleza de polaridad de los solventes. Además, cabe resaltar que la temperatura tuvo un impacto significativo en la extracción de compuestos fenólicos del extracto acuoso, el cual ebulló a 84 °C durante 40 min. Investigaciones anteriores, como las de Muñoz *et al.* [19], subrayan la importancia de la temperatura en la extracción acuosa de compuestos fenólicos, así mismo, Shahidi y Ambigaipal [20] mencionan que los compuestos fenólicos son los responsables de las propiedades antioxidantes y reductoras de los extractos, por lo tanto, los compuestos reducen los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) a plata elemental ( $\text{Ag}^0$ ) al donar electrones.

### Biosíntesis de las AgNPs

De los 12 ensayos de AgNPs sintetizados, se observó que poco después de agregar el extracto de queñua a la solución de  $\text{AgNO}_3$  las muestras experimentaron un cambio en su apariencia física. La **figura 2** muestra la variación de color a marrón oscuro provocado por la adición de 0,1 M de NaOH a la mezcla de reacción, lo cual indica la formación de AgNPs. Rodríguez *et al.* [21] explican que la variación de color se produce debido a la fuerte absorción de luz visible causada por la excitación del plasmón superficial de las NPs. Así mismo, según Cumbal *et al.* [11], la variación de color indica el inicio de la reducción de  $\text{Ag}^+$  para generar  $\text{Ag}^0$ , que luego se agrupan para formar AgNPs. Además, se demostró que los extractos con tallos y hojas de plantas tuvieron un impacto directo en la síntesis originado por los compuestos fitoquímicos que contienen grupos hidroxilo, carboxilo y fenólicos, así como otros metabolitos que podrían haber contribuido a la síntesis.



**Figura 2.** Mezcla de reacción entre los extractos acuosos de queñua, la solución de  $\text{AgNO}_3$  y NaOH.

### Efecto del pH

El control de pH es fundamental para la síntesis de AgNPs; cuando el pH aumenta hacia valores alcalinos, las AgNPs de tipo esférico muestran bandas de longitud de onda características que abarcan aproximadamente los 420 nm [22]. Martínez *et al.* indican que las AgNPs sintetizadas a pH alcalino tienen una mayor concentración como resultado del aumento del pH de las mezclas de reacción [23].

### Efecto de la temperatura

Según Sánchez [24], la temperatura es un factor importante para controlar el tamaño de las AgNPs porque afecta la etapa de nucleación, la cual se desarrolla más rápido a altas temperaturas, por lo tanto, se produce un crecimiento de núcleos de  $\text{Ag}^0$ , esto permite a las AgNPs tener una etapa de crecimiento homogénea, lo que produce partículas de tamaño similar.

Sin embargo, en la presente investigación a 60 °C, las AgNPs sintetizadas mostraron un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores (**figura 3** y **figura 4**) en su evolución de estabilidad en el tiempo, lo que indicaría que las AgNPs son más grandes. Según Jiang [25], este fenómeno podría explicarse por el aumento proporcional de la temperatura que provoca un crecimiento más rápido de las NPs durante la unión de los clústeres de plata. Esto se traduce en una agregación sin control durante el crecimiento, ya que las NPs se unen entre sí sin ninguna restricción en cuanto a su tamaño.

### Caracterización del tamaño de las AgNPs

Se constata a detalle en la **tabla 4** los picos de superficie de plasmón superficial (SPR) de cada ensayo de biosíntesis de AgNPs con extracto acuoso en las diferentes fechas de análisis.

**Tabla 4.** Resultados de las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de las AgNPs biosintetizadas con extracto acuoso de queñua.

Ensayo n.º	T (°C)	pH	Fecha: 22/11/22	Fecha: 22/12/22
			(nm)	(nm)
4	60	7	416	421
5	20	12	410	411
7	20	7	417	419
9	60	10	413	415
10	20	10	405	405
12	60	12	406	408

Las representaciones gráficas de los espectros de SPR de las AgNPs se muestran en la **figura 3**.

Según sus características visuales y los valores de absorbancia registrados, se identificaron AgNPs con probable morfología esférica en intervalos de anchos de banda de 405 a 421 nm. Los hallazgos coinciden con los de Pardo *et al.* [26], ellos encontraron que las AgNPs tienen formas esféricas con diámetros de entre 1 y 50 nm en el rango de longitudes de onda mencionado. Según Cruz *et al.* [27], el

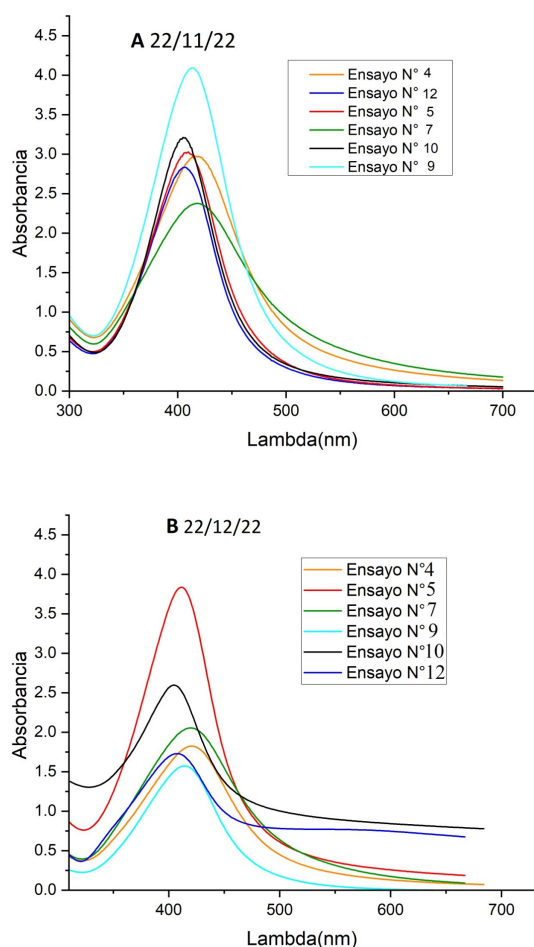


Figura 3. UV-visible de AgNPs con extracto acuoso de queñua.

desplazamiento a longitudes de onda más largas y el ancho de banda de absorción aumentan con las AgNPs más grandes. Esto se debe a que el campo eléctrico no es uniforme dentro de las partículas, lo cual reduce la densidad de la carga en su superficie.

En la mayoría de los experimentos, los espectros exhibieron un desplazamiento a longitudes de onda mayores a lo largo del tiempo, esto podría deberse a que continúa una reacción lenta de reducción de  $Ag^+$  a  $Ag^0$ , aumentando probablemente el tamaño de las partículas hasta tener una forma energéticamente favorable.

Por otro lado, el espectro UV del ensayo diez (pH: 10, T: 20 °C) permaneció sin variaciones en su banda de longitud de onda, esto confirma la estabilidad y uniformidad de las AgNPs en una solución coloidal, conservando su forma esférica.

En la **tabla 5** se muestran los tamaños hidrodinámicos (Z) de las AgNPs.

Tabla 5. Tamaños hidrodinámicos (Z) de las AgNPs con extracto acuoso de queñua.

N.º de ensayo	Temperatura (°C)	pH	Z (nm)	Pdl
4	60	7	111,20	0,50
5	20	12	147,60	0,43
7	20	7	178,50	0,40
9	60	10	52,44	0,25
10	20	10	58,68	0,48
12	60	12	48,89	0,48

Z: tamaño hidrodinámico promedio.  
Pdl: índice de polidispersidad de las NPs.

La mayoría de ensayos muestran Pdl similares, esto sugiere que las muestras tienen una gama variada de tamaños, lo que puede ocurrir debido a que con el tiempo las muestras tienen la tendencia a aglomerarse. En referencia a Botasini [28], el promedio Z puede sobreestimar el tamaño hidrodinámico de las muestras polidispersas. Esto se debe a que Z es la media aritmética de las poblaciones de

partículas presentes, donde las de mayor tamaño tienen pesos relativos superiores en la cantidad de luz dispersada en comparación con las partículas más pequeñas.

Los picos de SPR de cada ensayo de biosíntesis de AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua se exhiben en la **tabla 6**.

Tabla 6. Resultados de las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

Ensayo n.º	T (°C)	pH	Fecha: 25/11/22	Fecha: 28/12/22
			(nm)	(nm)
1	20	7	429	428
2	20	12	419	412
3	60	7	428	429
6	60	10	419	422
8	60	12	415	411
11	20	10	425	424

Los espectros UV-vis exhibieron una franja de absorción de energía entre 411 y 429 nm. Los picos de SPR de las AgNPs sintetizadas con extracto hidroetanólico tuvieron mayores longitudes de onda que los de las AgNPs sintetizadas con extracto acuoso. Según You-saf *et al.* [29], la existencia de diversos grupos funcionales en los extractos podría ser el motivo de la variación de tamaño y forma de las AgNPs sintetizadas. Los compuestos presentes en los extractos hidroetanólicos generalmente tienen un tamaño molecular más grande y poseen superior capacidad de unirse a las AgNPs, lo que resultaría en la conformación de partículas más grandes.

Los espectros de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50% de queñua se observan en la **figura 4**.

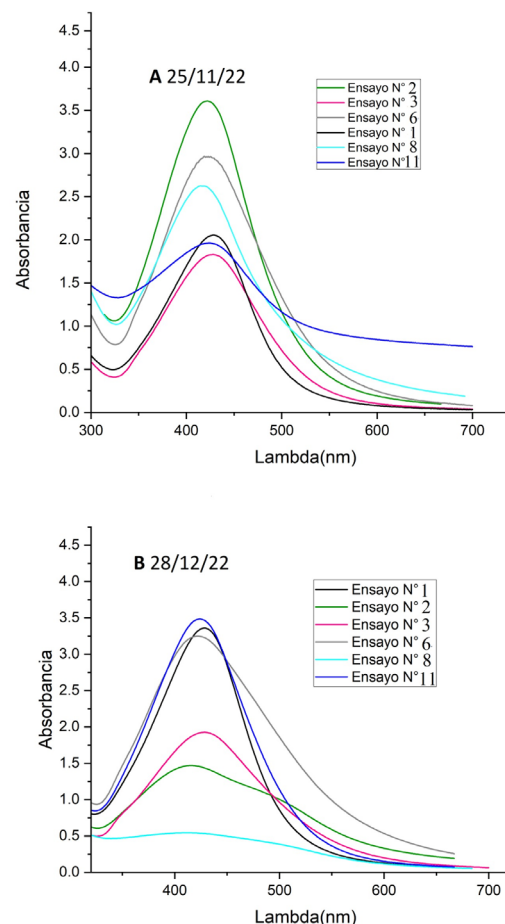


Figura 4. UV-visible de AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

En la **figura 4B** se observa la aparición de bandas de longitud de onda de resonancia dipolar, distintivas de las NPs de grandes tamaños. Cuando el pH es superior de 10, la temperatura de 60 °C y la concentración superior de compuestos fenólicos, las AgNPs crecen



a un ritmo acelerado e incontrolable. Esto promueve las polidispersidad y aglomeración de las NPs, lo que se refleja en el tiempo. En la **tabla 7** se muestran los tamaños hidrodinámicos de las AgNPs biosintetizadas con extracto hidroetanólico al 50%.

**Tabla 7.** Tamaños hidrodinámicos promedio (Z) de las AgNPs con extracto hidroetanólico al 50% de queñua.

N.º de ensayo	Temperatura(°C)	pH	Z (nm)	Pdl
1	20	7	49,82	0,56
2	20	12	84,54	0,24
3	60	7	220,70	0,71
6	60	10	62,70	0,50
8	60	12	268,4	0,60
11	20	10	34,77	0,60

Z: tamaño hidrodinámico promedio.  
Pdl: índice de polidispersidad de las NPs.

Los valores mayores de Pdl en los extractos hidroetanólicos al 50% sugieren que las AgNPs tienen una heterogénea distribución de tamaños, esto coincide con los espectros UV-vis que muestran que las AgNPs son más polidispersas y tienden a juntarse. Los ensayos tres (pH:7 y T: 60 °C) y ocho (pH:12 y T: 60 °C) mostraron Z más altos y mayores Pdl, por lo tanto, la temperatura de síntesis puede haber sido un factor que influyó en la formación de AgNPs. Estos resultados son similares a lo que observaron Liu *et al.* [30], que la alta temperatura favorece la formación de NPs, pero solo si hay suficiente cantidad de iones de agente precursor Ag<sup>+</sup>, si la cantidad de iones Ag<sup>+</sup> es insuficiente, la nucleación se produce muy rápidamente, lo que impide el crecimiento de las NPs.

### Análisis estadístico

#### Análisis de las variables

La **tabla 8** muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA).

**Tabla 8.** Resultado del análisis de varianza para AgNPs obtenidas con extracto acuso e hidroetanólico de queñua.

Fuente	Valor P	Cuadrado medio	Suma de cuadrados
A	0,529	1273,49	1273,49
B	0,945	14,55	14,55
C	0,307	3689,71	3689,71
AA	0,297	3855,74	3855,74
AC	0,036	25.661,4	25.661,40
BB	0,052	19.979,8	19.979,80
BC	0,906	42,4581	42,45
Error total		2695,79	10.783,20
Total (corr.)			65.300,30

Valor P: medida de la credibilidad de la hipótesis nula.

A: cantidad de etanol.

B: pH.

C: temperatura.

AA: interacción de cantidad de etanol - pH.

AC: interacción de cantidad de etanol -temperatura de biosíntesis.

BB: interacción de pH.

BC: interacción pH-temperatura de biosíntesis.

De la **tabla 8** se deduce que el tipo de extracto y la temperatura no influyeron significativamente en el tamaño de las AgNPs. Sin embargo, la interacción entre estos dos factores tuvo un impacto significativo, esto señala que las dimensiones de las AgNPs no son determinadas de manera individual por cada factor, sino que surgen de la interacción compleja entre estos. En consecuencia, se respalda la hipótesis alternativa que sugiere que la combinación específica de factores, incluyendo la temperatura y el tipo de extracto, impacta directamente en el tamaño de las AgNPs.

### Efectos estimados para el tamaño de las AgNPs

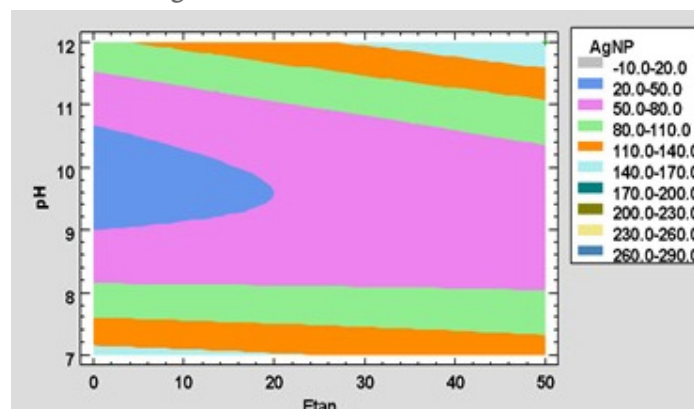
**Tabla 9.** Efectos estimados del tamaño hidrodinámico de las AgNPs obtenidas con extracto acuso e hidroetanólico de queñua.

Efecto	Factor de inflación de varianza (VIF)	Estimado	Intervalo de confianza
Promedio		52,14	± 72,08
A	1,0	20,60	± 83,23
B	1,0	-2,70	± 101,93
C	1,0	35,07	± 83,23
AB	1,0	43,91	± 101,93
AC	1,0	92,49	± 83,23
BB	1,0	73,12	± 176,56
BC	1,0	-4,61	± 101,93

En la **tabla 9**, para evaluar la influencia de las variables, se calculó la disparidad entre los niveles altos y bajos, así como el promedio de estos niveles para cada variable. Según el factor de inflación de varianza (VIF), no existe multicolinealidad entre las variables independientes. Las siguientes son las estimaciones de los efectos:

- Un aumento promedio de 35,07 nm en la distribución de tamaños de las NPs se produce al aumentar la temperatura de 20 a 60 °C.
- Las AgNPs aumentan de tamaño en promedio 20,60 nm como resultado de la transición de solvente acuoso a hidroetanólico (50%).
- Para el pH el efecto resultó negativo, lo cual condujo a la disminución del tamaño de las NPs en 2,70 nm al aumentar el pH de 7 a 12.

### Modelo de regresión



**Figura 5.** Superficie de respuesta estimada, a partir del modelo matemático presentado en la Ec. (4), del tamaño hidrodinámico de las AgNPs obtenidas con diferentes % de etanol en el extracto de queñua.

El modelo de regresión utilizado para predecir el tamaño de las AgNPs se representa gráficamente en la **figura 5**. Debido a que el pH no varía de manera lineal, la superficie de respuesta estimada es una parábola. Por lo tanto, se puede observar que los rangos que están marcados de azul y rosado son donde se obtienen dimensiones de menor tamaño a 80 nm de AgNPs, en condiciones de pH inferior a 10 y concentración de etanol del 0 al 50%. Mientras que la tonalidad azul solo indica las condiciones ideales para obtener AgNPs con un tamaño menor a 50 nm, estas condiciones se dan empleando extractos acuosos o extractos con un contenido de etanol no superior al 20%. Los colores naranja, celeste y verde indican que un pH mayor a 11,5, y emplear extractos hidroetanólicos o acuosos, no es adecuado para la síntesis de AgNPs, ya que producen NPs de gran tamaño.

El modelo matemático que representa la biosíntesis de AgNPs es:

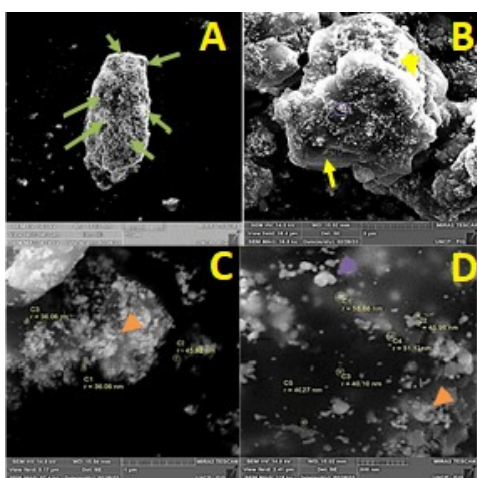
$$\text{Tamaño hidrodinámico (nm)} = 1420,21 - 270,617 \times \text{pH} - 6,62437 \times \text{CE} - 0,997704 \times T + 0,0924867 \times \text{CE} \times T + 0,35126 \times \text{CE} \times \text{pH} + 13,8494 \times \text{pH}^2 - 0,046075 \times \text{pH} \times T \quad (4)$$

Donde T es la temperatura de biosíntesis, CE es la cantidad de etanol y  $R^2 = 83,48\%$ .

El valor de  $R^2$  indica que el modelo de regresión puede explicar el 83,48% de la variación en el tamaño de las AgNPs. Esto indica que el modelo puede predecir el tamaño de las AgNPs en función de los factores mencionados y se ajusta bien a los datos experimentales.

### Caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La **figura 6** muestra las microfotografías emitidas por la SEM en el ensayo diez, el cual mantuvo una mejor estabilidad a lo largo del tiempo y también presentó las mejores condiciones de réplica por la simplicidad de preparación del extracto acuoso de queñua. Según los hallazgos de la presente investigación, la biosíntesis de AgNPs a un pH de 10 y una temperatura de 20 °C, son condiciones donde las NPs presentaron tamaños hidrodinámicos promedios de 58,68 nm, aunque también se obtuvieron NPs de menor tamaño con diferencias de solo el 1,15% a condiciones de temperatura de 60 °C y pH 12 empleando extracto acuoso de queñua; sin embargo, esto significaría un mayor control del proceso y costo de producción en escala piloto o industrial, es por eso que se descartaron los otros ensayos.



**Figura 6.** Microfotografías de las nanopartículas (NPs). A: 7,3 kx, B: 16.9 kx, C: 87,4 kx y D: 115 kx.

Se pudo evidenciar la existencia de plata metálica (**figura 6A**, señaladas con flechas verdes), las cuales, según Pardo *et al.* [26], se observan como puntos blancos brillantes en las micrografías debido a sus propiedades lumínicas.

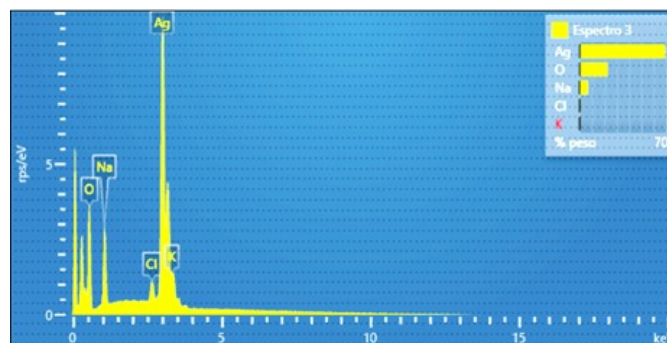
También se observa una fase de color gris más suave (señalado con una flecha amarilla en la **figura 6B**). Zahir *et al.* [31] mencionan que esta película se identifica como la parte orgánica, y según Asif *et al.* [32], la película se compone de sustancias orgánicas extraídas de plantas y materia orgánica que rodea las NPs. Esta materia orgánica se ve como una capa gruesa que rodea las NPs. Estos materiales son los que brindan estabilidad a las AgNPs.

Mediante esta técnica se observaron algunas NPs grandes, de hasta 119,30 nm de radio, y otras pequeñas de hasta 36,06 nm. Sin embargo, también se detectaron partículas de tamaño inferior a 60 nm de diámetro, pero no se pudo determinar su tamaño exacto debido a las limitaciones de la técnica. La muestra estaba compuesta por más del 85% de nanoestructuras esféricas, de las cuales el 95% eran AgNPs y el 5% eran material vegetal. Los resultados obtenidos confirman que la muestra es polidispersa, tal y como se demostró en el análisis de DLS.

Las partículas más pequeñas, representadas por las flechas naranjas en las **figuras 6C** y **6D**, forman una capa alrededor de las partículas de mayor tamaño, lo que conduce a la creación de agregados. Según Koehler *et al.* [33], las NPs se atraen entre sí debido a la carga eléctrica excesiva en su superficie, cuanto mayor sea el número de car-

gas eléctricas en exceso mayor es esta atracción. En otras palabras, las NPs con una alta carga eléctrica en su superficie se repelen entre sí, lo que les impide agruparse. Por el contrario, es más probable que se agrupen las NPs con una carga eléctrica menor en su superficie. La deshidratación de la muestra durante la preparación para las técnicas de análisis puede hacer que las partículas se reduzcan de tamaño y se agrupen.

La **figura 7** presenta los hallazgos del análisis de EDX, los cuales indican la composición de las AgNPs, compuestas principalmente por plata elemental ( $Ag^0$ ). Esto se deduce porque se observa un pico pronunciado y una energía de 3 keV que, según Paulkumar *et al.* [34], es la energía característica de los rayos X emitidos por la plata.



**Figura 7.** Composición elemental emitida por espectroscopia de rayos X de AgNPs biosintetizadas con extracto acuoso de queñua.

La espectroscopia de rayos X mostró que las AgNPs están compuestas principalmente por  $Ag^0$  (69,31%), pero también hay presencia de O (22,57%), Na (6,66%) y K (1,46%). Estos últimos elementos pueden ser el resultado de biomoléculas presentes en la superficie de las AgNPs que las protegen de la degradación.

Después de 14 semanas, se confirmó mediante el análisis EDX los elementos en las AgNPs, el 69,31% era  $Ag^0$ . Los hallazgos corroboran los resultados de la investigación de Menon *et al.* [35], en la que el análisis EDX indica la presencia de  $Ag^0$ , Cl, C y O. Según ellos, estos grupos funcionales se adsorben en las NPs.

Los autores Srirangam y Parameswara [36] llevaron a cabo la síntesis utilizando extracto de *Malachra capitata* L. donde observaron que los espectros mostraban  $Ag^0$  en 70,36% y un porcentaje de C del 35,13%, también mencionan que el porcentaje de  $Ag^0$  es un indicador de la eficiencia de conversión. En el estudio de Femi *et al.* [37] se biosintetizaron AgNPs con *Gleichenia pectinata* (Willd.) C. Presl, en los espectros observaron la presencia del pico característico de  $Ag^0$  a 3 keV  $Ag^0$  en un porcentaje del 16%, ellos también descubrieron la presencia de otros elementos químicos como O (68%), Si (12%), Al (5%) y K (4%), que se encontraban en la superficie de las AgNPs formando una capa orgánica de recubrimiento.

Según Bhattacharjee *et al.* [38], la técnica de potencial Z puede evaluar la carga superficial de las NPs, y si tienen cargas superficiales más bajas, suelen agruparse, coagularse o flocularse. Por el contrario, las NPs con cargas superficiales más altas de  $\pm 30$  mV tienden a repelerse entre sí, esto indica que las partículas no se atraen entre sí, por lo que no se agrupan ni se floculan. También, Elamawi *et al.* [39] mencionan que cuando las AgNPs tienen una carga negativa se repelen con otras partículas, lo que evita que se agrupen. En la presente investigación se obtuvo un valor de  $-10$  mV, pues la biosíntesis a un pH de 10 fomenta la formación de AgNPs con una mayor carga negativa, según lo reportado por Bélteky *et al.* [40], que investigaron cómo los grupos funcionales que se encuentran en las superficies de las NPs son susceptibles a perder protones en soluciones básicas, esto permite incrementar la carga superficial negativa de dichas NPs; por lo tanto, el valor Z de la muestra probablemente fuera mayor al principio de la síntesis que después de un período de 14 semanas. La probable reducción en el valor de



Z puede ser atribuible a una combinación de factores, incluyendo la adsorción de biomoléculas a la superficie de las partículas y la oxidación de la plata. Asimismo, la matriz biológica del extracto de queñua puede ayudar a estabilizar las AgNPs, incluso después de que su carga negativa haya disminuido. Las biomoléculas presentes en el extracto podrían estar adsorbiéndose a la superficie de las partículas y generando una carga negativa adicional.

### Aplicación antibacteriana

Tabla 10. Aplicación de AgNPs en solución acuosa en 500 mL de agua filtrada.

Ensayo	(mL) AgNPs	NMP CT/100 mL	NMP CTL/100 mL	% de eliminación de bacterias
1		33 × 106	33 × 106	-
2	50	1,8	1,8	100
3	70	1,8	1,8	100
4	90	1,8	1,8	100
5	110	1,8	1,8	100
6	130	1,8	1,8	100

CT: coliformes totales.

CTL: coliformes termotolerantes.

Las dosis de AgNPs en solución acuosa aplicadas a las muestras de agua se muestra en la **tabla 10**. La muestra filtrada contenía coliformes totales y coliformes termotolerantes en una cantidad de 33 × 106 NMP/100 mL. Después de haber aplicado las diferentes dosis, se redujo a menos de 1,8 NMP/100 mL, esto indica que se produjo una eliminación de prácticamente el 100%. Este resultado afirma lo mencionado por Ticllacuri y Travezaño [12], quienes han encontrado que las NPs de tamaño nanométrico tienen una mayor capacidad de supresión de coliformes totales y termotolerantes. Según Menon et al. [35], las AgNPs poseen la capacidad de eliminar bacterias al interrumpir la permeabilidad y la respiración de la membrana celular. Además, se unen a moléculas con azufre, lo que produce sustancias que dañan la célula a nivel molecular. Se cree que las AgNPs interfieren con enzimas y proteínas necesarias para producir Adenosín Trifosfato (ATP) en las células bacterianas, lo que interrumpe la función celular y mata las bacterias.

Los resultados de esta investigación señalan que las AgNPs son efectivas en el tratamiento antibacteriano. Esto significa que la PTAR podría cumplir con los requisitos de calidad ambiental para aguas de categoría uno (coliformes inferiores a 50 NMP/100 mL) [41]. Sin embargo, deben realizarse más estudios de la variación mediante el empleo de dosis menores con base a los resultados expuestos en la **tabla 10**.

### Conclusiones

En esta investigación se sintetizaron AgNPs con extracto de queñua a diferentes condiciones de temperatura, pH y tipo de extracto. Los resultados evidenciaron que las mejores condiciones para replicar la síntesis de AgNPs son a un pH 10, temperatura de 20 °C y extracto acuoso con un promedio de tamaño de 58,68 nm de diámetro medido mediante la técnica DLS. Con la técnica SEM se midieron tamaños en rango de radio entre 36,06 a 119,30 nm con forma esférica y una carga superficial negativa moderada (-10 mV). Se constató que la cantidad de etanol, pH y la temperatura de síntesis afectan en el tamaño de las AgNPs. Finalmente, se examinó la actividad antibacteriana de las AgNPs sintetizadas en muestras de agua del afluente de la PTAR de Cusco, Perú, los hallazgos demostraron que las AgNPs eliminaron a las bacterias (coliformes totales y termotolerantes) en la muestra, lo que demuestra su potencial uso como agente antibacteriano. No obstante, se señala la necesidad de realizar más estudios para determinar si quedan restos de AgNPs en las aguas tratadas, la cuales podrían representar toxicidad para el medio en donde se encuentren.

### Agradecimientos

Expresamos nuestro agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por el financiamiento de la investigación a través del programa “Yachayninchis Wiñarinanpaq”, impulsado por el Vicerrectorado de Investigación de la UNSAAC con n.º de resolución R-1023-2022-UNSAAC, con contrato n.º 045-VRIN-2022-UNSAAC.

### Referencias

- [1] C. Campos Pinilla, *Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas*, Ciudad de México, Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de México (CIRA-UAEM), 2003, pp. 224-229.
- [2] S. K. Srika, D. D. Giri, D. B. Pal, P. K. Mishra y S. N. Upadhyay, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review”, *Scientific Reseach An Academic Publisher*, vol. 6, nro. 1, pp. 35-39, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
- [3] K. H. A. y R. R. Siddiqi, “A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties”, *Journal Nanobiotechnol*, vol. 16, nro. 18, pp. 2-28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>
- [4] P. A. Serena Domingo, *La nanotecnología*, Madrid, Catarata, 2010.
- [5] M. Garzón Gómez, “Nanomateriales, Nanoparticulas y Síntesis Verde”, *Repertorio de Medicina y Cirugía*, vol. 27, nro. 2, pp. 75-80, 2018. DOI: <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>
- [6] R. de la C. Esquivel Figueredo y S. M. Mas-Diego, “Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*”, *Revista Cubana de Química*, vol. 33, nro. 2, pp. 23-45, 2021.
- [7] N. Sharma Kumar, J. Vishwakarma, S. Rai, T. S. Alomar, N. Al-Masoud y A. Bhattarai, “Green Route Synthesis and Characterization Techniques of Silver Nanoparticles and Their Biological Adeptness”, *ACS Omega*, vol. 7, nro. 31, pp. 27004-27020, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01400>
- [8] M. W. y O. J. A. Servat Grace P., “Flora y fauna de cuatro bosques de *Polylepis* (Rosaceae) en la cordillera del Vilcanota (Cusco, Perú)”, *Ecología Aplicada*, vol. 1, nro. 1, p. 11, 2002. DOI: <https://doi.org/10.21704/rea.v1i1-2.226>
- [9] M. P. Cubas Villanueva y D. A. Huaman Jimenez, “Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Polylepis Incana* Kunth”, tesis de grado, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima, 2018.
- [10] S. Aragón Mamani, “Síntesis verde y caracterización de nanopartículas de plata en matriz de arcilla Chak'o y su actividad antimicrobiana en *E. Coli* ATCC 51813”, tesis de maestría, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, 2020.
- [11] L. Cumbal, B. Kumar, K. Smita y A. Debut, “Green syntesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract”, *Saudi J Biol Sci*, vol. 24, nro. 1, pp. 45-50, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.006>
- [12] V. J. Ticllacuri Perales y E. M. Travezaño Neyra, “Caracterización de Nanoparticulas de Plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de *Coffea arabica* procedente de Satipos -Junín para uso antimicrobiano”, Universidad Nacional del Centro del Perú, 2019.
- [13] A. Zorro, A. Lannone, S. Natali y R. Lavecchia, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Bilberry and Red Currant Waste Extracts”, *Procesos de Separación y Extracción Verde*, vol. 7, nro. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr7040193>
- [14] M. Behravan, A. Hossein Panahi, A. Naghizadeh, M. Ziaee, R. Mahdavi y A. Mirzapour, “Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity”, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 124, pp. 148-154, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101>
- [15] C. J. Caceda Quiroz, “Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Alcohólico de las Hojas de *Polylepis* ru-

- gulosas (*queilua*). Frente a Cultivos Bacterianos Uropatógenos Aislados en el Hospital Hipólito Unanue - Tacna”, *Ciencia y Desarrollo*, vol. 14, pp. 51–58, 2012. DOI: <https://doi.org/10.33326/26176033.2012.14.302>
- [16] D. M. Gutiérrez Avella, C. Alberto Ortiz y A. Mendoza Cisneros, “Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal”, *Simpósio de Metrología 2008*, 2008.
- [17] E. García Martínez, I. Fernández Segovia y A. Fuentes López, “Determinación de polifenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu”, *Universitat Politècnica de València*, Valencia, 2015.
- [18] APHA-AWWA-WPCF, *Métodos Normalizados para el Análisis de aguas Potables y Residuales*, España, Diaz de Santos, SA, 1992.
- [19] W. Muñoz C., L. C. Pabon y W. Chavez R., “Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (Campomanesia)”, *Revista CENIC Ciencias Químicas*, vol. 46, pp. 38–46, 2015.
- [20] F. Shahidi y P. Ambigaipalan, “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects”, *Journal of Functional Foods*, vol. 18, pp. 820–897, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- [21] E. Rodríguez-León, R. Iñiguez-Palomares, R. E. Navarro, R. Herrera-Urbina, J. Tánori, C. Iñiguez-Palomares y A. Maldonado, “Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts)”, *Nanoscale Research Letter*, vol. 8, nro. 318, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-318>
- [22] P. Sinhg, K. Yeon Ju, H. Singh, C. Wang, K. Hyon Hwang, M. El-Agamy Farh y D. Chun Yang, “Biosynthesis, characterization, and antimicrobial applications of silver nanoparticles”, *International Journal of Nanomedicine*, vol. 10, pp. 2567–2577, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S72313>
- [23] F. Martínez M., E. Zuñiga G. y A. K. Sanchez Lafarga, “Método de síntesis de nanopartículas de plata adaptable a laboratorios de docencia relacionado con la nanotecnología”, *Mundo nano*, vol. 10, nro. 6, pp. 103–108, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2013.10.50967>
- [24] M. Sánchez Moreno, “Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación en la inocuidad de alimentos”, tesis de máster, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, 2017.
- [25] X. C. Jiang, W. M. Chen, C. Y. Chen, S. X. Xiong y A. B. Yu, “Role of Temperature in the Growth of Silver Nanoparticles Through a Synergetic Reduction Approach”, *Nanoscale Res Letters*, vol. 6, nro. 1, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11671-010-9780-1>
- [26] L. Pardo, J. Arias y P. Molleda, “Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante”, *La granja: Revista de Ciencias de la Vida*, vol. 35, nro. 1, pp. 1–14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.17163/lgr.n35.2022.04>
- [27] D. Cruz, M. Rodríguez, L. Juan, V. Herrera, A. Orive y A. Creus, “Nanopartículas Metálicas y Plasmones de Superficie: Una relación profunda”, *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 3, nro. 2, pp. 67–78, 2012.
- [28] S. Botasini, “Estudio de la estabilidad de las nanopartículas y desarrollo de un sensor colorimétrico”, tesis de doctorado, Universidad de la República Uruguay, 2016.
- [29] H. Yousaf, A. Mehmood, K. S. Ahmad y M. Raffi, “Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents”, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 112, nro. 110901, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110901>
- [30] H. Liu, Z. Huan, W. Jie y W. Junfu, “Effect of temperature on the size of biosynthesized silver nanoparticle: Deep insight into microscopic kinetics analysis”, *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, nro. 1, pp. 1011–1019, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.09.004>
- [31] M. Zahir Shah, Z. H. Guan, A. Ud Din, A. Ali, A. Ur Rehman, K. Jan, S. Faisal, S. Saud y M. Adnan, “Synthesis of silver nanoparticles using *Plantago lanceolata* extract and assessing their antibacterial and antioxidant activities”, *Scientific Reports*, vol. 11, nro. 20754, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00296-5>
- [32] M. Asif, R. Yasmin y U. Shehla, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs), Structural Characterization, and their Antibacterial Potential”, *Sage Journals*, vol. 20, nro. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/15593258221088709>
- [33] J. M. Koehler, N. Visaveliya y A. Knauer, “Controlling formation and assembling polarization, and electrochemical potential of nanoparticles by control of electrical charging”, *Nanotechnol*, vol. 3, nro. 6, pp. 553–568, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2014-0006>
- [34] K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, M. Pavunraj y G. Annadurai, “Green synthesis of silver nanoparticle and silver based chitosan bionanocomposite using stem extract of *Saccharum officinarum* and assessment of its antibacterial activity”, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aa7232>
- [35] S. Menon, H. Agarwal, S. Rajesh Kumar y V. Kumar, “Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plant *Acalypha* leaf extracts and its application as an antioxidant and antimicrobial agent against foodborne pathogens”, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, vol. 9, nro. 5, pp. 42–50, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2017v9i5.19464>
- [36] G. M. Srirangam y K. Parameswara Rao, “Synthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *malachra capitata* (L.)”, *Rasayan Journal*, vol. 10, nro. 1, pp. 46–53, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7324/RJC.2017.1011548>
- [37] A. G. Femi Adepoju, A. Oluwasogo Dadá, K. Opeyemi Otun, A. Olufemi Adepoju y O. Paul Fatoba, “Green synthesis of silver nanoparticles using terrestrial fern (*Gleichenia Pectinata* (Willd.) C. Presl.): characterization and antimicrobial studies”, *Helijón*, vol. 5, nro. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2019.e01543>
- [38] T. Bhattacharjee, M. Castilho y I. De Oliveira, “FTIR study of secondary structure changes in Epidermal Growth Factor by gold nanoparticle conjugation”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1862, nro. 3, pp. 495–500, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.11.009>
- [39] R. Elamawi, R. Al Harbi y A. Hendi, “Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi”, *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, vol. 28, nro. 28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0028-1>
- [40] P. Bélték, A. Rónavi, N. Igaz, B. Szerencsés, I. Y. Tóth, L. Pfeiffer, M. Kiricsi y Z. Kónya, “Silver nanoparticles: aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity”, *International Journal of Nanomedicine*, vol. 14, pp. 667–687, 2019. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S185965>
- [41] El Peruano, 004-2017-MINAM - *Estandares Nacionales de calidad Ambiental para Agua*, Lima, 2008.

**Citación del artículo:**

N. Gutierrez-Sierra, N. J. Mesco-Aquise, A. R. Maldonado-Farfán y S. Aragón-Mamani, "Biosíntesis de nanopartículas de plata con extracto de queñua y su aplicación antibacteriana en el afluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del departamento de Cusco, Perú", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 11-20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.111932>



## Preparación de muestras sólidas para el análisis por fluorescencia de rayos X: una revisión

### Resumen

La fluorescencia de rayos X (XRF, por sus siglas en inglés) permite realizar análisis multielementales en diversas matrices sólidas, incluidos polvos y granos. Para obtener resultados confiables, la muestra preparada debe cumplir con ciertos criterios relacionados con su espesor, la planitud de su superficie, su homogeneidad y el tamaño de sus partículas. Las muestras sólidas heterogéneas que se deseen medir deben pulverizarse, homogeneizarse y prepararse como polvo suelto, polvos prensados (*pellets*) o perlas fundidas, si se buscan mediciones precisas y reproducibles. Las condiciones de medición están definidas por la profundidad analítica de los rayos X fluorescentes de los analitos, y se pueden estimar a partir de la relación que existe entre la absorción de cada rayo y su respectiva energía, y la composición y densidad de la muestra. Así mismo, con el propósito de asegurar la validez de los resultados, se debe validar el método de medición, para confirmar que cumple con el propósito para el cual fue desarrollado. Esta revisión está enfocada en la preparación de muestras sólidas, en el análisis cuantitativo, el cual incluye la validación de los métodos involucrados en las mediciones por espectrometría de XRF, y en las principales aplicaciones de la técnica.

**Palabras clave:** XRF; efecto matriz; muestras sólidas heterogéneas; análisis multielemental; parámetros de validación.

## Solid sample preparation for X-ray fluorescence analysis: a review

### Abstract

X-ray fluorescence (XRF) allows multielement analysis to be performed on a variety of solid matrices, including powders and grains. To obtain reliable results, the sample must meet certain criteria related to its thickness, surface flatness, homogeneity and particle size. Heterogeneous solid samples to be measured must be pulverized, homogenized, and prepared as loose powder, pressed powders (*pellets*) or fused beads, if accurate and reproducible measurements are sought. The measurement conditions are defined by the analytical depth of the fluorescent X-rays of the analytes, and can be estimated from the relationship between the absorption of each beam and its respective energy, and the composition and density of the sample. Furthermore, in purpose of assuring the validity of the results, the measurement method must be validated to confirm that it fulfills the purpose for which it was developed. This review is focused on the preparation of solid samples, the quantitative analysis, which includes the validation of the methods involved in XRF spectrometry measurements, and on the main applications of the technique.

**Keywords:** XRF; heterogeneous solid samples; matrix effect; multielemental analysis; validation parameters.

## Preparação de amostras sólidas para análise de fluorescência de raios X: uma revisão

### Resumo

A fluorescência de raios X (XRF) permite que a análise multielementar seja realizada em uma variedade de matrizes sólidas, incluindo pós e grãos. Para obter resultados confiáveis, a amostra preparada deve atender a determinados critérios relacionados à sua espessura, planicidade da superfície, homogeneidade e tamanho da partícula. As amostras sólidas heterogêneas a serem medidas devem ser pulverizadas, homogeneizadas e preparadas como pós soltos, pós prensados (*pellets*) ou esferas fundidas, caso se deseje obter medidas precisas e reprodutíveis. As condições de medidas são definidas pela profundidade analítica dos raios X fluorescentes dos analitos, e podem ser estimadas a partir da relação entre a absorção de cada raio e sua respectiva energia, além da composição e da densidade da amostra. Também, para garantir a validade dos resultados, o método de medição deve ser validado para confirmar que ele cumpre a finalidade para a qual foi desenvolvido. Esta revisão enfoca na preparação de amostras sólidas, na análise quantitativa, incluindo a validação dos métodos envolvidos nas medidas por XRF, e nas principais aplicações da técnica.

**Palavras-chave:** XRF; efeito de matriz; amostras sólidas heterogêneas; análise multielementar; parâmetros de validação.



## Introducción

A medida que las técnicas analíticas instrumentales se vuelven cada vez más sofisticadas, empiezan a ser adoptadas en diversos campos. Actualmente, para realizar análisis multielemental a diversos tipos de matrices, se tiene disponibilidad de un gran número de técnicas instrumentales tales como la espectroscopía de absorción atómica (AA) [1], la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, por sus siglas en inglés) [2], la espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés) [3], la cromatografía iónica (IC) [4] y la fluorescencia de rayos X (XRF, por sus siglas en inglés), entre otras. Esta última se destaca porque cuenta con un amplio campo de acción que permite llevar a cabo el análisis multielemental en diversos tipos de muestras y para diferentes propósitos, como en el estudio del medio ambiente, para el análisis de suelos, plantas y agua, en la industria de productos alimenticios y de bebidas, en la medicina, la biología, la mineralogía, la geología, la arqueología, el arte y el campo forense, entre otros [5, 6].

Existen algunas técnicas que permiten analizar sólidos directamente: la XRF, que requiere de una fuente de radiación que puede ser un tubo de rayos X, radioisótopos o radiación sincrotrón [7] (dependiendo del espectrómetro de XRF); el análisis de emisión de rayos X inducido por partículas (PIXE, por sus siglas en inglés), que requiere de un acelerador de iones [8] y el análisis instrumental de activación de neutrones (INAA, por sus siglas en inglés), que hace uso de un reactor nuclear [9]. Sin embargo, las dos últimas técnicas son de alto costo de operación, lo que hace que la XRF sea la más versátil y atractiva, ya que permite realizar análisis cualitativos y cuantitativos a muestras sólidas y líquidas en una amplia gama de concentraciones, desde mg/kg hasta niveles de componentes principales expresados en porcentajes. Así mismo, la XRF es una técnica no destructiva que permite el análisis directo de muestras a las cuales no es posible hacer pretratamiento o preparación (objetos preciosos, joyería, artefactos arqueológicos y piezas de arte), ya que permite mantener la integridad de la pieza o muestra analizada.

En la actualidad, existen diferentes tipos de técnicas de XRF, dentro de las que se destaca la fluorescencia de rayos X por dispersión de longitud de onda (WDXRF), la fluorescencia de rayos X por energía dispersiva (EDXRF) y la fluorescencia de rayos X por reflexión total (TXRF). Se han realizado diversos estudios donde se comparan los espectrómetros de los dos primeros tipos de XRF con el fin de determinar el método de dispersión, la resolución, el límite de detección, el tiempo de análisis, la precisión y exactitud, el método de análisis (cualitativo y cuantitativo) de las muestras [10], los elementos que se pueden analizar y sus respectivos límites de detección, los cuales van a depender principalmente del sistema que se utilice. Así, el intervalo de medición elemental para EDXRF va desde sodio (Na) hasta uranio (U), para WDXRF es aún más amplio, desde berilio (Be) hasta uranio (U), y para el caso de la TXRF, que se puede considerar una variedad mejorada de la EDXRF, el intervalo de análisis va desde aluminio (Al) hasta uranio (U).

