



Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería

**Cuantificación de formaldehído por
CLAR acoplado a UV-Vis y
espectrofotometría en cremas que
contienen agentes liberadores de
formaldehído**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Presenta

QI. Leonel Jassiel Islas Aguilar

Directora de tesis

Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 249

Tijuana, B. C., a 4 de junio de 2018

C. Leonel Jassiel Islas Aguilar
Pasante de: Maestro en Ciencias
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por la C. Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo

Quien será la responsable de la calidad de trabajo que usted presente, referido al
tema Cuantificación de formaldehído por CLAR acoplado a UV-Vis y
espectrofotometría en cremas que contienen agentes liberados de formaldehído.

El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:


- I.- RESUMEN
- II.- INTRODUCCIÓN
- III.- PARTE EXPERIMENTAL
- IV.- DISCUSIÓN Y RESULTADOS
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- REFERENCIAS
- VII.- ANEXOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA


Dr. José Luis González Vázquez
Sub-Director Secretario


Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo
Directora de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

Contenido de Tesis

AGRADECIMIENTOS.....	4
DEDICATORIA	5
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
1 RESUMEN.....	10
1.1 RESUMEN	11
2 INTRODUCCIÓN.....	12
2.1 ANTECEDENTES	13
2.2 USOS DEL FORMALDEHÍDO	14
2.2.1 Formaldehído en alimentos	14
2.2.2 Efectos del formaldehído en el medio ambiente.....	15
2.2.3 Efectos del formaldehído en la salud	15
2.3 FORMALDEHÍDO EN COSMÉTICOS	16
2.4 AGENTES LIBERADORES DE FORMALDEHÍDO	18
2.4.1 Imidazolinidil-urea.....	18
2.4.2 Diazolinidil-urea.	19
2.4.3 Hidroximetil glicinato de sodio.....	20
2.4.4 Quaternium 15	20
2.5 Investigaciones relacionadas con formaldehído	21
2.6 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR EL FORMALDEHÍDO	22
2.7 MÉTODO DE 2,4-PENTANODIONA	22
2.7.1 Usos de la 2,4-pentanodiona	22
2.7.2 Reacción de formación del complejo DDL (3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina).....	23
2.8 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA	24
2.8.1 Clasificación de los métodos cromatográficos	25
2.8.2 Cromatografía de líquidos.....	26
2.8.3 Clasificación de la cromatografía de líquidos de alta redisolución	27

2.8.4	Cromatografía de reparto	29
2.8.5	Cromatografía de adsorción.....	30
2.8.6	Cromatografía de intercambio iónico	31
2.8.7	Aplicaciones de la cromatografía de intercambio iónico	32
2.8.8	Cromatografía de exclusión molecular	33
2.9	JUSTIFICACIÓN.....	34
2.10	HIPÓTESIS	36
2.11	OBJETIVOS	36
2.11.1	Objetivo general.....	36
2.11.2	Objetivos específicos.....	36
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	37
3.1	EQUIPO, MATERIAL, REACTIVOS	38
3.2	METODOLOGÍA.....	38
3.2.1	Valoración del ácido clorhídrico.....	38
3.2.2	Disolución stock de formaldehído aproximadamente de 4 mg mL ⁻¹	39
3.2.3	Valoración de la disolución de formaldehído.....	39
3.2.4	Disolución estándar de formaldehído 100 mg L ⁻¹	39
3.2.5	Disolución buffer acetato de amonio pH 6	39
3.2.6	Disolución 2,4-pentanodiona 0.2 M.....	40
3.2.7	Disolución NASH para el análisis por cromatografía.....	40
3.2.8	Disolución de THF para el análisis por cromatografía.....	40
3.2.9	Destilación por arrastre con vapor.....	40
3.2.10	Formación del complejo DDL para CLAR.....	43
3.2.11	Preparación de las muestras para CLAR.....	43
3.2.12	Formación del complejo DDL para espectrofotometría.....	43
3.2.13	Preparación de las muestras para espectrofotometría	43
3.2.14	Optimización de temperatura de reacción	43
3.2.15	Optimización del tiempo de reacción	45
3.2.16	Optimización de concentración de la 2,4-pentanodiona	46
3.2.17	Análisis de muestras.....	49
4	DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	51
4.1	Temperatura de reacción.....	52