La naturaleza de las muestras que se pueden medir por WDXRF y EDXRF son muestras líquidas y sólidas, la preparación de muestras sólidas se explica a mayor profundidad en la sección "Análisis por XRF". Para el caso de la naturaleza de las muestras que se miden por TXRF, es importante destacar que se analizan líquidos, polvos y suspensiones, pero que su preparación es diferente a la preparación convencional para muestras que se miden por WDXRF y EDXRF. En TXRF, las muestras se preparan sobre un portamuestras, como una película delgada para el análisis cuantitativo o como un microfragmento para el análisis cualitativo. Para los líquidos, se requiere de unos pocos microlitros de muestra homogénea con un estándar interno que se deposita sobre el portamuestras, posteriormente se

secan por calor o al vacío y se llevan a medición en el espectrómetro [11]. Las muestras sólidas, como el tejido vegetal y las muestras de suelo, primero se secan y se muelen, luego se suspenden en solución detergente, se diluyen y homogeneizan y, por último, se colocan en el portamuestras. Los polvos, sedimentos u otros sólidos pueden digerirse en una solución ácida suave o convertirse en una suspensión antes de colocarse en el portamuestras [12].

Los análisis instrumentales, en términos generales, pueden proporcionar fácilmente un resultado en cualquier condición de la muestra. Sin embargo, un método analítico inadecuado producirá un resultado significativamente erróneo, llevando a los investigadores a una conclusión equivocada. En la XRF, para obtener un resultado confiable, el analista debe optimizar la preparación de la muestra en función de los parámetros de homogeneidad, planitud de la superficie, tamaño de las partículas, espesor y densidad; además, debe establecer correctamente las condiciones de la medición (optimización y validación del método) y realizar el aseguramiento de la validez de los resultados haciendo uso de materiales de referencia certificados (MRC).

En este sentido, esta revisión presenta la preparación de la muestra (homogeneización, tamaño de las partículas, secado, tipo de muestra y espesor) que suele realizarse a diversas matrices (alimentos, alimentos para animales, cementos, suelos, productos farmacéuticos, polímeros, etc.) para la medición por XRF; además, presenta el proceso de medición de muestras típicas como polvos sueltos, polvos prensados y perlas fundidas, así como sus aplicaciones. Por último, se hace un repaso tanto de la determinación por XRF, como de la calibración y la validación para garantizar la fiabilidad del análisis.

## Principio de medición

En la XRF la radiación es de tipo ionizante y es originada por la incidencia de los rayos X que emite una fuente artificial (tubo de rayos X) sobre la superficie de la muestra de análisis, afectando a los electrones de energía más baja, que son los que se encuentran cerca al núcleo, obligándolos a cambiar de orbital, o incluso a abandonar el átomo, debido al aumento súbito de la energía [13]. En seguida, un electrón que está en un nivel externo (más energético) salta hacia un nivel interior o más cercano al núcleo (menos energético), ocupando la vacante que ha sido dejada. Dicho electrón debe perder energía, debido a la modificación de su estado de movimiento y lo hace mediante la emisión de un rayo X característico de elementos químicos irradiados desde la profundidad analítica (profundidad de escape) (figura 1) [14].

En la muestra se generan impulsos por efecto de los rayos X y estos son proporcionales a la energía de los rayos X. El registro de la amplitud del impulso permite crear un espectro de energía en el que se identifica la composición de la muestra, es decir, los elementos que la conforman y la concentración en la que se encuentran, esto se debe a que cada elemento de la tabla periódica genera una radiación característica correspondiente a cada posible salto de nivel de energía [14, 15]. El análisis de esta información también permite determinar la concentración de cada elemento que está presente en la muestra, en función de sus espectros de XRF únicos [16].

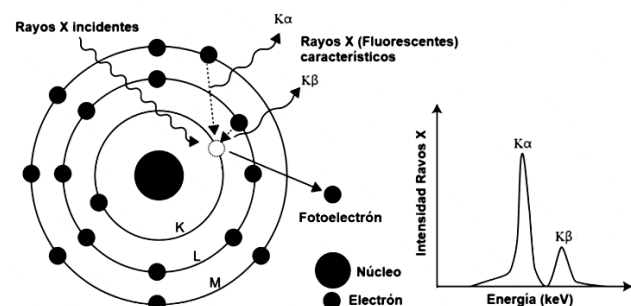


Figura 1. Mecanismo de generación de rayos X característicos. Tomado de [17].



Durante la interacción de los rayos X con la muestra, se pueden presentar, además de la fluorescencia, dos interacciones importantes conocidas como radiaciones dispersivas: el efecto de dispersión de Compton y el efecto de dispersión de Rayleigh.

### Dispersión Compton y Rayleigh

En la dispersión de los rayos X pueden ocurrir dos fenómenos, uno con pérdida de energía (dispersión Compton) y otro sin pérdida de energía (dispersión Rayleigh). En la dispersión Compton, los electrones poco ligados (los de las capas más externas) [18] interactúan con los fotones que, al momento de ser dispersados, tienen menos energía y, por lo tanto, una longitud de onda más larga que el fotón incidente. Debido a la interacción, el electrón recibe algo de energía del fotón y es emitido, mientras que el fotón reduce su energía y se dispersa en un ángulo  $\theta$  (ángulo que se forma entre la trayectoria original del fotón X y la trayectoria del fotón dispersado después de interactuar con un electrón) [19] (figura 2). El fotón dispersado puede provocar más interacciones con otros electrones del átomo y generar fotoelectrones no deseados de menor energía. La dispersión de Compton suele ocurrir cuando las muestras irradiadas tienen composición elemental de bajo número atómico.

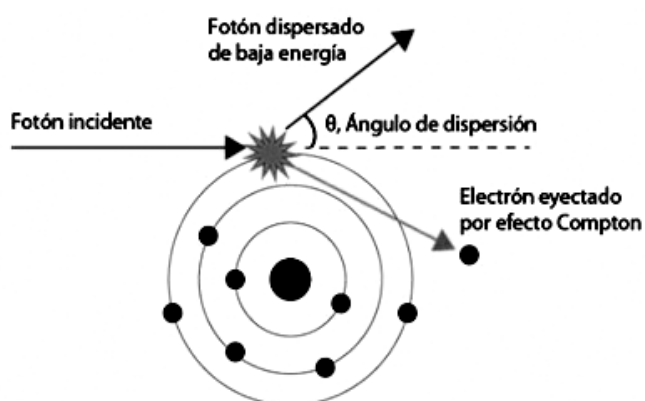


Figura 2. Dispersión Compton. Tomado de [20].

En la dispersión Rayleigh, el fotón incidente interactúa y excita el átomo, pero no se produce ionización ni pérdida de energía. Tiene lugar a bajas energías (< 30 keV) y, por lo tanto, ninguna energía es convertida en movimiento electrónico ni absorbida en el medio [21]. El único efecto que ocurre es la dispersión del fotón en pequeños ángulos respecto a la trayectoria inicial del fotón (figura 3), los rayos X dispersos tienen la misma longitud de onda que el haz incidente. La dispersión Rayleigh es muy probable cuando las muestras irradiadas tienen una composición elemental de alto número atómico.

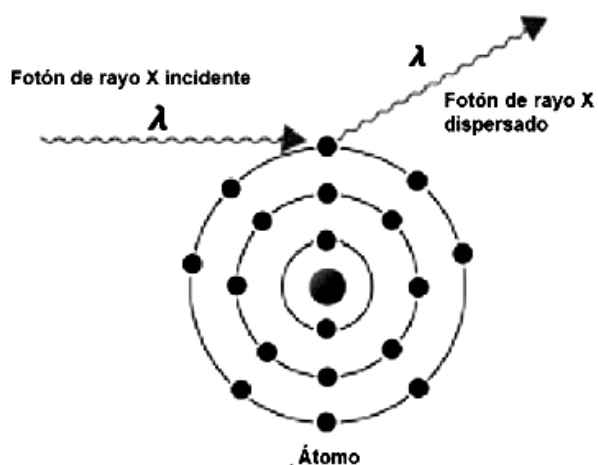


Figura 3. Dispersión de Rayleigh. Tomado de [19].

### Notación de la radiación emitida

Dado que cada átomo posee una estructura de niveles de energía de electrones característica, los fotones emitidos en el llenado de los huecos permiten su identificación, por lo que, dependiendo de

la transición que tenga lugar, se denomina la radiación con las letras K, L o M. Existen formas de nombrar a las líneas de radiación característica, tales como las notaciones Siegbahn e IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada), que son las que más se usan según lo reportado por varias investigaciones. En la notación Siegbahn se identifica cada línea de transición con el símbolo del elemento, el nombre de la capa donde está la vacancia inicial y una letra griega ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) que indica la intensidad relativa de la línea [22]. En la notación Siegbahn no se nombra el nivel del que proviene el electrón que llena la vacancia, en cambio, en la notación IUPAC, la línea es nombrada por el elemento y el nivel donde la vacancia inicial se encuentra, seguido por el nivel del que viene el electrón a llenar esa vacancia. En la tabla 1 se muestran las equivalencias entre las notaciones Siegbahn e IUPAC.

Tabla 1. Equivalencia entre la notación Siegbahn e IUPAC. Tomado de [23].

Línea	Nombre IUPAC	Nombre Siegbahn	Intensidad relativa
K	K- L3	$K_{\alpha 1}$	100
	K- L2	$K_{\alpha 2}$	~ 50
	K- M3	$K_{\beta 1}$	~ 17
	K- M2	$K_{\beta 2}$	~ 8
L3	L3- M5	$L_{\alpha 1}$	100
	L3- M4	$L_{\alpha 2}$	~ 10
	L3- N5-4	$L_{\beta 2,15}$	~ 25
	L3- M1	$L_{\gamma 1}$	~ 5
	L3- N1	$L_{\beta 6}$	~ 1
L2	L3- M4	$L_{\beta 1}$	100
	L3- N4	$L_{\gamma 1}$	~ 20
	L3- M1	$L_{\eta}$	~ 3
L1	L3- O1	$L_{\gamma 6}$	~ 3
	L1- M4	$L_{\beta 3}$	100
	L1- N4	$L_{\beta 4}$	~ 70
L1	L1- M1	$L_{\gamma 3}$	~ 30
	L1- O1	$L_{\gamma 2}$	~ 30
M	M5- N7	$M_{\alpha 1}$	-
	M5- N6	$M_{\alpha 2}$	-
	M5- N6	$M_{\beta}$	-

La figura 4 muestra las transiciones típicas de los electrones para las distintas capas (siendo las más fáciles de detectar en un análisis por XRF las líneas K y L). La línea inferior representa la capa de un átomo y las flechas simbolizan una transición de electrones, acompañada de la formación de una línea de XRF. Por su parte, en la figura 5 se muestra un espectro de unas muestras de lápices de colores irradiadas por rayos X, en la cual se observan múltiples picos de diferentes intensidades, con las respectivas líneas medidas.

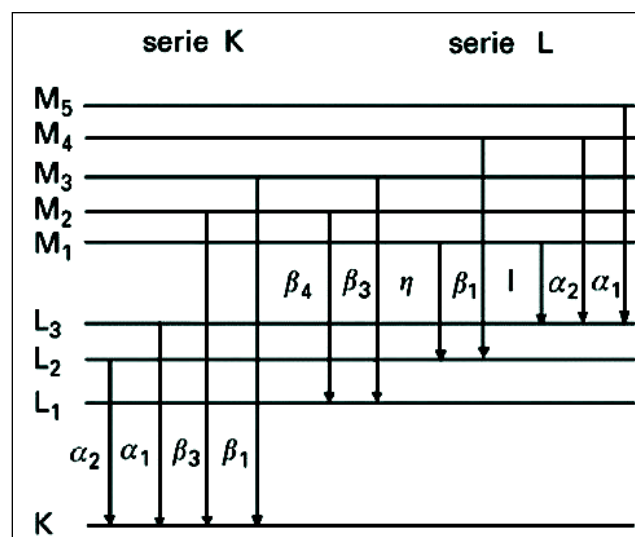


Figura 4. Niveles de energía que indican las transiciones más comunes que se producen en XRF. Tomado de [24].

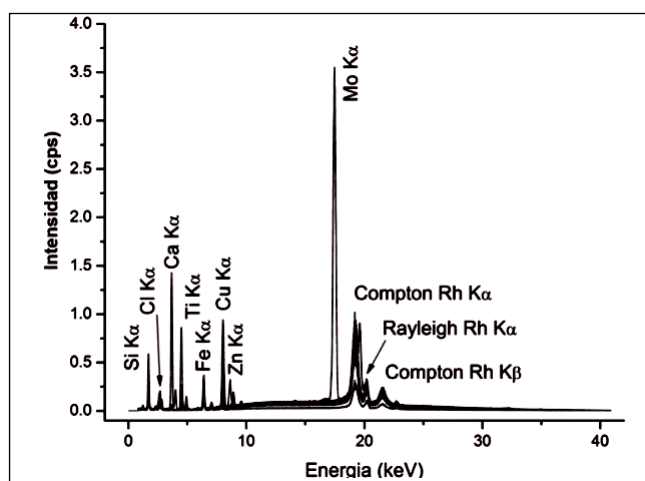


Figura 5. Espectros de XRF de muestras de lápices de colores irradiadas. Tomado de [25].

## Instrumentos de medición

Si bien el fenómeno de la generación de rayos X y su emisión sobre la superficie de una muestra son el mismo en todos los tipos de experimentos de XRF, actualmente se cuentan con diferentes equipos involucrados en el análisis. Los espectrómetros de XRF, en general, están compuestos principalmente por una fuente de rayos X, un compartimiento para la muestra, un sistema de detección y el sistema analizador (figura 6). De acuerdo con el sistema de detección utilizado, es posible clasificar los espectrómetros XRF en WDXRF y EDXRF. De esta última clasificación es posible encontrar equipos mejorados como lo son los espectrómetros de TXRF, que no serán tratados en la presente revisión bibliográfica.

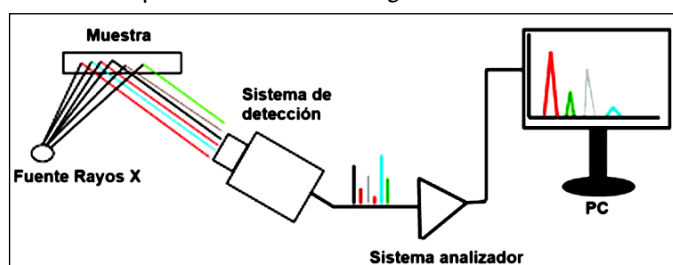


Figura 6. Esquema general de un espectrómetro de XRF. Tomado de [26].

## Espectrómetro de EDXRF

Los espectrómetros de EDXRF consisten, principalmente, en una fuente de excitación (tubos de rayos X de Rh, Mo, W o Gd, tubos refrigerados por aire o radioisótopos como  $^{125}\text{I}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{241}\text{Am}$  o  $^{238}\text{Pu}$ ) [27], un portamuestras, un sistema de detección de rayos X y un sistema de adquisición de datos. Sea cual sea la fuente de rayos X, el principio básico sigue siendo el mismo: los rayos X primarios inciden en la muestra y los fotones fluorescentes emergentes son registrados por un detector de energía dispersiva (detectores semiconductores de Si(Li) o Ge refrigerados y de diodo PIN), el cual, junto con la electrónica asociada, cuenta y clasifica, según la energía, todos los fotones que le llegan [28]. Por lo general, el detector sólo dispone de unos pocos microsegundos para el procesamiento de los fotones, de modo que, en algunos casos, los espectrómetros están equipados con filtros para filtrar una parte de la radiación excitadora y así evitar la sobrecarga del detector. Los fotones que inciden sobre el detector producen una gama equivalente de impulsos de tensión que salen del detector y llegan al analizador multicanal, el cual tiene como función clasificar los pulsos para producir un histograma del espectro de energía de rayos X. Todos los espectrómetros incorporarán algún tipo de computador disponible para la extracción espectral, identificación de picos, análisis cuantitativo y una serie de otras funciones útiles [29].

En los sistemas de EDXRF son posibles dos configuraciones diferentes para excitar la muestra (figura 7). La primera es la excitación

directa, en la que el haz de rayos X apunta directamente a la muestra y la segunda es la excitación polarizada, en la que la radiación procedente de la fuente apunta a un objetivo secundario en un ángulo de  $45^\circ$ , el elemento objetivo se excita y emite radiación en un ángulo de  $90^\circ$  que irradia la muestra [30]. El detector debe estar perpendicular al plano determinado por el tubo, el objetivo y la muestra. El efecto más importante de esta configuración de un espectrómetro de EDXRF es que, al desviar la radiación de rayos X en  $90^\circ$ , la radiación se polariza y se reduce el fondo espectral [31]. Medir las posiciones de los picos espectrales de fluorescencia ayuda a determinar qué elementos se encuentran en la muestra, y mediante una conversión de las intensidades de radiación a la concentración de elementos, es posible realizar una determinación cuantitativa de los mismos [32]. Este último proceso se basa en la relación entre la concentración de analito, los rayos X medidos y la intensidad de la fuente de excitación junto con la composición general de la muestra y sus propiedades de absorción.

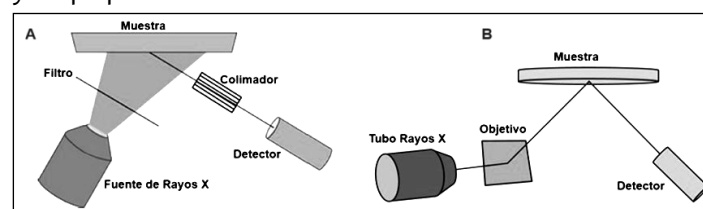


Figura 7. Espectrómetro de EDXRF con A: excitación directa y B: excitación polarizada. Tomada de [33].

## Espectrómetro de WDXRF

Los espectrómetros de WDXRF (figura 8) consisten en un tubo de rayos X, un filtro, la cámara de la muestra, una máscara de la muestra, el sello de vacío, los colimadores, los cristales analizadores, el goniómetro y el detector o detectores. El tubo de rayos X actúa de manera similar a lo explicado para el espectrómetro de EDXRF, se irradia la muestra de manera directa y la fluorescencia que proviene de la muestra es medida con un sistema de detección de dispersión por longitud de onda. La señal que proviene de la muestra pasa por la máscara del espectrómetro, la cual elimina las señales no deseadas, y posteriormente pasa por el sello de vacío, que separa la cámara de la muestra de la cámara del goniómetro. Durante el ingreso de una muestra, el sello se cierra y la cámara del goniómetro permanece en vacío. Así, solo un pequeño volumen de la cámara de la muestra debe evacuarse cuando se van a medir sólidos o inundarse con helio cuando se van a medir líquidos.

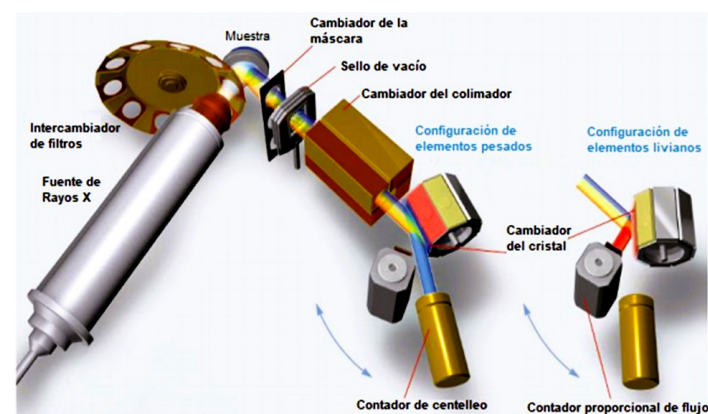


Figura 8. Partes de un espectrómetro de WDXRF. Tomado de [34].

Cuando la señal llega a los colimadores, estos dirigen y canalizan los rayos X policromáticos fluorescentes, provenientes de la muestra, hacia los cristales. Los colimadores pueden mejorar la resolución al restringir los ángulos en los que los rayos X fluorescentes inciden en el cristal y, así mismo, pueden mejorar la sensibilidad al ampliar los ángulos en los que inciden los rayos X sobre el cristal. Los cristales de un espectrómetro WDXRF (tabla 2) difractan los rayos X con diferentes longitudes de onda, como un prisma. El ángulo de inciden-

cia de los rayos X fluorescentes en el cristal de análisis es importante para cumplir la ley de difracción de Bragg (figura 9), ya que, para una longitud de onda determinada, el cristal refleja los rayos X hacia el detector. Para mantener las condiciones geométricas requeridas, se utiliza un goniómetro que tiene como función garantizar que el ángulo entre la fuente y el cristal y entre el cristal y el detector se mantenga igual [35].

Tabla 2. Cristales analizadores usados en WDXRF. Tomado de [36].

Cristal	Nombre del material	2d (nm)
LiF (200)	Fluoruro de litio	0,403
LiF (220)	Fluoruro de litio	0,285
LiF (420)	Fluoruro de litio	0,180
Ge	Germanio	0,653
TIAP	Biftalato de talio	2,576
PET	Pentaeritrato	0,874
XS-B	La/B4C multicapa	19,0
XS-C	TiO2/C multicapa	12,0
XS-N	Ni/BN multicapa	11,0
XS-55	W/Si multicapa	5,5
XS-CEM	Estructura específica	2,75
ADP	Fosfato dihidrógeno de amonio	1,064
InSb	Antimoniuro de indio	0,748

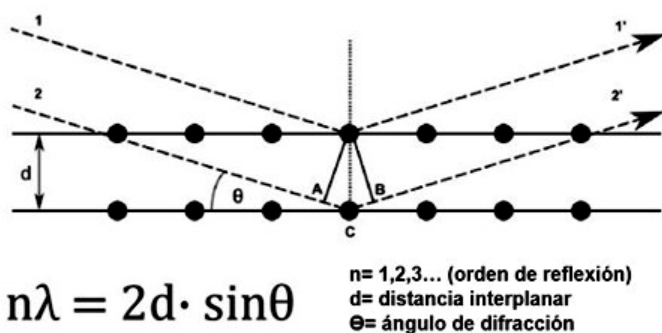


Figura 9. Diagrama de la ley de Bragg. Tomado de [37].

Cuando la señal de los rayos X, que tiene una longitud de onda específica proveniente de los cristales, llega al detector, este la convierte en una intensidad para la muestra analizada. Los detectores más utilizados en los espectrómetros de WDXRF son el contador de flujo proporcional (para medir elementos pesados) y los contadores de centelleo (para medir elementos livianos). Este análisis puede hacerse midiendo la intensidad de los rayos X en diferentes longitudes de onda, una tras otra (secuencial) o en posiciones fijas, es decir, todas al mismo tiempo (simultánea) [38].

### Espectrómetro de XRF portátil

Un espectrómetro portátil de XRF, a veces conocido como pistola XRF portátil (figura 10), se utiliza para determinar la composición química de materiales, especialmente en el control de procesos y calidad en cualquier punto de las operaciones de fabricación, o para analizar chatarra en los puntos de entrega antes de que ingrese a la cadena de suministro [39], o incluso para verificar el peso en quilates y el valor de las joyas de oro. Su importancia radica en que permite el análisis directo de las muestras sin necesidad de realizar ningún pretratamiento de las mismas. Esto hace atractivos a los equipos portátiles para el análisis químico de piezas de arte, mediciones *in situ*, entre otras aplicaciones que requieren de mediciones rápidas y de análisis inmediato de los resultados.

Los espectrómetros de XRF portátiles tienen el mismo principio de funcionamiento que los espectrómetros de EDXRF y WDXRF, solo que manejan una geometría diferente. Consisten básicamente en un tubo de rayos X, un detector, un procesador digital, una CPU,

una pantalla táctil y un puerto USB. En los sistemas portátiles, el tubo de rayos X crea un haz de rayos X con suficiente energía para impactar los electrones en las capas internas de los átomos de una muestra. Luego, el haz de rayos X se emite desde la parte frontal del analizador XRF portátil [40]. El haz de rayos X interactúa con los átomos de la muestra y desplaza los electrones de las capas orbitales internas del átomo; después, la radiación secundaria que emite la muestra es capturada por el detector, que usualmente es de dispersión de energía, el cual transforma esa energía en pulsos electrónicos y los envía al preamplificador. El preamplificador amplifica las señales y las envía al procesador de señal digital (DSP), el cual recopila y digitaliza los pulsos de rayos X y envía los datos espectrales a la CPU principal, allí se procesan los datos espectrales para producir un análisis de composición detallado [41]. Los datos de composición y demás información importante de la medición se almacenan en la memoria del espectrómetro, para recuperarlos o descargarlos posteriormente a una USB externa o pasarlos a un computador.

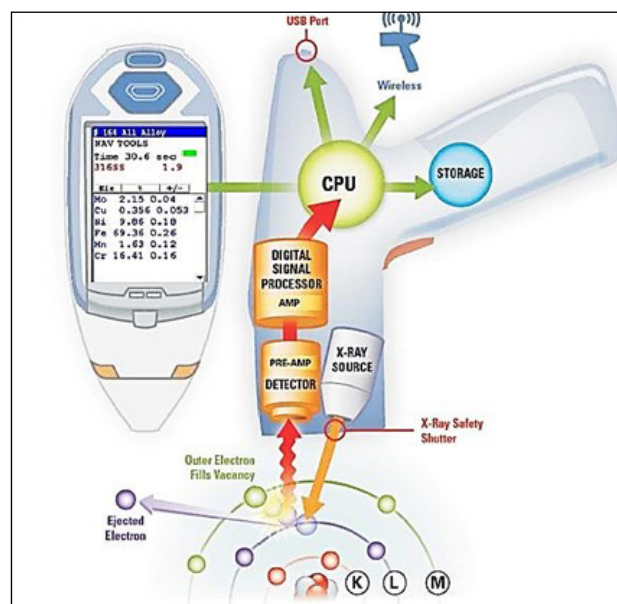


Figura 10. Partes de un espectrómetro de XRF portátil. Tomado de [42].

## Análisis por XRF

### Aspectos de la preparación de la muestra

Las muestras químicamente homogéneas, con una superficie plana, pueden ser analizadas por XRF sin necesidad de un tratamiento previo. Sin embargo, esta muestra ideal es poco común, ya que la mayoría de las muestras sólidas requieren de algún tipo de pretratamiento como pulverización, homogeneización y secado, para posteriormente ser preparadas como polvos sueltos, polvos prensados (pellets) o perlas fundidas, tal como se muestra en la figura 11. En la tabla 3 se presentan varios ejemplos de preparación de muestras como polvo suelto, polvo prensado o perlas fundidas, para diferentes matrices que pueden ser medidas por XRF.

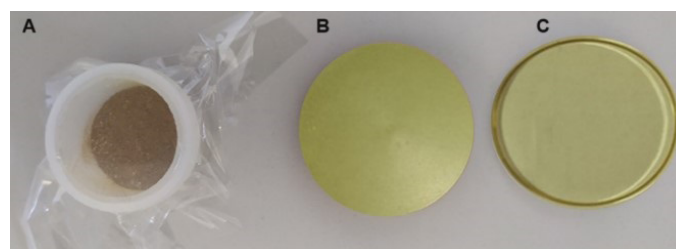


Figura 11. Muestras sólidas para el análisis por XRF. A: polvo suelto, tomado de [51]; B: polvo prensado; y C: perla de fundida. Tomado de [52].

La técnica de preparación de la muestra se selecciona de acuerdo con el propósito analítico y la precisión requerida del estudio. Para determinar la mejor metodología de preparación, se debe tener conocimiento en las técnicas de tratamiento de las muestras (matriz



Tabla 3. Preparación de muestras sólidas en el análisis de fluorescencia de rayos X (XRF) de diversas matrices.

Matriz de análisis	XRF	Método de referencia	Analito	Pretratamiento/preparación de la muestra	Referencia
<b>Alimentos</b>					
Lenteja y sorgo	EDXRF	ICP-MS	Ca, Mn, Fe, Cu y Zn	Medición directa de los granos; m = 5 g	[43]
Frijol y maíz	EDXRF	ICP-MS	Fe y Zn	Molienda y homogeneizado; polvo suelto; m = 5 g	[44]
Productos lácteos	EDXRF	ICP-OES	P, S, Cl, K, Ca, Fe y Zn	Polvo prensado; d = 32 mm; p = 5 t; m = 4 g	[45]
Tubérculos de papa	EDXRF	ICP-OES	Zn y Fe	Liofilizado y molienda; polvo suelto; m = 4 g	[46]
<b>Industria</b>					
Desechos de centrales eléctricas de carbón	WDXRF	-	Na <sub>2</sub> O, MgO, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , SiO <sub>2</sub> , P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , K <sub>2</sub> O, CaO, TiO <sub>2</sub> , MnO, Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> y S	Calcinación 950 °C x 4 h; perla fundida a 1050 °C x 19 min; m = 0,5 g; metaborato de litio = 2,15 g; tetraborato de litio = 5,35 g; fd = 1:15	[47]
	WDXRF	-		Polvo prensado; m = 0,7 g; ag = 0,3 g; p = 14 t	
Muestras geológicas	WDXRF	-	Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Fe, Sr y Mn	Secado a 110 °C; perla fundida a 1100 °C x 20 min; mp = 11 g a 14 g; fd = 3, 4, 6 y 10	[47]
Certificación de materiales de referencia	WDXRF	ICP-MS	Al, Ba, Ca, Br, Cl, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Rb, Si, Sr, Tl, Zr y Zn	Secado; polvo prensado; d = 40 mm; p = 30 t	[48]
Plantas acuáticas	WDXRF	AAS	Mg, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Sr, Pb, Al, Si, P, S y Cl	Lavado, secado y pulverizado; polvo prensado; m = 0,5 g; p = 16 t	[48]
Cemento	WDXRF	-	TiO <sub>2</sub> , P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , Mn <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , SrO, Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> y ZnO	Perla fundida; fd = 1:4, 1:5 y 1:6	[49]
Aleación tungsteno-tantalio	WDXRF	ICP-OES	W y Ta	Fusión con borato a 1050 °C por 12 min; polvo prensado; m = 2 g; metilcelulosa = 2 g como aglutinante	[50]

fd: factor de dilución.  
m: masa de la muestra.  
d: diámetro.  
p: presión de prensado.  
ag: aglutinante.  
mp: masa de la perla.

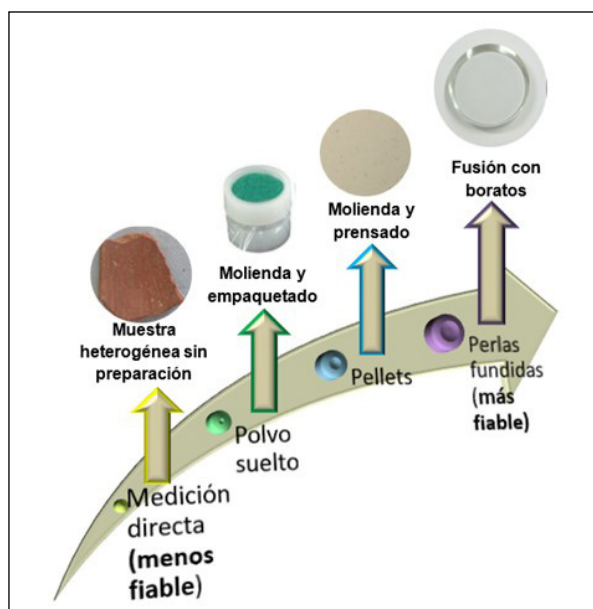


Figura 12. Orden ascendente de fiabilidad en la preparación de muestras para el análisis por XRF. Elaborado a partir de [53, 54].

de análisis), es decir, se debe realizar una optimización de los parámetros de preparación, tales como la cantidad de muestra, la presión, el tiempo de prensado (para los polvos prensados) y el tiempo de fusión (para perlas fundidas), con el objetivo de asegurar que se selecciona el método que da resultados más fiables (figura 12). En este sentido, se debe establecer si una técnica se puede aplicar a diferentes tipos de matrices o si, por el contrario, una matriz de análisis sólo permite una preparación específica de muestra, como en el caso de los aceros, arcillas y cements, cuya preparación más común es la perla fundida, o para algunos alimentos y suelos, cuya preparación es por polvos prensados. Las perlas fundidas son las más homogéneas entre estos tipos de preparación de muestras y son las menos afectadas por el efecto matriz (la absorción y el aumento de los rayos X por parte de los componentes).

### Pretratamiento de la muestra

#### Efecto de la homogenización y el tamaño de partícula

Los materiales sólidos de composición multielemental como suelos, rocas, alimentos, entre otros, presentan, en su mayoría, una morfología heterogénea en cuanto a tamaño, textura y estado en el que se encuentran, por lo que algunos componentes de las

muestras pueden no determinarse con precisión mediante la medición directa por XRF. Estas muestras sólidas heterogéneas requieren una cuidadosa homogeneización, mediante pulverización y mezcla, para convertirlas en un polvo fino que minimice los efectos indeseados y permita el procesamiento de la muestra, ya sea como polvos prensados o perlas fundidas [55]. Para estos casos es común hacer uso de equipos de molienda, como morteros [56] y molinos [57], que son fabricados de diversos tamaños y materiales tales como ágata [58], alúmina, acero [59], carburo de tungsteno, carburo de aluminio [60], circonio, entre otros.

Cuando se utiliza un equipo de molienda (por ejemplo, un molino de bolas), se debe considerar que tanto el material de fabricación de las bolas como la cantidad de muestra que se va a moler sean las adecuadas para evitar contaminación, ya que se podría transferir la composición de las bolas y del molino a la muestra, o puede que la muestra no sea pulverizada adecuadamente. En algunos casos, es mejor realizar este tipo de trituraciones o pulverización en un mortero, para así evitar pérdidas que disminuyan el rendimiento de la molienda; esto dependerá del tipo de muestra, su dureza y la cantidad de muestra que se desee homogeneizar. Para trituración, maceración, molienda u homogeneización en alimentos, se suele hacer uso de los morteros de ágata o de carburo de tungsteno que no son tan agresivos con la muestra, como por ejemplo en el estudio realizado por Jolly *et al.* [61], quienes usaron un mortero de carburo de tungsteno para la molienda de unas muestras de leche previamente calcinadas. En el trabajo de Chubarov *et al.*, utilizaron un mortero de ágata para moler muestras de suelo hasta alcanzar un tamaño de partícula inferior a 75  $\mu\text{m}$  [62].

Para los análisis cuantitativos, se deben mantener las mismas condiciones de pulverización (cantidad de muestra y tiempo de pulverización) tanto para los materiales de referencia (MR) o MRC como para las muestras de concentración desconocida, cuando se identifique que el tamaño de partícula no es el adecuado para las mediciones por XRF. Es muy importante tener en cuenta que los tiempos de pulverización o molienda varían desde segundos hasta minutos y que dependen de la naturaleza de la muestra. La relación entre la intensidad de los rayos X y el tiempo de pulverización es crucial, ya que, a mayor tiempo de pulverización, menor tamaño de partícula y, por lo tanto, mayor intensidad [63]. En el estudio realizado por Morikawa [63], se buscó evaluar la relación entre la intensidad de los rayos X para la línea Si-K $\alpha$  y el tiempo de pulverización para una muestra de dióxido de silicio (SiO $_2$ ) (ver figura 13), la cual fue pulverizada en un mortero de carburo de tungsteno hasta obtener un tamaño de partícula menor a 50  $\mu\text{m}$ . En esta figura se evidencia que, para obtener análisis precisos con esta matriz, el tiempo de pulverización recomendado es de 5 min.

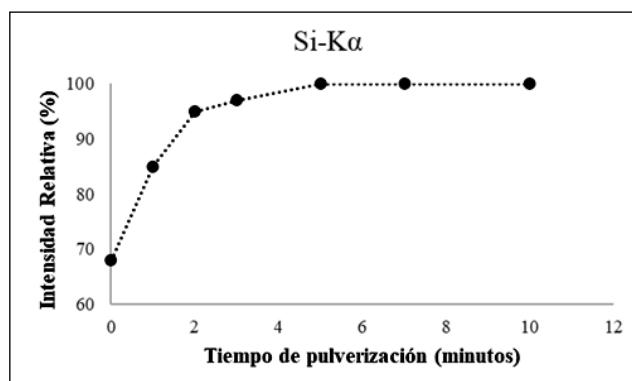


Figura 13. Relación entre el tiempo de pulverización y la intensidad de los rayos X. Elaborado a partir de [63].

Para la homogeneización de una muestra de arroz de marca comercial (de Colombia) realizada en el Instituto Nacional de Metrología (INM), se llevaron a cabo ciertos procedimientos hasta obtener el

tamaño de partícula deseado (< 100  $\mu\text{m}$ ). En primera medida, los granos se molieron en un triturador de comida marca NutriBullet Baby®, donde se obtuvieron tamaños de partícula < 350  $\mu\text{m}$  para la fracción minoritaria y > 500  $\mu\text{m}$  para la fracción mayoritaria (tamiz n.º 45). Se observó que el rendimiento relativo (fracción minoritaria (g)/muestra inicial de arroz (g)) de la primera molienda no fue lo suficientemente alto (< 50%) con este triturador de comida, por lo cual se eligió el molino de impacto de rotor SR300, marca Retsch, para moler 200 g de granos de arroz en un tiempo inferior a un minuto. Con esta molienda se obtuvo un polvo fino, con tamaño de partícula inferior a 100  $\mu\text{m}$  (tamiz n.º 170). Los granos de arroz presentaron un aspecto visiblemente homogéneo después de la molienda (figura 14).

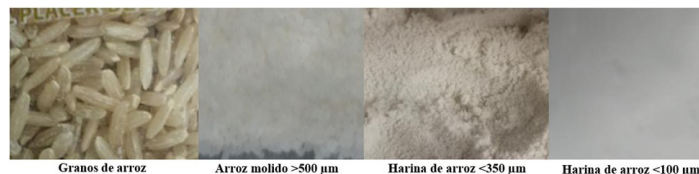


Figura 14. Molienda de muestras de arroz hasta obtener tamaños de grano < 100  $\mu\text{m}$ .

Para determinar la homogeneidad química de las muestras pulverizadas, se debe hacer una estimación experimental a partir de la cantidad total de la muestra de polvo y del volumen de muestreo. Esta homogeneidad puede estimarse de forma sencilla de la siguiente manera: primero, preparar aproximadamente cinco a diez submuestras de la muestra de polvo y analizarlas con un espectrómetro de XRF; a continuación, calcular la variación en los resultados utilizando la desviación estándar relativa (RSD) de la intensidad de los rayos X fluorescentes de cada analito; finalmente, la RSD se compara con la estadística teórica de los rayos X estimada a partir de la intensidad de los rayos X fluorescentes y el tiempo de recuento [64]. De esta manera, será posible evaluar la homogeneidad química de los analitos de interés en la muestra, después de molida o pulverizada, hasta el tamaño de partícula requerido.

En el estudio realizado por Chuparina *et al.*, evaluaron el efecto que tiene la variación del tamaño de partícula en la heterogeneidad de la determinación de óxidos de Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, Mn y Fe en residuos de carbón [47]; la variación de estas desviaciones depende notablemente de la preparación de la muestra y, por lo tanto, del tamaño de partícula (figura 15). En esta figura se muestran tres intervalos de tamaño de partícula donde, para el primer intervalo (125 a 250  $\mu\text{m}$ ), es notable una alta heterogeneidad que resulta de la variedad de tamaños que presentan los óxidos analizados; en el segundo intervalo la heterogeneidad disminuye; y en el último intervalo, cuando la muestra de residuo de carbón se homogeneizó y se preparó con un tamaño de partícula < 50  $\mu\text{m}$ , las variaciones en la RSD disminuyeron en gran medida al controlar mejor el tamaño de la partícula.

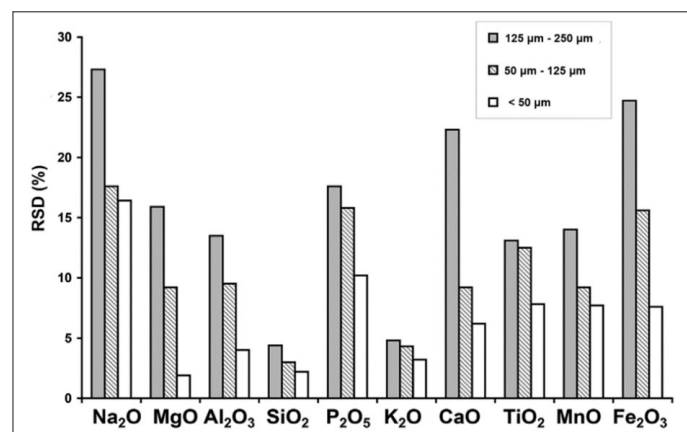


Figura 15. Desviación estándar relativa (% RSD) de la determinación por XRF de óxidos de Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, Mn y Fe en muestras prensadas para diferentes tamaños de partículas. Tomado de [47].

### Efecto del secado y la calcinación

El secado de la muestra de interés, que se desea medir por XRF, es otro de los parámetros que se debe tener en cuenta para obtener resultados confiables. La presencia de agua (humedad) afecta no solo la preparación de los polvos prensados y de las perlas fundidas, sino que, al momento de realizar una medición, disminuye la intensidad de las señales obtenidas por XRF para los analitos y, por lo tanto, el valor medido disminuye [65]. Al preparar un polvo prensado a partir de una muestra húmeda, la muestra se calienta por la irradiación con los rayos X primarios, lo que puede ocasionar que esta se agriete o se rompa; además, el polvo puede estallar cuando se mide bajo una atmósfera de vacío. Por lo tanto, cuando se preparan polvos sueltos y polvos prensados, la muestra se debe secar primero para eliminar humedad.

Las condiciones de secado de una muestra (método, temperatura y tiempo de secado) pueden establecerse de acuerdo con los estudios realizados por otros autores, es decir, lo que reporta la bibliografía; esto incluye implementar las condiciones de secado que se definen en el certificado de un MRC, siempre y cuando la matriz de análisis sea similar a la del MRC. En el INM, para la preparación de polvos prensados de matrices alimenticias como harina de arroz y harina de trigo, se han tomado como referencia el tiempo y temperatura de secado descritos en el certificado del MRC 1568b *rice flour* [66] y del MRC 1567b *wheat flour* [67], respectivamente, secando las muestras en un horno de convección por gravedad marca Binder, a una temperatura de 90 °C durante 2 h. Así mismo, cuando se requieran preparar polvos prensados de un MRC, es necesario seguir las recomendaciones dadas en los certificados para mantener la trazabilidad de las mediciones. Kulail *et al.*, en su estudio para determinar trazas de algunos elementos como Fe, Mn y Co en plantas medicinales, utilizaron el MRC 1573a *tomato leaves* para evaluar la exactitud tanto en términos de veracidad como de sesgo. En este estudio secaron las muestras de hojas de tomate a 60 °C hasta que obtuvieron un peso constante; sin embargo, las condiciones de secado descritas en el certificado del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) dicen que se debe liofilizar el material durante 24 h a un vacío de 13,3 Pa. Los resultados de las mediciones muestran sesgos de 17,91, 12,42 y 25,60% para Fe, Mn y Co, respectivamente [68], que pueden atribuirse a no utilizar las condiciones establecidas por el NIST para el secado del MRC, puesto que los valores medidos por XRF fueron menores a los certificados.

Ahora bien, en algunas situaciones no solo basta con secar la muestra, sino que es necesario utilizar otro pretratamiento como la calcinación, bien sea para concentrar los analitos de interés, eliminar los elementos interferentes o concomitantes de la matriz de la muestra, o para una mejor preparación del polvo prensado. Esto es necesario cuando la muestra es de difícil manejo, por ejemplo, muestras de chocolate. Un ejemplo es el estudio realizado por Chitkara *et al.*, en el cual tomaron 100 g de una barra energética con chocolate y la dispusieron en crisoles para ser sometida a calcinación en una mufla a una temperatura de 500 a 600 °C. Posteriormente, la ceniza se dejó enfriar en la mufla durante 24 a 30 h hasta que alcanzó la temperatura ambiente, para luego preparar un polvo prensado [69].

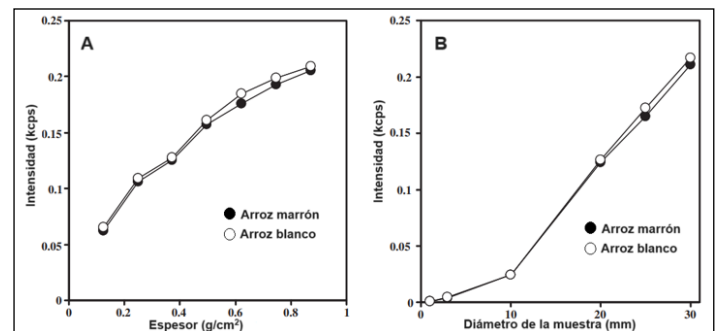
Para la preparación de perlas fundidas, la muestra se usa comúnmente calcinada, para eliminar elementos volátiles que pueden ocasionar que se agrieten, se rompan o desvitrifiquen las perlas fundidas. También se calcina la muestra para oxidar materiales reductores, presentes en ciertos metales como el azufre, que de una u otra manera pueden dañar el crisol de Pt-Au en el proceso de fusión [70]. En la industria del cemento, es muy común preparar perlas fundidas para los análisis por XRF. Tal es el caso del trabajo de grado realizado por Venegas, quien para la elaboración de perlas fundidas de cemento calcinó 1 g de cada muestra en un crisol de titanio por

10 min, en una mufla a 1000 °C, determinó la pérdida por ignición y realizó el cálculo de la relación ceniza/fundente, necesario para preparar la perla fundida [71].

### Efecto del espesor y del diámetro de la muestra

El espesor de la muestra (masa por unidad de superficie) es un factor importante para el análisis confiable por XRF, es importante que las muestras tengan un espesor adecuado para evitar errores analíticos derivados de los efectos de absorción de la muestra. Cuando se analizan rayos X fluorescentes de alta energía de elementos pesados, en muestras que contienen elementos ligeros, la profundidad analítica puede superar el espesor de la muestra [72]. En este caso, el espesor se vuelve incluso más importante que el tamaño de las partículas, porque la intensidad de los rayos X fluorescentes aumenta con el espesor hasta la profundidad analítica. El problema de la profundidad analítica respecto al espesor de la muestra se produce con frecuencia en los siguientes análisis: 1) muestras compuestas principalmente por elementos ligeros con pequeños coeficientes de absorción de masa; 2) rayos X fluorescentes de alta energía como los espectros K de elementos pesados; 3) muestras de baja densidad como polvos sueltos, y 4) muestras delgadas. Respecto al diámetro de la muestra, también es un parámetro que influye en las intensidades de los rayos X fluorescentes de forma similar al espesor de la muestra [73].

En el estudio realizado por Inui *et al.*, se evaluó la relación que hay entre las intensidades de los rayos X fluorescentes y el espesor, utilizando granos de arroz blanco y marrón que contenían 10 mg/kg de Cd. La **figura 16** muestra la variación de la intensidad de Cd-K $\alpha$  según el espesor de la muestra. Los autores concluyeron en su estudio que las intensidades de Cd-K $\alpha$ , en los granos de arroz blanco y marrón, aumentaron gradualmente con el aumento del espesor de la muestra, hasta 0,87 g/cm (utilizando 7 g de muestra) [74]. De igual manera, ellos evaluaron en su estudio el efecto del diámetro de la muestra, variaron el diámetro del colimador de 1 a 30 mm y observaron que, cuando el diámetro del colimador era inferior a 10 mm, la intensidad del Cd-K $\alpha$  era débil, causando un % de RSD entre el 15 y el 5%. Para diámetros superiores a 10 mm, observaron un incremento directamente proporcional con las intensidades de la línea de emisión del Cd, tal como se muestra en la **figura 16**, por lo que los autores concluyeron que el diámetro óptimo de la muestra y, por ende, del colimador es de 30 mm, ya que consiguieron intensidades más altas, así como % de RSD más bajos (inferiores al 2%).



**Figura 16.** Variaciones de las intensidades de rayos X fluorescentes de Cd-K $\alpha$  en el grano de arroz marrón y en el grano de arroz blanco con A: el espesor de las muestras y B: el diámetro de la muestra. Tomado de [74].

## Preparación de las muestras antes de la medición

### Medición directa

La medición directa puede ser utilizada en el análisis de algunas muestras sólidas, especialmente cuando la muestra no debe ser destruida. Por ejemplo, el hierro, el acero y sus aleaciones pueden analizarse de forma no destructiva mediante mediciones directas por XRF para el control de procesos y la clasificación de productos [75]. En Japón, las normas industriales especifican que el pretrata-



miento y el análisis de muestras del hierro, el acero y sus aleaciones se miden directamente por XRF [76, 77].

Por simplicidad y conveniencia, la selección y los análisis *in situ* suelen realizarse mediante medición directa por XRF, sin que se prepare la muestra. Por ejemplo, los constituyentes metálicos peligrosos en suelos [78], en plásticos [79] y en componentes electrónicos [80] se analizan normalmente por medición directa. De igual manera, objetos preciosos y joyería, artefactos arqueológicos y piezas de arte (figura 17) suelen analizarse de forma no destructiva mediante XRF (incluyendo los dispositivos portátiles) [81, 82].

La medición directa de las muestras en XRF no solo se aplica en los casos mencionados anteriormente, también ha sido implementada en el análisis de alimentos. Autores como Inui *et al.* han realizado análisis de muestras de granos de arroz por WDXRF por medición directa, donde buscaban determinar la concentración de cadmio en las muestras de arroz [74].



Figura 17. Medición de piezas de arte con un espectrómetro de EDXRF portátil. Tomado de [83].

### Polvo suelto

Para el análisis de muestras que deben recuperarse después de la medición, o muestras en polvo como el grafito y la mica, que son difíciles de preparar en polvos prensados (incluso utilizando aglutinantes), la muestra puede medirse en atmósfera de vacío por el método de polvo suelto, así mantiene su condición original, sin necesidad de alta presión ni un proceso de fusión. El análisis de material en polvo suelto generalmente requiere que la muestra se coloque en una copa para muestras líquidas con una película como soporte (Prolene, PP Mylar®, entre otros) (figura 18). Esto asegura una superficie plana para que la muestra sea irradiada con los rayos X. Cuanto más pequeño es el tamaño de partícula de la muestra (< 100  $\mu\text{m}$ ), más probable es que sea homogénea y que los espacios vacíos sean limitados, esto permite hacer una medición directa del polvo sin necesidad de preparar un *pellet* o una perla. Para ello se debe usar suficiente muestra en polvo, esto asegura que se obtenga un espesor infinito para todos los elementos de interés. Este requisito se puede cumplir utilizando 15 g de muestra para la mayoría de los materiales [84].

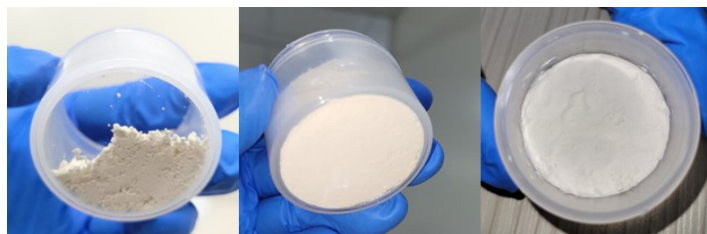


Figura 18. Preparación de una muestra de polvo suelto de harina de arroz para el análisis por XRF.

Los polvos sueltos tienen varias desventajas que requieren atención. En primera medida, hay que tener en cuenta que los rayos X fluorescentes de menor energía (especialmente de elementos como Na, Mg, etc.) son absorbidos considerablemente por la película o film y, por lo tanto, disminuye su intensidad (figura 19) [81]. Esta absorción de rayos X podría corregirse, en cierta medida, con un cálculo teórico, utilizando parámetros como la composición elemental, el espesor de la película (tabla 4), entre otros. En segundo lugar, la reproducibilidad en la preparación de muestras en polvo suelto no es tan alta en comparación con la del método de polvo prensado [85], esto se debe a que las densidades de empaquetado son varia-

bles y las superficies analíticas son gruesas. En tercer lugar, el resultado analítico puede ser poco fiable cuando los polvos y los granos tienen composiciones elementales heterogéneas.

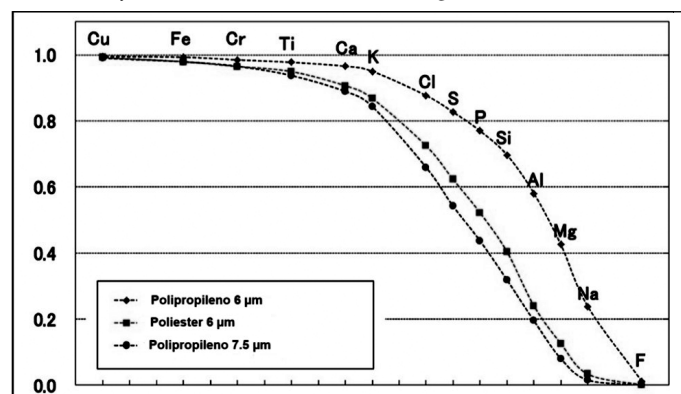


Figura 19. Índices de transmisión de rayos X de varias películas usadas en la preparación de polvos sueltos. Tomado de [86].

Tabla 4. Lista de películas poliméricas más usadas en preparación de polvos sueltos. Tomado de [87].

Nombre	Espesor ( $\mu\text{m}$ )
Ultra-Poliéster	1,5
Mylar®	2,5
Mylar®	3,6
EntonProlene®	4,0
Polipropileno	6,0
Kapton	7,5
Polipropileno	12,0
Polipropileno	6,0
Poliéster	6,0

Mylar y Kapton: marca registrada por Du Pont, EE. UU.  
Prolene: marca registrada por Chemplex, EE. UU.

### Polvos prensados

Los polvos prensados son una preparación relativamente sencilla, que busca moldear y prensar un polvo fino. La muestra en polvo se ubica en una matriz de compactación, posteriormente se somete a presión y así se obtiene la muestra prensada (figura 20). La facilidad de compactación de la muestra depende de sus características, del tamaño de partícula, del tiempo de prensado y de la presión de compactación.

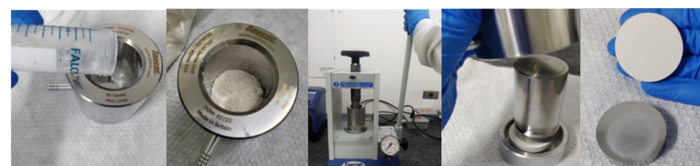


Figura 20. Esquema general de la compactación de una muestra de harina de arroz utilizando una prensa manual.

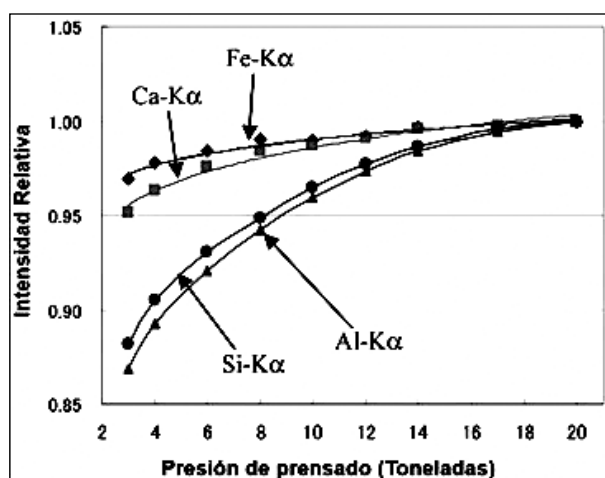
La preparación de una muestra en polvos prensados es más rigurosa que verter polvos sueltos en una copa para muestra, pero es muy recomendada porque los resultados son más precisos y reproducibles; esto se debe a que las partículas son más uniformes en tamaño y forma, lo que garantiza que, durante la compactación, el polvo se distribuya uniformemente y se obtenga una superficie adecuadamente plana. Adicionalmente, el prensado mejora la durabilidad de la muestra, lo que permite la medición de rayos X fluorescentes de baja energía de elementos ligeros en condiciones de vacío.

La preparación de polvos prensados requiere una atención considerable al tamaño heterogéneo de las partículas y a la composición química de la muestra, ya que utilizar tamaños de partícula mayores a 100  $\mu\text{m}$  [88] podría causar variaciones en la intensidad de los rayos X fluorescentes, lo que llevaría a resultados erróneos, tal como

se mencionó en la sección “Efecto de la homogenización y el tamaño de partícula”. Para asegurar una alta precisión y reproducibilidad, la homogeneidad de la muestra pulverizada debe ser examinada adecuadamente, especialmente cuando se determinan elementos ligeros con poca profundidad analítica. Además, antes de la preparación, el polvo debe secarse para eliminar los componentes húmedos y volátiles, como se describe en la sección “Efecto del secado y la calcinación”; si se omite este paso, el polvo prensado puede resultar dañado durante la medición por XRF.

Los polvos, que son difíciles de compactar por sí solos, requieren del uso de un aglutinante para facilitar la compactación. Medir una muestra que no está lo suficientemente compacta puede generar que las partículas del polvo fino se desprendan y contaminen la cámara de la muestra del espectrómetro, especialmente si la medición se realiza en el modo de vacío. Los polvos cuyas partículas tienen forma esférica, como el  $\text{SiO}_2$  o las cenizas, son difíciles de prensar y la proporción de la mezcla muestra-aglutinante suele ser de 10:1 o 10:2. Es muy importante determinar la pureza del aglutinante, ya que hay que seleccionar un aglutinante que no incluya los elementos que se van a analizar. Los más utilizados son la cera [89], los polvos a base de poliestireno, los polvos de ácido bórico [90] y la celulosa [91].

Como se mencionó anteriormente, la presión de compactación es una variable a tener en cuenta en la preparación de polvos prensados, esto se debe a que la intensidad de los rayos X cambia en función de esta variable. La **figura 21** muestra la relación entre la presión de compactación y la intensidad de los rayos X para una muestra de cemento. En este gráfico se evidencia que la intensidad de los rayos X aumenta con la presión aplicada, debido a que aumenta la densidad de la muestra. Por encima de una determinada presión, la intensidad de los rayos X se satura. Los errores debidos a este efecto pueden minimizarse manteniendo constantes la cantidad de muestra y la presión de compactación para cada polvo prensado que se prepare. Para obtener resultados reproducibles, lo más recomendado es que la muestra se compacte a la presión en la que se satura la intensidad de los rayos X [92].



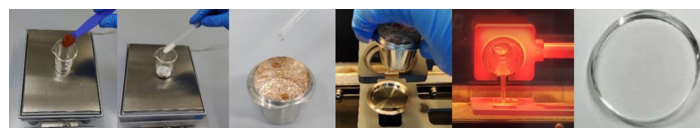
**Figura 21.** Relación entre la presión de compactación y la intensidad de los rayos X en una muestra de cemento. Elaborado a partir de [92].

### Perlas fundidas

La preparación en general de muestras por perlas fundidas (**figura 22**) se realiza de la siguiente manera: inicialmente se pesa la muestra, finamente pulverizada y seca, junto con el fundente (por ejemplo, tetraborato de litio [93], metaborato de litio, o una mezcla de metaborato y tetraborato). En algunas situaciones se pesa un agente oxidante, si las muestras a fundir presentan alto contenido de carburos, sulfuros o metales y se llevan a oxidar entre 600 a 800 °C. Una vez pesada la muestra y los reactivos involucrados durante la fusión, se transfieren al crisol donde ocurrirá la fusión. Se deben

mezclar muy bien, de manera manual, la muestra y los reactivos antes de la fusión, además de añadirse un agente liberador (como el yoduro de litio [94], el bromuro de litio [95] o el cloruro de litio, que se añade en cantidades menores al 1% en masa) para facilitar la extracción de la perla del molde.

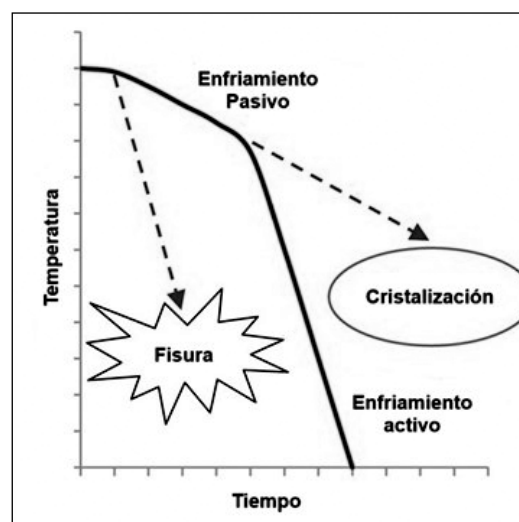
En matrices como el cemento y la piedra caliza, el  $\text{CaO}$  de la muestra puede estar presente como  $\text{CaCO}_3$ , por lo que se debe llevar a cabo una calcinación de la muestra a 800 °C antes de la fusión, debido a que el aumento repentino de la temperatura puede generar la formación de una espuma (liberación de  $\text{CO}_2$ ) causada por la reacción química  $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$ . La calcinación reduce el riesgo de sobreflujo de la muestra y de que quede aire atrapado dentro de las perlas fundidas. Las cenizas obtenidas son utilizadas para la preparación de las perlas fundidas.



**Figura 22.** Proceso de preparación de una perla fundida.

Para llevar a cabo la fusión, la mezcla se funde a altas temperaturas (1000 a 1200 °C) en un crisol de Pt-Au [96], el cual se mantiene inmóvil hasta que la mezcla se funde. Entre mayor sea la temperatura aplicada, mayor será la fluidez durante la fusión, pero esto puede aumentar la volatilización del fundente y de los analitos, además de disminuir la vida útil del crisol. Si se mantiene fijo el tiempo de fusión, la volatilización del fundente es constante y, por lo tanto, puede ignorarse su efecto. Sin embargo, para minimizar la variación en la volatilización de la muestra debida a diferencias en la composición de la muestra, es aconsejable fundir a temperaturas más bajas [97].

Una vez fundida la muestra, el crisol empieza a sufrir pequeños movimientos para homogeneizar el líquido y eliminar las burbujas de aire. Es importante enfriar la muestra fundida manteniendo sus propiedades vítreas, ya que un enfriamiento rápido puede hacer que la muestra se agriete, mientras que un enfriamiento demasiado lento puede provocar la cristalización. Por ello, se recomienda un enfriamiento lento pasivo al inicio, seguido de un enfriamiento activo [98]. El tiempo de enfriamiento variará en función de la muestra, el tipo de fundente y la proporción de dilución. La **figura 23** ilustra el tiempo de enfriamiento de la muestra.



**Figura 23.** Efecto del tiempo de enfriamiento en la calidad de una perla fundida. Elaborado a partir de [98].

El producto vítreo se desmolda del crisol después de que se enfría a temperatura ambiente y, posteriormente, se envuelve en papel de parafina y se mantiene en un desecador a temperatura ambiente [96]. La cantidad de muestra utilizada durante la preparación de

una perla fundida depende del tamaño del crisol y del factor de dilución establecido para los analitos que interesa medir. Así mismo, el rendimiento de la fusión depende de la relación muestra-fundente y de la composición de la muestra, por lo que utilizar factores de dilución muy bajos (1:1 o 1:2) o extremadamente altos (1:300) afecta negativamente el rendimiento de la fusión. El efecto matriz (efecto de absorción y realce) puede reducirse considerablemente si se realiza una mayor dilución de las muestras; no obstante, la determinación de elementos menores o trazas se hace más difícil. Diversos estudios han utilizado varias relaciones de dilución según los fines analíticos, por ejemplo, alrededor de 1:10 [99] de dilución para los óxidos principales, alrededor de 1:5 [100] de dilución para elementos mayoritarios y minoritarios y alrededor de 1:1 de dilución para los componentes traza. En la **tabla 5** se muestra el efecto del factor de dilución con respecto a la intensidad de los rayos X fluorescentes para líneas de emisión del Si-  $K\alpha$ , Ca-  $K\alpha$ , Ti-  $K\alpha$  y Fe-  $K\alpha$  [101].

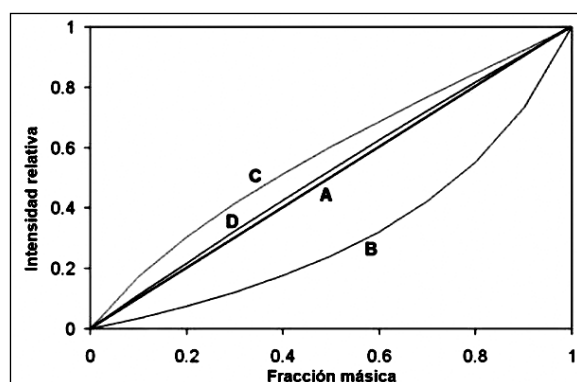
**Tabla 5.** Relación entre la dilución y la intensidad relativa de los rayos X. Tomado de [101].

Factor de dilución	Intensidad relativa			
	Si- $K\alpha$	Ca- $K\alpha$	Ti- $K\alpha$	Fe- $K\alpha$
1	62	78	91	92
2	45	64	83	85
5	24	42	67	70
10	14	27	50	54
20	7,4	15	33	38

### Análisis cuantitativo

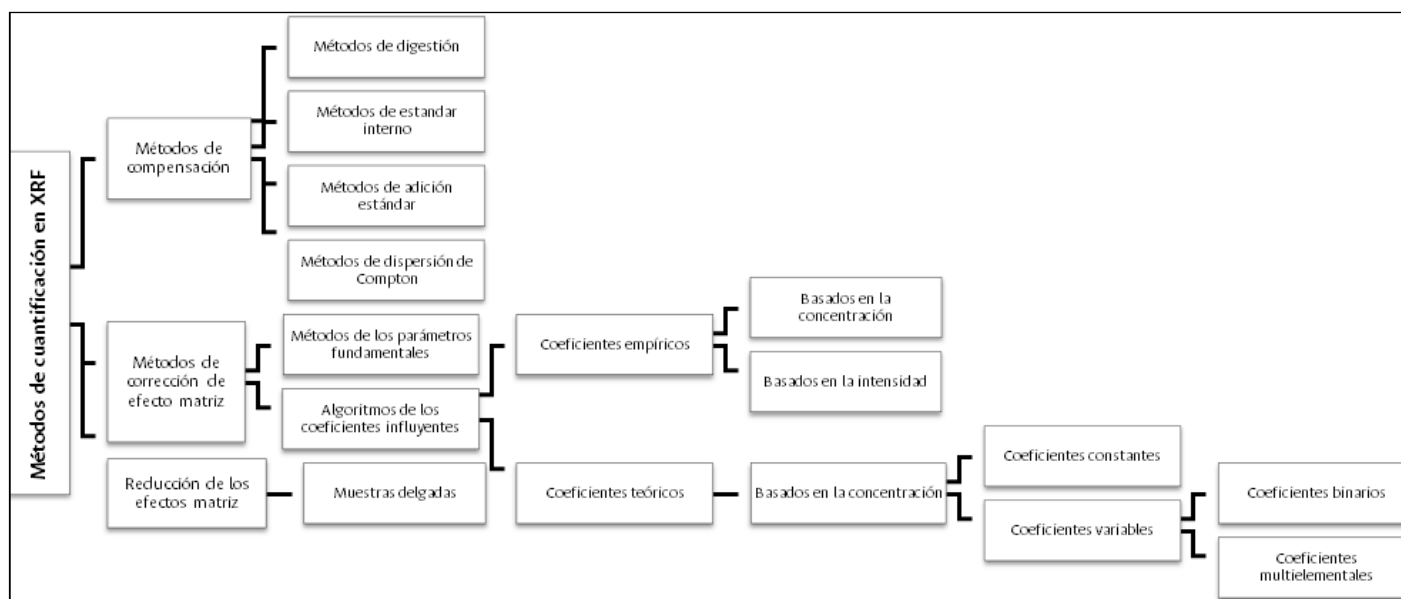
La XRF está sujeta a importantes efectos matriz, que deben tenerse en cuenta cuando se lleve a cabo un análisis cuantitativo. El efecto matriz puede deberse a diferencias físicas en la muestra, lo que ocasiona tanto efectos de absorción como de realce, los cuales afectan la magnitud de la señal del analito [102]. En la **figura 24** se muestra un ejemplo del efecto matriz que sufre el Fe en diferentes matrices binarias. Cuando los efectos de la matriz son insignificantes o constantes, se obtiene una relación lineal entre la intensidad de la radiación y la fracción másica del analito (curva A). La curva B se obtiene cuando los elementos de la matriz en la muestra absorben la radiación en mayor proporción que el analito (absorción positiva), por ejemplo, en binarios como FeCr, donde el Cr absorbe en mayor medida la radiación en comparación con el Fe, por lo que se obtiene un comportamiento similar al de la curva B. La curva C muestra un efecto de aumento en la intensidad del analito, por ejemplo, en el

caso de la determinación de Fe en binarios como FeNi, donde la presencia del Ni en la matriz realza la intensidad del Fe. Por último, la curva D muestra cuando el elemento matriz de la muestra absorbe la radiación en menor medida que el analito (absorción negativa), por ejemplo, en binarios como FeMn, donde el Mn no causa un efecto significativo sobre el Fe, por lo que se puede presentar un comportamiento un poco similar al de la curva A [103].



**Figura 24.** Relación entre la intensidad de la radiación de Fe y la fracción en peso de Fe. Curva A: efecto despreciable, curva B: FeCr, curva C: FeNi y curva D: FeMn. Tomado de [103].

En el análisis cuantitativo por XRF, la intensidad de la señal característica va a depender de factores como el tipo de muestra, su preparación, la matriz de la muestra, la rugosidad de la muestra, la superficie irradiada, el flujo, la distribución espectral, la geometría del espectrómetro, entre otros. La interpretación de estas señales se logra utilizando métodos teóricos, los cuales se basan en modelos matemáticos que involucran parámetros físicos como coeficientes de atenuación, probabilidad de transición, procesos de excitación y relajación, etc. [104]. Los métodos más utilizados en el análisis cuantitativo pueden dividirse en tres categorías: métodos de compensación, métodos de corrección y métodos de reducción de los efectos de matriz (**figura 25**). En los métodos de corrección de matriz, la mayor parte de las variables involucradas durante el proceso de excitación se calculan teóricamente y otras de manera experimental. Con el avance de la tecnología en los últimos años, los métodos teóricos (parámetros fundamentales) y el método de los coeficientes influyentes se han convertido en los más utilizados en el análisis por XRF. Los métodos de reducción de los efectos de matriz buscan la disminución de los efectos de reforzamiento y absorción y esto se logra preparando la muestra con un espesor muy fino (películas delgadas), así, los efectos de matriz se vuelven despreciables [105].



**Figura 25.** Clasificación general de los métodos aplicados en el análisis cuantitativo por XRF. Elaborado a partir de [105].

Los dos métodos más eficaces para corregir los efectos de matriz son los algoritmos de los coeficientes influyentes y el método de los parámetros fundamentales. Dado que las concentraciones de elementos presentes en un espécimen son bastante difíciles de cuantificar con certeza, para los métodos presentados a continuación se puede suponer que las muestras son homogéneas, tienen una superficie plana y pulida y un espesor infinito con respecto a la radiación incidente y a las emisiones del XRF [106].

### Método de parámetros fundamentales

El método de parámetros fundamentales, empleado para la cuantificación en XRF, es único porque se basa en la relación teórica entre las intensidades de los rayos X y las concentraciones de los elementos en la muestra, sin el uso de estándares [107]. Esta relación teórica se basa en la física de los rayos X y en los valores de los parámetros atómicos fundamentales de la región de rayos X del espectro electromagnético [108].

### Algoritmo de los coeficientes influyentes

El método de los coeficientes influyentes se basa en coeficientes numéricos que corrigen el efecto de cada elemento de la matriz sobre el elemento a determinar (analito) en una muestra dada. Los coeficientes de influencia pueden clasificarse en dos categorías: empíricos y teóricos. En el enfoque multielemental, los coeficientes empíricos se obtienen a partir del análisis de regresión lineal múltiple, utilizando intensidades medidas y composiciones de materiales de referencia multielementales. Por otra parte, los coeficientes empíricos se calculan una vez para un conjunto determinado de materiales de referencia y pueden corregir otros efectos de interferencia como los efectos del tamaño de las partículas, los efectos mineralógicos y los efectos de la rugosidad de la superficie, así como el conocimiento deficiente de la composición de los materiales de referencia y la preparación deficiente de las muestras [109].

### Validación del método

La validación es importante para garantizar la fiabilidad de un método analítico, incluida la preparación de la muestra y el método de cuantificación [110]. La validación busca garantizar que un método analítico genera resultados confiables bajo las condiciones de trabajo del laboratorio. El Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) define la validación como una “verificación, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto”, entendiéndose que la verificación es el proceso de presentar de manera objetiva la evidencia de que se cumplen unos requisitos específicos [111]. En los análisis por XRF, los parámetros de validación que más reportan los autores en sus estudios son el límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ) y la exactitud, aunque no se puede dejar de lado que existen otros parámetros importantes como linealidad, selectividad y robustez. A continuación, se describen estos parámetros teniendo en cuenta su definición en el VIM, la Eurachem y la ISO 3534, esto con el fin de aclarar algunos conceptos inequívocos que se utilizan en lo referente a estos parámetros. De igual manera, se describe la forma de evaluarlos y se presentan ejemplos aplicados en XRF por algunos autores.

### Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ)

El VIM define el LOD como “el valor medido, obtenido mediante un procedimiento de medición dado, con una probabilidad  $\beta$  de declarar erróneamente la ausencia de un constituyente en un material, dada una probabilidad  $\alpha$  de declarar erróneamente su presencia” [111]. De esta definición se destaca que se hace referencia a un valor medido y, para evaluar los límites de detección, se debe realizar su confirmación mediante mediciones y no solo estimarlo.

En los espectrómetros de XRF, el LOD puede alcanzar valores de aproximadamente 0,2 mg/kg; no obstante, este va a depender de

varios factores como, por ejemplo, la preparación de la muestra, el tiempo de medición, la matriz de la muestra y la presencia de elementos de interferencia [112]. En la Ec. (1) se muestra una manera de calcular el LOD del elemento de interés:

$$\text{LOD} = \frac{3,3\sigma}{m} \quad (1)$$

dónde LOD es el límite de detección del elemento objetivo,  $m$  es la pendiente de la curva de calibración y  $\sigma$  es la desviación estándar de mediciones para una muestra ( $N-1$ ) [113].

Por otro lado, el LOQ se define como la cantidad mínima de analito que puede ser cuantificada con un desempeño aceptable [114]. La estimación del LOQ de manera experimental se lleva a cabo de acuerdo con la mayoría de las convenciones: la desviación estándar obtenida ( $\sigma$ ) a niveles bajos multiplicada por un factor  $k_Q$  que puede ser igual a diez. También es posible calcular el LOQ con cualquiera de los métodos empleados para el cálculo del límite de detección, pero en lugar de multiplicar por tres se debe multiplicar por el factor  $k_Q$  mencionado anteriormente, como muestra la Ec. (2):

$$\text{LOQ} = \frac{10\sigma}{m} \quad (2)$$

donde, al igual que en la Ec. (1),  $m$  es la pendiente de la curva de calibración y  $\sigma$  es la desviación estándar de mediciones para una muestra.

Por último, de acuerdo con la guía para la validación de métodos en análisis químico cuantitativo, publicada por el INM, es válido tomar el límite inferior del intervalo de trabajo como el límite de cuantificación [115].

En la **tabla 6** se muestran valores del LOD calculados para un método de medición de leche en polvo por WDXRF, los cuales fueron calculados por Fernandes *et al.* [116] utilizando las Ec. (1) y (2). De los datos reportados por los autores, se tiene que los límites de detección de los metales incluidos en este estudio estaban en el intervalo de 0,2 a 1,8 mg/kg, excepto para el Al, para el que se estimó un LOD de 7,0 mg/kg. Los resultados del límite de cuantificación variaron considerablemente desde Cu, donde el LOQ se estimó desde 0,6 hasta 21,2 mg/kg.

**Tabla 6.** Valores de los límites de detección y cuantificación obtenidos durante la validación del método de WDXRF para análisis de leche en polvo. Tomado de [116].

Elemento	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Al	7,0	21,2
Cu	0,8	2,4
Fe	1,8	5,5
Zn	0,2	0,6

### Exactitud: veracidad y precisión

El VIM define la exactitud “como la proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando” [111]. Sin embargo, conocer el valor verdadero del mensurando en la práctica no es posible. De igual manera, la ISO 3534 define la exactitud “como la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado” [117]. Cuando este término se aplica a resultados de medición, se involucra la combinación de errores aleatorios y errores sistemáticos o sesgo. De acuerdo con lo anterior, para evaluar la exactitud se estiman los errores sistemáticos y aleatorios de los resultados en varias mediciones, los cuales están representados por los parámetros de veracidad y precisión, respectivamente. En la **figura 26** se presenta un esquema que muestra la relación que existe entre la exactitud, los tipos de errores y los parámetros del método [118].



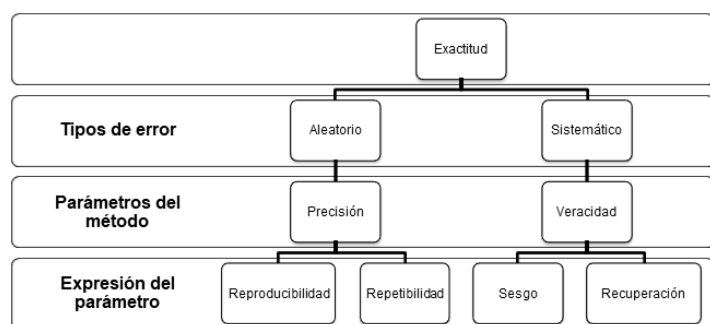


Figura 26. Determinación de la exactitud de un método de medición. Tomado de [118].

Para realizar la validación de estos parámetros (precisión y veracidad) en XRF, es importante tener clara la definición de cada uno. Para hablar de precisión, el VIM la define como “la proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones específicas” [111]. Por lo tanto, se deben tener en cuenta una serie de criterios para la validación de la precisión, tales como [115]:

- Realizar un mínimo de diez réplicas instrumentales.
- Expresarla como una medida de dispersión (desviación estándar o desviación estándar relativa).
- Evaluarla bajo condiciones específicas como repetibilidad y reproducibilidad.

La precisión, en condiciones de repetibilidad, busca determinar la dispersión del método manteniendo condiciones repetibles de medición: muestras idénticas y homogéneas, mismo laboratorio, mismo analista y mismo equipo en intervalos de tiempo cortos. La precisión como reproducibilidad se entiende como la máxima dispersión del método en condiciones en las que los resultados de medición se obtienen de muestras idénticas, pero que se realizan en diferentes laboratorios, con diferente analista, diferentes equipos y durante un intervalo de tiempo en el que se pueden presentar diferencias entre los materiales y equipos, ocasionando la máxima dispersión de un mismo proceso analítico. La precisión como reproducibilidad es bastante costosa y, por tiempos, no tan fácil de llevar a cabo, por lo que suele validarse en condiciones de precisión intermedia.

La precisión intermedia evalúa la dispersión de los resultados de mediciones independientes que utilizan el mismo método y la misma muestra en el mismo laboratorio, pero que se llevan a cabo por distintos analistas, diferentes equipos o en diferentes días.

Tabla 7. Repetibilidad y precisión intermedia del método de XRF para evaluar tres métodos de preparación de arcilla. Tomado de [89].

Elemento	Repetibilidad (% RSD)			Precisión intermedia (% RSD)		
	LP	PPB	FPP	LP	PPB	FPP
Si	1,85	1,57	0,41	2,35	2,15	0,75
Al	1,52	1,96	1,14	1,71	2,10	2,60
Fe	1,22	0,88	0,84	1,32	2,00	1,34
Mg	2,81	1,23	1,27	3,64	3,82	3,53
Ca	0,72	0,23	0,21	0,86	0,71	0,53
Na	1,48	1,25	1,37	1,78	1,26	2,04
K	0,27	0,30	0,31	0,85	0,42	0,36
Ti	0,47	0,43	0,11	0,72	0,49	0,25
P	2,09	0,64	1,43	4,11	1,89	2,25
Mn	0,63	0,23	0,72	1,26	0,46	0,79
S	2,01	2,16	1,96	2,61	4,56	2,70

PPB: polvos prensados sin aglutinante.

FPP: polvos prensados calcinados.

LP: polvos sueltos.

En la **tabla 7** se muestran los resultados relacionados con el parámetro de precisión como repetibilidad y como precisión intermedia, los cuales fueron evaluados por Mijatović *et al.* en su estudio de medición de arcillas por XRF. La precisión fue evaluada teniendo en cuenta tres preparaciones de muestra diferentes: polvos prensados sin aglutinante (PPB), polvos prensados calcinados (FPP) y polvos sueltos (LP) y fue expresada como la RSD de tres réplicas instrumentales. La repetibilidad se estimó en las mismas condiciones, midiendo las mismas muestras de MRC para las tres preparaciones, el mismo día y por triplicado; la precisión intermedia fue evaluada midiendo muestras de MRC en condiciones diferentes, con dos analistas y en diferentes días [89]. Los autores concluyen que la precisión de las muestras de arcilla, calcinadas y preparadas como FPP, fue mejor para los elementos ligeros, debido a la mayor homogeneización de la muestra en comparación con las otras preparaciones (LP y PPB). Esta conclusión podría estar relacionada con las ventajas destacadas de la preparación de FPP como método de preparación de muestras de arcilla para mediciones por EDXRF.

En otro estudio, Margui *et al.* [119] evaluaron la precisión intermedia del método de WDXRF para la medición de muestras vegetales; para ello, midieron una muestra tres veces durante un período de un mes. Los resultados que se reportan en el trabajo muestran que la RSD fue inferior al 6%, excepto para el Na, el Al y el P, que presentaron un valor de RSD que oscila entre el 9 y el 20%. Los autores atribuyen este hecho a la posible deformación de la superficie plana del polvo prensado, por lo que se sugiere que el tiempo entre el prensado de la muestra y el análisis sea lo más corto posible para evitar cambios en la superficie del polvo prensado, los cuales podrían alterar la intensidad medida de algunos elementos y, por lo tanto, la concentración de analitos.

Por otra parte, el parámetro veracidad es definido por el VIM “como la proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia” [111]. Esta definición indica que experimentalmente no es posible estimar este parámetro, pues no se pueden llevar a cabo un número infinito de mediciones, por lo que la veracidad se expresa en términos de sesgo y porcentaje de recuperación. La veracidad como sesgo se define como la diferencia entre el valor esperado de los valores medidos y un valor de referencia:

$$\text{Sesgo} = \bar{X}_i - X_r \quad (3)$$

donde  $\bar{X}_i$  es el promedio de las  $n$  mediciones realizadas y  $X_r$  corresponde a un valor de referencia aceptado, que puede ser establecido al realizar las mediciones con un método de referencia o puede ser dado por los valores certificados de un MRC.

La veracidad como recuperación corresponde a la concentración medida del analito y la concentración conocida o añadida a la muestra, expresadas en términos de porcentaje; es decir, la recuperación estima el error sistemático y, de manera similar al sesgo, puede dar valores positivos (superiores al 100%) y valores negativos (inferiores al 100%) [115].

Experimentalmente, para evaluar la veracidad como recuperación, a una muestra considerada como blanco de muestra (sin presencia de analito) se le adiciona una cantidad de analito en concentración conocida y, posteriormente, esta muestra fortificada es analizada utilizando el método de medición que se está validando o evaluando. La estimación del porcentaje de recuperación se realiza mediante la Ec. (4):

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Valor obtenido por XRF}}{\text{Valor fortificado}} \times 100 \quad (4)$$

En algunos casos no es posible obtener un blanco de muestra, por lo que se puede realizar el experimento de recuperación midiendo

Tabla 8. Resultados de la evaluación de la veracidad como sesgo de un método de WDXRF para el análisis de plantas medicinales. Tomado de [68].

Elemento	1573a (tomato leaves)			1570a (spinach leaves)			CTA OTL 1 (tobacco leaves)		
	Valor MRC (mg/kg)	Valor XRF (mg/kg)	Sesgo (%)	Valor MRC (mg/kg)	Valor XRF (mg/kg)	Sesgo (%)	Valor MRC (mg/kg)	Valor XRF (mg/kg)	Sesgo (%)
Fe	368	3302,08	17,91	455	376,82	17,18	989	1033,4	4,4
Cr	1,99	2,21	10,85	NA	1,77	NA	2,59	2,39	7,75
Mn	246	215,45	12,42	76	81,49	7,22	412	426,3	3,48
Co	0,57	0,42	25,60	0,39	0,36	8,42	0,87	0,96	8,78
Ni	1,59	2,08	30,95	2,14	1,66	22,5	6,32	6,28	0,59
Cu	4,7	5,17	9,96	12,22	11,3	7,5	14,1	14,55	3,18
Zn	30,9	28,67	7,2	82,3	82,51	0,26	49,9	50,74	1,69
As	0,112	0,11	2,65	0,06	0,07	4,61	0,53	0,54	0,03
Pb	NA	1,02	NA	0,2	0,29	4,47	4,91	4,89	0,49

una muestra que puede contener el analito, pero idealmente en concentraciones inferiores al límite inferior del intervalo de trabajo. En este caso, una alícuota de la muestra sin fortificar y una alícuota de la muestra fortificada son medidas para estimar posteriormente el porcentaje de recuperación usando la Ec. (5):

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Valor obtenido por XRF} - \text{Valor obtenido muestra sin fortificar}}{\text{Valor obtenido muestra fortificada}} \times 100 \quad (5)$$

Autores como Kulal *et al.* utilizaron tres MRC, 1573a (tomato leaves), 1570a (spinach leaves) y CTA OTL 1 (tobacco leaves), para la validación del parámetro de veracidad como sesgo. En la **tabla 8** se muestran los resultados que los autores obtuvieron durante la validación, los menores porcentajes de sesgo se obtuvieron con las mediciones realizadas al MRC de tobacco leaves [68].

### Método de referencia

La validación requiere que el MRC o MR y la muestra objetivo tengan matrices similares, pero esto no siempre es posible, ya que puede que no exista un MRC adecuado o de matriz similar a la muestra. Es posible desarrollar nuevos MR como puntos (niveles) para la construcción de una curva de calibración, pero estos estándares de calibración preparados deben analizarse con otro método de medición (por ejemplo, AA, ICP-MS, ICP-OES, LIBS, etc.) para hacer una comparación cruzada de los resultados por los dos métodos. Autores como Perring y Blanc [120] desarrollaron y validaron un método rápido y eficaz para la determinación de hierro en cereales infantiles de marcas comerciales mediante EDXRF. Para la validación, ellos utilizaron un conjunto de veinte muestras, las cuales fueron medidas por el método que desarrollaron y compararon los resultados con los obtenidos por el método de referencia, el cual fue la ICP-OES (también conocida como espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente o ICP-AES). Durante la validación, para el parámetro de repetibilidad midieron tres muestras con

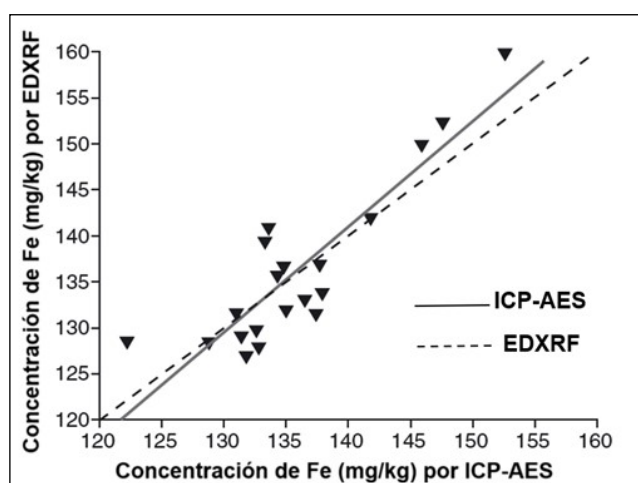


Figura 27. Valores de concentración de Fe (mg/kg) por EDXRF vs concentración de Fe (mg/kg) por ICP-AES. Tomado de [120].

tres réplicas instrumentales, y obtuvieron un valor de 134,1 mg/kg de Fe, tanto para las mediciones por el método de EDXRF como por ICP-AES. En la **figura 27** se correlacionan los valores de concentración de Fe (mg/kg) obtenidos por los dos métodos, los autores concluyeron que no se presentaron diferencias significativas entre ambos.

Algunos investigadores utilizan métodos de referencia, aunque cuenten con MRC para llevar a cabo la validación del método. Tal es el caso de Oliveira *et al.* [121], quienes desarrollaron un método para análisis elemental en muestras de cocoa y chocolate en polvo usando la EDXRF. Para validar los parámetros de precisión y exactitud, utilizaron el MRC 2384 (baking chocolate) del NIST, también compararon los resultados con el método de referencia ICP-OES y concluyeron que no había diferencias significativas entre las concentraciones obtenidas por medio de los dos métodos. En la **figura 28** se muestra la correlación entre los dos métodos comparados en este estudio, donde se obtuvo un  $R^2 > 0,99$ .

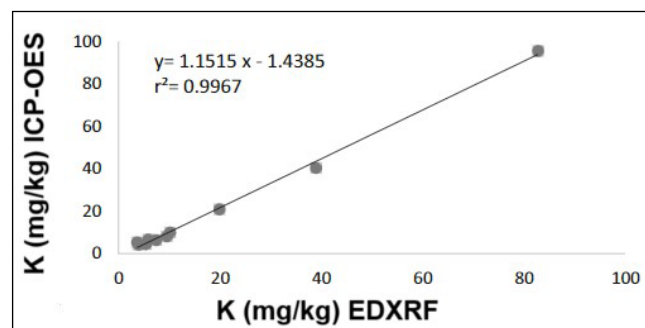


Figura 28. Valores de concentración de K (mg/kg) por EDXRF vs concentración de K (mg/kg) por ICP-OES. Tomado de [121].

### Aplicaciones recientes de la XRF

El uso de la espectrometría de XRF en aplicaciones industriales se ha incrementado debido a la flexibilidad de la técnica en los análisis cualitativos y cuantitativos, tanto a nivel de laboratorio como *in situ*. Los últimos avances en el análisis por XRF se han logrado gracias al desarrollo de nuevas ópticas y detectores de rayos X. Por ejemplo, en la investigación realizada por Tsuji *et al.*, se utilizó la microfluorescencia de rayos X ( $\mu$ -XRF) con focal para visualizar la distribución elemental de Au-L $\alpha$ , Ni-K $\alpha$ , Ti-K $\alpha$ , Cu-K $\alpha$  y Br-K $\alpha$  mientras se realizaban mediciones directas a una tarjeta de memoria microSD y, de manera paralela, los autores propusieron la modificación de un espectrómetro de dispersión por longitud de onda para la obtención rápida de imágenes XRF elementales, utilizando un nuevo detector de rayos X bidimensional, el detector Pilatus [122].