4.2	Tiempo de reacción	55
4.3	Concentración de la 2,4-pentanediona.....	60
4.4	Curva de calibración por espectrofotometría	64
4.5	Curva de calibración por CLAR	65
4.6	Crema Avon Care fortificada con formaldehído	68
4.7	Determinación de la linealidad del método.....	69
4.8	Límite de detección del método (LD) y límite de cuantificación (LC).....	72
4.9	Determinación de exactitud y repetibilidad del método.....	73
4.10	Espectros de absorción	74
4.11	Análisis de muestras.....	75
5	CONCLUSIONES.....	76
5.1	Conclusiones.....	77
6	REFERENCIAS	78
6.1	REFERENCIAS.....	79
7	ANEXOS	84
7.1	Cromatogramas.....	85
7.1.1	Curva de calibración intervalo bajo.....	85
7.1.2	Curva de calibración intervalo alto	87
7.1.3	Estándar para exactitud y repetibilidad del método.....	90
7.1.4	Muestras analizadas por CLAR	93

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora de toda la vida la Dr. Gaby Carrillo por el apoyo brindado durante este tiempo, por sus regaños por los cuales fue posible llegar hasta este momento.

A la Dr. Pilar Haro por ser un apoyo y también por sus llamadas de atención gracias a las cuales logre concentrarme y seguir adelante.

A mis sinodales Dr. Ana Ames y la Dr. Alma Elia Leal, por sus aportaciones y consejos para la realización de esta investigación.

A la UABC en especial a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería por permitirme usar sus instalaciones para la realización de este proyecto.

A CONACYT por el apoyo económico brindado durante estos dos años.

A mis compañeros de laboratorio gracias a los cuales el tiempo pasaba más rápido en los momentos de espera, los momentos de risa cuando algo no salía como queríamos, por las comidas y demás cosas que pasamos en esos momentos.

A los nuevos amigos que hice durante estos dos años, espero seguir en contacto con ustedes.

Y a todas las personas que de una forma u otra hicieron posible esta investigación.

A todos ustedes:

GRACIAS

DEDICATORIA

Mi esposa ANA:

Por aguantar esas noches de desvelo, que la dejara sola con los niños, por el apoyo y sus palabras de ánimo cuando estaba cansado, los muchos litros de café que me preparó, sin ti mucho de esto no hubiera sido posible. TE AMO.

A mis hijos: Ángel, Iker, Alex,

Mis tres mosqueteros, gracias por aguantar las veces que no pude jugar con ustedes, que no los dormí o que no pudimos hacer algo juntos. Ángel que me sacaba de mis pensamientos preguntándome si es más fuerte Spiderman o Hulk, si una ballena o un tiburón blanco. Iker con sus ocurrencias y preguntas que en más de una ocasión me pusieron a pensar más de lo que deberían y también muchas de ellas me hicieron reír. Alex el bebé de la casa, todavía no entiendes lo que pasa, pero no sabes lo que con tus risas y abrazos me haces sentir, llegar a casa y ver tu sonrisa era lo mejor que me podía después de un día de trabajo.

A mi familia:

Mis padres, por apoyarme siempre, y hacer de mí una buena persona, espero ser tan buen padre yo para mis hijos como ellos fueron conmigo.