Las mediciones *in situ* se han vuelto cada vez más relevantes, por lo tanto, los equipos de XRF portátiles se han convertido en una poderosa herramienta para los análisis en campo. Tal es el caso de las



**Tabla 9.** Resumen de las especies de plantas, enfermedades y elementos detectados en muestras de plantas sanas y enfermas. Tomado de [124].

Planta	Enfermedad	A	B	C	D
Quimbombo	Nematodo del nudo de la raíz ( <i>Meloidogyne incognita</i> )	Al, Ca, Cl, Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Rb, S, Si, Sr, Ti, Zn, Zr	Ca, Cl, K, Mg, Na, S	Cu, Mn, P, Si, Zn	Ag, Al, Cr, Pd, Ti
Papaya	Nematodo del nudo de la raíz ( <i>Meloidogyne incognita</i> )	Al, Ca, Cl, Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Si, Ti, Zn	Al, Ca, Fe, Mg, Ni, Si, Ti	Cl, Cr, Cu, K, Mn, Na, P, Sr, Zn	Zr
Arroz	Falso tizón ( <i>Ustilagoideia virens</i> )	Al, Ca, Cl, Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Ni, P, Rb, S, Si, Zn	Cl, Fe, K, Mg, Mn, Ni, P, s, Rb	Al, Ca, Cu, Cr, Si, Zn	-

A: elementos detectados en plantas mediante WDXRF.

B: elementos con aumento de la concentración en muestras de plantas enfermas.

C: elementos con disminución de la concentración en muestras de plantas enfermas.

D: elementos detectados sólo en plantas enfermas.

mediciones realizadas por Turner y Filella [123] para la cuantificación de antimonio (Sb), utilizando XRF con energía dispersiva portátil (p-XRF), en una serie de productos poliméricos de uso frecuente, como aparatos electrónicos (televisores, neveras y computadores), juguetes, bombillas, tapicería, ropa de tela sintética, gafas de sol, productos de PET, entre otros; de este estudio los autores concluyen que hay presencia de Sb catalítico en los envases de alimentos y en los juguetes para niños, lo cual es un tema preocupante por su riesgo para la salud, lo que requiere seguir investigando la toxicidad del Sb y su migración en matrices poliméricas, así como reconsiderar los medios de eliminación y reciclaje de los residuos plásticos y electrónicos con contenido de Sb.

En la industria alimentaria, la XRF se sigue utilizando como una técnica que permite el análisis cuantitativo de elementos mayoritarios y trazas. En el estudio realizado por Vivek *et al.* [124], utilizaron la WDXRF para el estudio de enfermedades agrícolas en plantas y granos de arroz, midiendo los cambios elementales causados por la presencia de nematodos y falso tizón. Utilizaron un método de referencia llamado espectroscopia de descomposición inducida por láser (LIBS) y concluyeron que los resultados obtenidos por las dos técnicas son similares; además, evidenciaron que hay cambios significativos en las concentraciones elementales (elementos mayores, traza y metales pesados) debido a la presencia de la enfermedad, tal como se muestra en la **tabla 9**.

La determinación de impurezas en las materias primas destinadas a la fabricación de productos farmacéuticos es importante para garantizar la calidad del producto final, así como para evitar daños a la salud. Las impurezas metálicas pueden presentar efectos tóxicos incluso a bajas concentraciones, por lo que las agencias reguladoras y las farmacopeas definen los niveles permisibles. En este sentido, técnicas rápidas, sensibles y precisas, como la técnica de XRF, son una alternativa para el análisis de metales en materiales de uso farmacéutico.

Paulino *et al.* [125] vieron la necesidad de investigar la presencia de contaminantes y sus niveles de concentración en productos farmacéuticos, su trabajo se centró en validar un método para utilizar la técnica EDXRF para identificar y cuantificar la composición química de materias primas y productos farmacéuticos. Las muestras se homogeneizaron utilizando un mortero de ágata y un mezclador rotativo que contenía bolas de acero en su interior y, posteriormente, la mezcla se separó en porciones de 4 g y se compactó cada submuestra a una presión de 10 t durante 30 s. Una vez preparadas las muestras, se procede con la validación del método, donde los parámetros validados fueron la selectividad, la linealidad, la precisión, LOD, LOQ y la robustez. Los resultados de la validación demostraron que la EDXRF puede ser utilizada como técnica de detección y cuantificación de impurezas elementales pertenecientes a la clase 1 (Cd, Pb, As, Hg) y a la clase 2A (Co, V, Ni).

Otro estudio realizado en el campo farmacéutico fue el realizado por Cruz *et al.* [126], donde utilizaron la TXRF para el análisis cuantitativo de metales tóxicos (Pb, As, Cr y Hg) en muestras de suplementos dietarios. Se realizó la validación del método, evaluando los parámetros de linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, LOD y LOQ. Los valores obtenidos para el LOD fueron 0,59; 0,41; 0,57 y 0,75 µg/L y para el LOQ fueron 1,95; 1,35; 1,9 y 2,5 µg/L para Pb, As, Cr y Hg, respectivamente. Los autores concluyeron que los resultados que obtuvieron fueron satisfactorios, según lo recomendado por la IUPAC y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los EE. UU.

Por último, la investigación en materiales inorgánicos se encuentra actualmente en fase de crecimiento (en particular, en el campo de los nanomateriales) y la XRF está desempeñando un papel importante en la caracterización de dichos materiales. El estudio de los procesos de deposición de nanopartículas sobre muestras de superficie plana y lisa, el tamaño medio de las nanopartículas y su forma, fueron realizados por Tiwari [127] utilizando un espectrómetro de XRF de incidencia rasante (GIXRF), que es una versión mejorada de la TXRF. El empleo de esta técnica permitió determinar el tamaño medio de las nanopartículas tras realizar una única medición, por lo que se concluye que es una técnica que puede emplearse con éxito para analizar la morfología superficial de materiales nanoestructurados, que estén dispersos sobre una superficie pulida o incrustados en el interior de la matriz de análisis.

## Conclusiones

Este artículo de revisión dio a conocer las generalidades de la técnica de XRF, los diferentes tipos de espectrómetros, las ventajas y el alcance de estos. Así mismo, se logró evidenciar que la técnica de XRF es ampliamente utilizada para el análisis elemental de muestras sólidas y en polvo debido a ventajas tales como su versatilidad, su carácter no destructivo y sus buenos niveles de precisión.

Es importante mencionar que, para el análisis de matrices orgánicas, se presentan grandes retos durante la medición como, por ejemplo, el efecto matriz, por lo que, en las mediciones por XRF, se hace indispensable lograr una muy buena preparación de las muestras sólidas, esto incluye el pretratamiento al que se debe someter la muestra, tanto para la obtención de muestras en polvo que se puedan medir directamente en el equipo de XRF o para preparar polvos prensados o perlas fundidas; y la elección correcta del método de preparación de la muestra, que dependerá de las características de la misma, de los analitos de interés y del método de medición. Es indispensable realizar la validación del método analítico (la cual incluye la preparación y la determinación de la cantidad mínima de muestra), haciendo uso de MR y MRC, con el fin de garantizar que los métodos de medición cumplan con los criterios establecidos para su uso previsto (sesgo, precisión, selectividad, exactitud, etc.) y se pueda asegurar la validez de los resultados.

Finalmente, toda la información recopilada en este artículo puede ser utilizada por diversos investigadores como base para el desarrollo de sus diferentes proyectos donde se requiera hacer uso de la técnica de XRF.

## Abreviaturas

- AA:** Absorción atómica  
**DSP:** Procesador de señal digital  
**EDXRF:** Fluorescencia de rayos X por energía dispersiva  
**FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos  
**FPP:** Polvos prensados calcinados  
**GIXRF:** espectrómetro de fluorescencia de rayos X de incidencia rasante  
**IC:** Cromatografía iónica  
**ICP-AES:** Espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente  
**ICP-MS:** Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente  
**ICP-OES:** Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente  
**INM:** Instituto Nacional de Metrología  
**INAA:** Análisis instrumental de activación de neutrones  
**IUPAC:** Unión Internacional de Química Pura y Aplicada  
**LIBS:** Espectroscopia de descomposición inducida por láser  
**LOD:** Límite de detección  
**LOQ:** Límite de cuantificación  
**LP:** Polvos sueltos  
**NIST:** Instituto Nacional de Estándares y Tecnología  
**PIXE:** Emisión de rayos X inducido por partículas  
**PPB:** Polvos prensados sin aglutinante  
**MR:** Material de referencia  
**MRC:** Material de referencia certificado  
**RSD:** Desviación estándar relativa  
**TXRF:** Fluorescencia de rayos X por reflexión total  
**VIM:** Vocabulario Internacional de Metrología  
**WDXRF:** Fluorescencia de rayos X por dispersión de longitud de onda  
**XRF:** Fluorescencia de rayos X  
**p-XRF:** Fluorescencia de rayos X con energía dispersiva portátil  
**μ-XRF:** Microfluorescencia de rayos X

## Referencias

- [1] D. Maria y L. Posso, "Validación del método de determinación de calcio y magnesio por espectroscopia de absorción atómica de llama para el laboratorio de análisis de Aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira", tesis de grado, Universidad Tecnológica de Pereira, 2013. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/a9fcd46b-3fad-4d84-b627-fa4942db5f3c/content>.
- [2] R. Thomas, "A Beginner's Guide to ICP-MS. Part VII: Mass Separation Devices-Double Focusing Magnetic-Sector Technology", *Spectroscopy Tutorial*, vol. 16, nro. 11, pp. 22-27, 2001.
- [3] M. Jiménez, A. Grijalva y H. Ponce, "Plasma acoplado inductivamente en espectroscopia de emisión óptica (ICP-OES)", *Recimundo*, vol. 4, nro. 4, pp. 4-12, 2020. DOI: [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(4\).octubre.2020.4-12](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.4-12)
- [4] E. Trujillo, G. Fonseca, M. García y V. Martínez, "Evaluación de la Cromatografía Iónica para fomentar su uso en la investigación y estudios de posgrado en ciencias del agua", *Formación universitaria*, vol. 2, nro. 1, 2009. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0718-50062009000100003>
- [5] XRF scientific, "Limitaciones de la tecnología de fluorescencia de rayos X", 2015. [En línea]. Disponible en: <https://es.xrfscientific.com/limitaciones-de-la-tecnologia-de-fluorescencia-de-rayos-x/>. [Último acceso: 12/06/2024].
- [6] P. Wobrauschek, "Total reflection x-ray fluorescence analysis—a review", *X-Ray Spectrometry*, vol. 36, nro. 1, pp. 289-300, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs>
- [7] M. Radtke, U. Reinholz y H. Riesemeier, "Synchrotron Radiation Induced X-Ray Fluorescence for the characterization of ancient gold objects", *ArchéoSciences*, nro. 33, pp. 39-44, 2009. DOI: <https://doi.org/10.4000/archeosciences.1969>
- [8] L. Tallandini et al., "Naturally occurring levels of elements in fishes as determined by PIXE y XRF methods", *Nuclear Instruments y Methods in Physics Research*, vol. 40, nro. 41, pp. 630-634, 1989. DOI: [https://doi.org/10.1016/0168-583X\(89\)91063-X](https://doi.org/10.1016/0168-583X(89)91063-X)
- [9] M. Castro, "Activación Neutrónica Cíclica para la determinación del contenido en fluor de muestras de mineral de fluorita", tesis doctoral, Universidad de Oviedo, 2012. [En línea]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71839524.pdf>. [Último acceso: 05/08/2023].
- [10] F. Li, L. Ge, Z. Tang, Y. Chen y J. Wang, "Recent developments on XRF spectra evaluation", *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 55, nro. 4, pp. 263-287, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/05704928.2019.1580715>
- [11] R. Dalipi, E. Marguá, L. Borgese, F. Bilo y L. E. Depero, "Analytical performance of benchtop total reflection X-ray fluorescence instrumentation for multielemental analysis of wine samples", *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, vol. 120, pp. 37-43, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.04.001>
- [12] Bruker, "¿Cómo funciona la TXRF?". [En línea]. Disponible en: <https://www.bruker.com/es/landingpages/bna/how-does-TXRF-work.html>. [Último acceso: 12/06/2024].
- [13] M. Moradi, Y. Yamini, J. Kakehnam y K. Ahmadi, "A review in the sample preparation of aqueous solutions combined with X-ray fluorescence detection", *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 12, nro. 5, pp. 831-838, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13738-014-0545-0>
- [14] A. Molina, "Validación del método de determinación de azufre en combustibles por Fluorescencia de Rayos X", tesis de grado, Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, 2011. [En línea]. Disponible en: <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/701?show=full>. [Último acceso: 16/06/2023].
- [15] V. Aldazabal, M. Silveira, G. Custo y M. Ortiz, "Colores al norte del Lago traful, Neuquén, Argentina", *Boletín del Museo Chileno de Arte Precolombino*, vol. 19, nro. 2, pp. 95-105, 2014. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-68942014000200006>
- [16] M. Moreno, "Aplicación de análisis de componentes principales y conglomerados a datos de Fluorescencia de Rayos X (FRX) en suelos", tesis de especialización, Fundación Universitaria Los Libertadores, Bogotá, 2019. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.libertadores.edu.co/server/api/core/bitstreams/d4df816d-d614-4dfa-87a6-a3e096f64aac/content>. [Último acceso: 02/08/2023].
- [17] M. Uo, T. Wada y T. Sugiyama, "Applications of X-ray fluorescence analysis (XRF) to dental y medical specimens", *Japanese Dental Science Review*, vol. 51, nro. 1, pp. 2-9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2014.07.001>
- [18] Consejo de Seguridad Nuclear, "Tema 2: Interacción de la radiación con la materia". [En línea]. Disponible: [https://csn.ciemat.es/MDCSN/recursos/ficheros\\_md/133100241\\_2411200913036.pdf](https://csn.ciemat.es/MDCSN/recursos/ficheros_md/133100241_2411200913036.pdf). [Último acceso: 22/11/2021].
- [19] D. Montufar, "Simulación de los efectos radiobiológicos en el ADN inducidos por partículas alfa del Ra 223 utilizando Geant4-DNA", tesis de maestría., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/79848/1085282844.2021.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

- [20] M. González, "Programación de un sistema de adquisición de datos para detectores de radiación", tesis de grado, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, 2015.
- [21] J. Díaz, "Desarrollo de un código para el transporte de fotones ionizantes en agua con la técnica evento-por-evento", tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, 2017. [En línea]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/69412/Tesis%20JorgeDiaz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Último acceso: 12/06/2023].
- [22] J. Amado, "Estudio de los mecanismos de cristalización y maduración de fosfatos de calcio en medio biológico usando radiación de sincrotrón", tesis de grado, Universidad Nacional de Córdoba, 2009. [En línea]. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/150/DFis135.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Último acceso: 12/06/2023].
- [23] F. Viñas, F. Hernández, M. Panelo, I. Salazar y J. Muglia, "Determinación de la composición de materiales mediante la Fluorescencia de Rayos X", Universidad Nacional de La Plata, 2007. [En línea]. Disponible en: <https://franchsebs.wordpress.com/wp-content/uploads/2007/12/91.pdf>. [Último acceso: 12/06/2024].
- [24] G. Dolenko, O. Poleshchuk y J. Latosińska, "X-ray emission spectroscopy, methods", *Encyclopedia of Spectroscopy y Spectrometry*, vol. 3, pp. 691–694, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00313-7>
- [25] J. Da-Col, R. Sanchez, J. Terra y M. Bueno, "Análise exploratória rápida e não destrutiva (Screening) da presença de elementos químicos tóxicos em material escolar por fluorescência de raios X", *Química Nova*, vol. 36, nro. 6, pp. 874–879, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000600023>
- [26] A. Khalid, S. Anwar, S. Siddiqi y M. Anwar, "Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) for studying coinage from the Indo-Pak subcontinent", 2011. [En línea]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/268264113\\_Energy\\_dispersive\\_X-ray\\_fluorescence\\_EDXRF\\_for\\_studying\\_coinage\\_from\\_the\\_Indo-Pak\\_subcontinent](https://www.researchgate.net/publication/268264113_Energy_dispersive_X-ray_fluorescence_EDXRF_for_studying_coinage_from_the_Indo-Pak_subcontinent). [Último acceso: 12/06/2024].
- [27] M. Navas, A. Asuero y A. Jimenez, "A review of energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) as an analytical tool in numismatic studies", *Applied Spectroscopy*, vol. 70, nro. 1, pp. 207–221, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1177/0003702815616594>
- [28] J. Pushie, I. Pickering, M. Korbas, M. Hackett y G. George, "Elemental y chemically specific x-ray fluorescence imaging of biological systems", *Chemical Reviews*, vol. 114, nro. 17, pp. 8499–8541, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr4007297>
- [29] R. Jenkins, "X-Ray Techniques: Overview", en *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, vol. 1, A. Meyers, ed., John Wiley & Sons Ltd., 2006, pp. 1–20. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a6801>
- [30] J. Heckel, M. Haschke, M. Brumme y R. Schindler, "Principles y Applications of Energy-dispersive X-ray Fluorescence Analysis With Polarized Radiation", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 7, pp. 281–286, 1992.
- [31] P. Wobrauschek, C. Strelly y E. Selin Lindgren, "Energy Dispersive, X-Ray Fluorescence Analysis X-Ray Spectrometry", en *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, vol. 3, A. Meyers, ed., John Wiley & Sons Ltd., 2010, pp. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470027318.A6806.PUB2>
- [32] L. Yi et al., "A new background subtraction method for energy dispersive X-ray fluorescence spectra using a cubic spline interpolation", *Nuclear Instruments y Methods in Physics Research A*, vol. 775, pp. 12–14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nima.2014.11.100>
- [33] R. Schramm, "Use of X-ray fluorescence analysis for the determination of rare earth elements", *Physical Sciences Reviews*, vol. 1, nro. 9, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0061>
- [34] Bruker, "¿Cómo funciona XRF? - WDXRF". [En línea]. Disponible en: <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/elemental-analyzers/xrf-spectrometers/how-does-xrf-work.html>. [Último acceso: 12/06/2024].
- [35] C. Millholland, "Fluorescencia de Rayos X para monitoreo ambiental", Thermo Fisher Scientific, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/blog/cienciaacelerada/materiales/fluorescencia-de-rayos-x-para-monitoreo-ambiental/>. [Último acceso: 30/09/2023].
- [36] Bruker, "Periodic Table of the Elements". [En línea]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/339282717/Tabla-Periodica-Bruker-pdf>. [Último acceso: 21/08/2023].
- [37] Dynatech International, "Conceptos básicos de los principios de funcionamiento de XRF". [En línea]. Disponible en: <https://dynatech-int.com/id/page/5/?p=page-18480>. [Último acceso: 30/09/2023].
- [38] Malvern Panalytical, "Fluorescencia de rayos X de dispersión por longitud de onda (WDXRF)", 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/technology/xray-analysis/x-ray-fluorescence/wavelength-dispersive-x-ray-fluorescence>. [Último acceso: 23/11/2021].
- [39] E. Kingland, "¿Cómo utilizar un XRF portátil para PMI?", Sweet fish. [En línea]. Disponible en: <https://www.sweetfishmedia.com/blog/handheld-xrf-for-pmi>. [Último acceso: 13/06/2024].
- [40] Bruker, "Handheld XRF: How it works?". [En línea]. Disponible en: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/elemental-analyzers/handheld-xrf-spectrometers/how-xrf-works.html>. [Último acceso: 13/06/2024].
- [41] Thermo Fisher Scientific, "How does handheld XRF work?". [En línea]. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/co/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/elemental-analysis-information/xrf-technology.html#:~:text=X%20Drays%20are%20produced%20by,electronic%20pulses%20to%20the%20preamp>. [Último acceso: 13/06/2024].
- [42] S. Kovac y P. Konopatzki, "Utilization of Portable X-Ray Fluorescence Spectrometers for the Registration of Contaminated Sites in Vietnam", 2018.
- [43] G. Guild y J. Stangoulis, "EDXRF for screening micronutrients in lentil y sorghum biofortification breeding programs", *Plant Soil*, vol. 463, nro. 1–2, pp. 461–469, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04922-z>
- [44] G. Guild, N. Paltridge, M. Andersson y J. Stangoulis, "An energy-dispersive X-ray fluorescence method for analysing Fe y Zn in common bean, maize y cowpea biofortification programs", *Plant Soil*, vol. 419, nro. 1–2, pp. 457–466, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3352-4>
- [45] L. Perring y D. Andrey, "EDXRF as a tool for rapid minerals control in milk-based products", *Journal of Agricultural y Food Chemistry*, vol. 51, nro. 15, pp. 4207–4212, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf034158p>
- [46] P. Sosa, G. Guild, G. Burgos, M. Bonierbale y T. zum Felde, "Potential y application of X-ray fluorescence spectrometry to estimate iron y zinc concentration in potato tubers", *Journal of Food Composition y Analysis*, vol. 70, pp. 22–27, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.03.004>
- [47] E. Chuparina, V. Chubarov y L. Paradina, "A comparative determination of major components in coal power plant wastes by wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence using pellet y fused bead specimens", *Applied Radiation y Isotopes*, vol. 152, pp. 162–167, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.06.040>
- [48] A. Idris, "Between-bottle homogeneity test of new certified reference materials employing wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry", *BMC Chem*, vol. 13, nro. 1, pp. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0528-4>
- [49] M. Bouchard et al., "Global cement y raw materials fusion/XRF analytical solution", *Powder Diffraction*, vol. 26, nro. 2, pp. 176–185, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1154/1.3591181>
- [50] L. Tian, D. Zou, Y. Dai y G. Tang, "Determination of tungsten in tantalum-tungsten alloy by X-ray fluorescence spectrometry using fusion, thin layer y pressed powder pellet techniques", *Spectrochimica Acta - Part B*, vol. 110, pp. 136–138, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.06.007>

- [51] N. Mijatović, M. Vasić, L. Miličić, M. Radomirović y Z. Radojević, "Fired pressed pellet as a sample preparation technique of choice for an energy dispersive X-ray fluorescence analysis of raw clays", *Talanta*, vol. 252, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123844>
- [52] D. Zhang, D. Xue, Y. Liu, B. Wan, Q. Guo y J. Guo, "Comparative study of three mixing methods in fusion technique for determining major y minor elements using wavelength dispersive x-ray fluorescence spectroscopy", *Sensors*, vol. 20, nro. 18, pp. 1-17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20185325>
- [53] J. Morales, "Cuantificación de los elementos mayoritarios en material arqueológico de la provincia nor lizep utilizando fluorescencia de rayos x por energía dispersiva", tesis de grado, Universidad Mayor de San Andres, La paz, 2019. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25934/T-2902.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Último acceso: 10/06/2023].
- [54] Premier Lab Supply, "XRF Sample Preparation Specialists". [En línea]. Disponible en: [www.premierlabsupply.com](http://www.premierlabsupply.com). [Último acceso: 08/05/2023].
- [55] Malvern Panalytical, "Preparación de muestras para análisis XRF e ICP". [En línea]. Disponible en: <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/category/sample-preparation-equipment/>. [Último acceso: 25/05/2022].
- [56] A. Sada, "Heavy metals distribution in soil y paddy plants (super) a case study of kibokwa basin, zanzibar", tesis de maestría, The State University of Zanzibar, Zanzibar, 2017. [En línea]. Disponible en: <http://repository.suza.ac.tz:8080/bitstream/handle/123456789/163/FINALTHESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Último acceso: 09/08/2021].
- [57] C. Costa Vinicius, F. A. C. Amorim, D. V. de Babos y E. R. Pereira Filho, "Direct determination of Ca, K, Mg, Na, P, S, Fe y Zn in bivalve mollusks by wavelength dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) y laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)", *Food Chem*, vol. 273, pp. 91-98, feb. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.016>
- [58] E. Folch, "Determinación de hierro en arroz: aplicación de la Espectroscopía de Fluorescencia de Rayos X (XRF) y Espectrometría de Emisión Atómica (ICP-AES)", *Invenio: Revista de investigación académica*, vol. 10, nro. 18, pp. 129-137, 2007.
- [59] C. Beninca, C. de Oliveira, C. Bet, R. Bisinella, C. Gaglieri y E. Schnitzler, "Effect of ball milling treatment on thermal, structural y morphological properties of phosphated starches from corn y pinhão", *Starch*, vol. 72, nro. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/STAR.201900233>
- [60] A. Muhammad, C. Tasrina Rabia, H. Babul y A. Md Panna, "Determination of traces of molybdenum y lead in foods by x-ray fluorescence spectrometry", *Springerplus*, vol. 3, nro. 1, pp. 1-9, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-341>
- [61] Y. Jolly, S. Iqbal, M. Rahman, J. Kabir, S. Akter y I. Ahmad, "Energy dispersive X-ray fluorescence detection of heavy metals in Bangladesh cows' milk", *Heliyon*, vol. 3, nro. 9, pp. 1-22, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.E00403>
- [62] V. Chubarov, G. Pashkova, S. Panteeva y A. Amosova, "Multielement analysis of continental y lacustrine ferromanganese nodules by WDXRF, TXRF y ICP-MS methods. Intercomparison study y accuracy assessment", *Applied Radiation y Isotopes*, vol. 178, nro. 109981, pp. 1-8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2021.109981>
- [63] A. Morikawa, "Sample preparation for X-ray fluorescence analysis II. Pulverizing methods of powder samples", *Rigaku Journal*, vol. 30, nro. 2, pp. 23-27, 2014.
- [64] K. Nakayama y T. Nakamura, "X-Ray Fluorescence Spectroscopy for Geochemistry", en *Treatise on Geochemistry: Second Edition*, 2.a ed., vol. 15, Elsevier Ltd., 2013, pp. 181-194. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.01413-3>.
- [65] P. Masson, A. Gallet y J. Guezenc, "LIBS y XRF: dos técnicas para una medición rápida de los elementos nutritivos en los suelos", *Technical Reviews*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.20870/ives-tr.2020.4518>
- [66] S. Christopher et al., "Certificate of Analysis Analytical Standard Reference Material® 1568b Rice Flour", Gaithersburg, 2021.
- [67] S. Christopher et al., "Certificate of Analysis Analytical Standard Reference Material® 1567b Wheat Flour", Gaithersburg, 2014.
- [68] C. Kulal, R. Padhi, K. Venkatraj, K. Satpathy y S. Mallaya, "Study on Trace Elements Concentration in Medicinal Plants Using EDXRF Technique", *Biological Trace Element Research*, vol. 198, nro. 1, pp. 293-302, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02037-7>
- [69] M. Chitkara, R. Kohli, I. Sandhu, D. Singh, G. Kaur y R. Sindhu, "Mineral content analysis of polyherbal energy bar using X-ray fluorescence technique", *Pharmacognosy Journal*, vol. 11, nro. 1, pp. 53-56, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5530/pj.2019.1.10>
- [70] INTECO, Análisis químico del cemento por Fluorescencia de Rayos X. Método de ensayo, Costa Rica, 2019, pp. 1-18.
- [71] P. Venegas, "Evaluación del contenido de cromo, plomo y mercurio en cementos hidráulicos de uso general comercializados en Costa Rica", tesis de grado, Universidad Nacional - Campus Omar Dengo, Heredia, 2016. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/26436>. [Último acceso: 1/06/2024].
- [72] Y. Shibata, J. Suyama, M. Kitano y T. Nakamura, "X-ray fluorescence analysis of Cr, As, Se, Cd, Hg y Pb in soil using pressed powder pellet y loose powder methods", *X-Ray Spectrometry*, vol. 38, nro. 5, pp. 410-416, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs.1195>
- [73] S. Ichikawa, K. Nakayama y T. Nakamura, "Loose-powder technique for X-ray fluorescence analysis of ancient pottery using a small (100 mg) powdered sample", *X-Ray Spectrometry*, vol. 41, nro. 5, pp. 288-297, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs.2394>
- [74] T. Inui, Y. Koike y T. Nakamura, "Preparation of cadmium-containing brown rice grains as calibration standards for X-ray fluorescence analysis of cadmium in rice grains", *X-Ray Spectrometry*, vol. 43, nro. 2, pp. 112-117, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs.2524>
- [75] A.-E. Mohammad y K. Ahmed, "Elemental analysis of steel products using X-ray fluorescence (XRF) technique", *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, vol. 23, nro. 2, pp. 75-79, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksues.2011.03.002>
- [76] Japanese Industrial Standards, Iron y steel -- Method for X-ray fluorescence spectrometric analysis, Japón, 2013. Disponible en: <https://www.antpedia.com/standard/sp/en/11312.html>
- [77] Japanese Industrial Standards, Copper alloys -- Methods for X-ray fluorescence spectrometric analysis. Japón, 2018. Disponible en: <https://www.antpedia.com/standard/sp/en/11312.html>
- [78] T. Fujimori y H. Takigami, "Pollution distribution of heavy metals in surface soil at an informal electronic-waste recycling site", *Environmental Geochemistry y Health*, vol. 36, nro. 1, pp. 159-168, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10653-013-9526-y>
- [79] M. Van et al., Study on RoHS y WEEE Directives, European Commission DG Enterprise and industry, 2008.
- [80] L. Hutton, G. O'Neil, T. Read, Z. Ayres, M. Newton y J. MacPherson, "Electrochemical X-ray fluorescence spectroscopy for trace heavy metal analysis: Enhancing X-ray fluorescence detection capabilities by four orders of magnitude", *Analytical Chemistry*, vol. 86, nro. 9, pp. 4566-4572, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac500608d>
- [81] E. Torselli, N. Heinke, S. Ruarte y A. Garbini, "Energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry applied to food analysis for determination of lead y cadmium from specific migrations by contact with ceramic containers", *Revista Ciencia Reguladora de la ANMAT*, pp. 16-20, 2019.
- [82] D. Nash et al., "Petrological y geochemical characterisation of the sarsen stones at Stonehenge", *PLoS One*, vol. 16, nro. 8, pp. 1-48, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254760>

- [83] C. Calza, R. Freitas, A. Brancaglion y R. Lopes, "Analysis of artifacts from ancient Egypt using an EDXRF portable system", en *International Nuclear Atlantic Conference*, pp. 1–13, 2011.
- [84] Solución KinTek Inc., "Una guía para preparar muestras para el análisis XRF". [En línea]. Disponible en: <https://es.kindle-tech.com/articles/a-guide-to-prepare-samples-for-xrf-analysis>. [Último acceso: 22/09/2023].
- [85] Malvern Panalytical a spectris company, "Sample preparation for XRF analysis of pharmaceuticals". [En línea]. Disponible en: [https://www.malvernpanalytical.com/es/assets/pn12735\\_le\\_sample\\_prep\\_of\\_pharmaceuticals%20-%20final%20%281%29\\_tcm61-71707.pdf](https://www.malvernpanalytical.com/es/assets/pn12735_le_sample_prep_of_pharmaceuticals%20-%20final%20%281%29_tcm61-71707.pdf). [Último acceso: 13/06/2024].
- [86] S. Ikeda, "How to measure trace amounts of sample by X-ray fluorescence analysis", *Rigaku Journal*, vol. 33, nro. 2, pp. 22–25, 2017.
- [87] T. Moriyama y A. Morikawa, "Sample preparation for X-ray fluorescence analysis VII. Liquid sample", *Rigaku Journal*, vol. 33, nro. 1, pp. 24–29, 2017.
- [88] I. Sverchkov, I. Gembitskaya, V. Povarov y M. Chukaeva, "Method of reference samples preparation for X-ray fluorescence analysis", *Talanta*, vol. 252, nro. 123820, pp. 3–8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123820>
- [89] N. Mijatović, M. Vasić, L. Miličić, M. Radomirović y Z. Radojević, "Fired pressed pellet as a sample preparation technique of choice for an energy dispersive X-ray fluorescence analysis of raw clays", *Talanta*, vol. 252, nro. 123844, pp. 1–8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123844>
- [90] F. Demir, G. Budak, E. Baydaş y Y. Şahin, "Standard deviations of the error effects in preparing pellet samples for WDXRF spectroscopy", *Nuclear Instruments y Methods in Physics Research B*, vol. 243, nro. 2, pp. 423–428, feb. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2005.09.019>
- [91] Y. Mino, "Determination of tin in canned foods by X-ray fluorescence spectrometry", *Journal of Health Science*, vol. 52, nro. 1, pp. 67–72, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1248/jhs.52.67>
- [92] G. Takahashi, "Sample preparation for X-ray fluorescence analysis III. Pressed y loose powder methods", *Rigaku Journal*, vol. 31, nro. 1, pp. 26–30, 2015.
- [93] A. Younis, Z. Ahmadi, M. Adams y A. Iqbal, "A simple method for quantitative analysis of elements by WD-XRF using variable dilution factors in fusion bead technique for geologic specimens", *X-Ray Spectrometry*, vol. 46, nro. 1, pp. 69–76, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs.2729>
- [94] A. Bell et al., "X-ray fluorescence analysis of feldspars y silicate glass: Effects of melting time on fused bead consistency y volatilisation", *Minerals*, vol. 10, nro. 5, pp. 442–459, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/min10050442>
- [95] A. Rohiman y A. S. Arifin, "Comparison of Pressed Powder Pellet y Fused Glass Bead Preparation Techniques for Mayor Elements Analysis of Rock Samples using X-Ray Fluorescence (XRF)", *Indonesian Journal of Physics*, vol. 31, nro. 2, pp. 24–27, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5614/itb.ijp.2020.31.2.4>
- [96] M. Ramsey, P. Potts, P. Webb, P. Watkins, J. Watson y B. Coles, "An objective assessment of analytical method precision: comparison of ICP-AES y XRF for the analysis of silicate rocks", *Chem Geol*, vol. 124, pp. 1–19, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(95\)00020-M](https://doi.org/10.1016/0009-2541(95)00020-M)
- [97] I. Bušatlić, N. Haračić y N. Merdić, "XRF Spectrometer sample preparation by using fused beads technique", Hammamet, 2009. [En línea]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/316253039>
- [98] M. Watanabe, "Sample preparation for X-ray fluorescence analysis IV. Fusion bead method part 1 basic principals", *Rigaku Journal*, vol. 31, nro. 2, pp. 12–17, 2015.
- [99] T. Yamasaki, "XRF major element analyses of silicate rocks using 1:10 dilution ratio glass bead y a synthetically extended calibration curve method", *Bulletin of the Geological Survey of Japan*, vol. 65, nro. 7–8, pp. 97–103, 2014. DOI: <https://doi.org/10.9795/bullgsj.65.97>
- [100] T. Yamasaki y K. Yamashita, "Whole rock multiple trace element analyses using fused glass bead by laser ablation-ICP-MS", *Bulletin of the Geological Survey of Japan*, vol. 67, nro. 1, pp. 27–40, 2016. DOI: <https://doi.org/10.9795/bullgsj.67.27>
- [101] M. Watanabe, "Sample preparation for X-ray fluorescence analysis V. Fusion bead method-part 2: practical applications", *Rigaku Journal*, vol. 32, nro. 1, pp. 17–21, 2016.
- [102] H. Liu, C. Lu, Z. Zhou, F. Huang y X. Hu, "Specimen variation effects on XRF analysis by the Monte Carlo method: thicknesses, densities y particle sizes", *Journal of Applied Mathematics y Physics*, vol. 06, nro. 04, pp. 628–639, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4236/jamp.2018.64055>
- [103] R. Sitko y B. Zawisza, "Quantification in X-Ray Fluorescence Spectrometry", en *X-Ray Spectroscopy*, Dr. Shatendra K. Sharma, ed., Polonia, Print edition, 2012, pp. 137–162.
- [104] A. Bazaes, "Comparación de corrección teórica de efecto matriz, análisis de interferencias y Corrección por compensación para equipos portátiles de fluorescencia de rayos x en minerales y suelos", tesis de grado, Universidad de Chile, 2013. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/115141>. [Último acceso: 13/06/2023].
- [105] O. Melara, "Determinación de contaminación por metales pesados nefrotóxicos, mediante Fluorescencia de Rayos X, en suelos de áreas rurales del municipio de San Luis Talpa, El Salvador", tesis de grado, Universidad de El salvador, 2016. [En línea]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/12789/1/19201049.pdf>. [Último acceso: 13/06/2023].
- [106] R. Rousseau, "Corrections for matrix effects in X-ray fluorescence analysis-A tutorial", *Spectrochimica Acta Part B*, vol. 61, nro. 7, pp. 759–777, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2006.06.014>
- [107] H. Takahara, "Thickness y composition analysis of thin film samples using FP method by XRF analysis", *Rigaku Journal*, vol. 33, nro. 2, pp. 17–21, 2017.
- [108] V. Thomsen, "Basic Fundamental Parameters in X-Ray Fluorescence", *Spectroscopy*, vol. 22, nro. 5, may. 2007. Disponible en: <https://www.spectroscopyonline.com/view/basic-fundamental-parameters-x-ray-fluorescence>
- [109] R. Rousseau, "Concept of the influence coefficient No title View project", *The Rigaku Journal*, vol. 18, nro. 1, pp. 8–21, 2001. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/313180256>
- [110] S. Ichikawa y T. Nakamura, "Approaches to solid sample preparation based on analytical depth for reliable X-ray fluorescence analysis", *X-Ray Spectrometry*, vol. 45, nro. 6, pp. 302–307, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/xrs.2700>
- [111] Oficina Internacional de Pesas y Medidas (BIPM) et al., *Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales y términos asociados (VIM)*, 3.ª ed., vol. 1, 2012.
- [112] OMS, *Guía breve de los métodos analíticos para determinar el contenido de plomo de la pintura*, 2.ª ed., vol. 2, Ginebra, 2020.
- [113] W. Guangxi et al., "Determination y analysis of mineral elements content in rice samples", *Nuclear Techniques*, vol. 40, nro. 8, pp. 1–6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.11889/J.0253-3219.2017.HJS.40.080501>
- [114] V. Barwick et al., *The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation y related topics*, EuroLab España, vol. 2, 2014.
- [115] D. Ahumada, C. Paredes, J. Abella y I. González, *Guía de validación de métodos en análisis químico cuantitativo*, INM, vol. 1. Bogotá, GQSP Colombia - Programa de Calidad para la Cadena Química, 2023.
- [116] T. Fernandes, J. Brito y L. Gonçalves, "Analysis of Micronutrients y Heavy Metals in Portuguese Infant Milk Powders by Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry (WDXRF)", *Food Analytical Methods*, vol. 8, nro. 1, pp. 52–57, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12161-014-9866-Y>
- [117] ISO, "Parte 1: Términos de Probabilidad y estadística general", en *ISO 3534-1. Estadística- Vocabulario y Símbolos*, 2006, pp. 1–105.



- [118] C. Domarchi, “Estudio de Reproducibilidad de Mediciones Manuales de Flujo Vehicular: hacia la Determinación de la Exactitud y Precisión de los Estudios de Base de Tránsito”, *Ingeniería de Transporte*, vol. 13, nro. 5, pp. 3–8, 2009.
- [119] E. Marguá, M. Hidalgo y I. Queralt, “Multielemental fast analysis of vegetation samples by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry: Possibilities y drawbacks”, *Spectrochimica Acta - Part B*, vol. 60, nro. 9–10, pp. 1363–1372, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.08.004>
- [120] L. Perring y J. Blanc, “EDXRF determination of iron during infant cereals production y its fitness for purpose”, *International Journal of Food Science y Technology*, vol. 42, nro. 5, pp. 551–555, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01265.x>
- [121] L. Oliveira, W. dos Santos, L. Teixeira y M. Korn, “Direct Analysis of Cocoa Powder, Chocolate Powder y Powdered Chocolate Drink for Multi-element Determination by Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry”, *Food Analytical Methods*, vol. 13, nro. 1, pp. 195–202, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01565-w>
- [122] K. Tsuji *et al.*, “New developments of X-ray fluorescence imaging techniques in laboratory”, *Spectrochimica Acta - Part B*, vol. 113, pp. 43–53, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.09.001>
- [123] A. Turner y M. Filella, “Field-portable-XRF reveals the ubiquity of antimony in plastic consumer products”, *Science of the Total Environment*, vol. 584–585, pp. 982–989, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.149>
- [124] V. Singh, N. Sharma y V. K. Singh, “Application of Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence to Agricultural Disease Research”, *Spectroscopy*, vol. 36, nro. 22, pp. 23–30, 2021.
- [125] T. Paulino *et al.*, “Validation of the analytical method using the Energy Dispersive X-ray Fluorescence technique (EDXRF) for application in pharmaceutical sciences”, *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, vol. 10, nro. 4, pp. 1–20, 2022. DOI: <https://doi.org/10.15392/2319-0612.2022.2080>
- [126] G. Cruz, F. Reza y Y. Yáñez, “Espectroscopía de fluorescencia de rayos X por reflexión total (TXRF): Validación y aplicación en suplementos alimenticios”, *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, vol. 6, nro. 6, pp. 86–93, 2020.
- [127] M. Tiwari, “Recent trends in X-ray fluorescence spectrometry: precise investigation of nanomaterials”, *Spectroscopy Europe*, vol. 30, nro. 1, pp. 15–19, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1255/sew.2018.a1>

**Citación del artículo:**

L. A. Pérez Díaz, J. Serna Saiz y H. Torres Quezada, “Preparación de muestras sólidas para el análisis por fluorescencia de rayos X: una revisión”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 21–40, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.111499>



Hugo Romero Bonilla,<sup>1\*</sup> Edison Jaramillo Aguilar,<sup>1</sup> Joseph Medina,<sup>1</sup> María J. Farias<sup>1</sup>  
y Humberto Ayala Armijos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación de Aplicaciones Electroanalíticas y Bioenergía, Universidad Técnica de Machala,  
Machala, Ecuador.

\* Autor para correspondencia: hromero@utmachala.edu.ec

Recibido: 08/01/2024. Última revisión: 20/05/2024. Aceptado: 18/07/2024.

## Nanopartículas de iones de cobre para el control de *Fusarium sp.* en piña para exportación

### Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de soluciones de nanocobre como fungicida en el control de *Fusarium sp.*, en piñas para exportación de Ecuador. Las soluciones inhibitoras se obtuvieron mediante ionización electroquímica. Se aisló el *Fusarium sp.* de muestras de epicarpio de piña, para posteriormente medir el anillo de inhibición en placas Petri. Se prepararon soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm. Las piñas se sometieron a desinfección mediante inmersión en estas soluciones durante 3, 6 y 9 min, siguiendo un diseño experimental de 3<sup>2</sup>, con triplicados y controles con agua destilada. En este sentido, se evaluó el número de UFC/mL del hongo en la superficie de la fruta a los 0 días de inmersión y 5 días después de la inmersión. Los resultados muestran que, en lo referente al crecimiento del anillo de inhibición de *Fusarium sp.* en agar PDA, se redujo hasta un 53% cuando se utilizó una solución de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm, en comparación con el tratamiento control. En lo referente a la inhibición de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas mediante desinfección por inmersión, los mejores tratamientos para el día 0 de inmersión resultaron ser la desinfección durante 9 min en la solución de nanocobre a concentraciones de 6 y 9 ppm. Por su parte, para la desinfección de las piñas después del día 5 de la desinfección por inmersión, se establecieron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min en soluciones de nanocobre a 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en solución a 9 ppm de nanocobre durante 6 o 9 min.

**Palabras clave:** *Fusarium*; higienización; inocuidad; calidad poscosecha; nanocobre.

## Copper ion nanoparticles against *Fusarium sp.* in pineapple for export

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the efficiency of nanocopper solutions as a fungicide in the control of *Fusarium sp.* on pineapples for export in Ecuador. Inhibitory solutions were obtained by electrochemical ionisation. *Fusarium sp.* was isolated from pineapple epicarp samples and the inhibition ring caused by nanocopper solutions at 3, 6 and 9 ppm was measured in Petri dishes. Pineapples were also subjected to disinfection by immersion in these solutions for 3, 6 and 9 min, following an experimental design of 3<sup>2</sup>, with triplicates and controls with distilled water. In this sense, the number of CFU/mL of the fungus on the surface of the fruit was evaluated the day of immersion (0 days) and 5 days after immersion. The results show that the growth of the inhibition ring of *Fusarium sp.* on PDA agar was reduced 53% when a solution of copper nanoparticles at a concentration of 9 ppm was used, compared to the control treatment. Regarding the inhibition of *Fusarium sp.* on the surface of disinfected pineapples by immersion, the best treatments in day 0 of immersion were disinfection for 9 min in the nanocopper solution with concentrations of 6 and 9 ppm. For the disinfection of the pineapples after 5 days of immersion, four statistically viable options were established: disinfecting the pineapples for 9 min in nanocopper solutions at 6 or 9 ppm, or immersing the pineapples in 9 ppm nanocopper solution for 6 or 9 min.

**Keywords:** *Fusarium*; higienization; innocuousness; postharvest quality; nanocopper.

## Nanopartículas de íons de Cobre para o controle de *Fusarium sp.* em abacaxi para exportação

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de soluções de nanocobre como fungicida no controle de *Fusarium sp.* em abacaxis para exportação do Equador. As soluções inhibitoras foram obtidas por ionização eletroquímica. O *Fusarium sp.* foi isolado de amostras de epicarpo de abacaxi e o anel de inibição causado por soluções de nanocobre a 3, 6 e 9 ppm foi medido em placas de Petri. Os abacaxis foram também submetidos a desinfeção por imersão nestas soluções durante 3, 6 e 9 min, seguindo um desenho experimental de 3<sup>2</sup>, com triplicados e controles com água destilada. Neste sentido, foi avaliado o número de UFC/mL do fungo na superfície do fruto no dia da imersão (0 dias) e 5 dias após a imersão. Os resultados mostram que o crescimento do anel de inibição de *Fusarium sp.* em agar PDA foi reduzido em até 53% quando se utilizou uma solução de nanopartículas de cobre a uma concentração de 9 ppm, em comparação com o tratamento de controle. Relativamente à inibição de *Fusarium sp.* na superfície dos abacaxis através da desinfeção por imersão, os melhores tratamentos para o dia 0 de imersão foram a desinfeção durante 9 min na solução de nanocobre nas concentrações de 6 e 9 ppm. Para a desinfeção dos abacaxis após 5 dias da desinfeção por imersão, foram estabelecidas quatro opções estatisticamente viáveis: desinfectando os abacaxis durante 9 min em soluções de nanocobre a 6 ou 9 ppm, ou imergindo os abacaxis em solução de nanocobre a 9 ppm durante 6 ou 9 min.

**Palavras-chave:** *Fusarium*; higienização; inocuidade; qualidade pós-colheita.



## Introducción

Actualmente, aproximadamente el 40% de la producción de alimentos no se consume debido a la acción de patógenos, animales y plagas, lo que afecta gravemente la seguridad alimentaria. Las pérdidas más significativas se dan en productos hortícolas durante la etapa de poscosecha, principalmente debido a hongos y bacterias que, si no se controlan, provocan la descomposición de los productos [1].

La fusariosis es una infección patógena provocada por el género *Fusarium* sp. que causa pérdidas significativas en plantaciones a nivel mundial [2]. Esto hace necesario el uso de fungicidas en la industria agrícola para reducir las pérdidas en los cultivos e incrementar la producción de la materia prima esencial para la industria alimentaria. Estos fungicidas pueden ser de amplio espectro o específicos para determinados patógenos [3].

Desde el año 2000 a. C., el cobre se ha utilizado como antimicrobiano y ha sido fundamental como componente de fungicidas inorgánicos que frenan el crecimiento de patógenos y previenen enfermedades [4]. Khatami et al. [5] indican que soluciones de nanopartículas de óxido de cobre (CuO) pueden inhibir hasta un 90% el crecimiento de *Fusarium solani* con una concentración de 50 ppm, y un 20% con 5 ppm. Por su parte, Pham et al. [6] afirman que una concentración de 30 ppm de cobre puede inhibir completamente a *Fusarium oxysporum* en tres días y una de 7 ppm puede inhibir a *Phytophthora capsici* en un día.

Durante siglos, los iones metálicos, debido a sus propiedades antimicrobianas, se han utilizado para tratar quemaduras, heridas crónicas, sepsis, enfermedades venéreas y abscesos perianales; también se han utilizado para la conservación de alimentos y la desinfección de dispositivos médicos. Además, gracias a la nanotecnología, se ha incrementado la capacidad antimicrobiana de los iones metálicos al transformarlos en nanopartículas [7].

La capacidad antimicrobiana de los iones metálicos se basa en la deshidratación de la célula que ocurre debido a la unión del ion a la membrana celular del microorganismo, lo cual afecta su potencial dipolar [8]. Entre los usos de las nanopartículas metálicas se encuentra el tratamiento de aguas residuales y la desinfección de agua potable, en la cual se utilizan nanopartículas de cobre [9]. Algunos estudios han demostrado la capacidad de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NP) para controlar enfermedades fúngicas como *Fusarium oxysporum*, debido a su capacidad para distorsionar el micelio en crecimiento e inhibir directamente el crecimiento fúngico, también al eliminar micotoxinas como el ácido fusárico. Asimismo, la eficacia de ZnO-NP como antifúngico y antimicotoxina contra *Fusarium* sp. puede deberse al aumento de la peroxidación lipídica, los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el cambio en el contenido de ergosterol que altera la integridad de la membrana y la morfología de las macroconidias [10].

Además, muchos autores [11–14] sostienen que los iones de plata liberados por nanopartículas de plata (AgNPs) a través de la oxidación superficial son el mecanismo principal que induce citotoxicidad, genotoxicidad, respuestas inmunológicas en sistemas biológicos e incluso la muerte celular. Sambalé et al. [15] demostraron que el mecanismo de muerte celular es diferente cuando las células se cultivan con partículas o iones de plata. Las células tratadas con partículas experimentaron apoptosis, mientras que aquellas cultivadas con iones murieron de necrosis. También informaron que las AgNPs que se desplazan al citoplasma a través de la difusión o las proteínas de canal son oxidadas por enzimas citoplasmáticas, liberando así iones de plata. Estos iones pueden interactuar con los grupos tiol de las proteínas de la membrana mitocondrial, causando disfunción mitocondrial, produciendo ROS y provocando la descomposición de la función celular y el daño a los microorganismos [16].

Por otro lado, los iones de cobre también han demostrado su capacidad antifúngica. Se ha informado que el óxido de cobre biosintetizado con *Streptomyces* para el desarrollo de tejidos antimicrobianos en hospitales puede ayudar a prevenir o minimizar la infección por bacterias patógenas. Además, el cobre y el óxido de cobre con efectos antimicrobianos y antifúngicos pueden ser usados durante el envasado de alimentos para retrasar el crecimiento de gérmenes y hongos [17].

La aplicación de nanopartículas metálicas en la desinfección de frutas exportadas se ha aplicado durante muchos años. Por ejemplo, para el caso de la piña (*Ananas comosus*), que es una fruta económicamente significativa en países latinoamericanos, la fusariosis puede ocasionar pérdidas de entre el 30 y el 40% del fruto, o de aproximadamente el 20% de las plantaciones. Esto representa un problema grave para los países productores de piña como Ecuador, que se deben someter a estrictos controles sanitarios durante los procesos de exportación [18].

En 2020, el Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca informó que Ecuador fue el principal exportador de piñas en América del Sur y el octavo proveedor más grande a nivel mundial. Ecuador pasó de exportar 75.573 t en 2020 a 90.186 t para noviembre de 2021, por lo que la pérdida poscosecha de la piña es un problema sustancial para su mercado.

La descomposición fúngica es la principal causa del fracaso poscosecha de la piña. Esta descomposición depende de las condiciones climáticas y del sistema de manipulación poscosecha. La alta incidencia de enfermedades poscosecha en la piña se debe principalmente al hongo *Ceratocystis paradoxa* y *Fusarium* sp. Los hongos penetran principalmente por medio de las heridas causadas por el descabezado en los sistemas de manipulación poscosecha antes de la exportación [19].

El objetivo de este estudio es determinar el efecto de las nanopartículas de iones cobre para el control de *Fusarium* sp. con el fin de disminuir las pérdidas de piña de exportación por degradación fúngica. Para ello, se aplicó una solución de nanopartículas de iones de cobre como desinfectante en piñas durante la poscosecha y se evaluó la efectividad de las nanopartículas de cobre para inhibir el crecimiento y desarrollo de este hongo.

## Materiales y métodos

La materia prima utilizada en el presente estudio consistió en muestras de piña (*Ananas comosus*) híbrida conocidas como “piña miel”, que se caracteriza por su color, dulzura y textura [20]. Los especímenes en buen estado fueron proporcionados por una empresa exportadora de piña en Ecuador y se seleccionaron según la normativa ecuatoriana NTE INEN 1836: FRUTAS FRESCAS. PIÑA [21]. Cuya clasificación es la siguiente:

- Nivel de madurez: 0
- Grado: extra
- Peso: mediano  $1000 \leq m \leq 1500$  g
- Diámetro: mediano  $110 \leq d \leq 120$  mm

### Preparación de muestras

Las soluciones de nanocobre se prepararon mediante un proceso de ionización electroquímica utilizando un equipo NEC-4000. Para el desarrollo del estudio se seleccionaron piñas en buen estado visual y con características homogéneas en términos de madurez y tamaño. Las cáscaras de piña para el aislamiento del hongo *Fusarium* sp. se retiraron utilizando cuchillos esterilizados después de lavar las frutas con agua potable para eliminar cualquier residuo superficial. Una vez aislado el hongo se evaluó el anillo de inhibición causado por las soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm de concentración, midiendo el diámetro promedio del mismo.

Adicionalmente, las soluciones de nanocobre en concentraciones de 3, 6 y 9 ppm se utilizaron para desinfectar las piñas mediante un proceso de inmersión de 3, 6 y 9 min (tiempo de residencia). Luego de cada tratamiento y un tiempo determinado de días posterior a la inmersión se tomó una porción de la superficie de cada muestra de piña y se sembró en medios de cultivo para cuantificar el *Fusarium sp.* El modelo de la investigación siguió un diseño experimental de 3<sup>2</sup> que incluyó diferentes combinaciones de concentraciones y tiempos de inmersión para evaluar su efectividad en la inhibición del crecimiento del hongo en la superficie del fruto. Como grupo de control se emplearon piñas tratadas con agua destilada para su desinfección, el tratamiento de la muestra fue similar a las que fueron tratadas con las soluciones de nanocobre.

### Aislamiento de cepas

Castro y Umaña [22] mencionan la presencia de una gran variedad de hongos en la superficie de las frutas, por lo que, en esta investigación, se aisló el *Fusarium sp.* presente en las piñas visiblemente sanas proporcionadas por una empresa exportadora. Para ello se siguió la metodología mencionada por Umaña *et al.* [23], quienes señalan que para aislar el hongo se deben extraer 5 cm<sup>2</sup> de cáscara de piña y colocarla en un *beaker* que contenga 30 mL de agua destilada estéril con una gota de Tween 20 (polisorbato 20 que facilita la dispersión de tejidos y células evitando la aglomeración de partículas), y agitar durante 5 min con el objetivo de liberar los microorganismos presentes en la superficie. Posteriormente se utilizó el método de dilución seriada estándar con dos diluciones (10<sup>2</sup>) y se tomó de cada dilución una muestra de 100 µL para distribuir uniformemente sobre la caja Petri con medio de cultivo de agar de papa y dextrosa (PDA), utilizando un asa de Digrafsky.

### Tinción de placas

Se prepararon laminillas (portaobjeto con cubreobjeto) siguiendo la metodología de López-Jácome *et al.* [24] para identificar microscópicamente las cepas fúngicas. Se colocó una gota de azul de lactofenol en un portaobjetos, se seleccionó la cepa a analizar y, con la ayuda de un asa esterilizada, se tomó una muestra de micelio de la placa de Petri y se depositó en la gota mencionada anteriormente. Finalmente, se observó la estructura del hongo en el microscopio, los macroconidios y los microconidios, para determinar a qué género pertenecía [25].

### Caracterización de los síntomas de fusariosis en las piñas

Mediante la inspección visual, se realizó una caracterización detallada de la sintomatología asociada a la fusariosis en los frutos de piña. Esto permitió confirmar la infección por *Fusarium sp.* en las piñas utilizadas en esta investigación, asegurando que los frutos analizados presentaban la enfermedad y eran adecuados para su uso en el estudio.

### Preparación de las muestras de estudio

Para reducir los microorganismos competidores en la superficie de las muestras de piña, se desinfectaron y eliminaron los restos de la corona y el pedúnculo, también se lavó y se retiró toda la materia extraña con una solución jabonosa. Finalmente, se sumergieron en un recipiente que contenía alcohol etílico a 99° GL durante 3 min, utilizando movimientos rotativos para que el alcohol estuviera en contacto permanente con toda la superficie. Las piñas se dejaron reposar en una cámara de flujo laminar con luz natural y ventilación durante 15 min para evaporar el exceso de alcohol [26].

### Inoculación del hongo

Las piñas que se sometieron a inhibición por inmersión en las soluciones de nanocobre se colocaron en una cámara de flujo laminar para proceder con la inoculación del hongo previamente aislado.

Con la ayuda de una aguja se realizaron unas heridas, se tomó una muestra del hongo (*Fusarium sp.*) aislado de las placas de Petri y se colocó en la superficie de la piña. El procedimiento se repitió en otro lugar de la fruta paralelo al primero ya inoculado, uno cerca de la corona y otro cerca del pedúnculo. Se dejó una piña no inoculada como muestra de control. Las piñas inoculadas se almacenaron en una cámara húmeda, donde el hongo pudo crecer bajo condiciones de humedad y temperatura ambiente durante un período mínimo de 4 días, después de este tiempo se procedió a las pruebas de inhibición durante diferentes tiempos de inmersión y evaluando el crecimiento de hongo a los 0 y 5 días de inmersión.

### Preparación de soluciones de nanopartículas de cobre

Las soluciones de nanopartículas de iones de cobre se generaron utilizando el sistema de ionización electroquímica NEC-4000, diseñado para la producción de agua ionizada con cobre. El proceso empleó agua destilada, que fue ionizada mediante la transferencia controlada de iones de cobre en el equipo, siguiendo la metodología especificada por el fabricante. El sistema electroquímico cuenta con un microprocesador electrónico y electrodos de intercambio, que libera iones de cobre bajo la aplicación de una corriente continua. Con el objetivo de asegurar un flujo constante y uniforme de agua a través del equipo se utilizó una bomba peristáltica, lo que permitió la ionización precisa del agua a las concentraciones deseadas de 3, 6 y 9 ppm de nanocobre, utilizando un espectrofotómetro ultravioleta visible para cuantificar su concentración.

### Evaluación del nanocobre en la inhibición del hongo

De acuerdo con las indicaciones descritas por Gutiérrez *et al.* [25], con algunas variaciones, se llevó a cabo esta parte de la evaluación. Una vez obtenidas las soluciones en las tres concentraciones de nanocobre, se calculó la cantidad de PDA para la inoculación. Se utilizó una marca comercial de agar TM MEDIA con certificación ISO 9001:2015, que establece que deben usarse 39 g para preparar 1 L de cultivo líquido, y se realizó la práctica por triplicado para cada una de las tres concentraciones de nanocobre, por lo tanto, para calcular la cantidad de agar líquido requerido se siguió la información de la **tabla 1**.

Tabla 1. Datos para la preparación del medio de cultivo.

Concentración de cobre (ppm)	Replicas	Cantidad de agar líquido por placa (mL)	Cantidad total de agar líquido (mL)
3	3	20	60
6	3	20	60
9	3	20	60

Las muestras de control no fueron sometidas a inmersión en soluciones de nanocobre, fueron tratadas únicamente con agua destilada para establecer un marco referencial con el objetivo de evaluar la eficiencia de las soluciones de 3, 6 y 9 ppm en el anillo de inhibición del crecimiento de *Fusarium sp.* Cada placa Petri requirió 20 mL de agar líquido, por lo que se utilizaron 60 mL para cada concentración de nanocobre.

Todos los medios preparados, junto con los testigos, se esterilizaron en autoclave para eliminar cualquier presencia de microorganismos y obtener un cultivo estéril. Inmediatamente después de la esterilización, se realizó el plaqueo para evitar que los medios se solidificaran antes de tiempo.

### Siembra del hongo

Se aplicó la metodología descrita por Nieto y Bailón [28], tomando como referencia 20 mL de medio de cultivo PDA por placa de Petri. Una vez que se plaquearon todas las concentraciones de nanocobre en las placas Petri, se permitió que el medio de cultivo se solidificara, evitando movimientos bruscos y con contacto mínimo para evitar cualquier contaminación.

Con la ayuda de un asa se extrajo un disco de micelio del hongo y se sembró en el centro de la placa, evitando el contacto con la superficie restante del agar, con el fin de obtener buenos resultados y evitar la propagación del hongo. Durante cada siembra se esterilizó el asa mediante la llama del mechero para evitar la contaminación por contacto.

### Cálculo del porcentaje de inhibición

Para calcular el porcentaje de inhibición se tomó como referencia el diámetro de crecimiento de la cepa inoculada y se contrastó con el diámetro de la muestra de control o sin tratar, para ello se utilizó la Ec. (1) [29]:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{DC-DT}{DC} \times 100$$

Donde DC es el diámetro de la muestra de control y DT el diámetro de la muestra inoculada. Las mediciones a los diámetros de las colonias se hicieron cada dos días utilizando un calibre. La medición finalizó cuando la muestra de control cubrió toda la superficie de la placa de Petri.

### Desinfección de piñas por inmersión

Se utilizaron tres tiempos de inmersión (3, 6 y 9 min) y tres concentraciones (3, 6 y 9 ppm) para el proceso de desinfección por inmersión de las piñas. Se emplearon nueve recipientes para lavar y desinfectar diferentes frutas con tres diferentes concentraciones y en tres tiempos de inmersión. Cada uno contenía una concentración determinada en orden ascendente. De esta manera, una piña se sumergía en el recipiente correspondiente con una concentración y durante el tiempo establecido hasta que se utilizaron nueve piñas, además de la muestra de control, que fue sumergida únicamente en agua destilada, en duplicado, como se describe en la **tabla 2**.

Una vez finalizada la desinfección por inmersión durante los tiempos antes mencionados (3, 6 y 9 min), se realizó un enjuague breve con agua destilada esterilizada, 100 mL para cada tratamiento, sobre toda la superficie de la piña, considerando que el agua estaba en contacto con el tallo, la corona y la cáscara. Después de este procedimiento se realizó inmediatamente (0 días) un hisopado de la superficie de las piñas para contar el hongo, luego cada piña se almacenó herméticamente para volver a cuantificar el hongo en la superficie de las nueve piñas después de 5 días.

**Tabla 2.** Número de piñas por tratamiento aplicado.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	1**	2**	3**
6	4**	5**	6**
9	7**	8**	9**

Cada número indica el número del tratamiento o unidad de piña utilizada. Se deben contar dos piñas adicionales utilizadas en el tratamiento de control (0). Los asteriscos (\*) señalan diferencias significativas entre los tratamientos.

### Control del hongo en la superficie de las piñas mediante placas Petrifilm®

Se utilizaron placas 3M Petrifilm® para colocar el hisopado de las superficies de las piñas y poder contar las unidades formadoras de colonias (UFC) del hongo durante el día 0, en los diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de nanocobre, siguiendo la Guía de Información de 3M Petrifilm® [30]. El conteo del hongo se volvió a realizar 5 días después de la inmersión de las piñas en las soluciones tratadas con nanocobre.

## Resultados y discusión

Se identificó macro y microscópicamente la presencia del hongo *Fusarium sp.*, de acuerdo a las características reportadas por Salazar et al. [31] y Hernández et al. [32], quienes mencionan que sus colonias aisladas en medio PDA al comienzo son lisas y algodonosas, posteriormente se tornan un poco lanosas, de coloración blanca en la parte superior y en la parte inferior de coloración grisácea, tal como se observa en la **figura 1** (identificación macroscópica). Por su parte, a nivel microscópico las colonias presentaron conidios abundantes.



**Figura 1.** Aislamiento del hongo *Fusarium sp.* obtenido de la superficie de la piña.

Los síntomas de la enfermedad que presentaron los frutos consistieron en pequeñas manchas irregulares de color café claro en el pericarpio y un color miel claro en la pulpa. A medida que la enfermedad progresaba, las manchas se volvieron color café oscuro, el área necrosada aumentó y el tejido afectado adquirió una apariencia flácida y húmeda. Se observó que las lesiones fueron superficiales, aunque algunas se extendieron hasta el centro de la fruta, provocando la pérdida de rigidez y la decoloración de la pulpa. Con el avance de la enfermedad, las manchas se extendieron y la pulpa mostró una clara maceración de los tejidos. En los tejidos lesionados apareció un micelio de color blanco.

El análisis de los datos obtenidos se realizó con ayuda al software Statgraphics Centurion versión 19.3.03, en donde se llevaron a cabo pruebas de varianza ANOVA, de las que se esperaba un valor  $p \leq 0,05$ . Se obtuvieron las desviaciones estándar y se realizaron pruebas de múltiples rangos por el método de 95% de LSD. La elaboración de gráficas de las dos superficies de respuesta se realizó en el Minitab 20, versión 20.3.0; también se usó el procesador de gráficas de Excel Profesional Plus 2016 para el análisis de las curvas de comportamiento del crecimiento del hongo.

En este sentido, la **figura 2** muestra la comparación del crecimiento de los micelios de *Fusarium sp.* *in vitro* durante la evaluación del anillo de inhibición cuando se pusieron en contacto con las soluciones de nanocobre, con cada una de las tres concentraciones.

En la **figura 2** se puede observar que a partir del segundo día existe un aumento en el diámetro del micelio fúngico en todos los tratamientos. El diámetro mayor correspondió a la muestra control (sin tratamiento con nanocobre, línea azul), con un diámetro máximo promedio de 9,25 cm. Mientras que, para las muestras sometidas a los tres tratamientos de nanocobre, se obtuvieron valores de diámetro promedio menores de 6,85; 5,94 y 5,34 cm de diámetro para



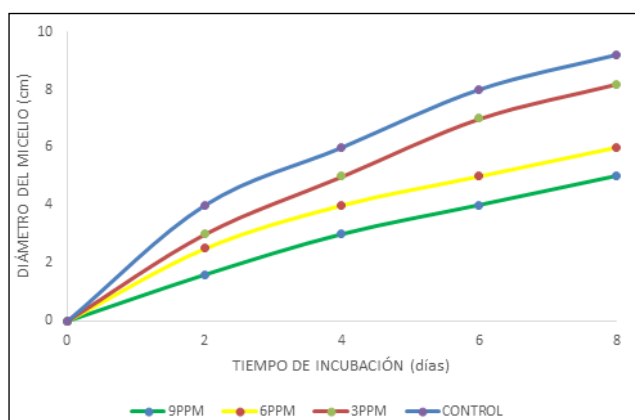


Figura 2. Diámetro del anillo de inhibición del *Fusarium sp.* durante ocho días de exposición a las soluciones de nanocobre a diferentes concentraciones.

las concentraciones de 3, 6 y 9 ppm, respectivamente, con un valor de  $p = 0,0002$  para este conjunto de datos. La mayor inhibición sobre el diámetro del micelio fúngico se obtuvo a partir de la solución de 9 ppm (línea verde). Los valores de diámetro del anillo de inhibición permiten concluir que existen diferencias significativas entre cada tratamiento y un mayor crecimiento del hongo en la muestra de control. Los resultados también mostraron variaciones en los diámetros del anillo fúngico de 3,8; 3,1 y 2,8 cm en comparación al control para las concentraciones de 3, 6 y 9 ppm, respectivamente.

Observamos que a medida que aumentaba la concentración de la solución de nanopartículas de cobre, se redujo el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* El tratamiento de 9 ppm redujo el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* en un 50,7% en comparación con la muestra de control, el diámetro micelial disminuyó de 10,55 a 4,93 cm. Además, la tabla 3 muestra diferencias significativas entre los parámetros de concentración y los días, ya que el valor  $p$  para cada variable es  $< 0,005$ . Sin embargo, la figura 2 también evidencia que las concentraciones utilizadas no inhiben completamente el crecimiento del micelio de *Fusarium sp.*

Tabla 3. Análisis de varianza (ANOVA) para el crecimiento micelial realizada en Statgraphics V. 19.3.03.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	29,624	3	9,875	9,646	0,002
B: días	125,567	4	31,392	30,657	0,000
Residuos	12,289	12	1,024		
Total (corregido)	167,482	19			

Por su parte, la tabla 4 presenta el análisis estadístico de las diferencias entre las tres concentraciones de nanopartículas de cobre aplicadas. Según esta tabla, se pudo determinar que no hay diferencias significativas en el crecimiento micelial entre los tratamientos con 6 y 9 ppm de nanocobre.

Tabla 4. Pruebas de rango múltiple para la concentración de nanocobre.

Contraste	Significancia estadística	Diferencias	Límites
0-3	*	1,70	1
0-6	*	3,93	1
0-9	*	5,07	1
3-6	*	2,23	1
3-9	*	3,37	1
6-9		1,13	1

Contraste 0: muestra de control.  
\* indica diferencias significativas entre tratamientos.

Adicionalmente, las tablas 5 y 6 presentan las UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas desinfectadas, a los 0 y 5 días después de la inmersión en las soluciones de diferentes concentraciones de nanopartículas de cobre y con distintos tiempos de inmersión.

Tabla 5. UFC/mL de *Fusarium sp.* en las soluciones de inmersión de piñas durante el día 0 de desinfección.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	18,3 ± 1,4 a	15,5 ± 0,7 a	9,5 ± 0,7 a
6	14,1 ± 1,4 b	11,0 ± 1,4 b	6,0 ± 1,4 b
9	9,5 ± 0,7 c	6,5 ± 0,7 c	3,5 ± 0,7 b

Diferentes letras por columna indican una diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Tabla 6. UFC/mL de *Fusarium sp.* en las soluciones de inmersión de piñas después de 5 días de la desinfección.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	9,5 ± 0,7 a	7,0 ± 0,0 a	4,5 ± 0,7 a
6	7,0 ± 0,0 b	4,5 ± 0,7 b	2,5 ± 0,7 b
9	4,5 ± 0,7 c	2,0 ± 0,0 c	0,5 ± 0,7 b

Diferentes letras por columna indican una diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Por otro lado, la figura 3 muestra las variaciones en las UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 0 de desinfección a diferentes concentraciones de nanopartículas de cobre y tiempos de inmersión, mientras que la figura 4 muestra las UFC/mL durante el día 5 después de la desinfección. Se pueden evidenciar las diferentes respuestas en el número de UFC obtenidas, hay un comportamiento inversamente proporcional entre las UFC/mL y la concentración de nanopartículas de cobre en conjunto con el

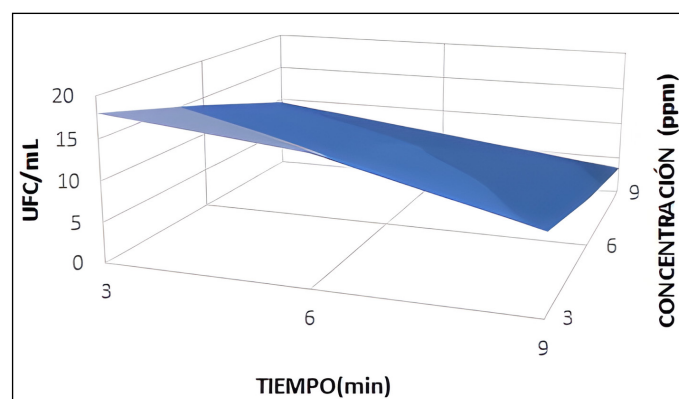


Figura 3. Efecto de nanocobre a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión en la reducción de UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas durante el día 0 de desinfección

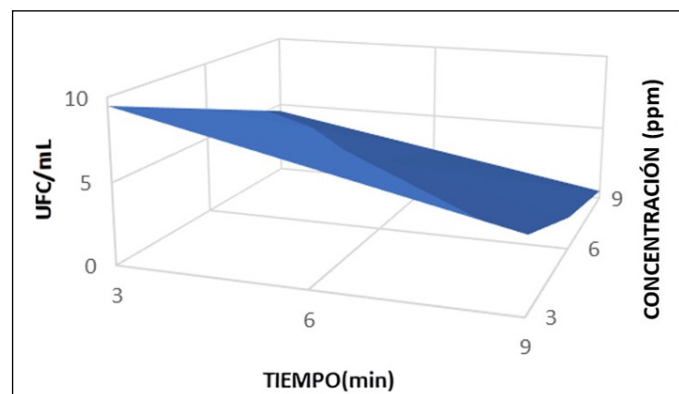


Figura 4. Efecto de nanocobre a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión en la reducción de UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas después del día 5 de desinfección

tiempo de inmersión. El mejor tratamiento resultó ser la inmersión de las piñas en la solución de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm. En este tratamiento se obtuvieron  $3,5 \times 10^3$  y  $0,5 \times 10^3$  UFC/mL a día 0 y al día 5, respectivamente, ambos con  $\sigma \pm 0,7$  UFC/mL. Estos valores son inferiores a los obtenidos en las piñas no sumergidas en las soluciones de iones de cobre, las UFC/mL para la piña no tratada tenían un valor de  $27 \times 10^3 \pm 1,4$  en el día 0 y de  $49,5 \times 10^3 \pm 0,7$  en el día 5. Es decir, se logró una reducción del 98,14% de las UFC/mL de *Fusarium sp.* sobre la superficie de la piña después de 5 días de inmersión. Estos resultados fueron consistentes con las pruebas obtenidas para el anillo de inhibición de crecimiento de *Fusarium sp.* a 9 ppm en placas Petri.

Por otro lado, las **tablas 7 y 8** muestran que los factores estudiados, concentración de nanocobre y tiempo de inmersión, tienen un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento del *Fusarium sp.*, además de ser iguales entre sí, ya que tienen el mismo valor de  $p = 0,00$ , utilizando un nivel de confianza del 95%.

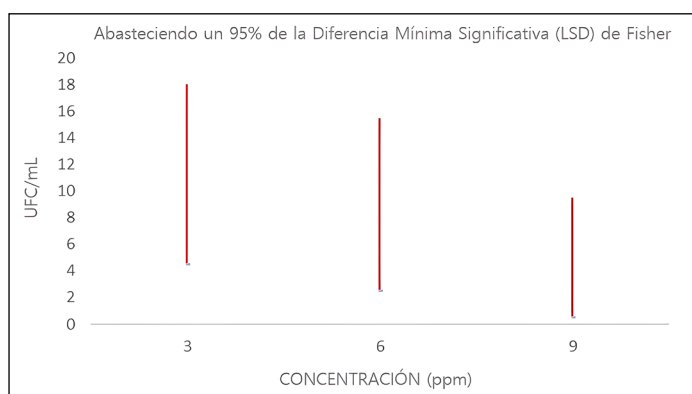
**Tabla 7.** Efecto significativo de la concentración de nanocobre en el crecimiento de *Fusarium sp.* ( $p = 0,00$  95% de confianza).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	184,111	2	92,056	74,545	0,000
B: días	172,111	2	86,056	69,683	0,000
Residuos	16,056	13	1,235		
Total (corregido)	372,278	17			

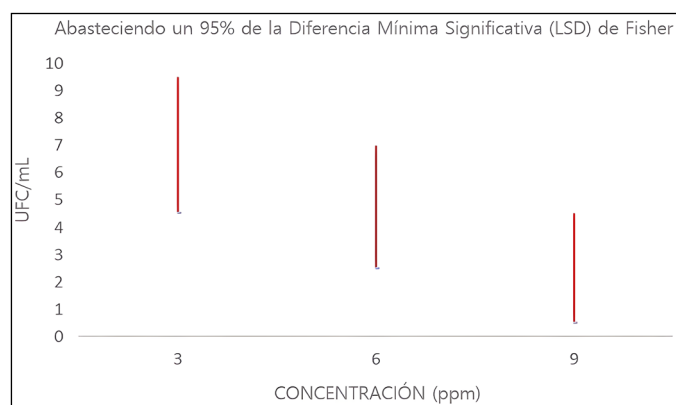
**Tabla 8.** Efecto significativo del tiempo de inmersión en el crecimiento de *Fusarium sp.* ( $p = 0,00$ ; 95% de confianza).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	61,00	2	30,50	108,14	0,00
B: días	65,33	2	32,77	115,82	0,00
Residuos	3,67	13	0,28		
Total (corregido)	130,00	17			

Esto se evidencia en los promedios generales mostrados en las **figuras 5 y 6**, donde, al realizar el análisis para cada tiempo de inmersión, hay valores mayores a  $p = 0,05$ . El valor de  $p$  en el día 0 es de 0,0142; 0,0067 y 0,0211, y en el día 5 de 0,0075; 0,0101 y 0,0139, en los tiempos de inmersión de las frutas a 3, 6 y 9 min, respectivamente. Esto indica que la concentración de nanocobre tiene un efecto significativo entre cada tiempo de inmersión utilizado. Se obtuvo un promedio de  $6,33 \pm 2,80 \times 10^3$  UFC/mL para 3 ppm y de  $2,33 \pm 1,86 \times 10^3$  UFC/mL para el tratamiento 9 (9 ppm durante 9 min), en cada una de las mediciones de tiempo de desinfección realizadas (0 y 5 días).



**Figura 5.** Medias de las colonias (UFC/mL) de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 0.



**Figura 6.** Medias de las colonias (UFC/mL) de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 5.

Además, los resultados presentados en este trabajo tienen una validez significativa, como se demostró anteriormente. Sin embargo, al analizar las medias de cada grupo por factor de datos obtenidos, notamos que algunas de ellas tenían un comportamiento estadísticamente similar al analizar mediante el método LSD 95%, como se muestra en la **tabla 9**.

**Tabla 9.** Heterogeneidad entre las medias de tratamiento.

Concentración (ppm)	Tiempo (min)					
	3 (+)	6 (+)	9 (+)	3 (-)	6 (-)	9 (-)
3	a 1	a 1	a 2	a 1	a 2	a 3
6	b 1	b 1	b 2	b 1	b 2	b 3*
9	c 1	c 2	b 3	c 1	c 2*	b 2

+: indica mediciones de UFC obtenidas en la superficie de piñas durante el día 0.

–: indica mediciones tomadas el día 5 después de la desinfección.

\* mejores tratamientos.

Diferentes letras en la misma columna y diferentes números en las filas indican diferencias significativas  $p < 0,05$ .

Por lo tanto, los mejores tratamientos en el día 0 fueron la desinfección por inmersión de las piñas durante 9 min en la solución de cobre de 6 y 9 ppm. Por su parte, en el día 5, se encontraron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min con 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en 9 ppm durante 6 o 9 min.

Comparamos los resultados obtenidos en la investigación con los obtenidos por Hernández *et al.* [33], Betancour *et al.* [34] y Leyva *et al.* [35], quienes describen que las colonias aisladas de *Fusarium sp.* en medio PDA tienen un aspecto algodonoso blanco. Las coloraciones en los contornos del asentamiento pueden ser amarillas, grises, rojas, moradas o violetas (en nuestro caso eran gris blanquecino), dependiendo de la especie analizada. Además, dependiendo del nivel de purificación y del material fuente, las cepas pueden mutar de un tratamiento a otro. Microscópicamente, los mismos autores describen que los hongos del género en cuestión se caracterizan por formar macroconidias, microconidias y polifalides, que pueden o no estar agrupadas.

Morais da Silva *et al.* [36] mencionan que 14 días después de comenzar la incubación, usando *F. guttiforme*, obtienen valores entre 4 a 10 cm de diámetro para una cepa de control, mientras que Krzysko-Łupicka *et al.* [37] describen valores promedio de control de 8,5 cm para cepas de *F. graminearum*. Por su parte, Al-Rajhi *et al.* [38] mencionan que su control tenía un diámetro de 8,2 cm para *F. incarnatum*. Por lo tanto, los valores obtenidos en la investigación concuerdan con los encontrados por estos autores. Las ligeras diferencias pueden deberse al comportamiento independiente de cada especie en el género *Fusarium*.

Según Ahnert dos Santos *et al.* [39], al usar soluciones de  $\text{CuSO}_4$  en concentraciones de 10 a 20 mmol/L en *F. solani*, estas podrían inhibir completamente el crecimiento de la colonia, teniendo un efecto

fungistático en el sexto día de análisis al usar una concentración de 5 mmol/L. Por su parte, Galal *et al.* [40] estudiaron el impacto de nanopartículas de cobre en cepas de *F. oxysporum*, obteniendo un resultado fungicida al usar concentraciones de 250 µg/mL. Esto muestra que a concentraciones más altas que las utilizadas en la investigación, se obtienen resultados letales en especies específicas de *Fusarium*.

Otros autores como Leon y Mattos [41] investigaron el efecto de la aplicación de proteína de cobre en el crecimiento de *Fusarium verticillioides*, donde lograron un porcentaje mínimo de inhibición del 87,67%, con mejores resultados cuando la solución de cobre se combinó con otros componentes biológicos. Asimismo, Pariona *et al.* [42] informaron que, utilizando concentraciones mínimas de 0,1 mg/mL, se logró una inhibición del 58%, mientras que con concentraciones de 1 mg/mL, la inhibición fue del 78%. Se obtuvieron resultados similares con un porcentaje de inhibición del 72,25% utilizando sulfato cúprico [43].

Además, Shivanad *et al.* [44] informaron propiedades antifúngicas de nanopartículas de cobre sintetizadas químicamente contra *Fusarium sp.* en condiciones *ex vivo*. Todas las nanopartículas inhibieron el crecimiento micelial de *C. capsicin* a 1000 ppm en comparación con el control. CuNP-M fue muy influyente en la inhibición del crecimiento micelial a 1000 ppm (99,78%), seguido de CuNP-E a 1000 ppm (93,75%). Los fungicidas estándar, oxocloruro de cobre al 50% WP @ 2500 ppm, reportaron 85,19%, seguido de carbendazim al 50% WP a 500 ppm con una inhibición del crecimiento del 72,69%.

La actividad antifúngica *in vitro* de las nanopartículas de óxido de cobre (CuO) también se ha evaluado. Su mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento radial del micelio de *F. oxysporum* se midió en  $91,92 \pm 0,16\%$  a 350 µg/mL, en contraste con el control no tratado ( $p < 0,05$ ) [45].

Es importante mencionar que se debe establecer la cantidad de residuos de cobre (Cu) que queda en los alimentos, esto se debe a que, aunque el cobre es un mineral esencial, en concentraciones elevadas puede ser tóxico y perjudicial para la salud. En este sentido, Taylor *et al.* [46] reportaron que la concentración de Cu que puede ser ingerida por humanos es de 1,3–2,2 mg de Cu a través de suplementos. Por otro lado, Bost *et al.* [47] afirman que las dosis por debajo de 0,8 mg tienden a tener pérdidas de absorción, mientras que lo opuesto ocurre con cantidades de 2,4 mg.

## Conclusiones

El crecimiento del anillo de inhibición de *Fusarium sp.* en agar PDA, preparado con soluciones de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm, se redujo hasta un 53% en comparación con el tratamiento de control.

Al comparar los valores de UFC/mL del hongo presentes en la superficie de la piña durante el día 0 de desinfección con los UFC/mL del día 5 después de la desinfección de las piñas en las soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm, se logró un efecto antifúngico, debido a la reducción del número de colonias del hongo en la superficie de las piñas sometidas a todos los tratamientos.

En este sentido, los mejores tratamientos para la piña en lo referente al día 0 de desinfección fueron la inmersión de las piñas durante 9 min en la solución de nanocobre a 6 y 9 ppm de concentración. Por su parte, para el día 5 después de la desinfección por inmersión, se establecieron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min en soluciones con concentraciones de 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en soluciones de 9 ppm de nanocobre durante 6 o 9 min.

Además, existieron diferencias significativas entre las UFC/mL del hongo en cada tratamiento de soluciones de nanocobre aplicado

y más aún cuando se comparó con el crecimiento del hongo en la muestra de control. Por lo tanto, se demostró que la aplicación de nanocobre es efectiva como inhibidor del crecimiento de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas durante la poscosecha, pues disminuye significativamente su crecimiento y, por ende, las pérdidas de producción por degradación fúngica de esta fruta de exportación.