A mis hermanos, aunque no estamos todos juntos, siempre estamos al pendiente de cada uno y sé que siempre puedo contar con ellos.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Agentes liberadores de formaldehído más comunes	18
Tabla 2. Metodologías sobre cuantificación de formaldehído	21
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la 2,4-pentanodiona	23
Tabla 4. Clasificación de los métodos cromatográficos en columna	26
Tabla 5. Aplicaciones características de la cromatografía de reparto	30
Tabla 6. Usos Industriales de la Cromatografía de Intercambio Iónico	32
Tabla 7 Solubilidad y arrastre por vapor	42
Tabla 8. Diseño factorial 2^2 realizado a 100 °C	44
Tabla 9. Experimento por diseño factorial 2^2 a 150 °C.....	44
Tabla 10. Diseño de experimento 2^3	45
Tabla 11. Diseño factorial Mixed Level $3*2^2$	46
Tabla 12. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.4 mol L ⁻¹	47
Tabla 13. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.1 mol L ⁻¹	48
Tabla 14. Experimento con diferentes concentraciones de 2,4-pentanodiona.....	48
Tabla 15. Experimento con diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L ⁻¹	49
Tabla 16. Diseño factorial 2^2 a 100°C	52
Tabla 17. Valores óptimos del diseño de experimento 2^2 a 100 °C	53
Tabla 18. Diseño factorial 2^2 a 150°C	54
Tabla 19. Valores óptimos del diseño de experimento 2^2 a 150 °C	55
Tabla 20. Diseño factorial 2^3	56
Tabla 21. Tabla de análisis de varianza diseño factorial 2^3	57
Tabla 22. Mixed level factorial $3*2^2$	58
Tabla 23. Tabla de análisis de varianza diseño $3*2^2$	59
Tabla 24. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.4 mol L ⁻¹	60
Tabla 25. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.1 mol L ⁻¹	62
Tabla 26. Diferentes concentraciones de 2,4-pentanodiona	63
Tabla 27. Diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L ⁻¹	64
Tabla 28. Recobro de muestra fortificada Avon Care analizada por CLAR.....	69
Tabla 29. Recobro de muestra fortificada Avon Care analizada por espectrofotometría ...	69
Tabla 30 Resultados linealidad por CLAR.....	70
Tabla 31. Resultados linealidad por espectrofotometría	72
Tabla 32. Valores para LD y LC por método de CLAR	72
Tabla 33. Valores para LD y LC por el método de espectrofotometría.....	73
Tabla 34. Resultados exactitud y repetibilidad del método por CLAR	73
Tabla 35. Resultados de exactitud y repetibilidad del método por espectrofotometría.....	74
Tabla 36 Resultados de muestras analizadas por CLAR	75
Tabla 37. Resultados de muestras analizadas por espectrofotometría.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Molécula de imidazolinidil-urea	18
Figura 2. Molécula de diazolinidil-urea.....	19
Figura 3. Molécula de hidroximetil glicinato de sodio	20
Figura 4. Molécula de Quaternium-15.....	20
Figura 5. Fórmula estructural de la 2,4-Pentanodiona	22
Figura 6. Reacción de Hantzsch de formaldehído con 2,4 pentanodiona.....	23
Figura 7. Destilación por arrastre con vapor	41
Figura 8. Gráfico de efectos principales experimento a 100 °C.....	53
Figura 9. Gráfico de efectos principales a 150 °C.....	54
Figura 10. Diagrama de Pareto diseño factorial 2 ³	57
Figura 11. Gráfico de superficie de respuesta del diseño 3*2 ²	59
Figura 12. Gráfico de efectos principales 2,4-pentanodiona 0.4 mol L ⁻¹	61
Figura 13. Diagrama de Pareto 2,4-pentanodiona 0.1 mol L ⁻¹	63
Figura 14. Curva de calibración de formaldehído por espectrofotometría	65
Figura 15. Curva de calibración formaldehído intervalo bajo por CLAR.....	66
Figura 16. Curva de calibración de formaldehído intervalo alto por CLAR	66
Figura 17. Cromatograma curva de calibración intervalo bajo por CLAR	67
Figura 18. Cromatograma curva de calibración intervalo alto por CLAR	68
Figura 19. Linealidad del método por CLAR intervalo bajo	71
Figura 20. Linealidad del método por CLAR intervalo alto	71
Figura 21. Espectros de absorción de formaldehído, destilado demoprada y complejo DDL del destilado de demoprada	74
Figura 22. Cromatograma, concentración estándar 0.20 mg L ⁻¹	85
Figura 23. Cromatograma, concentración estándar 0.30 mg L ⁻¹	85
Figura 24. Cromatograma, concentración estándar 0.50 mg L ⁻¹	86
Figura 25. Cromatograma, concentración estándar 0.70 mg L ⁻¹	86
Figura 26. Cromatograma, concentración estándar 0.90 mg L ⁻¹	87
Figura 27. Cromatograma, concentración estándar 1.0 mg L ⁻¹	87
Figura 28. Cromatograma, concentración estándar 3.0 mg L ⁻¹	88
Figura 29. Cromatograma, concentración estándar 5.0 mg L ⁻¹	88
Figura 30. Cromatograma, concentración estándar 7.0 mg L ⁻¹	89
Figura 31. Cromatograma, concentración estándar 10.0 mg L ⁻¹	89
Figura 32. Réplica 1	90
Figura 33. Réplica 2	90
Figura 34. Réplica 3	91
Figura 35. Réplica 4	91
Figura 36. Réplica 5	92
Figura 37. Réplica 6	92
Figura 38. Réplica 7	93
Figura 39. Dermoprada 0.092 g	93