## Referencias

- [1] N. A. Matrose, K. Obikeze, Z. A. Belay y O. J. Caleb, "Extractos de plantas y otros compuestos naturales como alternativas para el manejo poscosecha de hongos patógenos en frutas: una revisión", *Food Bioscience*, vol. 41, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100840>
- [2] B. G. Batista, M. A. de Chaves, P. Reginatto, O. J. Saraiva y A. M. Fuentefria, "Fusariosis humana: una infección emergente de difícil tratamiento", *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, vol. 53, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0013-2020>
- [3] M. Carmona y F. Sautua, "Epidemias de roya amarilla del trigo. nuevas razas en el mundo, monitoreo y decisión de uso de fungicidas", *Agron. Ambiente.*, vol. 38, nro. 1, 2018.
- [4] D. Lopez-Lima, A. I. Mtz-Enriquez, G. Carrión, S. Basurto-Cereceda y N. Pariona, "El papel bifuncional de las nanopartículas de cobre en tomate: Tratamiento eficaz contra el marchitamiento por *Fusarium* y promotor del crecimiento vegetal", *Sci. Hortic.*, vol. 277, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109810>
- [5] M. Khatami *et al.*, "Síntesis más ecológica de nanopartículas de óxido de cobre utilizando té y su eficacia antifúngica contra *Fusarium solani*", *Geomicrobiol. J.*, vol. 36, nro. 9, pp. 777–781, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1621963>
- [6] N. D. Pham, M. M. Duong, M. V. Le, H. A. Hoang y L. K. O. Pham, "Preparación y caracterización de nanopartículas de cobre coloidal antifúngicas y su actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici*", *C. R. Chim.*, vol. 22, nro. 11–12, pp. 786–793, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2019.10.007>
- [7] S. C. Gaikwad *et al.*, "Cribado de diferentes especies de *Fusarium* para seleccionar especies potenciales para la síntesis de nanopartículas de plata", *J. Braz. Chem. Soc.*, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130247>
- [8] P. Chen *et al.*, "Difusión y direccionalidad de nanopartículas cargadas en la membrana bicapa lipídica", *ACS Nano*, vol. 10, nro. 12, pp. 11541–11547, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b07563>
- [9] A. Saravanan *et al.*, "Una revisión sobre la biosíntesis de nanopartículas metálicas y sus aplicaciones ambientales", *Chemosphere*, vol. 264, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135713>
- [10] A. M. Abdelaziz, S. S. Salem, A. M. A. Khalil, D. A. El-Wakil, H. M. Fouda y A. H. Hashem, "Potencial de nanopartículas de óxido de zinc biosintetizadas para controlar la enfermedad del marchitamiento por *Fusarium* en berenjena (*Solanum melongena*) y promover el crecimiento de las plantas", *Biometals*, vol. 35, nro. 3, pp. 601–616, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10534-022-00391-8>
- [11] X. Chen y H. J. Schluesener, "Nanosilver: Un nanoproducto en aplicación médica", *Toxicol. Letón.*, vol. 176, nro. 1, pp. 1–12, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
- [12] A. Simon-Deckers, B. Gouget, M. Mayne-L'Hermite, N. Herlin-Boime, C. Reynaud y M. Carrière, "Investigación *in vitro* de la toxicidad y acumulación intracelular de nanopartículas de óxido y nanotubos de carbono en neumocitos humanos A549", *Toxicology*, vol. 253, nro. 1–3, pp. 137–146, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.09.007>
- [13] Z. M. Xiu, Q. B. Zhang, H. L. Puppala, V. L. Colvin y P. J. J. Alvarez, "Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles", *Nano Lett.*, vol. 12, nro. 8, pp. 4271–4275, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/nl301934w>
- [14] S. Chernousova y M. Epple, "Plata como agente antibacte-

- riano: iones, nanopartículas y metales”, *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 52, nro. 6, pp. 1636–1653, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201205923>
- [15] F. Sambale, S. Wagner, F. Stahl, R. R. Khaydarov, T. Scheper y D. Bahnemann, “Investigaciones del efecto tóxico de nanopartículas de plata en líneas celulares de mamíferos”, *J. Nanomater.*, vol. 5, nro. 2, 2015.
- [16] M. Rai *et al.*, “Fusarium como un nuevo hongo para la síntesis de nanopartículas: mecanismo y aplicaciones”, *J. Fungi*, vol. 7, nro. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7020139>
- [17] H. E. Chalandar, H. Reza Ghorbani, H. Attar y S. Abolhasan Alavi, “Efecto antifúngico de nanopartículas de cobre y óxido de cobre contra *Penicillium* en fruta de naranja”, *Biosci. Res. Asia*, vol. 14, nro. 1, pp. 279–284, 2017. DOI: <http://doi.org/10.13005/bbra/2445>
- [18] L. Carnielli-Queiroz, P. M. B. Fernandes, A. A. R. Fernandes y J. A. Ventura, “Un método rápido y confiable para la detección molecular de *Fusarium guttiforme*, el agente etiológico de la fusariosis de la piña”, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 62, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180591>
- [19] S. Khayankarn, J. Uthaibutra, S. Setha y K. Whangchai, “Uso de agua oxidante electrolizada combinada con una onda ultrasónica para el control de enfermedades poscosecha de la piña cv. ‘Phu Lae’”, *Crop. Prot.*, vol. 54, pp. 43–47, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.07.004>
- [20] J. N. Mercado-Ruiz *et al.*, “Calidad comercial de piña MD2 (*Ananas comosus* L.) Tratada en postcosecha con ácido 2-hidroxibenzoico”, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 20, nro. 2, 2019.
- [21] Instituto Ecuatoriano de Normalización, *Frutas frescas. Piña. Requisitos*, 2009.
- [22] J. Castro Chinchilla y G. Umaña Rojas, “Frecuencia de los hongos asociados al desarrollo de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña en dos zonas de Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 41, nro. 2, 2017. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v41i2.31296>
- [23] J. Castro Chinchilla y G. Umaña Rojas, “Poblaciones e identificación de los hongos causantes de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña, en dos zonas de Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 39, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15517/rac.v39i3.21792>
- [24] L. E. López-Jácome, M. Hernández-Durán, C. A. Colín-Castro, S. Ortega-Peña, G. Cerón-González y R. Franco-Cendejas, “Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología”, *Investigación en Discapacidad*, vol. 3, nro. 1, 2014.
- [25] H. L. Barnett y B. B. Hunter, *Géneros ilustrados de hongos imperfectos*, 4.ª ed., St. Paul, American Phytopathological Society, 1998.
- [26] C. Bailón Aijón y L. Nieto Melo, “Evaluación de la germinación in vitro de *epidendrum oxysepalum* Hagsater & E. Santiago en presencia de hongos micorrízicos aislados de orquídeas de ecosistemas altoandinos”, *Revista Ciencia: Desarrollo e Innovación*, vol. 2, nro. 2, pp. 11–19, 2016.
- [27] A. A. Asanova, V. I. Polonskiy, N. S. Manukovsky y S. V. Khizhnyak, “Actividad fungistática de nanopartículas diseñadas”, *Nanotechnol. Russ.*, vol. 13, nro. 5–6, pp. 277–280, 2018. DOI: <http://doi.org/10.1134/S1995078018030023>
- [28] C. Betancourth García, C. Salazar González, L. E. Lagos Mora, V. Díaz Rodríguez y S. Mora Chaves, “Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama”, *Rev. Udca Actual. Divulgar. Científico.*, vol. 23, nro. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1471>
- [29] A.D. Hernández Amasifuen, A. J. Pineada Lazaro y H. W. Noriega-Cordoba, “Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de ‘ají pimentón’ *Capsicum annum* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú”, *Arnaldoa*, vol. 26, nro. 2, págs. 689–697, 2019. DOI: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26211>
- [30] 3M Microbiology Products, *Petrijilm™ Placas para Recuento de Coliformes*, Boulevard de l’Oise.
- [31] S. G. Leyva-Mir, H. E. Vega-Portillo, H. E. Villaseñor-Mir, B. Tlapal-Bolaños, M. Vargas-Hernández, M. Camacho-Tapia, J. M. Tovar-Pedraza, “Caracterización de especies de *Fusarium* causantes de pudrición de raíz del trigo en el Bajío, México”, *Chil. j. agric. anim. sci.*, vol. 33, nro. 2, pp. 142–151, 2017. DOI: <http://doi.org/10.4067/S0719-38902017005000404>
- [32] K. Retana, J. A. Ramírez Coché, O. Castro y M. Blanco Meneses, “Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica”, *Agronomía Costarricense*, vol. 42, nro. 1, pp. 15–17, 2017. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>
- [33] E. Morais da Silva *et al.*, “El aceite esencial de eucalipto (*Corymbia citriodora*) y el biofertilizante presentan un efecto fungistático sobre *Fusarium guttiforme*”, *American Academic Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, vol. 88, nro. 1, pp. 133–144, 2022.
- [34] T. Krzyśko-Łupicka, W. Walkowiak y M. Białoń, “Comparación de la actividad fungistática de aceites esenciales seleccionados en relación con aislados de *Fusarium graminearum*”, *Molecules*, vol. 24, nro. 2, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24020311>
- [35] A. M. H. Al-Rajhi, R. Yahya, M. M. Alawlaqi, M. A. Fareid, B. H. Amin y T. M. Abdelghani, “Nanopartículas de óxido de cobre como fungistato para inhibir la producción de micotoxinas y enzimas hidrolíticas por *Fusarium incarnatum* aislado de biomasa de ajo”, *Bioresources*, vol. 17, nro. 2, pp. 3042–3056, 2022. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.17.2.3042-3056>
- [36] R. A. A. Dos Santos *et al.*, “Actividad antifúngica de compuestos de cobre, zinc y potasio en el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*”, *Microbiol. Res. J. Int.*, vol. 29, nro. 6, págs. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.9734/mrji/2019/v29i630179>
- [37] G. F. Galal, B. T. Abd-Elhalim, K. A. Abou-Taleb, A. A. Haroun y R. F. Gamal, “Toxicity assessment of green synthesized Cu nanoparticles by cell-free extract of *Pseudomonas silesiensis* as antitumor cancer and antimicrobial”, *Ann. Agric. Sci.*, vol. 66, nro. 1, pp. 8–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2021.01.006>
- [38] B. L. Ttacca y L. L. M. Calderon, “Control de hongos fitopatógenos asociados a semillas de palto *Persea americana* Mill. (Lauraceae) In Vitro”, *Ciencia Latina*, vol. 5, nro. 3, págs. 2690–2701, 2021. DOI: [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v5i3.483](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i3.483)
- [39] N. Pariona *et al.*, “Síntesis de nanopartículas de cobre para el control de hongos fitopatógenos”, *Revista ECI Perú*, vol. 15, nro. 2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2018.0017/>
- [40] D. Alburqueque Andrade y R. Gusqui Mata, “Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas”, *Arnaldoa*, vol. 25, nro. 2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22497/877>
- [41] K. S. Iliger *et al.*, “Nanopartículas de cobre: síntesis ecológica y manejo de la enfermedad de podredumbre de la fruta del chile causada por *Colletotrichum capsici*”, *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, nro. 2, pp. 1477–1486, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.003>
- [42] H. Ashraf *et al.*, “Mecanismo de inhibición de nanopartículas de óxido de cobre sintetizadas en verde de *Cassia fistula* hacia *Fusarium oxysporum* al potenciar el crecimiento y la respuesta de defensa en tomates”, *Environ. Sci. Nano*, vol. 8, nro. 6, pp. 1729–1748, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0EN01281E>
- [43] A. A. Taylor *et al.*, “Critical Review of Exposure and Effects: Implications for Setting Regulatory Health Criteria for Ingested Copper”, *Environ. Manage.*, vol. 65, nro. 1, pp. 131–159, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00267-019-01234-y>
- [44] M. Bost, S. Houdart, M. Oberli, E. Kalonji, J. F. Huneau y I. Margaritis, “Dietary copper and human health: Current evidence and



unresolved issues”, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol. 35, pp. 107–115, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.02.006>

[45] M. Blanco Meneses, O. Castro Zúñiga y G. Umaña Rojas, “Estudio preliminar de especies de *Fusarium* presentes en piña (*Ananas comosus*) en Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 46, nro. 1, 2022. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v46i1.49867>

[46] R. Vilaplana, K. Pérez-Revelo y S. Valencia-Chamorro, “Aceites esenciales como tratamiento alternativo poscosecha para el control de la fusariosis, causada por *Fusarium verticillioides*, en piñas frescas (*Ananas comosus*)”, *Sci. Hortic.*, vol. 238, nro. 19, pp. 255–263, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.052>

**Citación del artículo:**

H. Romero Bonilla, E. Jaramillo Aguilar, J. Medina, M. J. Farias y H. Ayala Armijos, "Nanopartículas de iones de cobre para el control de *Fusarium sp.* en piña para exportación", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 41-50, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.112172>



## Migración específica de N-nitrosaminas en productos elastoméricos

### Resumen

Para analizar la migración de N-nitrosaminas desde materiales elastoméricos de caucho, como chupos para biberones, y desde materiales elastoméricos de látex, como guantes y condones, se requieren técnicas de alta sensibilidad que permitan determinar si los materiales migran cantidades de N-nitrosaminas que superen el límite permitido por la regulación (LOD 10 µg/Kg de material). Para ello, en este trabajo se implementó y validó un método de análisis de N-nitrosaminas: nitrosodimetilamina (NDMA), nitrosometiletilamina (NMEA), nitrosodietilamina (NDEA), nitrosopiridinamina (NPYR), nitrosodipropilamina (NDPA), nitrosofenilisopropilamina (NPIP) y nitrosodibutilamina (NDBA), mediante cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría de masas (GC-MS), y se comparó la extracción de N-nitrosaminas por extracción líquido-líquido y por microextracción en fase sólida en su versión de espacio de cabeza (HS-SPME).

La extracción mediante HS-SPME permite la recuperación de las N-nitrosaminas de mayor peso molecular: NDPA, NPIP y NDBA, mientras que la extracción líquido-líquido resultó apropiada para la extracción y análisis de todas las N-nitrosaminas evaluadas en este trabajo. Se estableció que el límite de detección instrumental (LOD) para las N-nitrosaminas NDPA, NPIP y NDBA es de 3 a 6 µg/Kg empleando el método de monitoreo de ión selectivo (SIM). Este LOD se encuentra por debajo del límite de migración permitido por la regulación internacional.

Como aplicación del método se evaluó la migración de N-nitrosaminas en tres materiales elastoméricos: chupos de caucho para biberones, guantes y condones de látex. Todos los materiales presentaron resultados de migración de N-nitrosaminas por debajo del LOD permitido. Sin embargo, se evidenció la migración de otros compuestos potencialmente peligrosos para la salud como ftalatos y sustancias nitrosables.

**Palabras clave:** N-nitrosaminas; látex; caucho.

## Specific migration of N-nitrosamines in elastomeric products

### Abstract

To analyze the migration of N-nitrosamines from elastomeric rubber materials, such as baby bottle nipples, and from elastomeric latex materials, such as gloves and condoms, highly sensitive techniques are required to determine if the materials migrate amounts of N-nitrosamines that exceed the limit permitted by regulation (LOD 10 µg/Kg of material). For this purpose, a method for analyze N-nitrosamines was implemented and validated in this work: nitrosodimethylamine (NDMA), nitrosomethylethylamine (NMEA), nitrosodiethylamine (NDEA), nitrosopyridinamide (NPYR), nitrosodibutylamine (NDBA), nitrosodipropylamine (NDPA), and nitrosophenylisopropylamine (NPIP), using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The extraction of N-nitrosamines was compared using liquid-liquid extraction and headspace solid-phase microextraction (HS-SPME).

HS-SPME extraction allows for the recovery of higher molecular weight N-nitrosamines: NDPA, NPIP, and NDBA, while liquid-liquid extraction proved suitable for the extraction and analysis of all the N-nitrosamines evaluated in this study. It was established that the instrumental detection limit (LOD) for the N-nitrosamines NDPA, NPIP, and NDBA is between 3 and 6 µg/Kg using the selective ion monitoring (SIM) method. This LOD is below the migration limit permitted by international regulations.

As an application of the method, the migration of N-nitrosamines was evaluated in three elastomeric materials: rubber baby bottle nipples, latex gloves, and condoms. All materials showed N-nitrosamine migration results below the permitted LOD. However, the migration of other potentially health-hazardous compounds, such as phthalates and nitrosable substances, was evident.

**Keywords:** N-nitrosamines; latex; frubber.

## Migração específica de N-nitrosaminas em produtos elastoméricos

### Resumo

Para analisar a migração de N-nitrosaminas a partir de materiais de borracha elastomérica, como bicos de mamadeira, e de materiais de látex elastomérico, como luvas e preservativos, são necessárias técnicas altamente sensíveis para determinar se os materiais migram quantidades de N-nitrosaminas que excedem o limite permitida pela regulamentação (LOD 10 µg/Kg de material). Para tal, foi implementado e validado neste trabalho um método para analisar N-nitrosaminas: nitrosodimetilamina (NDMA), nitrosometiletilamina (NMEA), nitrosodietilamina (NDEA), nitrosopiridinamida (NPYR), nitrosodibutilamina (NDBA), nitrosodipropilamina (NDPA) e nitrosofenilisopropilamina (NPIP), usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). A extração de N-nitrosaminas foi comparada usando extração líquido-líquido e microextração em fase sólida por headspace (HS-SPME).

A extração por HS-SPME permite a recuperação de N-nitrosaminas de maior peso molecular: NDPA, NPIP e NDBA, enquanto a extração líquido-líquido provou ser adequada para a extração e análise de todas as N-nitrosaminas avaliadas neste estudo. Foi estabelecido que o limite de detecção instrumental (LOD) para as N-nitrosaminas NDPA, NPIP e NDBA é entre 3 e 6 µg/Kg usando o método de monitoramento de íon seletivo (SIM). Este LOD está abaixo do limite de migração permitido pelas regulamentações internacionais.

Como aplicação do método, a migração de N-nitrosaminas foi avaliada em três materiais elastoméricos: bicos de borracha para mamadeiras, luvas de látex e preservativos. Todos os materiais apresentaram resultados de migração de N-nitrosaminas abaixo do LOD permitido. No entanto, a migração de outros compostos potencialmente prejudiciais à saúde, como ftalatos e substâncias nitrosáveis, foi evidente.

**Palavras-chave:** N-nitrosaminas; látex; borracha.



## Introducción

Las N-nitrosaminas son compuestos orgánicos volátiles cuya estructura química se caracteriza por la presencia de un grupo nitroso unido a una amina secundaria o terciaria [1]. La  $\alpha$ -hidroxilación enzimática de N-nitrosaminas, mediada por el citocromo P450, genera una nitrosamina primaria dealquilada que se puede descomponer en diazonio, el cual es un agente alquilante del ADN, lo cual explica las propiedades mutagénicas y carcinogénicas de estos compuestos [2-4].

Como respuesta a estos riesgos identificados para la salud pública, numerosas agencias reguladoras a nivel internacional, como la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) [5], la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) [6] y la Organización Mundial de la Salud (OMS) [7], han establecido límites y regulaciones estrictas para establecer la presencia de N-nitrosaminas en alimentos [8], agua potable [5, 9], productos farmacéuticos [10], entre otros productos de consumo humano.

Entre los productos de mayor consumo que requieren que se observe la presencia de N-nitrosaminas, se encuentran los productos elastoméricos de látex, como guantes, globos inflables [11] y condones [12, 13], así como productos elastoméricos de caucho, especialmente chupos para biberones y chupos de entretenimiento [14-17]. En la fabricación de estos productos se emplean aceleradores de vulcanización, como ditiocarbamatos, que al descomponerse producen aminas secundarias, las cuales, mediante la interacción con agentes nitrosantes, como sales de nitritos u óxidos de nitrógeno, producen N-nitrosaminas [1].

Las N-nitrosaminas más comunes son nitrosodimetilamina (NDMA), nitrosodibutilamina (NDBA), nitrosodipropilamina (NDPA), nitrosometiltilamina (NMEA), nitrosodietilamina (NDEA), nitrosopiridinamina (NPYR) y nitrosifenilisopropilamina (NPIP). Internacionalmente su migración se encuentra regulada por la directiva UNE 93/11/EEC, la cual indica que la liberación de N-nitrosaminas no puede exceder 10  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de material [18]. En Colombia, la Resolución 4143 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social regula que la migración de N-nitrosaminas de productos elastómeros debe ser evaluada por medio de un método con límite de detección (LOD) de 0,01  $\text{mg}/\text{Kg}$  de simulante [19].

Dado que las N-nitrosaminas son contaminantes químicos riesgosos para la salud humana y animal, se requiere de la implementación y aplicación de regulaciones estrictas que mitiguen los efectos adversos de estas sustancias. Estas regulaciones deben ir acompañadas de una investigación en metodologías analíticas para el cumplimiento de la normatividad. Ante esta necesidad, los métodos analíticos para la detección y cuantificación de N-nitrosaminas, especialmente en medicamentos, han evolucionado significativamente, utilizando técnicas avanzadas como cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS/MS) [8, 17, 20-23] y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS/MS) [9-11, 24-25].

El objetivo de este trabajo es implementar un método de extracción y un método de análisis que permitan cumplir los requisitos técnicos de la regulación y que permitan ofrecer el servicio de análisis a productores de materiales elastoméricos de la región. Para ello, se comparó la selectividad de la extracción de N-nitrosaminas mediante extracción líquido-líquido y microextracción en fase sólida en su versión de espacio de cabeza (HS-SPME). Se implementó y validó el análisis de N-nitrosaminas mediante GC-MS.

El método validado se empleó para establecer la migración específica de N-nitrosaminas en productos elastoméricos comerciales de amplio consumo, como guantes, condones de látex y chupos para biberones de caucho. El uso de estos materiales implica el contacto

con saliva y sudor, lo que puede ocasionar la migración de N-nitrosaminas y, por ende, requieren de vigilancia analítica. Para productos del mercado latinoamericano no se encontraron evidencias de estudios anteriores.

## Materiales y métodos

### Reactivos

Para la evaluación instrumental se empleó el material de referencia certificado (MRC) EPA 521 Nitrosamine Mix 40035-U (Supelco), el cual contenía una mezcla de siete nitrosaminas (NDMA, NDBA, NDPA, NMEA, NDEA, NPYR y NPIP), cada una con una concentración de  $2000,00 \pm 6,52 \mu\text{g}/\text{mL}$  en diclorometano. A partir de este MRC se prepararon siete niveles de calibración entre 5 y 35  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

Para la evaluación metodológica de los ensayos de migración de N-nitrosaminas hacia el simulante saliva artificial, se empleó el MRC EPA 8270/Appendix IX Nitrosamines Mix 502138 (Supelco), el cual contenía una mezcla de 9 nitrosaminas: NDMA, NDBA, NDPA, NMEA, NDEA, NPYR, NPIP, N-nitrosomorfolina (NMOR) y N-difenilnitrosamina (NDPhA), cada una con una concentración de  $2000,0 \pm 40,2 \mu\text{g}/\text{mL}$  en metanol. A partir de dicho MRC se prepararon cinco niveles de calibración, entre 10 y 100  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , en simulante saliva artificial.

El simulante de saliva artificial se preparó por disolución de 2,0 g de  $\text{NaHCO}_3$ , 0,2 g de  $\text{NaCl}$ , 0,1 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y 20,0 mg de  $\text{NaNO}_3$  en 0,5 L de agua destilada. El pH final del simulante de saliva fue  $9,0 \pm 0,1$ .

Para la determinación de los índices de retención se empleó una mezcla de alcanos lineales C7-C30 Saturated alkanes 49451-U (Supelco) con una concentración de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en hexano. Se empleó tetradecano (> 99,0%) 87146 (Sigma-Aldrich) como estándar interno.

### Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Se empleó un cromatógrafo de gases Agilent 7890B acoplado a un detector selectivo de masas Agilent 5977A. El equipo estaba equipado con una columna capilar RTX5-MS (5%-fenil)-metilpolisiloxano (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ). Se empleó como gas de arrastre helio (99,999%) a un flujo de 1,0 mL/min. Para el análisis cromatográfico se fijó la temperatura de inyección en 250  $^\circ\text{C}$ , en modo *split* 1:10 para las extracciones líquido-líquido, con un volumen de inyección de 1  $\mu\text{L}$ , y en modo *splitless* para la fibra de microextracción en fase sólida. Se programó el horno de la columna para mantenerse durante 3 min a 40  $^\circ\text{C}$ , luego se calentó con una rampa de 15  $^\circ\text{C}/\text{min}$  hasta 100  $^\circ\text{C}$ , donde se mantuvo por 1 min, y finalmente con una rampa de 17  $^\circ\text{C}/\text{min}$  hasta 200  $^\circ\text{C}$ . Los espectros de masa de los compuestos se obtuvieron por ionización en modo de impacto electrónico (IE), con una energía de ionización de 70 eV, por medio del escaneo continuo de un rango de masas (modo SCAN) y por monitoreo de ion selectivo (modo SIM), en un rango de masas de 40 a 350 uma. La temperatura de la fuente de iones se mantuvo en 230  $^\circ\text{C}$  y la temperatura de la línea de transferencia al espectro de masas se fijó en 250  $^\circ\text{C}$ .

La identificación de las N-nitrosaminas se realizó comparando los criterios cromatográficos (índice de retención lineal) y espectral (espectros de masa), obtenidos para cada nitrosamina presente en el MRC, contra los publicados en la base de datos NISTv.2017.

### Validación del método

Para la validación del método se evaluaron los siguientes parámetros de desempeño: 1) selectividad, 2) linealidad y 3) precisión bajo condiciones de repetibilidad [26].

La selectividad fue evaluada mediante el análisis de blancos de re-

activos. Así se evaluó que el perfil cromatográfico del blanco no presentara señales asociadas a los analitos de interés.

La linealidad se evaluó mediante la preparación gravimétrica de soluciones calibrantes en un intervalo entre 5 y 35  $\mu\text{g/L}$ . Las N-nitrosaminas se prepararon simultáneamente en siete niveles de calibración separados de manera equidistante, realizando triplicado del análisis GC-MS, mediante un diseño completamente al azar. Los resultados fueron evaluados mediante análisis de varianza para la regresión y pruebas t de Student para evaluar la significancia de la pendiente y del intercepto. Dicho tratamiento se realizó con la herramienta de análisis de datos de Microsoft Excel®. Para la evaluación de la linealidad de las curvas de calibración se empleó el software ValidaR del Instituto Nacional de Metrología, el cual permite verificar los supuestos de linealidad por comparación de valores experimentales con valores estadísticos p de Shapiro-Wilk, el estadístico Durbin-Watson y la prueba p de Breusch-Pagan para un nivel de confianza  $p = 0,05$  [26].

La precisión del método bajo condiciones de repetibilidad se determinó al enriquecer el simulante de migración (saliva artificial) con 1 mg/Kg de N-nitrosaminas, se evaluó la respuesta obtenida luego de realizar la extracción por medio de HS-SPME para un sextuplicado de muestras. Los resultados fueron expresados como desviación estándar relativa (%RSD).

### Extracción de nitrosaminas

#### Ensayos de migración de nitrosaminas

Los ensayos de migración global de nitrosaminas fueron realizados mediante el método de inmersión total en el Laboratorio de Extensión y Asesorías del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, acreditado por el Organismo Nacional de Acreditación en Colombia (ONAC) (14-LAB-058). Se ensayaron muestras comerciales de chupos para biberón, guantes y condones. Para los ensayos de migración de N-nitrosaminas de estas muestras se siguió el procedimiento descrito en la norma europea EN 12868:2018 [27].

Los ensayos de migración se prepararon de tal manera que por cada 100 mL de simulante se sumergieron 15 g de material, para el caso de guantes y chupos, y 6 g de polímero, para el caso de los condones. Después, los ensayos se mantuvieron a  $40 \pm 2$  °C en una incubadora Binder KB 115UL durante  $24,0 \pm 0,5$  h. Se prepararon tres réplicas por cada muestra y un blanco (simulante saliva artificial). Una vez concluido el tiempo de exposición, se realizó la extracción de las N-nitrosaminas por dos métodos: HS-SPME y extracción líquido-líquido con diclorometano (Merck).

#### Microextracción en fase sólida en su versión de espacio de cabeza (HS-SPME)

Se realizó la extracción de los compuestos volátiles por medio de HS-SPME empleando una fibra divinilbenceno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco). El simulante (1 mL) se transfirió a un vial de 10 mL, el cual se cerró herméticamente con septa y agrafe. Los tiempos óptimos de equilibrio y de extracción se evaluaron mediante un diseño experimental de un factor a la vez (OFAT) [28], entre 5 y 15 min, a una temperatura de  $40 \pm 2$  °C, en una incubadora Binder KB 115UL. Los compuestos retenidos se desorbieron en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas (GC-MS), a una temperatura de 250 °C, durante 5 min, en modo *splitless* (1 min).

#### Extracción líquido-líquido

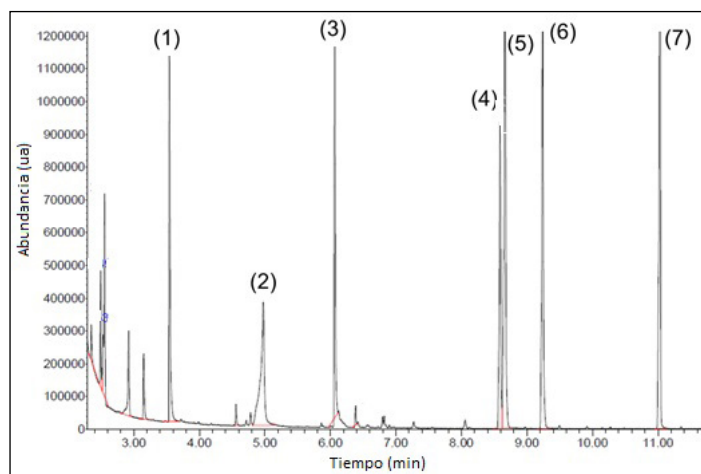
Para la extracción líquido-líquido de N-nitrosaminas se transfirió el simulante acuoso de saliva artificial, producto del ensayo de migración global, a un embudo de decantación de 250 mL. Posteriormente, se hicieron dos extracciones sucesivas con 20 mL de diclorome-

tano (grado analítico, Merck). La fase orgánica se hizo pasar a través de un lecho de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, granular, en un embudo de filtración de vástago. El extracto orgánico obtenido se concentró en un sistema de destilación fraccionada a 50 °C hasta un volumen final de 1 mL. Al extracto obtenido se le adicionó una concentración de 30 mg/Kg de n-tetradecano (Sigma Aldrich) como estándar interno y se analizó por GC-MS.

### Resultados y discusión

Durante el desarrollo del método de separación de siete N-nitrosaminas se ensayaron diferentes rampas de calentamiento, buscando la separación entre analitos con una resolución mayor a 1,5 en el menor tiempo de análisis posible. Bajo las condiciones establecidas, la resolución de las nitrosaminas NPYR (4) y NDPA (5) fue menor a 1. Con el propósito de cuantificación, se empleó el área bajo la curva del ion con abundancia relativa del 100% (pico base de cada espectro de masas), lo cual permite solucionar el problema de baja resolución.

En la **figura 1** se presenta el perfil cromatográfico del MRC de N-nitrosaminas en diclorometano a una concentración de 10 mg/L obtenido en modo SCAN. Se observan siete señales, las cuales fueron asignadas a cada N-nitrosamina declarada en el material de referencia, mediante la comparación del espectro de masas con el hallado en la biblioteca NIST 2017 y su respectivo índice de retención en columna RTX-5MS.



**Figura 1.** Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del material de referencia certificado de N-nitrosaminas, concentración 10 mg/L, modo SCAN, columna RTX5-MS.

En la **tabla 1** se presenta el número asignado a cada N-nitrosamina en el cromatograma, los índices de retención en columna RTX5-MS, la abreviatura usada, el ion molecular  $[M]^{+*}$ , que corresponde al pico base en todos los espectros de masas de las N-nitrosaminas (excepto para NDPA, PB = 70, y para NDBA, PB = 84), así como los iones fragmento característicos para cada N-nitrosamina. Se verificó que la desviación del tiempo de retención de los fragmentos de cuantificación y cualificación para cada una de las N-nitrosaminas no fuese mayor a 0,1 min, y que la relación entre las áreas de los picos correspondientes a los fragmentos de cualificación y cuantificación no presentara una desviación mayor al 20%.

En el intervalo de concentraciones evaluado (5-35  $\mu\text{g/L}$ ) sólo fue posible tres N-nitrosaminas: NDPA, NPIP y NDBA. Las N-nitrosaminas de peso molecular menor a 114 um no fueron detectadas en este intervalo de concentraciones. Esto pudo ser debido a la descomposición de N-nitrosaminas en el puerto de inyección. Mutsuga *et al.* sugieren la inyección de N-nitrosaminas a una temperatura de 120 °C en el puerto de inyección [16].

Los análisis con el método SIM se realizaron siguiendo el fragmento de mayor intensidad (pico base), el cual corresponde al ion molecular  $[M+H]^{+*}$  para todas las N-nitrosaminas, excepto para NDPA



**Tabla 1.** Criterios cromatográficos y espectrales para la identificación de N-nitrosaminas en modo IE.

N.º	IRL (RTX5-MS)	N-nitrosamina	Abreviatura	Ion molecular [M] <sup>+</sup> * (Da)	Iones fragmento (m/z)
1	947	N-nitrosodimetilamina	NDMA	<b>74</b>	42, 43
2	1040	N-nitrosometiletilamina	NMEA	<b>88</b>	89, 42
3	1197	N-nitrosodietilamina	NDEA	<b>102</b>	56, 57, 42, 44
4	1363	N-nitrosopirrolidina	NPYR	<b>100</b>	41
5	1372	N-nitrosodi-n-propilamina	NDPA	130	70, 43
6	1402	N-nitrosopiperidina	NPIP	<b>114</b>	55, 42, 56
7	1565	N-nitrosodi-n-butilamina	NDBA	158	84, 57, 116

En negrita el ion molecular [M]<sup>+</sup>\* usado para la cuantificación de cada N-nitrosamina, el ion [M-60]<sup>+</sup> para la cuantificación de NDPA y el ión [M-74]<sup>+</sup> para la cuantificación de NDBA.

**Tabla 2.** Curvas de calibración N-nitrosaminas (NSA). Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) en modo SCAN y modo SIM.

NSA	Curvas de calibración (y = mx + b)		R <sup>2</sup>	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
	m	b			
<b>SCAN</b>					
NDPA	3310,9 ± 429,1	1115519 ± 10280	0,952	9,4 ± 1,2	31,2 ± 3,8
NDBA	1341,6 ± 157,8	51566 ± 3588	0,960	8,8 ± 1,0	29,4 ± 3,4
<b>SIM</b>					
NDPA	159,2 ± 7,1	2210,9 ± 160,9	0,992	3,3 ± 0,2	11,1 ± 0,5
NPIP	188,1 ± 12,4	6390,0 ± 283,5	0,983	5,0 ± 0,3	16,6 ± 1,1
NDBA	158,8 ± 1,8	731,8 ± 44,8	0,963	6,3 ± 0,7	21,1 ± 2,4

Criterios de linealidad aceptados: prueba p de Shapiro-Wilk, el estadístico Durbin-Watson y la prueba p de Breusch-Pagan.

p = 0,05.

Intervalo de concentración 5–35 µg/L

y NDBA, cuyo pico base corresponde al fragmento m/z 70 y m/z 84, producto de la pérdida de la olefina [CH<sub>3</sub>-CH=CH<sub>2</sub>] y [CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>], respectivamente, y de la subsecuente pérdida de una molécula de agua debido a la abstracción de un hidrógeno secundario por rearrreglo McLafferty de la dialquil N-nitrosamina [29, 30].

En la **tabla 2** se presentan los resultados del ajuste por mínimos cuadrados ordinarios de las curvas de calibración para cada una de las N-nitrosaminas analizadas con métodos SCAN y SIM.

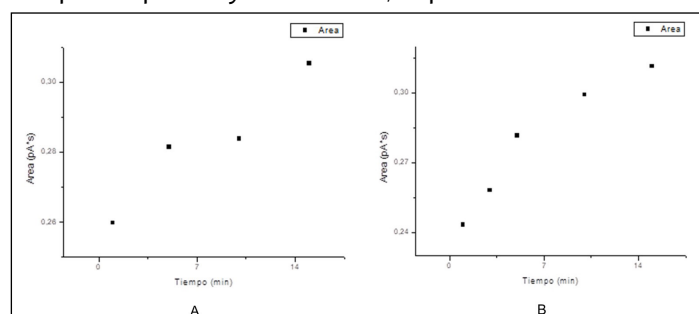
Si bien los valores de los coeficientes de determinación de las curvas de calibración son menores a 0,99, los resultados de las pruebas realizadas por ValidaR indican que los datos de NDPA y NDBA se ajustan a un modelo de regresión lineal y ajuste por mínimos cuadrados ordinarios, tanto para los resultados del análisis en modo SCAN como en modo SIM. El análisis de los residuales demostró que para NPIP, utilizando el modo SCAN, las observaciones presentan un comportamiento heterocedástico, es decir, la varianza de los errores del modelo aumenta con el aumento de la concentración, razón por la cual se debe considerar el uso de un modelo de regresión lineal de mínimos cuadrados ponderados [26].

La sensibilidad del modo SIM aumenta en un factor aproximado de diez veces para NDBA y de 20 veces para NDPA. Los LOD instrumentales para las NDPA, NPIP y NDBA presentan valores entre 3 y 6 µg/L con el modo SIM y alrededor de 10 µg/L con el modo SCAN. Estos valores obtenidos coinciden con los determinados por Mutsga *et al.*, quienes establecieron LOD de 5 µg/L para GC-MS con el modo SIM, usando soluciones calibrantes para las mismas N-nitrosaminas [16].

### Extracción y análisis de N-nitrosaminas por HS-SPME y GC-MS

Dado que la extracción de compuestos volátiles mediante HS-SPME ha sido ampliamente usada en el análisis de N-nitrosaminas [10, 11], se evaluaron las condiciones óptimas para las variables tiempo de equilibrio y tiempo de extracción mediante un diseño de

experimentos OFAT [28]. Se mantuvo constante el volumen del vial (10 mL) y la temperatura de equilibrio y muestreo (40 °C) mientras se realizó la variación individual del tiempo de equilibrio y de extracción entre 5 y 15 min. En las **figuras 2A** y **2B** se presenta el comportamiento de la respuesta (área total) con el incremento del tiempo de equilibrio y de extracción, respectivamente.



**Figura 2.** Evaluación del tiempo de equilibrio (A) y del tiempo de extracción (B) de N-nitrosaminas por HS-SPME.

Los resultados muestran que para tiempos de equilibrio (**figura 2A**) entre 5 y 10 min, la abundancia en la respuesta en el detector varía de forma insignificante, razón por la cual se seleccionó el menor tiempo de equilibrio (5 min). Para el tiempo de extracción (**figura 2B**) se observa que la abundancia en la respuesta del detector aumenta con el tiempo de extracción hasta un máximo donde permanece constante. Así se estableció 15 min como tiempo de extracción óptimo.

El empleo de HS-SPME permitió la extracción de cuatro N-nitrosaminas: NDPA, NPIP, NDBA y NDPA, en el rango de concentraciones entre 10 y 100 µg/Kg de simulante. Por debajo de este nivel de concentración no fue posible extraer las N-nitrosaminas NDMA, NMEA, NDEA, NPYR y NMOR. Este resultado coincide con los presentados por Feng *et al.*, quienes ensayaron la extracción de N-nitrosaminas (10 ng/mL en saliva artificial) con una fibra CAR/PDMS, durante 60 min, a una temperatura entre 45 y 80 °C, y evidenciaron una mayor extracción de NDPA y NDBA con respecto a la extracción de NDMA y NDEA [11].

Tabla 3. Repetibilidad y curvas de calibración para N-nitrosaminas extraídas por HS-SPME en simulante de saliva.

N-nitrosamina	%RSD	Curvas de calibración ( $y = mx + b$ )		R <sup>2</sup>	LOD ( $\mu\text{g/Kg}$ simulante)	LOQ ( $\mu\text{g/Kg}$ simulante)
		m	b			
<b>SCAN</b>						
NDPA	9,6	5308,1 $\pm$ 396,9	31996,8 $\pm$ 24077,7	0,984	15,7 $\pm$ 1,2	47,6 $\pm$ 3,6
NDBA	16,6	7956,5 $\pm$ 251,9	24611,2 $\pm$ 15280,7	0,997	20,2 $\pm$ 1,9	ND
<b>SIM</b>						
NDPA	9,7	1631,7 $\pm$ 56,6	24348,3 $\pm$ 3435,6	0,996	7,3 $\pm$ 0,2	21,2 $\pm$ 0,6
NPIP	8,6	78,9 $\pm$ 3,6	800,8 $\pm$ 221,4	0,993	9,7 $\pm$ 0,4	29,4 $\pm$ 1,2
NDBA	12,2	209,3 $\pm$ 20,2	5480,9 $\pm$ 1224,7	0,973	6,6 $\pm$ 0,2	20,0 $\pm$ 0,6

Criterios de linealidad aceptados: prueba  $p$  de Shapiro-Wilk, el estadístico Durbin-Watson y la prueba  $p$  de Breusch-Pagan.  
 $p = 0,05$ .

Intervalo de concentraciones de 10 a 100  $\mu\text{g/Kg}$  de simulante.

Se evaluó la precisión del método de extracción, en términos de repetibilidad, al enriquecer el simulante de saliva artificial con una concentración de 1 mg/Kg de simulante. Como resultado se obtuvieron %RSD menores al 15% para NDPA, NPIP y NDBA. Para NDPhA, el método de extracción HS-SPME presenta %RSD > 20%. La repetibilidad de HS-SPME típicamente se encuentra en porcentajes que varían entre 5 y 20% [11, 31]. Así, el método de extracción HS-SPME no presenta repetibilidad para NDPhA. Recientemente se han desarrollado nuevos soportes para fibras de SPME que aumentan la repetibilidad de la extracción hasta alcanzar valores alrededor del 3% de RSD [31].

Finalmente se obtuvieron las curvas de calibración en simulante de saliva artificial para las tres N-nitrosaminas: NDPA, NPIP y NDBA, en el rango de concentraciones entre 10 y 100  $\mu\text{g/Kg}$  de simulante. Los análisis se realizaron en modos SIM y SCAN. La evaluación de los supuestos de linealidad permitió establecer que los datos se ajustan a un modelo regresión lineal por mínimos cuadrados ordinarios [30, 31].

En la **tabla 3** se presentan el %RSD, los coeficientes de calibración de las curvas de los modos SCAN y SIM, y los LOD y LOQ metodológicos para cada N-nitrosamina extraída y detectada por HS-SPME en simulante de saliva artificial.

Como ocurrió con las soluciones de calibración, el análisis de los residuales estableció que la extracción de NPIP por HS-SPME y GC-MS en modo SCAN presenta un comportamiento heterocedástico, de tal forma que los datos no se ajustan a un modelo regresión lineal de mínimos cuadrados ordinarios [26].

Al comparar estos resultados con los trabajos publicados para la extracción de N-nitrosaminas mediante HS-SPME y posterior análisis GC-MS con diversos detectores, se encuentra diversos intervalos de sensibilidad. Por ejemplo, para GC-MS/MS se alcanza un LOQ de 50  $\mu\text{g/Kg}$  [10], mientras que con el uso de GC-MS-TQ se logra un LOD de 6  $\mu\text{g/Kg}$  [24]. En el caso de GC-MS Orbitrap, se logra un LOQ entre 0,03 y 0,40  $\mu\text{g/Kg}$  usando extracción en fase sólida [15]. Los resultados aquí obtenidos son del mismo orden a los establecidos con un analizador de triple cuadrupolo [24]. Se sugiere continuar la investigación para establecer las condiciones bajo las cuales es posible extraer y analizar N-nitrosaminas de bajo peso molecular, de un nivel inferior a 10  $\mu\text{g/Kg}$ .

En un trabajo similar en el que se evaluó la migración de N-nitrosaminas a partir de globos usando saliva artificial por HS-SPME y GC-MS, Feng *et al.* [11] encontraron LOD para NDPA de 2,65  $\mu\text{g/Kg}$ , para NPIP de 0,70  $\mu\text{g/Kg}$ , y para NDBA de 0,63  $\mu\text{g/Kg}$ . Estos niveles de sensibilidad resultan de 10 a 100 veces inferiores a los establecidos mediante técnicas de análisis reconocidas por su mayor sensibilidad, lo que sugiere un posible error en las unidades de dicha publicación.

Vale la pena destacar que si se compara la extracción líquido-líquido con HS-SPME y GC-MS, esta última es más rápida y libre de solvente. La sensibilidad con HS-SPME resultó menor a la obtenida con extracción líquido-líquido para NDPA y NPIP y del mismo orden para NDBA.

Finalmente, los resultados demuestran que mediante el método de HS-SPME o extracción líquido-líquido y el análisis GC-MS, en modo SIM, es posible cumplir la evaluación de la restricción sobre que los materiales, objetos, envases y equipamientos elastoméricos destinados a entrar en contacto con alimentos y bebidas N-nitrosaminas en cantidades superiores a las detectadas con un método con LOD de 10  $\mu\text{g/Kg}$  de simulante para NDPA, NPIP y NDBA.

### Ensayos de migración específica

La implementación del método validado se realizó con la evaluación de la migración de N-nitrosaminas a partir de tres materiales elastoméricos, guantes, condones de látex y chupos de biberón de caucho, hacia un simulante de saliva artificial. La extracción mediante HS-SPME de los simulantes obtenidos luego del proceso de migración descartó la migración de N-nitrosaminas al nivel de concentración del LOD. Para corroborar este hallazgo, los simulantes de saliva artificial obtenidos para cada uno de los materiales evaluados fueron sometidos a extracción líquido-líquido. En la **figura 3** se presentan los perfiles cromatográficos obtenidos con el modo SCAN.

En la **tabla 4** se presenta el número correspondiente a la señal en el cromatograma, los compuestos identificados, su índice de retención en columna RTX5-MS y su cuantificación por estándar interno.

En ninguno de los tres materiales elastoméricos evaluados se evidenció la migración de N-nitrosaminas hacia el simulante de saliva artificial al nivel de los LOD establecidos para soluciones calibrantes (3 a 6  $\mu\text{g/Kg}$ ). Por lo tanto, se determina que estos materiales cumplen con la normatividad vigente.

Se detectó la migración de otros componentes propios de la manufactura de los materiales. En el caso de los chupos de biberón, se evidenció la migración de vainillina y ftalato de dietilo en cantidades superiores a 10 mg/Kg; y en los condones se estableció la migración de butilhidroxitolueno (BHT) y N-etilfenilamina en cantidades por encima de 30 mg/Kg. El BHT es un excipiente empleado como ingrediente en cosméticos para estabilizar y proteger de la oxidación, que no presenta riesgos para el consumidor en concentraciones inferiores al 0,8% [32]. En los guantes, la migración de N-butil-1-butanamina y ácido dodecanoico supera 10 mg/Kg, la presencia de aminas puede deberse a la degradación térmica de las respectivas N-nitrosaminas en el puerto de inyección del cromatógrafo [16]. La migración de ftalato de dietilo y ácido dodecanoico es común en los tres materiales evaluados, en cantidades cercanas a los 10 mg/Kg de material.

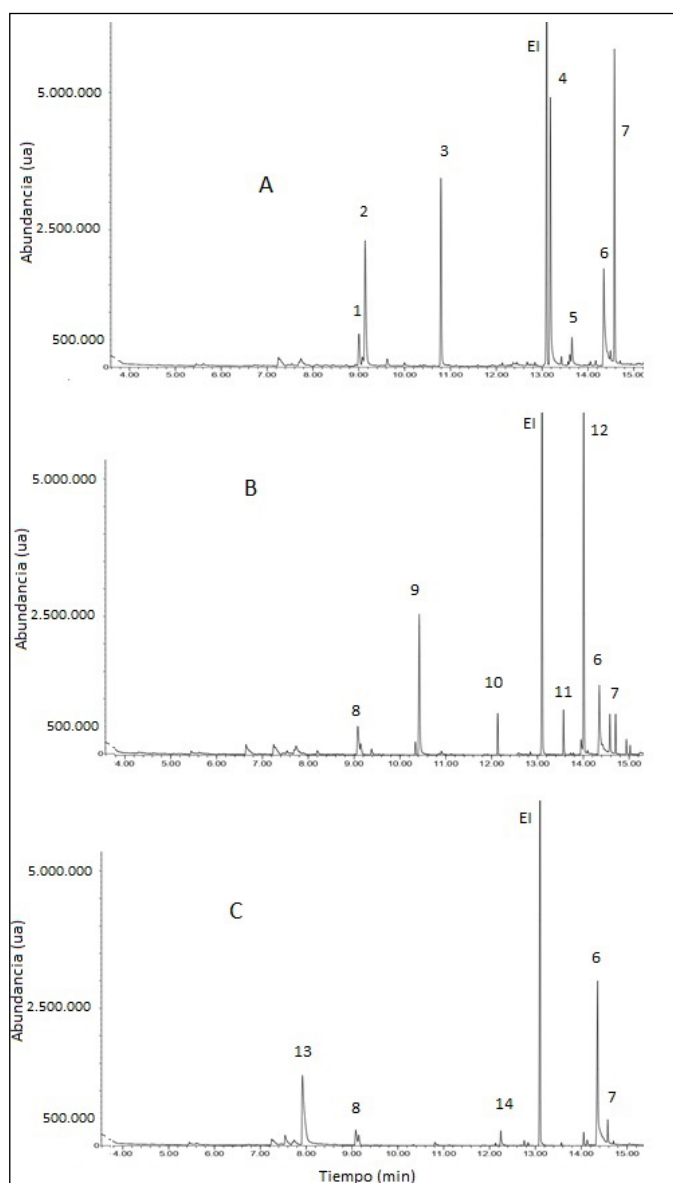


Figura 3. Análisis GC-MS (modo SCAN) de extractos líquido-líquido de ensayos de migración para A: chupo de biberón, B: condones y C: guantes. EI: estándar interno *n*-tetradecano.

Tabla 4. Migración de compuestos volátiles en muestras de chupos para biberón, condones y guantes.

Material	N.º	IRL (RTX-5MS)	Compuesto	Migración (mg/Kg material)
Chupos de biberón	1	1030	2-etil-1-hexanol	1,9 ± 0,1
	2	1041	Alcohol bencílico	7,9 ± 0,3
	3	1170	Acetato de bencilo	8,1 ± 0,4
	4	1409	Vanillina	14,0 ± 1,0
	5	1452	Etil vanillina	1,4 ± 0,1
	6	1571	Ácido dodecanoico	6,5 ± 0,1
	7	1605	Ftalato de dietilo	11,0 ± 1,0
Condón	8	1027	Limoneno	6,8 ± 0,1
	9	1128	N-etilfenilamina	31,0 ± 2,0
	10	1256	N-bencil-N-etil-p-isopropilbenzamida	6,7 ± 0,1
	11	1509	N, N-dimetil-1-dodecanamina	3,0 ± 0,1
	12	1513	Butil-hidroxitolueno	61,0 ± 3,0
Guantes	6	1571	Ácido dodecanoico	18,0 ± 1,0
	7	1605	Ftalato de dietilo	7,4 ± 0,1
	13	< 1000	N-butil-1-butanamina	9,3 ± 0,5
	8	1024	Limoneno	0,9 ± 0,0
	14	1329	N,N-dibutil-formamida	0,9 ± 0,0
6	1571	Ácido dodecanoico	13,0 ± 1,0	
7	1605	Ftalato de dietilo	1,1 ± 0,1	

## Conclusiones

En este trabajo se implementó un método normalizado para el ensayo de migración específica de N-nitrosaminas que permite cumplir con las exigencias analíticas de la regulación vigente. El método fue validado en términos de selectividad, linealidad y repetibilidad. Los límites de detección instrumentales (< 7 µg/L) y metodológicos (< 10 µg/Kg de simulante) permiten cumplir con la regulación establecida sobre la migración de tres N-nitrosaminas: NDPA, NPIP y NDPA. Este método se empleó para el análisis de la migración de N-nitrosaminas en tres materiales elastoméricos: chupos de biberón, condones y guantes. Se comprobó que ninguno de los materiales evaluados presenta migración de N-nitrosaminas y que cumplen con la normatividad vigente. Sin embargo, en todos los materiales evaluados, se evidenció la migración de otros compuestos potencialmente peligrosos para la salud como sustancias nitrosables y ftalatos.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con el proyecto de investigación “Validación de un método por cromatografía de gases para el análisis de migración específica de nitrosaminas en empaques plásticos”, código Hermes 48541, de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá.