Figura 40. Dermoprada 0.120 g	94
Figura 41. Nuvel 0.090 g	94
Figura 42. Nuvel 0.121 g	95

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Índice de polaridad de una mezcla de solventes	29
Ecuación 2. Normalidad del ácido.....	39
Ecuación 3. Concentración de formaldehído.....	39
Ecuación 4. Ecuación de regresión lineal por espectrofotometría.....	64
Ecuación 5. Ecuación de regresión lineal por CLAR intervalo bajo.....	65
Ecuación 6. Ecuación de regresión lineal por CLAR intervalo alto.....	66
Ecuación 7. Límite de detección.....	72
Ecuación 8. Límite de cuantificación.....	72

1 RESUMEN

1.1 RESUMEN

La determinación de formaldehído en productos cosméticos que contienen liberadores de formaldehído es de suma importancia ya que en la actualidad es bien conocida su relación con alergias, así como en exposiciones prolongadas es causa de cáncer. Esta investigación propone el desarrollo de un método nuevo para cuantificar el contenido de formaldehído en cremas que contienen agentes liberadores de formaldehído.

Se realizaron varios experimentos los cuales se utilizaron para obtener condiciones óptimas de pretratamiento y de cuantificación, entre las que se encuentran, concentración de la 2,4-pentanodiona, temperatura y tiempo de reacción, así como las condiciones de uso del equipo CLAR, se determinó para el intervalo bajo un LD de 0.024 mg L^{-1} y LC de 0.074 mg L^{-1} , para el caso del intervalo alto el LD fue de 0.364 mg L^{-1} y un LD 1.103 mg L^{-1} . Con el método propuesto se pueden analizar 15 muestras por hora.

Se propuso dos métodos de pretratamiento de muestra uno por destilación por arrastre con vapor y el otro usando un disolvente orgánico como el THF propuesto por Pai-Wen et.al 2003. En ambos casos se determinó el formaldehído en cremas que contienen agentes liberadores de formaldehído, obteniendo resultados aceptables dentro de los límites que marca la normatividad mexicana.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 ANTECEDENTES

El formaldehído, CAS: 50-00-0 (CH_2O , metanal, aldehído fórmico, oxometano), es un gas incoloro, altamente inflamable que se vende comercialmente como disoluciones acuosas al 30-50 % (en peso) [1]. Es el primer miembro de las series de los aldehídos alifáticos. Es una de las sustancias químicas más importantes utilizadas hoy en día en una gran cantidad de aplicaciones.

Fue preparado por primera vez por el químico ruso A.M Butlerov en 1859 como el producto de una tentativa, poco afortunada de la síntesis de glicol metilénico por hidrólisis del diacetato de metileno. Aunque Butlerov no supo que había obtenido el formaldehído, su descripción de las propiedades físicas y químicas del compuesto, incluyendo el aislamiento del paraformaldehído y la síntesis de la hexametenotetramina son obra suya. A.W. Hofmann sintetizó el formaldehído deliberadamente en 1868 por la reacción del metanol y el aire en presencia de un catalizador de platino (al poner en contacto una corriente de aire cargada de alcohol metílico con un espiral de platino incandescente) [2].

Es considerado uno de los peligros industriales más importantes y uno de los contaminantes del aire, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) ha concluido que el formaldehído es un carcinógeno potencial para los animales y que existe una evidencia limitada de su carcinogenicidad en humanos [3]. La Agencia de Protección del Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) ha establecido una dosis de referencia (RfD) máxima de 0.2 mg por Kg de peso corporal por día ($\text{mg Kg}^{-1} \text{D}^{-1}$) [4].

Se incluyó por primera vez en el Segundo Reporte Anual sobre Carcinógenos en 1981, como razonablemente se anticipaba que es un carcinógeno humano basado en pruebas suficientes de estudios en animales de experimentación. Desde entonces, se han publicado estudios adicionales de cáncer en seres humanos y se ha cambiado el estado de la lista a ser conocido como carcinógeno humano en el doceavo lugar (Reporte sobre Carcinógenos 2011) [4].

2.2 USOS DEL FORMALDEHÍDO

El formaldehído, es el aldehído más común en el medio ambiente y su aplicación abarca una amplia gama. Aparece como formaldehído libre, como subproducto formado por conservadores que lo liberan y resinas de formaldehído. [3].

Se usa en muchos procesos de manufactura incluyendo la producción de fertilizantes, productos de papel y madera, así como en las industrias textiles, de goma y cementeras [5].

La mayor parte de la producción de formaldehído ha sido destinada a la fabricación de resinas, estas resinas son usadas como adhesivos para la fabricación de elementos de madera unidos que comprenden tablas de aglomerado, tablas de fibras, y madera terciada. Ácido nitrilotriacético (NTA) y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) son componentes de detergentes modernos fabricados a partir de formaldehído. En la industria textil, se emplea el formaldehído para mejorar la resistencia a arrugarse y la resistencia a encogerse de los tejidos de rayón por tratamiento en condiciones ácidas. En la industria papelera, el formaldehído encuentra aplicación para aumentar la tenacidad bajo la acción de la humedad, la resistencia a encoger, la resistencia a las grasas, y también para aumentar la resistencia al agua de los papeles para el recubrimiento de alimentos. En la industria fotográfica, el formaldehído endurece el revestido e insolubiliza la superficie de las películas y los papeles sensibilizados.

También se usa de forma directa, como desinfectante en hospitales y en la industria alimentaria, en la fabricación de cosméticos, el cuero y las pieles pueden curtirse por la acción del formaldehído en presencia de sales amortiguadoras, que mantienen una neutralidad aproximada. También es empleado como bactericida, fungicida, agente de embalsamamiento y desodorante [2, 6].

2.2.1 Formaldehído en alimentos

El formaldehído se encuentra como contaminante en muchos alimentos, los alimentos más comúnmente involucrados son cerveza, jugos, carne, hongos, fideos, queso de soya, alimentos hidratados, pescados, patas de pollo [6].

Por esta razón en años recientes su determinación ha recibido mucha atención, por lo que se han desarrollado varias técnicas para su cuantificación como:

espectrofotometría, fluorometría, electroforesis capilar [7], Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), biosensores, fotometría catalítica y en fase sólida, espectrometría de masas por dilución isotópica [6].

2.2.2 Efectos del formaldehído en el medio ambiente

Entra en el ambiente a partir de fuentes naturales (incluyendo fuegos forestales), y de fuentes humanas directas como el producto de la combustión de los automóviles y otros combustibles, así como de usos industriales. También ocurre una formación secundaria, debido a la oxidación de compuestos orgánicos naturales y antropogénicos presentes en el aire [1].