## Referencias

- [1] J. C. Beard y T. M. Swager, “An Organic Chemist’s Guide to N-Nitrosamines: Their Structure, Reactivity, and Role as Contaminants”, *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 86, pp. 2037–2057, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02774>
- [2] K. Li et al., “Estimated cancer risks associated with nitrosamine contamination in commonly used medications”, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 18, nro. 18, pp. 9465, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18189465>
- [3] A. Thresher, R. Foster, D. J. Ponting, S. A. Stalford, R. E. Tennant y R. Thomas, “Are all nitrosamines concerning? A review of mutagenicity and carcinogenicity data”, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 116, pp. 104749, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104749>
- [4] E. S. Carlson, P. Upadhyaya y S. S. Hecht, “A general method for detecting Nitrosamide formation in the in vitro metabolism of nitrosamines by Cytochrome P450s”, *J. Vis. Exp.*, vol. 127, pp. 56312, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3791/56312>
- [5] United States Environmental Protection Agency, “Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater. Method 607: Nitrosamines”, 1984. [En línea]. Disponible en: [https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/method\\_607\\_1984.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/method_607_1984.pdf). [Último acceso: 12/07/2024]
- [6] D. Schrenk et al., “Risk assessment of N-nitrosamines in food”, *EFSA Journal*, vol. 21, nro. 3, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7884>
- [7] World Health Organization (WHO), “Good manufacturing practices considerations for the prevention and control of nitrosamine contamination in pharmaceutical products. [En línea]. Disponible en: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/current-projects/qas24\\_943\\_gmp\\_nitrosamines\\_forpublic52f95166-1c71-4cc2-a499-05bc4967bf14.pdf?sfvrsn=2140e3f4\\_2](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/current-projects/qas24_943_gmp_nitrosamines_forpublic52f95166-1c71-4cc2-a499-05bc4967bf14.pdf?sfvrsn=2140e3f4_2). [Último acceso: 12/07/2024].
- [8] S. S. Herrmann, L. Duedahl-Olesen y K. Granby, “Simultaneous determination of volatile and non-volatile nitrosamines in processed meat products by liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionisation”, *Journal of Chromatography A.*, vol. 1330, pp. 20–29, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.009>
- [9] J. A. McDonald, N. B. Harden, L. D. Nghiem y S. J. Khan, “Analysis of N-Nitrosamines in Water by Isotope Dilution Gas Chromatography-Electron Ionisation Tandem Mass Spectrometry”,

- Talanta*, vol. 99, pp. 146–154, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.05.032>
- [10] S. H. Chang, H. Y. Ho, Ch. Ch. Chang, Ch. Z. Zang, Y. H. Hsu, M. Ch. Lin, S. H. Tseng y D. Y. Wang, “Evaluation and optimization of a HS-SPME-assisted GC-MS/MS method for monitoring nitrosamine impurities in diverse pharmaceuticals”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 221, pp. 115003, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115003>
- [11] D. Feng, L. Liu, L. Zhao, Q. Zhou y T. Tan, “Evaluation of Simulant Migration of Volatile Nitrosamines from Latex Gloves and Balloons by HS-SPME-GC-MS”, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 50, nro. 8, pp. 733–738, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms057>
- [12] International Organization for Standardization, *Condoms – Determination of nitrosamines migrating from natural rubber latex condoms*. ISO 29941: 2010, Geneve, 2010.
- [13] C. Burnier y G. Massonnet, “Forensic analysis of condom traces: Chemical considerations and review of the literature”, *Forensic Science International*, vol. 310, pp. 110255, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110255>
- [14] P. Li, H. Bai, H. Li, M. Chen, Q. Lü y Q. Zhang, “Determination of migration of 15 N-nitrosamines and N-nitrosatable substances from children’s latex articles by gas chromatography-tandem mass spectrometry using solid phase extraction”, *Chinese J. Chromatogr.*, vol. 32, nro. 1, pp. 81–91, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2013.08032>
- [15] R. Li, Y. Liu, Z. Wang, Q. Zhang, H. Bai y Q. Lv, “High resolution GC-Orbitrap MS for nitrosamines analysis: Method performance, exploration of solid phase extraction regularity, and screening of children’s products”, *Microchemical Journal*, vol. 162, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105878>
- [16] M. Mutsuga, M. Yamaguchi y Y. Kawamura, “Analysis of N-Nitrosamine Migration from Rubber Teats and Soothers”, *American Journal of Analytical Chemistry*, vol. 4, nro. 6, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4236/ajac.2013.46035>
- [17] J. B. Hwang, J. E. Lee, E. Kim, K. Y. Eom, H. Kim y S. Lee, “Analysis of N-nitrosamines and N-nitrosatable substances from baby bottle rubber teats by liquid chromatography tandem mass spectrometry”, *Food Additives and Contaminants: Part A*, vol. 40, nro. 4, pp. 518–527, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2023.2193276>
- [18] Unión Europea, “Directiva 93/11/CEE de la Comisión, de 15 de marzo de 1993, relativa a la cesión de N-nitrosaminas y de sustancias N-nitrosables por las tetinas y chupetes de elastómeros o caucho”, *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 1993. [En línea]. Disponible en: <https://op.europa.eu/es/publication-detail/-/publication/354de978-8111-4562-a90b-abf38b151a48>. [Último acceso: 12/07/2024].
- [19] Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, “Resolución 4143 de 2012”, 2012. [En línea]. Disponible en: <https://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=50951>. [Último acceso: 12/07/2024].
- [20] F. Kühne et al., “N-nitrosamines migration from food contact materials into food simulants: analysis and quantification by means of HPLC-APCI-MS/MS”, *Food Additives and Contaminants: Part A*, vol. 35, nro. 4, pp. 792–805, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1414959>
- [21] A. C. Batista Junios, Y. Arrates Rocha, G. Guimaraes Souza y A. Rodrigues Chaves, “Development of a reliable method for determination of N-nitrosamines in medicines using disposable pipette extraction and HPLC-MS analysis”, *Anal. Methods*, vol. 16, pp. 3318–3330, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1039/d4ay00554f>
- [22] J. H. Sung et al., “Liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of N-nitrosamines released from rubber or elastomer teats and soothers”, *Food Additives and Contaminants: Part A*, vol. 27, nro. 12, pp. 1745–1754, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.508184>
- [23] M. A. Monteiro et al., “Investigation of Carcinogenic Impurities of N-Nitrosamines in Sartan Pharmaceutical Products Marketed in Brazil: Development and Validation of Method Based on High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry”, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 112, nro. 5, pp. 1305–1314, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2023.01.005>
- [24] N. Papadasu y R. Kotanka, “A Novel Validated GC-MS/MS Method for the Estimation of N-Nitroso Dimethyl Amine and N-Nitroso Diethyl Amine in Zidovudine”, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 62, nro. 5, pp. 399–405, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmae008>
- [25] M. K. Parr y J. F. Josepg, “NDMA impurity in valsartan and other pharmaceutical products: Analytical methods for the determination of N-nitrosamines”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 164, pp. 536–549, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.010>
- [26] D. A. Ahumada, C. Paredes, J. Abella e I. González, *Validación de métodos en análisis químico cuantitativo*. Instituto Nacional de Metrología. Subdirección de Metrología Química y Biología, Bogotá, Instituto Nacional de Meteorología, 2023. Disponible en: [https://inm.gov.co/web/wp-content/uploads/2023/05/Guia\\_ValidacionMetodosAnalisisQuimicoCuantitativo-16.pdf](https://inm.gov.co/web/wp-content/uploads/2023/05/Guia_ValidacionMetodosAnalisisQuimicoCuantitativo-16.pdf)
- [27] Asociación Española de Normalización y Certificación, *Artículos de puericultura. Métodos para determinar la liberación de N-Nitrosaminas y sustancias N-Nitrosables por las tetinas y los chupetes de caucho o elastómeros*. UNE-EN 12868:2018, Madrid, AENOR, 2018.
- [28] C. G. Marrubini et al., “Experimental designs for solid-phase microextraction method development in bioanalysis: A review”, *Analytica Chimica Acta*, vol. 1119, pp. 77–100, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.012>
- [29] W. T. Rainey, W. H. Christie y W. Lijinsky, “Mass spectrometry of N-nitrosamines”, *Biomedical Mass Spectrometry*, vol. 5, nro. 6, pp. 395–408, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1002/bms.1200050606>
- [30] J. W. Apsimon y J. D. Cooney, “Some Aspects of the Mass Spectra of N-Nitrosamines”, *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 49, pp. 1367–1371, 1971. DOI: <https://doi.org/10.1139/v71-227>
- [31] R. Shirey y M. Halpenny, “SPME Adsorbent Fibers with a Nitinol-Core for an Enhanced Fiber Reproducibility”. [En línea]. Disponible en: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/211/722/nit-reproducibility-wp6311en-mk.pdf>. [Último acceso: 12/07/2024].
- [32] Scientific Committee on Consumer Safety Members, “SCCS OPINION on Butylated Hydroxytoluene (BHT)”, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 138, supl. C, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105312>

**Citación del artículo:**

D. C. Sinuco León, D. A. Mora Rojas y F. Rico Sarmiento, "Migración específica de N-nitrosaminas en productos elastoméricos", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 51-58, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.111531>





## Efecto del dopaje con Al, C y Si en nanojaulas de nitruro de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) para mejorar la adsorción de gases tóxicos ambientales: técnica de simulación en un sensor de gas de alto rendimiento

### Resumen

Las propiedades electrónicas, magnéticas y termodinámicas de la adsorción de gases tóxicos, incluidas las moléculas de NO, NO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O, mediante el uso de nanojaulas de nitruro de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) dopadas con aluminio (Al), carbono (C) y silicio (Si) se han investigado utilizando la teoría funcional de la densidad (DFT). Según el análisis de resonancia cuadrupolar nuclear (RCN), las  $B_5N_{10}NC$  dopadas con C ha mostrado la fluctuación más baja en el potencial eléctrico y la carga atómica negativa más alta en NO@C- $B_4N_{10}NC$ , NO<sub>2</sub>@C- $B_4N_{10}NC$  y N<sub>2</sub>O@C- $B_4N_{10}NC$ . Además, los resultados informados de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) han demostrado que la aceptación de electrones para los átomos dopantes del X- $B_4N_{10}NC$ , a través de la adsorción de moléculas de gas, se puede ordenar como Si > Al > C. Según los resultados de la cantidad de energía libre de Gibbs ( $\Delta G^{\circ}_{ads}$ ), la eficiencia máxima del dopaje de átomos de Al, C y Si en  $B_5N_{10}NC$ , para la adsorción de moléculas de gas, depende del enlace covalente entre las moléculas de gas y X- $B_4N_{10}NC$  como un potente sensor para la eliminación de la contaminación del aire.

**Palabras clave:** contaminación del aire; sensor de gases; dopaje; nanojaulas de nitruro de boro  $B_5N_{10}NC$ ; teoría funcional de la densidad.

## Effect of Al, C, and Si doping on $B_5N_{10}$ -nanocages for enhancing environmental toxic gas adsorption: simulation technique in a high-performance gas sensor

### Abstract

The electronic, magnetic and thermodynamic properties of adsorption of toxic gases, including NO, NO<sub>2</sub>, and N<sub>2</sub>O molecules, by using boron nitride nanocages ( $B_5N_{10}NC$ ) doped with aluminum (Al), carbon (C), and silicon (Si) have been investigated using density functional theory (DFT). Based on nuclear quadrupole resonance (NQR) analysis, C-doped on  $B_5N_{10}NC$  has shown the lowest fluctuation in electric potential and the highest negative atomic charge in NO@C- $B_4N_{10}NC$ , NO<sub>2</sub>@C- $B_4N_{10}NC$ , and N<sub>2</sub>O@C- $B_4N_{10}NC$ . Furthermore, the reported results of NMR spectroscopy have exhibited that the yield of electron accepting for doping atoms on the X- $B_4N_{10}NC$  through gas molecules adsorption can be ordered as Si > Al > C. Based on the results of ( $\Delta G^{\circ}_{ads}$ ) amounts in this research, the maximum efficiency of Al, C, and Si atoms doping of  $B_5N_{10}NC$  for gas molecules adsorption depends on the covalent bond between NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O molecules and X- $B_4N_{10}NC$  as a potent sensor for air pollution elimination.

**Keywords:** air pollution; gas sensor; doping; boron nitride nanocages  $B_5N_{10}NC$ ; density functional theory.

## Efeito da dopagem Al, C e Si no nanogaiolas de nitreto de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) para melhorar a adsorção de gases tóxicos ambientais: técnica de simulação em um sensor de gás de alto desempenho

### Resumo

As propriedades eletrônicas, magnéticas e termodinâmicas da adsorção de gases tóxicos, incluindo moléculas de NO, NO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O, usando nanogaiolas de nitreto de boro ( $B_5N_{10}NC$ ) dopadas com alumínio (Al), carbono (C) e silício (Si) foram investigadas usando densidade teoria funcional (DFT). De acordo com a análise de ressonância quadrupolo nuclear (RCN), o  $B_5N_{10}NC$  dopado com C apresentou a menor flutuação no potencial elétrico e a maior carga atômica negativa em NO@C- $B_4N_{10}NC$ , NO<sub>2</sub>@C- $B_4N_{10}NC$  e N<sub>2</sub>O@C- $B_4N_{10}NC$ . Além disso, os resultados relatados da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) mostraram que a aceitação de elétrons para os átomos dopantes do X- $B_4N_{10}NC$ , através da adsorção de moléculas de gás, pode ser ordenada como Si > Al > C. De acordo com os resultados de a quantidade de energia livre de Gibbs ( $\Delta G^{\circ}_{ads}$ ) a máxima eficiência de dopagem dos átomos de Al, C e Si em  $B_5N_{10}NC$ , para a adsorção de moléculas de gás, depende da ligação covalente entre as moléculas de gás e X- $B_4N_{10}NC$  como um poderoso sensor para remoção de poluição do ar.

**Palavras-chave:** poluição do ar; sensor de gás; dopagem; nanogaiolas de nitreto de boro  $B_5N_{10}NC$ ; densidade teoria funcional.



## Introducción

Los nanomateriales de nitruro de boro (BN) se han utilizado debido a sus atributos ecológicos y su capacidad para la adsorción de contaminantes [1–5]; además, los nanométricos de BN tienen propiedades semiconductoras, por lo que se consideran una alternativa adecuada para reemplazar los nanotubos de carbono. Las propiedades de los átomos de boro (B) y nitrógeno (N), que son los primeros vecinos del carbono (C) en la tabla periódica, hacen del BN un compuesto llamativo para numerosos estudios [6–9].

El BN existe en múltiples formas que difieren según la disposición de los átomos de B y N, lo que da lugar a materiales con diferentes propiedades. Existe BN en formas cristalinas que son isoelectrónicas a una red de C estructurada de manera similar. Debido a su excelente estabilidad térmica y química, las cerámicas de BN se utilizan en equipos de alta temperatura y fundición de metales. El BN tiene un uso potencial en nanotecnología. En los últimos años se han hecho diferentes investigaciones sobre la adsorción de contaminantes químicos y la aplicación de nanoestructuras de BN como adsorbentes para la purificación de agua [10–12]. Varias formas físicas de nanoadsorbentes de BN, como nanopartículas, fullerenos, nanotubos, nanofibras, nanocintas, nanoláminas, nanomallas, nanoflores y esferas huecas, se han considerado como posibles adsorbentes debido a sus características excepcionales: su gran superficie, su variabilidad estructural, su gran resistencia química y mecánica, sus abundantes defectos estructurales y su gran cantidad de sitios reactivos y grupos funcionales [13–15].

Sus grupos funcionales y su alta superficie específica permiten que el BN adsorba física y químicamente moléculas de gas [16–22]. Investigaciones recientes [23–25] proporcionan conocimientos novedosos sobre las características fisicoquímicas y el impacto toxicológico de los nanomateriales 2D de BN comerciales. Estos resultados respaldan la idoneidad de los nanomateriales de BN como materiales 2D para desarrollar aplicaciones biomédicas y medioambientales. Sin embargo, dado que el grado de pureza, el tamaño, la forma y el espesor del nanomaterial pueden influir en la respuesta biológica de diferentes organismos, en el presente trabajo se han elegido las nanojaulas de nitruro de boro  $B_5N_{10}NC$ .

En las investigaciones también se ha evaluado la eficiencia de las  $B_5N_{10}NC$  dopadas con Aluminio (Al), C y Silicio (Si) para la detección de gases. Después de dopar las nanojaulas con los elementos mencionados, la fórmula del compuesto es  $X-B_4N_{10}NC$ , donde  $X = Al, C$  o  $Si$ . También se puede destacar la naturaleza quimisorbitiva del enlace entre las moléculas de gas con B y N a través de la distribución en equilibrio de los átomos dopantes (Al, C y Si) y las nanojaulas. El dopado de Al, C y Si en algunos compuestos produce semiconductores isoelectrónicos que pueden aplicarse como biosensores para la detección de gases.

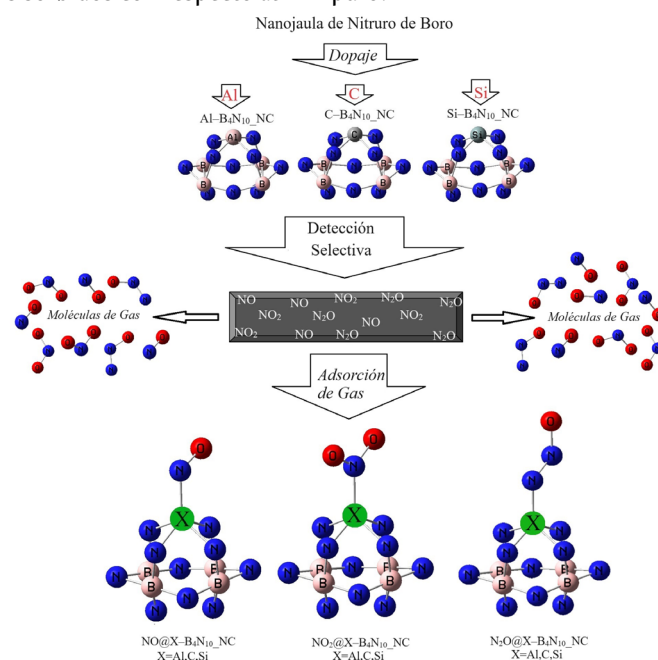
Las moléculas de gas que constituyen la contaminación dominante en el aire son NO,  $NO_2$  y  $N_2O$ . Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo investigar, a través de la teoría del funcional de la densidad (DFT), las propiedades electrónicas, magnéticas y termodinámicas de la adsorción de gases tóxicos (NO,  $NO_2$  y  $N_2O$ ) utilizando  $B_5N_{10}NC$  dopado con Al, C y Si. Se calcularon algunas posiciones geométricas de interacción, pero sus estructuras después del cálculo no se minimizaron. Los resultados reportados pertenecen a las estructuras mejor optimizadas.

## Materiales y métodos

### Adsorción de moléculas de gas en $X-B_4N_{10}NC$

En este estudio se utilizaron  $B_5N_{10}NC$  dopadas con Al, C y Si para eliminar las moléculas tóxicas de gas del aire, incluidos NO,  $NO_2$  y  $N_2O$ . Cada nanojaula (NC) se modeló en presencia de átomos do-

pantes de Al, C y Si que aumentan su potencial de detección de gas. La caracterización de la muestra se realizó mediante CAM-B3LYP-D3/EPR-3, nivel de teoría LANL2DZ. La adición de correcciones de dispersión, PBE + D3, mejora la energía de adsorción de los sistemas fisisorbidos con respecto al PBE puro.



**Figura 1.** Aplicación de  $B_5N_{10}NC$  dopado con X para la adsorción de moléculas de gas NO,  $NO_2$  y  $N_2O$ :  $NO@X-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@X-B_4N_{10}NC$  y  $N_2O@X-B_4N_{10}NC$  utilizando CAM - B3LYP-D3/6-311 + G (d, p), LANL2DZ.  $X = Al, C$  o  $Si$ .

La **figura 1** muestra el proceso de adsorción de moléculas de gas de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$  en la superficie de  $X-B_4N_{10}NC$  que conduce a la formación de complejos que contienen  $NO@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $NO@C-B_4N_{10}NC$ ,  $NO@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $N_2O@C-B_4N_{10}NC$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10}NC$  mediante cálculos de modelado molecular. La distribución de carga de los complejos mencionados se calculó mediante el análisis de carga de Bader [26–29].

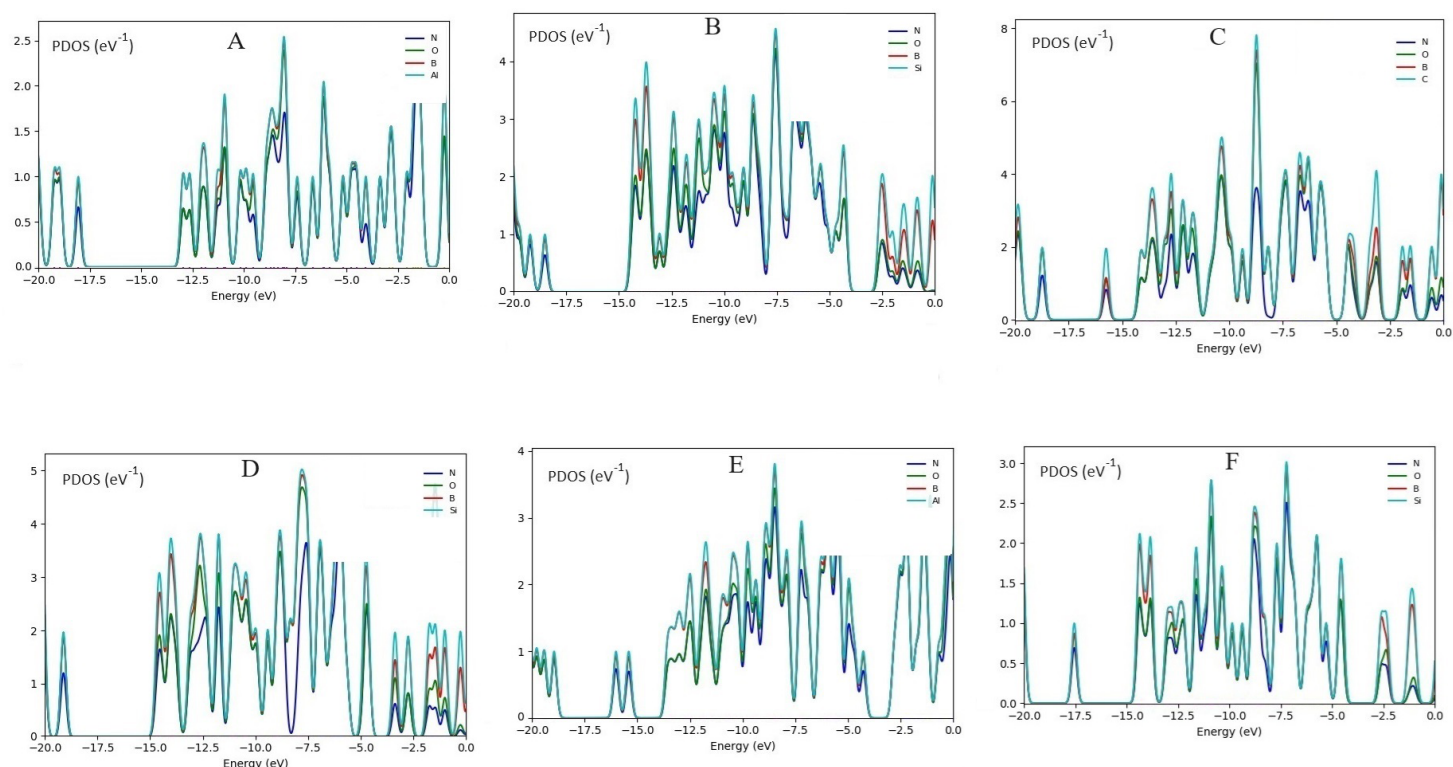
La captura de moléculas de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$  por  $X-B_4N_{10}NC$  ( $X = Al, C$  o  $Si$ ) se incorporó con éxito debido a la formación de unión que consiste en  $N \rightarrow Al$ ,  $N \rightarrow C$ ,  $N \rightarrow Si$  (**figura 1**). Cada nanojaula se expandió para acomodar las moléculas de gas mejorando la sensibilidad selectiva a través de diferentes átomos dopantes de Al, C y Si (**figura 1**).

### Aplicación del enfoque de la teoría funcional de la densidad (DFT)

Las funciones de Hohenberg-Kohn (HK) han permitido la densidad electrónica como variable fundamental para los cálculos electrónicos y estructurales. En otras palabras, el desarrollo de la teoría funcional de la densidad (DFT) aplicada sólo se hizo notable después de que W. Kohn y L. J. Sham publicaron su reputada serie de ecuaciones que se presentan como ecuaciones de Kohn-Sham (KS) [30–35]. Por lo tanto, la metodología KS aligera el camino para la búsqueda de sistemas que no pueden ser discutidos por las metodologías *ab-initio* convencionales [36–44].

En este artículo, se ha calculado la superficie de energía potencial, utilizando cálculos DFT, aplicando la revisión C.01 del software Gaussian 16 [45]. La matriz Z de entrada para la adsorción de moléculas de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$  en el aire mediante el  $X-B_4N_{10}NC$  se ha diseñado con GaussView 6.1 [46] utilizando el conjunto de bases 6-311+G (d,p), EPR-3 y LANL2DZ. En este estudio se modeló y analizó la interacción entre las moléculas de gas y  $X-B_4N_{10}NC$ .

Como lo reveló el análisis basado en DFT, la potencia de  $X-B_4N_{10}NC$  para capturar moléculas de gas estuvo determinada principalmente



**Figura 2.** PDOS de moléculas de gas de NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O adsorbidas en X-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC. A: NO@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC, B: NO@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC, C: NO<sub>2</sub>@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC, D: NO<sub>2</sub>@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC, E: N<sub>2</sub>O@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC, y F: N<sub>2</sub>O@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC. Datos calculados en CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), LANL2DZ.

por la electronegatividad de los grupos funcionales, así como por la interacción entre X-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>-NC y las moléculas de gas [47–53]. Aquí enfatizamos la distinción entre la energía de enlace (fuerza de interacción), que es el objetivo de nuestro cálculo de grupo, y la energía de quimisorción, que es el objetivo del enfoque completo. Utilizamos el concepto químico de preparación de enlaces para argumentar que el enlace local ya está bien descrito por grupos de tamaño pequeño y, por lo tanto, se puede establecer una corrección de nivel superior.

## Resultados y discusión

### PDOS y evaluación electrónica

Las estructuras electrónicas de adsorción de gas ( $G = NO, NO_2$  y  $N_2O$ ), utilizando  $B_5N_{10}NC$  dopado con X ( $X = Al, C$  o  $Si$ ) como sensor selectivo para detectar y capturar moléculas de gas en el aire, se han ilustrado utilizando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), nivel teórico LANL2DZ.

La **figura 2** muestra la densidad de estado proyectada (PDOS) de  $G@X-B_4N_{10}NC$  a través de la adsorción de moléculas de gas. La aparición de los estados de energía (orbital p) de Al, C, Si, N y O dentro del espacio de  $X-B_4N_{10}NC$  induce la reactividad del sistema. En la figura se observa que después de atrapar moléculas de gas, hay una contribución significativa del orbital p en el nivel desocupado. Por lo tanto, la curva de PDOS parcial ha descrito que los estados p de los átomos de N en las moléculas de gas y los átomos de Al, C y Si en  $X-B_4N_{10}NC$  se superan debido a la banda de conducción (**figura 2**). Se puede observar un rasgo de adsorción distinguido en  $G@X-B_4N_{10}NC$  debido a la potente interacción entre los estados p del átomo de N en las moléculas de gas con los estados p de Al, C y Si en los complejos  $X-B_4N_{10}NC$ .

La **figura 2** muestra que  $NO@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $NO@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10}NC$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10}NC$ , a través de la adsorción de moléculas de gas, tienen la contribución en el medio de la banda de conducción entre  $-5$  y  $-10$  eV, mientras que la contribución de los estados de B y N son mayores y similares juntos, y la adsorción de NO, NO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O representa la electrónica interfacial del  $B_5N_{10}NC$  para la selección de estas

moléculas de gas.  $NO@Al-B_4N_{10}NC$  muestra un pico agudo para Al en la **figura 2A**, mientras que  $NO@Si-B_4N_{10}NC$  (**figura 2B**) muestra un pico agudo alrededor de  $-7,5$  eV para el átomo de Si. Además, los complejos  $NO_2@C-B_4N_{10}NC$  (**figura 2C**) y  $NO_2@Si-B_4N_{10}NC$  (**figura 2D**) muestran un pico alrededor de  $-9$  eV para el átomo de C y de  $-7,5$  eV para el átomo de Si. La gráfica de Al tiene un pico agudo alrededor de  $-9$  eV en  $N_2O@Al-B_4N_{10}NC$  (**figura 2E**), y el gráfico de Si tiene un pico agudo alrededor de  $-7,5$  eV en  $N_2O@Si-B_4N_{10}NC$  (**figura 2F**). Por lo tanto, el orden de potencia de la adsorción de gas mediante dopaje de átomos de Al, C y Si en  $X-B_4N_{10}NC$ , según el PDOS, es  $Si-B_4N_{10}NC > Al-B_4N_{10}NC > C-B_4N_{10}NC$ .

### Resonancia cuadrupolar nuclear (RCN)

Como el gradiente del campo eléctrico (GCE) del núcleo en NO, NO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O es asignado por los electrones de valencia en la unión con los núcleos cercanos de  $X-B_4N_{10}NC$ , mediante la captura de moléculas de gas, la resonancia cuadrupolar nuclear (RCN) es alta para los complejos  $G@X-B_4N_{10}NC$  ( $G = NO, NO_2$  o  $N_2O$ ) (**tabla 1**) [54–57].

En este trabajo de investigación, se ha evaluado tanto el potencial eléctrico como la cantidad de energía de trabajo durante el transporte de la carga eléctrica de una posición a otra dentro del campo eléctrico de los siguientes complejos:  $NO@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $NO@C-B_4N_{10}NC$ ,  $NO@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10}NC$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10}NC$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10}NC$ ,  $N_2O@C-B_4N_{10}NC$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10}NC$  (**tabla 1**).

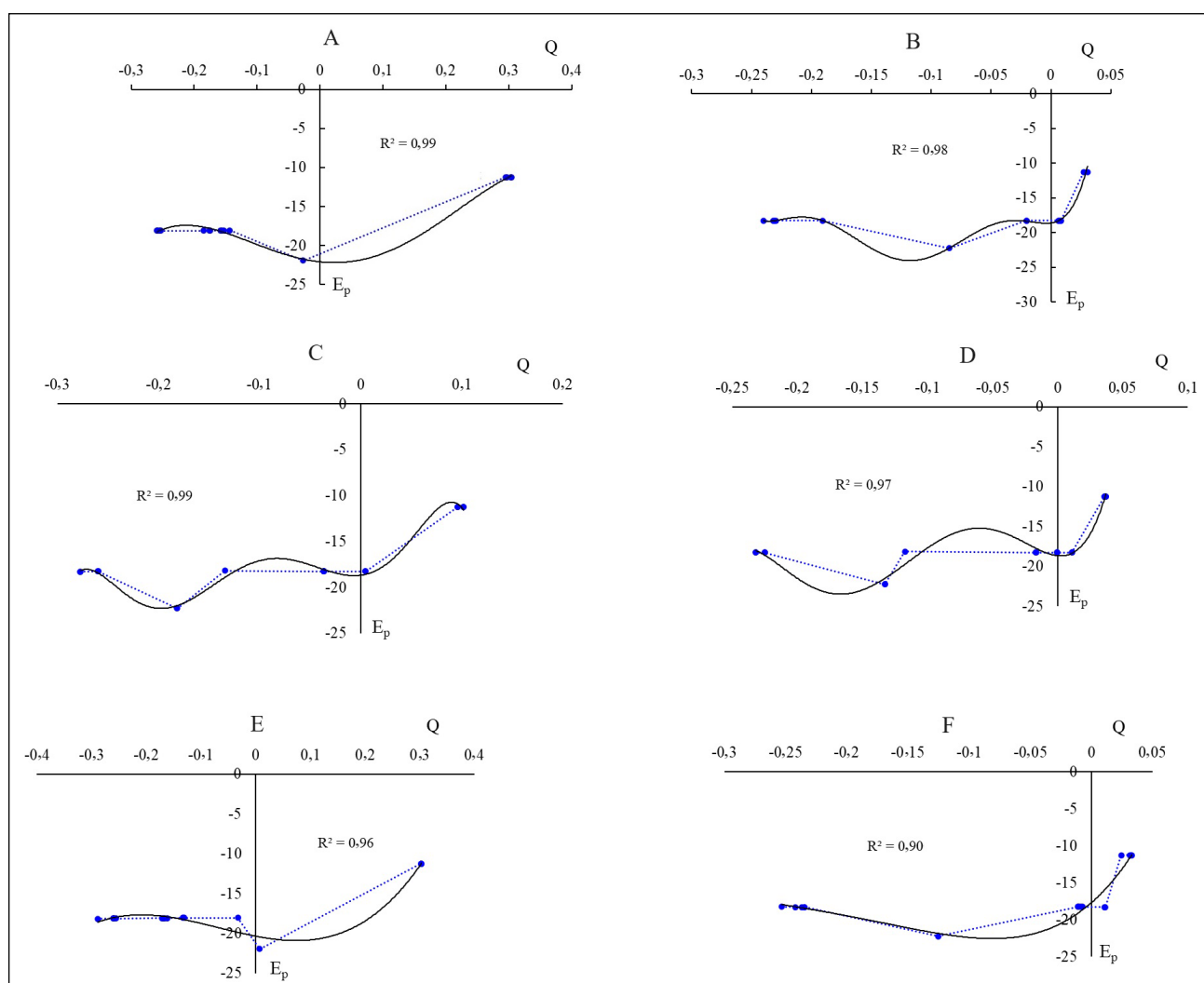
En la **tabla 1** se muestra la carga de Bader y el potencial eléctrico de Al, C, Si, B y N en  $X-B_4N_{10}NC$ , y de N y O en moléculas de gas atrapadas en las nanojaulas dopadas. Las cantidades indican que, al aumentar la carga negativa de diferentes átomos, aumenta el potencial eléctrico que resulta de los cálculos de resonancia cuadrupolar nuclear (RCN). Además, los átomos dopantes de Al (15), C (15) y Si (15) en el  $B_5N_{10}NC$  muestran el potencial necesario para aceptar el electrón del donante de electrones de N (1) en NO, NO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O adsorbido en el  $B_5N_{10}NC$  (**tabla 1**).

Además, en la **figura 3** se ha esbozado el potencial eléctrico de RCN para algunos átomos de Al, C, Si, B y N en  $X-B_4N_{10}NC$  y de N y O en moléculas de gas atrapadas en partículas dopadas. Las nanojaulas han sido calculadas por CAM-B3LYP-D3/EPR-3, LANL2DZ.

**Tabla 1.** Potencial eléctrico (Ep/a.u.) y carga de Bader (Q/coulombio) mediante el cálculo de RCN para los complejos NO@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, N<sub>2</sub>O@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, N<sub>2</sub>O@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC y N<sub>2</sub>O@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC utilizando CAM-B3LYP-D3/EPR-3, LANL2DZ.

NO@Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO@C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO@Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep
N1	-0,1853	-18,0820	N1	0,1466	-18,1839	N1	-0,1906	-18,2495
O2	-0,0268	-21,9319	O2	-0,0949	-22,2001	O2	-0,0846	-22,2135
B3	0,3040	-11,2292	B3	0,0321	-11,2869	B3	0,0273	-11,2791
N4	-0,1757	-18,0903	N4	-0,0140	-18,2911	N4	0,0080	-18,2831
N5	-0,1524	-18,0544	N5	-0,0458	-18,2680	N5	0,0060	-18,2656
B6	0,3033	-11,2288	B6	0,0310	-11,2865	B6	0,0310	-11,2787
B7	0,2954	-11,2274	B7	0,0323	-11,2871	B7	0,0303	-11,2793
B8	0,2970	-11,2278	B8	0,0316	-11,287	B8	0,0316	-11,2788
N9	-0,1558	-18,0628	N9	-0,0256	-18,2799	N9	-0,0205	-18,2690
N10	-0,1434	-18,0452	N10	-0,0447	-18,2682	N10	0,0066	-18,2652
N11	-0,2581	-18,1141	N11	-0,0369	-18,2631	N11	-0,2401	-18,2808
N12	-0,2549	-18,1122	N12	-0,0337	-18,2633	N12	-0,2300	-18,2805
N13	-0,2532	-18,1122	N13	-0,0326	-18,2642	N13	-0,2316	-18,2817
N14	-0,2595	-18,1145	N14	-0,0328	-18,2626	N14	-0,2309	-18,2802
Al15	0,9984	-43,6440	C15	0,1190	-14,5472	Si15	1,0996	-1,7597
N16	-0,1580	-18,0648	N16	-0,0259	-18,2804	N16	-0,0204	-18,2692
N17	-0,1748	-18,0893	N17	-0,0091	-18,2903	N17	0,0082	-18,2832
NO <sub>2</sub> @Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO <sub>2</sub> @C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO <sub>2</sub> @Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep
N1	-0,1342	-18,1795	N1	0,1612	-18,1173	N1	-0,1173	-18,1461
O2	-0,1816	-22,2655	O2	-0,1127	-22,2184	O2	-0,1327	-22,2400
B3	0,0958	-11,2523	B3	0,0351	-11,2800	B3	0,0359	-11,2720
N4	0,0048	-18,2508	N4	-0,0082	-18,2851	N4	0,0108	-18,2776
N5	-0,0365	-18,2198	N5	-0,0420	-18,2631	N5	-0,0004	-18,2554
B6	0,1019	-11,2528	B6	0,0365	-11,2801	B6	0,0370	-11,2719
B7	0,0958	-11,2523	B7	0,0351	-11,2800	B7	0,0359	-11,2719
B8	0,1018	-11,2527	B8	0,0364	-11,2801	B8	0,0370	-11,2719
N9	-0,0366	-18,2368	N9	-0,0233	-18,2733	N9	-0,0168	-18,2634
N10	-0,0365	-18,2197	N10	-0,0420	-18,2631	N10	-0,0004	-18,2554
N11	-0,2598	-18,2510	N11	-0,0295	-18,2567	N11	-0,2250	-18,2703
N12	-0,2772	-18,2540	N12	-0,0287	-18,2568	N12	-0,2321	-18,2707
N13	-0,2597	-18,2510	N13	-0,0295	-18,2567	N13	-0,2250	-18,2703
N14	-0,2772	-18,2540	N14	-0,0287	-18,2568	N14	-0,2320	-18,2707
Al15	1,3123	-1,1113	C15	0,1844	-14,5136	Si15	1,1638	-1,7398
N16	-0,0364	-18,2368	N16	-0,0232	-18,2733	N16	-0,0166	-18,2634
N17	0,0048	-18,2508	N17	-0,0082	-18,2851	N17	0,0108	-18,2776
O18	-0,1816	-22,2655	O18	-0,1127	-22,2184	O18	-0,1327	-22,2400
N <sub>2</sub> O@Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			N <sub>2</sub> O@C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			N <sub>2</sub> O@Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep	Átomo	Q	Ep
N1	-0,2890	-18,1400	N1	0,0243	-18,2323	N1	-0,2528	-18,2554
N2	-0,0327	-18,0231	N2	0,0758	-18,1955	N2	0,0998	-18,1806
B3	0,3032	-11,2217	B3	0,0273	-11,2777	B3	0,0245	-11,2753
N4	-0,1661	-18,0676	N4	-0,0131	-18,2725	N4	-0,0089	-18,2677
N5	-0,1313	-18,0435	N5	-0,0475	-18,2591	N5	-0,0107	-18,2589
B6	0,3032	-11,2188	B6	0,0317	-11,2780	B6	0,0325	-11,2758
B7	0,3026	-11,2192	B7	0,0330	-11,2790	B7	0,0315	-11,2755
B8	0,3021	-11,2221	B8	0,0330	-11,2794	B8	0,0331	-11,2764
N9	-0,1688	-18,0859	N9	-0,0037	-18,2820	N9	0,0115	-18,2797
N10	-0,1330	-18,0451	N10	-0,0528	-18,2625	N10	-0,0113	-18,2595
N11	-0,2600	-18,1047	N11	-0,0200	-18,2508	N11	-0,2417	-18,2743
N12	-0,2591	-18,1052	N12	-0,0220	-18,2540	N12	-0,2344	-18,2770
N13	-0,2556	-18,1053	N13	-0,0283	-18,2551	N13	-0,2346	-18,2762
N14	-0,2608	-18,1058	N14	-0,0190	-18,2536	N14	-0,2366	-18,2776
Al15	1,0720	-43,6436	C15	0,1312	-14,5096	Si15	1,1201	-1,7531
N16	-0,1717	-18,0898	N16	-0,0042	-18,2830	N16	0,0105	-18,2811
N17	-0,1619	-18,0612	N17	-0,0121	-18,2720	N17	-0,0071	-18,2666
O18	0,0070	-21,9432	O18	-0,1334	-22,2329	O18	-0,1253	-22,2322





**Figura 3.** Potencial eléctrico (a.u.) versus carga de Bader (e) mediante cálculo de RCN para los complejos A:  $NO@Al-B_4N_{10\_NC}$ , B:  $NO@Si-B_4N_{10\_NC}$ , C:  $NO_2@C-B_4N_{10\_NC}$ , D:  $NO_2@Si-B_4N_{10\_NC}$ , E:  $N_2O@Al-B_4N_{10\_NC}$ , y F:  $N_2O@Si-B_4N_{10\_NC}$ . Se utilizó CAM-B3LYP-D3/EPR-3, LANL2DZ.

En las **figuras 3A y 3B** se observa el comportamiento de la adsorción de NO en  $Al-B_4N_{10\_NC}$  y en  $NO@Si-B_4N_{10\_NC}$  de acuerdo con los coeficientes de relación  $R^2 = 0,99$  y  $R^2 = 0,98$ , respectivamente. La adsorción de  $NO_2$  en  $C-B_4N_{10\_NC}$  y  $Si-B_4N_{10\_NC}$  (**figuras 3C y 3D**) muestra la detección más alta con  $R^2 = 0,99$  y  $R^2 = 0,97$ . Además, las **figuras 3E y 3F** muestran que  $N_2O@Al-B_4N_{10\_NC}$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10\_NC}$  tienen buena detección para eliminar  $N_2O$  del aire pues presentan un coeficiente de relación de  $R^2 = 0,96$  y  $R^2 = 0,90$ . Los altos valores de los coeficientes de correlación han ilustrado una medida numérica de algún tipo de correlación lineal, es decir, una relación estadística entre el potencial eléctrico y la carga atómica.

La curva de  $X-B_4N_{10\_NC}$  es ondulada por las moléculas de gas. Los picos fluctuantes del potencial eléctrico se observan alrededor del atrapamiento de  $NO_2 > NO > N_2O$  en el  $X-B_4N_{10\_NC}$ , lo que demuestra las especificaciones de aceptación de electrones del N y el O frente al Al, el C y el Si dopados en el  $B_5N_{10\_NC}$  (**figura 3**). Además, se puede considerar que el Si, como elemento semiconductor en la  $B_5N_{10\_NC}$ , podría tener una mayor sensibilidad para aceptar electrones de NO (**figura 3B**),  $NO_2$  (**figura 3D**) y  $N_2O$  (**figura 3F**) durante la adsorción. Sin embargo, el material dopado con C en  $B_5N_{10\_NC}$  ha mostrado la fluctuación más baja entre la carga de Bader vs. el extracto de potencial eléctrico de los parámetros RCN y la carga atómica negativa más alta, incluyendo 0,1190 C en  $NO@C-B_4N_{10\_NC}$ , 0,1844 C en  $NO_2@C-B_4N_{10\_NC}$  y 0,1312 C en  $N_2O@C-B_4N_{10\_NC}$ , que pueden ser apropiados porque tienen la mayor tendencia a aceptar electrones en la corriente de adsorción (**tabla 1**). El Al y el Si dopados con  $B_5N_{10\_NC}$  (adsorbentes), con un promedio de 1,1 C de carga atómica sobre (Al, Si)- $B_4N_{10\_NC}$ , han mostrado un comportamiento similar en el procedimiento de eliminación de moléculas de gas (adsorbatos).

De hecho, se sabe que la absorción de moléculas de gas está asociada con  $X-B_4N_{10\_NC}$ , lo que indica que las moléculas de gas adsorbidas en la nanojaula dopada con X pueden internalizarse a través de una vía diferente a la de la primera nanojaula ( $B_5N_{10\_NC}$ ).

### **Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)**

Según las cantidades resultantes, los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) pueden desentrañar la eficiencia de  $X-B_4N_{10\_NC}$  para detectar y eliminar los gases peligrosos en el aire con un enfoque ecológico. A partir de los cálculos de DFT, se han obtenido los tensores de blindaje químico en el sistema de ejes principales para estimar el blindaje químico isotrópico ( $\sigma_{iso}$ ) y el blindaje químico anisotrópico ( $\sigma_{aniso}$ ) de los gases [58-60].

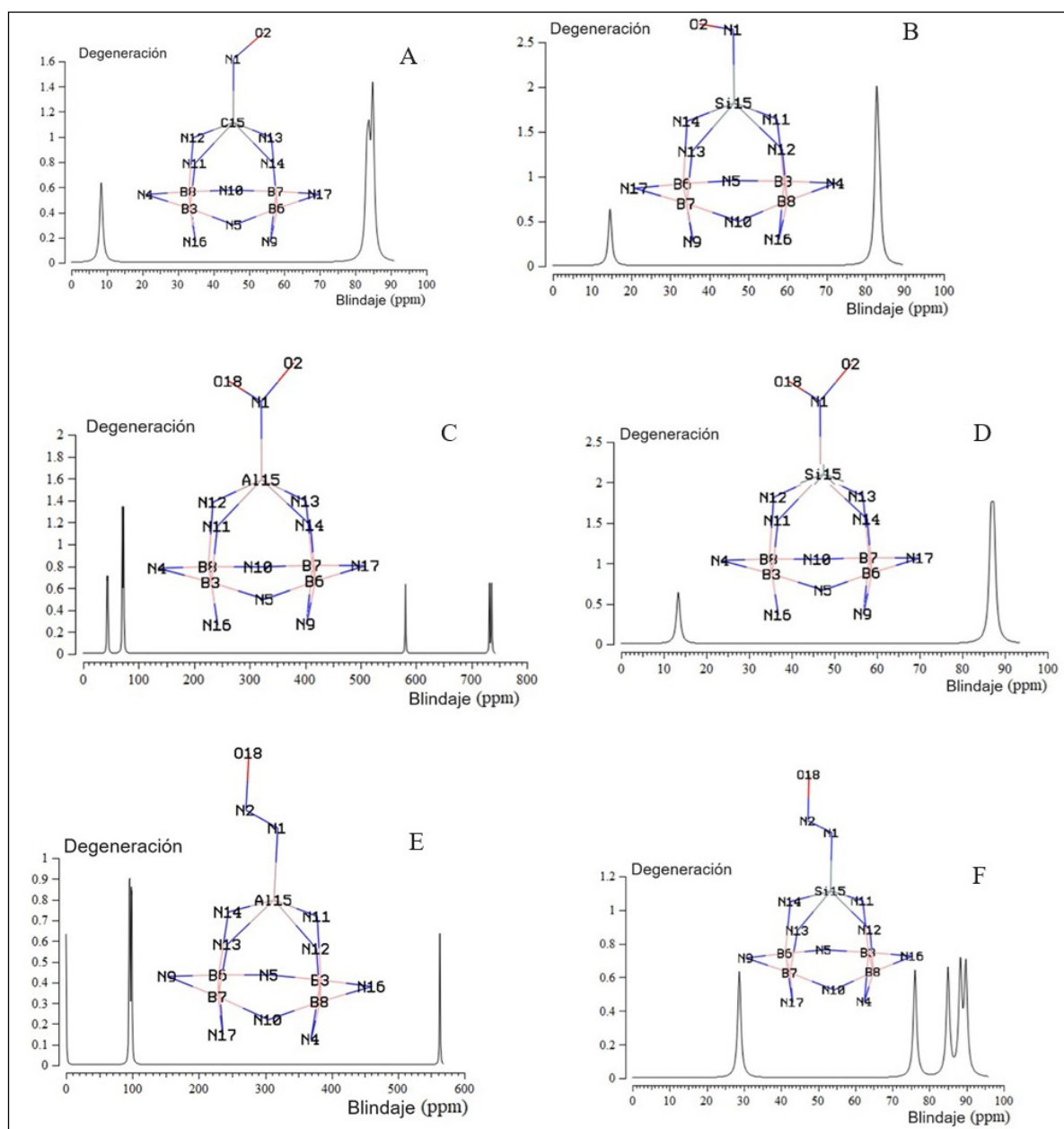
Los datos de RMN de tensores de  $\sigma_{iso}$  y  $\sigma_{aniso}$  de moléculas de gas atrapadas en  $X-B_4N_{10\_NC}$  para la formación de  $NO@Al-B_4N_{10\_NC}$ ,  $NO@C-B_4N_{10\_NC}$ ,  $NO@Si-B_4N_{10\_NC}$ ,  $NO_2@Al-B_4N_{10\_NC}$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10\_NC}$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10\_NC}$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10\_NC}$ ,  $N_2O@C-B_4N_{10\_NC}$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10\_NC}$  se han calculado mediante el paquete de programa Gaussian 16 revisión C.01 [45] y se muestran en la **tabla 2**.

En la **tabla 2**, los datos de RMN informaron las cantidades notables de NO,  $NO_2$ ,  $N_2O$  que se adsorbieron en el  $X-B_4N_{10\_NC}$  como sensor selectivo para detectar moléculas de gas en el aire. El aumento observado en la anisotropía del desplazamiento químico se extiende para los átomos de N y O2 para la adsorción de NO/ $N_2O$  y O2/O18 para la adsorción de  $NO_2$  en el  $X-B_4N_{10\_NC}$ . La débil intensidad de la señal observada cerca del borde paralelo del patrón de la nanojaula puede deberse a la distribución no esférica de estos complejos inducida por la unión del B.



**Tabla 2.** Datos de tensores de blindaje de RMN para átomos seleccionados de NO@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, NO<sub>2</sub>@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, N<sub>2</sub>O@Al-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC, N<sub>2</sub>O@C-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC y N<sub>2</sub>O@Si-B<sub>4</sub>N<sub>10</sub>\_NC utilizando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), cálculo LANL2DZ.

NO@Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO@C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO@Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$
N1	8623,32	27621,57	N1	767,22	574,98	N1	192,56	384,90
O2	1911,01	60055,67	O2	1697,96	1904,72	O2	483,66	446,82
B3	86,22	111,56	B3	83,21	75,50	B3	82,97	83,28
N4	398,76	5613,57	N4	698,49	846,36	N4	632,16	715,69
N5	1776,02	4560,20	N5	419,17	284,09	N5	460,89	248,70
B6	49,90	132,42	B6	84,90	76,89	B6	82,84	84,06
B7	88,70	112,26	B7	83,80	78,10	B7	83,55	82,75
B8	71,25	98,23	B8	84,84	75,04	B8	82,66	83,30
N9	673,90	3914,01	N9	421,55	778,50	N9	336,67	513,56
N10	2101,53	4479,16	N10	417,63	182,60	N10	457,73	296,56
N11	1145,30	6048,66	N11	574,52	402,81	N11	461,37	425,06
N12	284,26	4440,80	N12	538,46	433,46	N12	468,95	388,36
N13	434,51	1761,12	N13	581,63	365,00	N13	499,78	451,39
N14	681,36	2664,93	N14	556,56	519,43	N14	465,66	387,06
Al15	44,57	1469,07	C15	8,39	43,65	Si15	14,62	12,52
N16	496,25	2696,81	N16	390,13	810,91	N16	329,86	536,87
N17	2319,99	5536,37	N17	685,03	860,42	N17	611,84	711,69
NO <sub>2</sub> @Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO <sub>2</sub> @C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			NO <sub>2</sub> @Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$
N1	127,48	408,57	N1	355,92	240,70	N1	351,76	362,40
O2	736,54	2843,97	O2	1494,82	344,94	O2	1640,67	1363,15
B3	72,81	102,90	B3	82,62	80,50	B3	86,75	83,11
N4	1345,89	3740,25	N4	675,11	728,24	N4	667,28	729,72
N5	1403,66	2050,89	N5	419,86	100,44	N5	449,04	212,10
B6	70,81	100,78	B6	83,98	77,82	B6	87,42	81,72
B7	72,85	102,84	B7	82,60	80,57	B7	86,74	83,16
B8	70,79	100,83	B8	83,99	77,83	B8	87,42	81,75
N9	593,07	1535,08	N9	337,76	725,45	N9	313,33	635,74
N10	1405,28	2053,34	N10	419,80	100,64	N10	448,95	211,72
N11	43,11	2097,30	N11	565,20	477,60	N11	444,08	395,29
N12	69,38	1911,86	N12	585,31	503,19	N12	449,18	406,40
N13	44,49	2099,87	N13	565,92	478,21	N13	444,94	395,52
N14	68,31	1917,77	N14	585,41	503,81	N14	449,40	407,20
Al15	581,14	354,23	C15	49,99	87,76	Si15	13,41	10,65
N16	593,69	1538,86	N16	337,34	725,90	N16	313,06	636,08
N17	1340,04	3734,09	N17	674,45	727,66	N17	666,68	729,12
O18	732,81	2835,74	O18	1494,73	344,88	O18	1640,63	1363,26
N <sub>2</sub> O@Al-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			N <sub>2</sub> O@C-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC			N <sub>2</sub> O@Si-B <sub>4</sub> N <sub>10</sub> _NC		
Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$	Átomo	$\sigma_{iso}$	$\sigma_{aniso}$
N1	267,89	453,18	N1	41,33	1687,67	N1	78,93	567,22
N2	168,13	170,90	N2	864,66	932,50	N2	625,27	512,88
B3	99,01	75,58	B3	69,95	136,15	B3	76,10	120,90
N4	0,05	389,96	N4	1952,94	3217,63	N4	1209,22	2081,44
N5	14,97	299,65	N5	4341,51	5912,65	N5	2524,64	3080,04
B6	95,88	75,63	B6	70,45	117,46	B6	84,99	95,13
B7	95,20	76,47	B7	97,47	105,05	B7	89,80	100,23
B8	98,22	75,70	B8	86,46	108,18	B8	88,32	97,13
N9	102,43	331,31	N9	747,56	7237,79	N9	278,88	3989,46
N10	29,83	283,75	N10	2423,12	3261,16	N10	1756,26	2124,54
N11	467,03	400,15	N11	381,13	2220,66	N11	220,22	1341,21
N12	501,16	490,33	N12	423,86	1511,34	N12	309,98	1116,88
N13	470,79	469,84	N13	98,49	2976,83	N13	361,77	1430,73
N14	441,85	357,38	N14	71,03	2659,88	N14	265,39	1247,17
Al15	563,07	31,28	C15	6,56	79,12	Si15	28,77	17,21
N16	406,24	655,66	N16	1026,01	6313,65	N16	539,06	3707,21
N17	149,96	150,11	N17	2268,01	3633,97	N17	1376,43	2295,01
O18	748,70	361,86	O18	2712,98	4012,29	O18	1803,07	1337,35



**Figura 4.** Espectros de RMN para A:  $NO@C-B_5N_{10}$ \_NC, B:  $NO@Si-B_5N_{10}$ \_NC, C:  $NO_2@Al-B_5N_{10}$ \_NC, D:  $NO_2@Si-B_5N_{10}$ \_NC, E:  $N_2O@Al-B_5N_{10}$ \_NC y F:  $N_2O@Si-B_5N_{10}$ \_NC usando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), LANL2DZ.

Es notable que el dopaje de Al, C y Si en  $B_5N_{10}$ \_NC pueda promover la estabilidad de la nanojaula, lo que resulta en una mejor alineación magnética de los complejos. Curiosamente, los resultados informados muestran que los elementos Al, C y Si se pueden optimizar para lograr una alineación óptima de la nanojaula en presencia de un campo magnético aplicado.

De hecho, la adsorción de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  puede introducir polarización de espín en el  $X-B_5N_{10}$ \_NC, lo que indica que estas superficies podrían ser una superficie de eliminación magnética y detección de gas. El blindaje isotrópico y anisotrópico fluctúa con la ocupación de las moléculas de gas que aceptan electrones atrapados en la nanojaula dopada con átomos de BN.

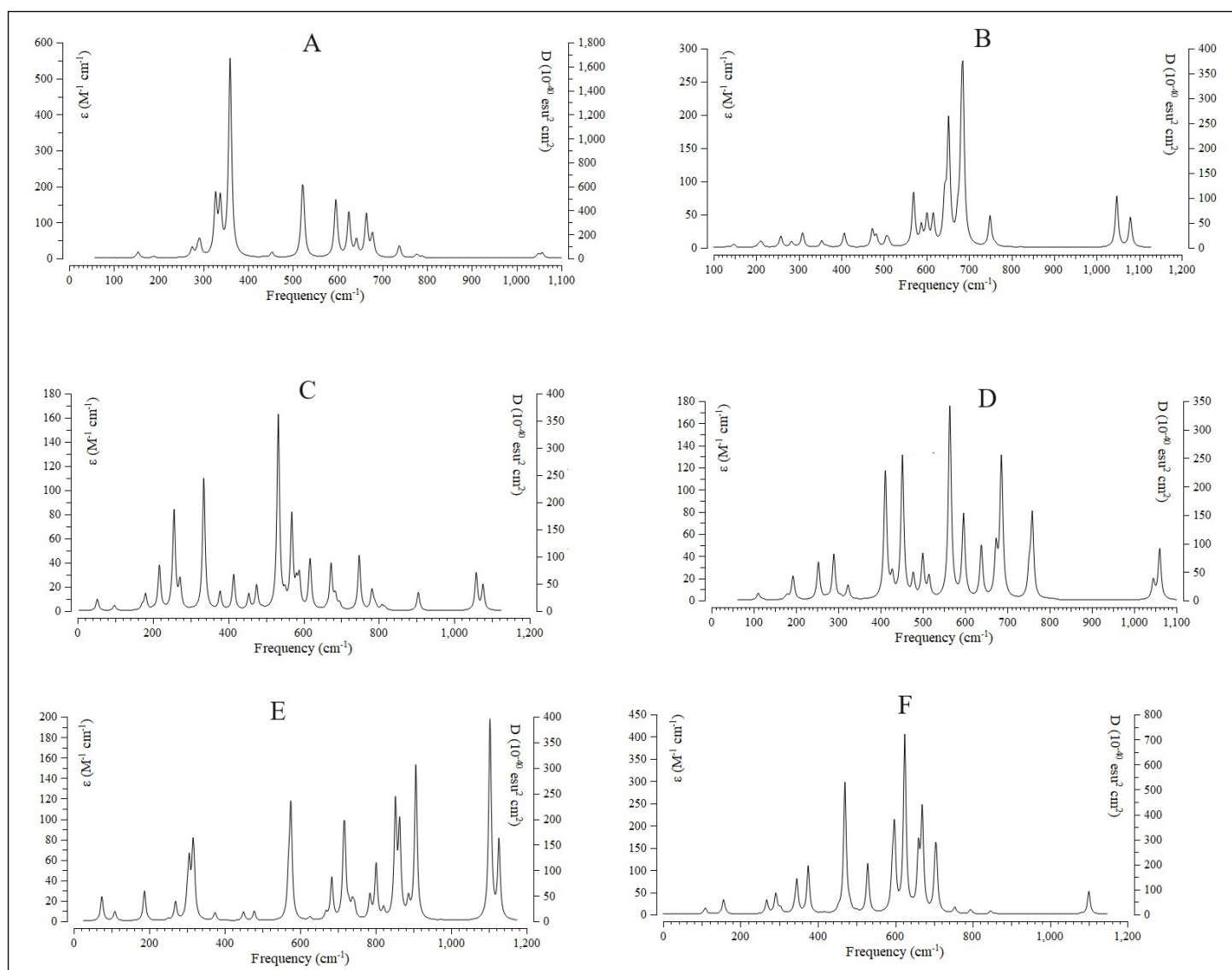
La **figura 4** exhibe la misma tendencia de blindaje para B y N; sin embargo, existe una desviación considerable del dopaje de los átomos de Al15, C15 y Si15 a través de la interacción con N1 de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  durante la adsorción en  $B_5N_{10}$ \_NC.

En la **figura 4**, las moléculas de gas de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  en los complejos de  $NO@C-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4A**),  $NO@Si-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4B**),  $NO_2@Al-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4C**),  $NO_2@Si-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4D**),  $N_2O@Al-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4E**) y  $N_2O@Si-B_5N_{10}$ \_NC (**figura 4F**) dan cuenta de la fluctuación en el blindaje químico durante la captura de iones.

La **figura 4** muestra la brecha de protección química entre el dopaje de Al, C y Si de la nanojaula  $X-B_5N_{10}$ \_NC y las moléculas de gas. El rendimiento de los átomos receptores de electrones para dopar el  $X-B_5N_{10}$ \_NC a través de la adsorción de moléculas de gas se puede ordenar como  $Si > Al > C$ , por lo tanto, es posible un enlace covalente entre Al, C y Si y los gases  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  que contribuya a la eliminación de los gases tóxicos del aire.

En la espectroscopia de RMN, se han observado picos notables alrededor de la interacción de las moléculas de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  mediante la adsorción en el  $X-B_5N_{10}$ \_NC durante la detección y eliminación de gases tóxicos del aire; sin embargo, existen algunas fluctuaciones en los comportamientos de protección química de los atributos isotrópicos y anisotrópicos.

Por lo tanto, los resultados extraídos serían útiles en el diseño de nanomateriales dopados basados en  $X-B_5N_{10}$ \_NC para aumentar la adsorción de moléculas de gas, además de los estudios estructurales utilizando técnicas de RMN de estado sólido y solución. La captura de elementos semiconductores puede hacer que el prístino  $B_5N_{10}$ \_NC no magnético sea ferromagnético o antiferromagnético. La captura con Al, C y Si reduce sustancialmente la banda prohibida del prístino  $B_5N_{10}$ \_NC. Sorprendentemente, la movilidad del portador en ambos materiales mejora significativamente en



**Figura 5.** Cambio de frecuencia ( $cm^{-1}$ ) a través de los espectros IR para los complejos A:  $NO@C-B_4N_{10}_NC$ , B:  $NO@Si-B_4N_{10}_NC$ , C:  $NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$ , D:  $NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$ , E:  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$  y F:  $N_2O@C-B_4N_{10}_NC$  usando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d, p), LANL2DZ.

comparación con el prístino  $B_5N_{10}_NC$ . Nuestros hallazgos sugieren que la captura con diferentes elementos puede dotar al  $B_5N_{10}_NC$  de propiedades electrónicas y magnéticas versátiles. Estas conclusiones demuestran claramente que la modificación del proceso de adsorción mediante un campo magnético estático puede ser una forma eficaz de modificación, especialmente en concentraciones bajas de elementos.

### Espectroscopia infrarroja (IR) y factores termodinámicos

Los cálculos de espectroscopia infrarroja (IR) se realizaron para la adsorción de moléculas de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$  por  $X-B_4N_{10}_NC$  durante la detección de gases tóxicos en el aire. Por lo tanto, se han simulado los distintos clusters que contienen  $NO@C-B_4N_{10}_NC$  (figura 5A),  $NO@Si-B_4N_{10}_NC$  (figura 5B),  $NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$  (figura 5C),  $NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$  (figura 5D),  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$  (figura 5E) y  $N_2O@C-B_4N_{10}_NC$  (figura 5F) utilizando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d, p), LANL2DZ.

El gráfico de la figura 5A se observa el rango de frecuencia entre 200 y 800  $cm^{-1}$  para  $NO@C-B_4N_{10}_NC$  con varios picos agudos en 327,09; 337,61; 359,54; 595,74 y 664,20  $cm^{-1}$ . La figura 5B muestra el rango de frecuencia entre 200 y 1100  $cm^{-1}$  para  $NO@Si-B_4N_{10}_NC$  con picos pronunciados en 652,05; 682,12; 685,59 y 1047,31  $cm^{-1}$ . La figura 5C muestra la fluctuación de la frecuencia entre 100 y 1100  $cm^{-1}$  para  $NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$  con varios picos agudos en 256,25; 335,13; 532,75 y 568,45  $cm^{-1}$ . La figura 5D muestra la fluctuación de la frecuencia entre 100 y 1100  $cm^{-1}$  para  $NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$  con algunos picos pronunciados en 411,31; 451,64; 563,66; 596,34;

685,50 y 758,87  $cm^{-1}$ . Además, se ha observado una frecuencia entre 150 y 900  $cm^{-1}$  para  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$  con picos agudos en 305,94; 315,78; 574,78; 575,58; 717,95; 801,12; 852,32; 863,46; 906,48; 1102,93 y 1126,61  $cm^{-1}$  (figura 5E). Por último, la figura 5F muestra la frecuencia entre 100 y 1200  $cm^{-1}$  para  $N_2O@C-B_4N_{10}_NC$  con picos pronunciados en 345,39; 374,87; 469,76; 528,65; 592,59; 597,92; 624,44; 659,94; 669,69; 702,84 y 706,06  $cm^{-1}$ .

En este trabajo, la quimisorción ha implicado una reacción química entre el adsorbato de NO,  $NO_2$ , y  $N_2O$  y la superficie de  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$ ,  $Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$ ,  $Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$ , a partir de la cual se generan nuevos enlaces químicos en la superficie del adsorbente. La fuerte interacción entre el adsorbato y la superficie del sustrato crea nuevos tipos de enlaces electrónicos.

Los espectros IR de adsorción de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$  con  $X-B_4N_{10}_NC$  han demostrado que la estructura del complejo dominante se correlaciona con la potencia electrónica del X dopado en  $B_5N_{10}_NC$ . Como se ha visto, las nanojaulas dopadas de  $C-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$  (figuras 5A y 5B),  $Al-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$  (figuras 5C y 5D),  $Al-B_4N_{10}_NC$  y  $C-B_4N_{10}_NC$  (figura 5E y 5F) tienen las fluctuaciones y la tendencia a la adsorción de NO,  $NO_2$  y  $N_2O$ . Por lo tanto, se puede encontrar que la espectroscopia IR de  $X-B_4N_{10}_NC$  adsorbido ( $X = Al, C$  o  $Si$ ) ahora está en una buena posición para abordar preguntas específicas sobre el efecto individual de los portadores de carga (molécula de gas-nanojaula), así como los átomos dopantes en la estructura general (figura 5).

**Tabla 3.** Caracteres termodinámicos de los complejos  $NO@Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO@C-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO@Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $N_2O@C-B_4N_{10}_NC$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10}_NC$  utilizando el cálculo CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), LANL2DZ.

Complejos	$\Delta E^\circ \times 10^{-3}$ (kcal/mol)	$\Delta H^\circ \times 10^{-3}$ (kcal/mol)	$\Delta G^\circ \times 10^{-3}$ (kcal/mol)	$S^\circ$ (cal/K.mol)	Momento bipolar (Debye)
$NO@Al-B_4N_{10}_NC$	-630,889	-630,889	-630,920	103,437	0,601
$NO@C-B_4N_{10}_NC$	-510,557	-510,556	-510,588	103,732	0,246
$NO@Si-B_4N_{10}_NC$	-489,207	-489,206	-489,239	108,794	1,129
$NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$	-535,200	-535,199	-535,233	114,347	5,114
$NO_2@C-B_4N_{10}_NC$	-557,713	-557,712	-557,745	108,608	1,431
$NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$	-536,378	-536,377	-536,411	111,937	2,558
$N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$	-664,586	-664,585	-664,616	104,385	0,701
$N_2O@C-B_4N_{10}_NC$	-544,868	-544,867	-544,902	116,794	1,968
$N_2O@Si-B_4N_{10}_NC$	-523,518	-523,518	-523,552	114,612	1,738

En la **tabla 3**, según las especificaciones termodinámicas, se concluyó que  $X-B_4N_{10}_NC$ , debido a la adsorción de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$ , podrían ser sensores más eficientes para detectar y eliminar las moléculas de gas del aire contaminado.

Se han determinado los parámetros termodinámicos de la adsorción de moléculas de gas con  $X-B_4N_{10}_NC$  utilizando la técnica teórica DFT. Se ha demostrado que para un número dado de sitios donantes de nitrógeno en  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$ , las estabildades de los complejos debido al dopaje de átomos de Al, C y Si pueden considerarse como  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC > NO@Al-B_4N_{10}_NC > NO_2@C-B_4N_{10}_NC > N_2O@C-B_4N_{10}_NC > NO_2@Si-B_4N_{10}_NC \approx NO_2@Al-B_4N_{10}_NC > N_2O@Si-B_4N_{10}_NC > NO@C-B_4N_{10}_NC > NO@Si-B_4N_{10}_NC$ .

Los datos termodinámicos de la **figura 6** podrían detectar la máxima eficiencia del dopaje de átomos de Al, C y Si de  $B_5N_{10}_NC$  para la adsorción de moléculas de gas a través de la energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ_{ads}$ ), la cual depende del enlace covalente entre las moléculas de  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $N_2O$  y  $X-B_4N_{10}_NC$ , como un potente sensor para la eliminación de la contaminación del aire.

El proceso de adsorción de moléculas de  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $N_2O$  en  $X-B_4N_{10}_NC$  está confirmado por las cantidades  $\Delta G^\circ_{ads}$  descritas en la Ec. (1), donde  $G = NO$ ,  $NO_2$  o  $N_2O$  y  $X = Al$ , C o Si.

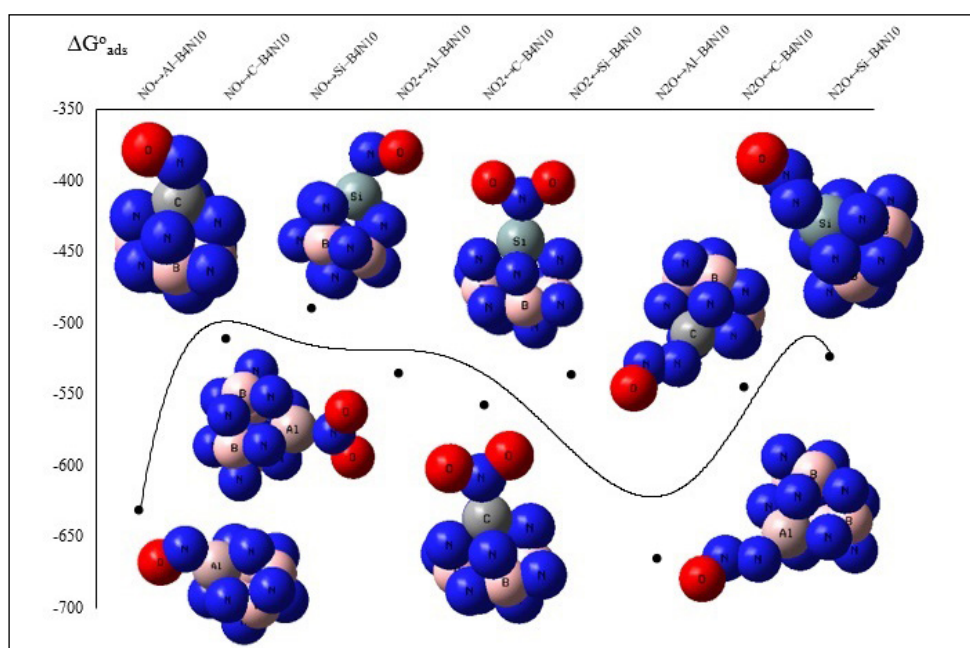
$$\Delta G^\circ_{ads} = \Delta G^\circ_{G@X-B_4N_{10}_NC} - (\Delta G^\circ_G + \Delta G^\circ_{X-B_4N_{10}_NC}) \quad (1)$$

La **figura 6** demuestra que el papel clave de los átomos dopados de Al, C y Si durante la interacción entre los adsorbatos de moléculas de

$NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$ , como donadores de electrones, y el adsorbente de  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$ ,  $Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$ ,  $Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $C-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$  como receptores de electrones. Por lo tanto, la selectividad de la nanojaula (sensor de gas) dopada con átomos en BN para la adsorción de moléculas de gas puede resultar como  $Al > C > Si$  (**tabla 3** y **figura 6**).

## Conclusiones

En este estudio se investigó el dopaje de elementos Al, C y Si en la nanojaula de BN ( $X-B_4N_{10}_NC$ ) para mejorar la detección de gases tóxicos de estos nanomateriales y poder usarlos para la eliminación de contaminantes del aire. Para ello, la separación de moléculas de  $NO$ ,  $NO_2$  y  $N_2O$  que involucra a  $X-B_4N_{10}_NC$  se hizo con base en interacciones electrostáticas entre las moléculas de gas y  $X-B_4N_{10}_NC$ . Las propiedades electromagnéticas y termodinámicas de los complejos  $X-B_4N_{10}_NC$  se calcularon utilizando la DFT. Los resultados han ilustrado que las moléculas de gas elegidas adsorbidas en  $X-B_4N_{10}_NC$  son bastante estables y el sitio de adsorción más estable se encuentra en el centro del sistema  $X-B_4N_{10}_NC$ . La selectividad de la nanojaula dopada con átomos en BN para la adsorción de moléculas de gas puede resultar como:  $C-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$  para  $NO$ ,  $Al-B_4N_{10}_NC$  y  $Si-B_4N_{10}_NC$  para  $NO_2$ , y  $Al-B_4N_{10}_NC$  y  $C-B_4N_{10}_NC$  para  $N_2O$ . Este trabajo propone que el metaloide metálico y no metálico como semiconductor se puede examinar mediante el dopaje de los nanomateriales para mejorar la potencia de adsorción, esto con el fin de diseñar sensores de eliminación de contaminación en el aire.

**Figura 6.** Energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ_{ads}$ ) para  $NO@Al-BB_4N_{10}_NC$ ,  $NO@C-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO@Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@C-B_4N_{10}_NC$ ,  $NO_2@Si-B_4N_{10}_NC$ ,  $N_2O@Al-B_4N_{10}_NC$ ,  $N_2O@C-B_4N_{10}_NC$  y  $N_2O@Si-B_4N_{10}_NC$  utilizando CAM-B3LYP-D3/6-311+G (d,p), LANL2DZ.



## Agradecimientos

Para completar con éxito este artículo y su investigación, la autora agradece a la Universidad de Kastamonu.

## Referencias

- [1] D. Gonzalez-Ortiz, C. Salameh, M. Bechelany y P. Miele, "Nanostructured boron nitride-based materials: synthesis and applications", *Mater. Today Adv.*, vol. 8, pp. 100–107, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2020.100107>
- [2] N. S. Mishra y P. Saravanan, "A review on the synergistic features of hexagonal boron nitride (white graphene) as adsorbent-photo active nanomaterial", *Chemistry Select*, vol. 3, nro. 28, pp. 8023–8034, ene. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.201801524>
- [3] Q. H. Weng, X. B. Wang, X. Wang, Y. Bando y D. Golberg, "Functionalized hexagonal boron nitride nanomaterials: emerging properties and applications", *Chem. Soc. Rev.*, vol. 45, nro. 14, pp. 3989–4012, ene. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5CS00869G>
- [4] A. D. O. Muñoz, A. Escobedo-Morales, E. Skakerzadeh, E. C. Anota, "Effect of homonuclear boron bonds in the adsorption of DNA nucleobases on boron nitride nanosheets", *J. Mol. Liquids*, vol. 322, pp. 114951, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114951>
- [5] J. Carreto Escobar, M. Salazar Villanueva, A. Bautista Hernández, D. Cortés-Arriagada y E. Chigo Anota, "Interactions of B12N12 fullerenes on graphene and boron nitride nanosheets: A DFT study", *J. Mol. Graph. Model.*, vol. 86, pp. 27–34, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.10.003>
- [6] D. V. Shtansky *et al.*, "Recent Progress in Fabrication and Application of BN Nanostructures and BN-Based Nanohybrids", *Nanomaterials*, vol. 12, nro. 16, pp. 2810, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano12162810>
- [7] Y. Yang, Y. Peng, M. F. Saleem, Z. Chen, W. Sun, "Hexagonal Boron Nitride on III-V Compounds: A Review of the Synthesis and Applications", *Materials*, vol. 15, nro. 3, pp. 4396, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15134396>
- [8] A. Davies *et al.*, "Lattice-Matched Epitaxial Graphene Grown on Boron Nitride", *Nano Lett.*, vol. 18, nro. 1, pp. 498–504, ene. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.7b04453>
- [9] A. Escobedo-Morales *et al.*, "Structural and Physicochemical Properties of Carbon Doped Boron Nitride Fullerenes: Effect of Doping Level and Atomic Arrangement", *Adv. Theor. Simul.*, vol. 7, nro. 3, pp. 2300698, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/adts.202300698>
- [10] R. S. Bangari, V.K. Yadav, J.K. Singh, N. Sinha, "Fe3O4-functionalized boron nitride nanosheets as novel adsorbents for removal of arsenic (III) from contaminated water", *ACS Omega*, vol. 5, nro. 18, pp. 10301–10314, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b04295>
- [11] Y. H. Chao *et al.*, "Synthesis of boron nitride nanosheets with N-defects for efficient tetracycline antibiotics adsorptive removal", *Chem. Eng. J.*, vol. 387, pp. 124138, ene. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124138>
- [12] Z. Zheng, M. Cox y B. Li, "Surface modification of hexagonal boron nitride nanomaterials: a review", *J Mater Sci*, vol. 53, pp. 66–99, ene. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1472-0>
- [13] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Graphene-based resistant sensor decorated with Mn, Co, Cu for nitric oxide detection: Langmuir adsorption & DFT method", *Sensor Review*, vol. 43, nro. 4, pp. 266–279, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1108/SR-03-2023-0040>
- [14] Y. Guo, R. X. Wang, P. F. Wang, L. Rao y C. Wang, "Developing a novel layered boron nitride-carbon nitride composite with high efficiency and selectivity to remove protonated dyes from water", *ACS Sustain. Chem.*, vol. 7 nro. 6 pp. 5727–5741, ene. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/ACSUSCHEMENG.8B05150>
- [15] M. C. F. Bautista, D. Cortés-Arriagada, E. Shakerzadeh y E. C. Anota, "Acetylsalicylic acid interaction with Boron nitride nanostructures – A density functional analysis", *J. Mol. Liquids*, vol. 355, pp. 118980, ene. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118980>
- [16] H. N. Vergara-Reyes, M. Acosta-Alejandro y E. Chigo-Anota, "Quantum-mechanical assessment of the adsorption of nitric oxide molecules on the magnetic carbon nitride (C36N24)-fullerene", *Struct Chem*, vol. 32, pp. 1775–1786, ene. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11224-021-01736-8>
- [17] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Determination of GaN nanosensor for scavenging of toxic heavy metal ions (Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Au<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Sn<sup>2+</sup>) from water: Application of green sustainable materials by molecular modeling approach", *Comput Theor Chem*, vol. 1237, pp. 114646, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2024.114646>
- [18] K. Bakhshi, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Exchange and correlation effect of hydrogen chemisorption on nano V(100) surface: A DFT study by generalized gradient approximation (GGA)", *J. Comput. Theor. Nanosci*, vol. 8, nro. 4, pp. 763–768, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2011.1750>
- [19] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Trapping of toxic heavy metals from water by GN-nanocage: Application of nanomaterials for contaminant removal technique", *J. Mol. Struct.*, vol. 1300, nro. 137214, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137214>
- [20] F. Mollaamin, "On the behavior of boron nitride Nanotube-Flavin adenine Dinucleotide interaction ion implantation order to design Biofuel cells", *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, vol. 11, nro. 9, pp. 2017–2022, ene. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2014.3601>
- [21] F. Mollaamin, S. Mohammadi y Z. Khalaj *et al.*, "Computational Modelling of Boron Nitride Nanosheet for Detecting and Trapping of Water Contaminant", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 67–82, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793124010330>
- [22] M. A. A. Zadeh *et al.*, "Density functional theory study and anti-cancer properties of shyshaq plant: In viewpoint of nano biotechnology", *J. Comput. Theor. Nanosci*, vol. 12, nro. 11, pp. 4358–4367, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4366>
- [23] F. Mollaamin, "Insight therapeutic viral diseases: application of SWCNT in drug delivery method", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 2, pp. 28–35, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n2.111888>
- [24] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "In Situ Ti-Embedded SiC as Chemiresistive Nanosensor for Safety Monitoring of CO, CO<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub>: Molecular Modelling by Conceptual Density Functional Theory", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 49–66, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793124010159>
- [25] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Structural, Electromagnetic and Thermodynamic Analysis of Ion Pollutants Adsorption in Water by Gallium Nitride Nanomaterial: a Green Chemistry Application", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 533–548, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S199079312402012X>
- [26] G. Henkelman, A. Arnaldsson y H. Jónsson, "A fast and robust algorithm for Bader decomposition of charge density", *Computational Materials Science*, vol. 36, nro. 3, pp. 354–360, ene. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2005.04.010>
- [27] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "In Silico-DFT Investigation of Nanocluster Alloys of Al-(Mg, Ge, Sn) Coated by Nitrogen Heterocyclic Carbenes as Corrosion Inhibitors", *J Clust Sci*, vol. 34, nro. 6, pp. 2901–2918, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02436-5>
- [28] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Transition metal (X = Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn)-doped graphene as gas sensor for CO<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub> detection: A molecular modeling framework by DFT perspective", *J. Mol. Model.*, vol. 29, nro. 4, pp. 119, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-023-05526-3>



- [29] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Adsorption ability of Ga<sub>5</sub>N<sub>10</sub> nanomaterial for removing metal ions contamination from drinking water by DFT", *Int J Quantum Chem*, vol. 124, nro. 2, pp. e27348, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/qua.27348>
- [30] P. Hohenberg y W. Kohn, "Inhomogeneous Electron Gas", *Phys. Rev. B*, vol. 136, pp. B864–B871, ene. 1964. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>
- [31] W. Kohn y L. J. Sham, "Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects", *Phys. Rev.*, vol. 140, A1133–A1138, ene. 1965. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>
- [32] F. Mollaamin, "Features of Parametric Point Nuclear Magnetic Resonance of Metals Implantation on Boron Nitride Nanotube by Density Functional Theory/Electron Paramagnetic Resonance", *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, vol. 11, nro. 11, pp. 2393–2398, ene. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2014.3653>
- [33] F. Mollaamin et al., "Thermodynamic and Solvent Effect on Dynamic Structures of Nano Bilayer-Cell Membrane: Hydrogen Bonding Study", *J. Comput. Theor. Nanosci.*, vol. 12, nro. 10, pp. 314–3154, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4092>
- [34] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Tailoring and functionalizing the graphitic-like GaN and GaP nanostructures as selective sensors for NO, NO<sub>2</sub>, and NH<sub>3</sub> adsorbing: A DFT study", *J. Mol. Model.*, vol. 29, nro. 6, pp. 170, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-023-05567-8>
- [35] F. Mollaamin, S. Shahriari, M. Monajjemi y Z. Khalaj, "Nanocluster of Aluminum Lattice via Organic Inhibitors Coating: A Study of Freundlich Adsorption", *J. Clust. Sci.*, vol. 34, nro. 3, pp.1547–1562, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02335-1>
- [36] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Doping of Graphene Nanostructure with Iron, Nickel and Zinc as Selective Detector for the Toxic Gas Removal: A Density Functional Theory Study", *C-Journal of Carbon Research*, vol. 9, pp. 20, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/c9010020>
- [37] E. M. Sarasia, S. Afsharnezhad, B. Honarparvar, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Theoretical study of solvent effect on NMR shielding tensors of luciferin derivatives", *Phys Chem Liquids*, vol. 49, nro. 5, pp. 561–571, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/00319101003698992>
- [38] M. Khaleghian, M. Zahmatkesh, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Investigation of Solvent Effects on Armchair Single-Walled Carbon Nanotubes: A QM/MD Study", *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*, vol. 19, nro. 4, pp. 251–261, ene. 2011, DOI: <https://doi.org/10.1080/15363831003721757>
- [39] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Harmonic Linear Combination and Normal Mode Analysis of Semiconductor Nanotubes Vibrations", *J Comput Theor Nanosci*, vol. 12, nro. 6, pp. 1030–1039, ene. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.3846>
- [40] F. Mollaamin, M. Monajjemi, S. Salemi y M. T. Baei, "A Dielectric Effect on Normal Mode Analysis and Symmetry of BNNT Nanotube", *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*, vol. 19, nro. 3, pp. 182–196, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/15363831003782932>
- [41] M. Monajjemi, M. Khaleghian, N. Tadayonpour y F. Mollaamin, "The effect of different solvents and temperatures on stability of single-walled carbon nanotube: A QM/MD study", *Int J Nanosci*, vol. 9, nro. 5, 517–529, ene. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1142/S0219581X10007071>
- [42] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "The influence of Sc, V, Cr, Co, Cu, Zn as ferromagnetic semiconductors implanted on B<sub>5</sub>N<sub>10</sub>-nanocarrier for enhancing of NO sensing: An environmental eco-friendly investigation", *Comput Theor Chem*, vol. 1237, pp. 114666, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2024.114666>
- [43] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Molecular modelling framework of metal-organic clusters for conserving surfaces: Langmuir sorption through the TD-DFT/ONIOM approach", *Molecular Simulation*, vol. 49, nro. 4, pp. 365–376, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/08927022.2022.2159996>
- [44] S. H. Vosko, L. Wilk y M. Nusair, "Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis", *Can. J. Phys.*, vol. 58, nro. 8, pp. 1200–1211, ene. 1980. DOI: <https://doi.org/10.1139/p80-159>
- [45] Gaussian 16, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016. [Software].
- [46] GaussView, Version 6.06.16, Dennington, Roy; Keith, Todd A.; Millam, John M. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016. [Software].
- [47] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Nanomaterials for Sustainable Energy in Hydrogen-Fuel Cell: Functionalization and Characterization of Carbon Nano-Semiconductors with Silicon, Germanium, Tin or Lead through Density Functional Theory Study", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 607–623, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793124020271>
- [48] M. Monajjemi, F. Mollaamin, S. Shojaei, "An overview on coronaviruses family from past to COVID-19: Introduce some inhibitors as antiviruses from Gillan's plants", *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 10, nro. 3, pp. 5575–5585, ene. 2020, DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC103.575585>
- [49] S. Shahriari, F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Increasing the Performance of  $\{[(1-x-y) \text{LiCo}_0.3\text{Cu}_0.7] (\text{Al} \text{ and } \text{Mg} \text{ doped}) \text{O}_2\}$ ,  $x\text{Li}_2\text{MnO}_3$ ,  $y\text{LiCoO}_2$  Composites as Cathode Material in Lithium-Ion Battery: Synthesis and Characterization", *Micro-machines*, vol. 14, nro. 2, pp. 241, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/mi14020241>
- [50] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Influence of Transition Metals for Emergence of Energy Storage in Fuel Cells through Hydrogen Adsorption on the MgAl Surface", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 398–418, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S199079312402026X>
- [51] M. Monajjemi, L. Mahdavian, F. Mollaamin y M. Khaleghian, "Interaction of Na, Mg, Al, Si with carbon nanotube (CNT): NMR and IR study", *Russ. J. Inorg. Chem*, vol. 54, nro. 9, pp. 1465–1473, ene. 2009, DOI: <https://doi.org/10.1134/S0036023609090216>
- [52] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Competitive Intracellular Hydrogen-Nanocarrier Among Aluminum, Carbon, or Silicon Implantation: a Novel Technology of Eco-Friendly Energy Storage using Research Density Functional Theory", *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 18, pp. 805–820, ene. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793124700131>
- [53] M. Monajjemi, M. T. Baie y F. Mollaamin, "Interaction between threonine and cadmium cation in  $[\text{Cd}(\text{Thr})] (n = 1-3)$  complexes: Density functional calculations", *Russian Chemical Bulletin*, vol. 59, pp. 886–889, ene. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0181-5>
- [54] L. Cardona, J. Jiménez y N. Vanegas, "Nuclear quadrupole resonance for explosive detection", *Ingeniare. Rev. chil. ing.*, vol. 23, nro. 3, pp. 458–472, ene. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-33052015000300015>
- [55] A. Gregorovič y T. Apih, "WURST-QCPMG sequence and 'spin-lock' in <sup>14</sup>N nuclear quadrupole resonance", *J. Magn. Reson.*, vol. 233, pp. 96–102, ene. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2013.05.010>
- [56] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Graphene Embedded with Transition Metals for Capturing Carbon Dioxide: Gas Detection Study Using QM Methods", *Clean Technol*, vol. 5, pp. 403–417, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cleantechnol5010020>
- [57] A. S. Peshkovsky et al., "Noise-resilient multi-frequency surface sensor for nuclear quadrupole resonance", *J. Magn. Reson.*, vol. 194, nro. 2, pp. 222–229, ene. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2008.07.003>
- [58] F. Mollaamin y M. Monajjemi, "Electric and Magnetic Evaluation of Aluminum–Magnesium Nanoalloy Decorated with Germanium Through Heterocyclic Carbenes Adsorption: A Density

Functional Theory Study”, *Russ. J. Phys. Chem. B*, vol. 17, nro. 3, pp. 658–672, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990793123030223>

[59] F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Application of DFT and TD-DFT on Langmuir Adsorption of Nitrogen and Sulfur Heterocycle Dopants on an Aluminum Surface Decorated with Magnesium

and Silicon”, *Computation*, vol. 11, nro. 6, pp. 108, ene. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/computation11060108>

[60] B. Khalili Hadad, F. Mollaamin y M. Monajjemi, “Biophysical chemistry of macrocycles for drug delivery: A theoretical study”, *Russian Chemical Bulletin*, vol. 60, nro. 2, pp. 238–241, ene. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11172-011-0039-5>

**Citación del artículo:**

F. Mollaamin, “Efecto del dopaje con Al, C y Si en nanojaulas de nitruro de boro ( $B_5N_{10}_NC$ ) para mejorar la adsorción de gases tóxicos ambientales: técnica de simulación en un sensor de gas de alto rendimiento”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 59–70, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.112067>