Generalmente se encuentra más formaldehído en el aire dentro de viviendas que al aire libre. Muchos productos del hogar emiten formaldehído y se puede inhalar formaldehído cuando se usan estos productos. La pintura de látex y el barniz para las uñas liberan una gran cantidad de formaldehído al aire; la madera contrachapada y otros tipos de maderas laminadas, los muebles y armarios que se fabrican con éstas, los productos de fibra de vidrio, las alfombras nuevas, láminas decorativas, y algunas telas que no se arrugan emiten cantidades moderadas de formaldehído. Las personas que trabajan en o cerca de plantas químicas que manufacturan o usan formaldehído pueden estar expuestas a cantidades de formaldehído más altas que lo normal. Los médicos, enfermeras, dentistas, médicos veterinarios, patólogos, embalsamadores, personas que trabajan en la industria de ropas o fábrica de muebles, profesores y estudiantes que tienen contacto en laboratorios con especímenes que han sido preservados también pueden estar expuestos a cantidades altas de formaldehído [8].

2.2.3 Efectos del formaldehído en la salud

El formaldehído puede entrar al cuerpo al respirarlo, ingerirlo o por absorción al estar en contacto con la piel. El formaldehído es absorbido rápidamente a través de la nariz y de la parte superior de las vías respiratorias, también se absorbe rápidamente cuando se ingiere. En cambio, solamente cantidades muy pequeñas se absorben a través de la piel. Una vez dentro del cuerpo, el formaldehído es degradado rápidamente. Casi todos los tejidos del cuerpo tienen la capacidad para degradar formaldehído. Generalmente es convertido a una sustancia no tóxica

llamada formato, que se excreta en la orina. El formaldehído también puede ser convertido a dióxido de carbono, el cual se elimina en el aliento. También puede ser degradado para que el cuerpo lo use para fabricar moléculas más grandes que necesitan los tejidos, o puede ligarse al ácido desoxirribonucleico (ADN) o a proteínas en el cuerpo. El formaldehído no se almacena en la grasa [8].

El formaldehído produce irritación de los tejidos cuando entra en contacto directo con éstos. Algunas personas son más sensibles que otras a los efectos del formaldehído. Los síntomas más comunes son irritación de los ojos, la nariz, la garganta y lagrimeo, al encontrarse con concentraciones en el aire de aproximadamente 0.4–3 mg L⁻¹. El National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH, por sus siglas en inglés) indica que una concentración de formaldehído de 20 mg L⁻¹ constituye peligro inmediato para la salud y la vida. Un estudio encontró que personas que sufren de asma pueden ser más sensibles a los efectos de la inhalación de formaldehído que las que no son asmáticas [8].

2.3 FORMALDEHÍDO EN COSMÉTICOS

La NOM-141-SSA1/SCFI-2012 define a un producto cosmético como: las sustancias o formulaciones destinadas a ser puestas en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos, o con los dientes y mucosas bucales con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, ayudar a modificar su aspecto, protegerlos, mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales o atenuar o prevenir deficiencias o alteraciones en el funcionamiento de la piel sana [9]. Diferentes tipos de conservadores antimicrobianos son usados en los cosméticos, el formaldehído y agentes liberadores de formaldehído son conservadores usados ampliamente y representan un grupo importante de irritadores de la piel. Los **agentes liberadores de formaldehído** son comúnmente usados en lugar del formaldehído. Estos conservadores presentan efectos antimicrobianos y en su descomposición se libera formaldehído [10]. Estos conservadores tienen la capacidad de reemplazar el formaldehído usado liberándolo en cantidades muy pequeñas con el paso del tiempo según sea necesario. Si el formaldehído liberado se consume, estos agentes liberadores

suministran más, por lo tanto, la acción de los agentes liberadores se basa en el logro continuo de este equilibrio, de esta manera el nivel real de formaldehído libre en el producto permanece bajo pero suficiente para prevenir o eliminar el crecimiento bacteriano. Por consiguiente, la actividad antimicrobiana de estos conservantes es muy probable que resulte de la liberación de formaldehído, pero también se ha supuesto que algunos de ellos actúan como biosidas por sí mismos, independientemente de la liberación de formaldehído [11].

El Grupo de Trabajo (WP, por sus siglas en inglés) de la Unión Europea (UE) en Análisis Químico de Productos Cosméticos, ha observado que ciertos **agentes liberadores de formaldehído** liberan un poco o todo el formaldehído que contienen, y no permanecen como un solo compuesto. El grupo ha identificado cuatro de estos liberadores de formaldehído, de acuerdo con la Directiva 76/768/EC: Imidazolinidil-urea, diazolinidil-urea, hidroximetil-glicinato de sodio, benzilhemiformal. Dado que estos compuestos no permanecieron intactos durante las condiciones analíticas empleadas, (WP) concluyó que no puede ser posible desarrollar el (los) método (s) de análisis de estos compuestos. Se sugirió por parte del grupo de trabajo que estos cuatro **agentes liberadores de formaldehído** pueden ser regulados en base al contenido de formaldehído liberado [12].

La concentración máxima permitida de formaldehído libre, autorizado por la Unión Europea (UE) es del 0.2 % en los productos cosméticos. De acuerdo con la UE, la cantidad máxima de estos liberadores de formaldehído en los productos cosméticos debe ser de alrededor de 0.1 ~ 0.6 %. De conformidad con el anexo VI de la Directiva 76 / 768 / CE, todos los productos terminados que contengan formaldehído o sustancias del presente anexo que liberen formaldehído deberán estar marcados con la advertencia "contiene formaldehído" cuando la concentración de formaldehído en el producto acabado sea superior al 0.05 % [10].

En la regulación mexicana (ACUERDO por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza) permite una concentración máxima permitida de 0.5 %, para la diazolinidil-urea y

sus derivados y una concentración máxima permitida de 0.20 % de formaldehído y ρ -formaldehído y sus derivados (como formaldehído libre) [13].

2.4 AGENTES LIBERADORES DE FORMALDEHÍDO

Los **agentes liberadores de formaldehído** se definen como sustancias que liberan formaldehído, ya sea durante su descomposición o bien, sintetizadas a partir del formaldehído. Existen más de 40 sustancias identificadas y en la Tabla 1 se enlistan las usadas en la práctica [14].

Tabla 1. Agentes liberadores de formaldehído más comunes

Cosméticos	Productos de uso industrial
Quaternium-15	Grupo de los Bioban
Imidazolinidil urea	Grotan BK (Hexahydro-1,3,5-Tris-(hydroxiethyl) triazine)
Diazolinidil urea	
DMDM hidantoína	
Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol)	Textiles
Metenamina (hexametilentetramina)	Resina de urea formaldehído
	Resina de melamina formaldehído

2.4.1 Imidazolinidil-urea

Es un polvo fino de color blanco, nombre químico (3,3-Bis(1-hidroximetil-2,5-dioxoimidazolidin-4)-1-1'-metildiurea), es soluble en agua, con un punto de fusión: > 160 °C, su estructura se muestra en la Figura 3. Se trata de un conservante antimicrobiano de amplio espectro usado en productos cosméticos y en formulaciones farmacéuticas tópicas. Se puede utilizar en lociones, champús, cremas, acondicionadores solares, mascarillas, y maquillaje en polvo. Por sus características físicoquímicas se puede incorporar en frío a las diferentes preparaciones, tanto sólidas como líquidas [15, 16].

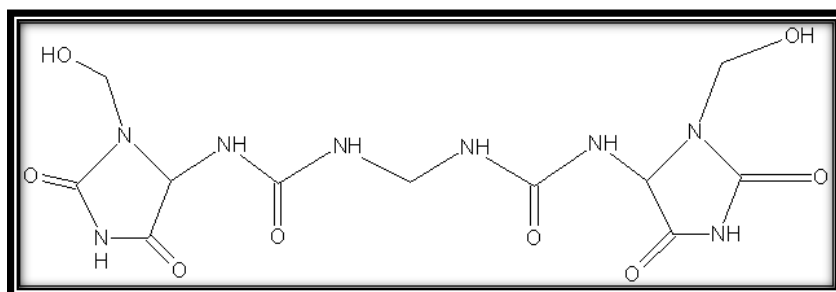


Figura 1. Molécula de imidazolinidil-urea

Imidazolidinil urea es soluble solo en disolventes polares, en disolución acuosa, se descompone para liberar formaldehído. La liberación de formaldehído de la imidazolidinil urea en una disolución acuosa aumenta con el aumento del pH y la temperatura de la disolución, así como con el aumento en el período de almacenamiento. Una molécula de este compuesto puede liberar 4 moléculas de formaldehído en condiciones rigurosas. El contenido de formaldehído libre total en un producto que contiene 0.6 % de imidazolidinil urea corresponderá, por lo tanto, a 0.186 % [12].

2.4.2 Diazolinidil-urea.

Diazolidinil urea es un polvo fino de color blanco con nombre químico (N-[1,3-bis(hidroximetil)-2,5-dioxo-4-imidazolidinil]-N,N'-bis(hidroximetil) urea), su estructura se muestra en la Figura 4. Se puede encontrar en muchos tipos de productos cosméticos y de cuidado personal, incluyendo maquillaje facial y de ojos, lociones para después de afeitar, productos para uñas, baño, cabello y productos para el cuidado de la piel [17].

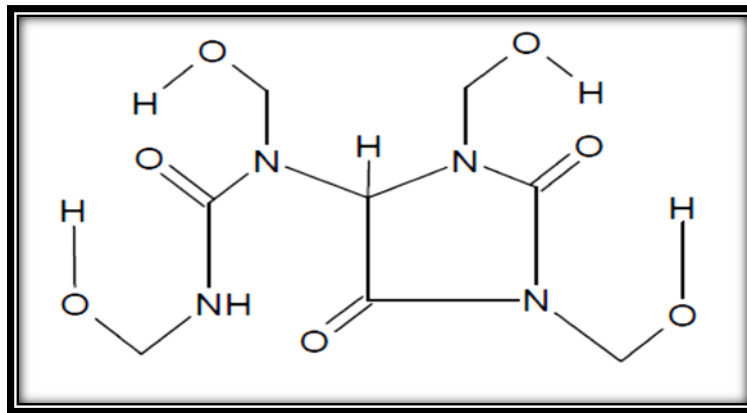


Figura 2. Molécula de diazolinidil-urea

En disolución acuosa la diazolinidil urea se descompone para liberar formaldehído. Una molécula de este compuesto puede liberar cuatro moléculas de formaldehído. El contenido de formaldehído libre total en un producto que contiene 0.5 % de diazolidinil urea corresponderá, por lo tanto a 0.215 % [12].

2.4.3 Hidroximetil glicinato de sodio

Altamente soluble en agua, soluble en metanol, propilenglicol y glicerina, pero insoluble en la mayoría de los disolventes orgánicos.

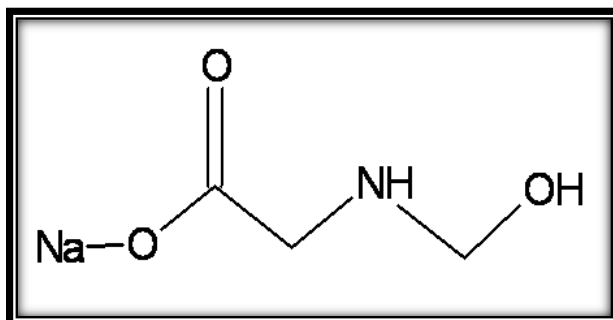


Figura 3. Molécula de hidroximetil glicinato de sodio

En una disolución acuosa, el hidroximetil glicinato de sodio (Hidroximetil amino acetato de sodio) se descompone para liberar formaldehído, su estructura química se muestra en la Figura 5. Una molécula de formaldehído se forma por la descomposición de cada molécula del compuesto. El contenido de formaldehído libre total en un producto que contiene 0.5 % de hidroximetilo de sodio el glicinato corresponde a 0.118 % [12].

2.4.4 Quaternium 15

Quaternium 15 es el agente liberador de formaldehído más utilizado como conservante en diferentes productos de belleza, es altamente soluble en agua, inodoro e incoloro. Su actividad antimicrobiana es independiente del pH del producto [18]. Una concentración de quaternium 15 (ver estructura química en la Figura 6) al 0.1 % (1000 mg L⁻¹ libera 100 mg L⁻¹ de formaldehído libre [19].

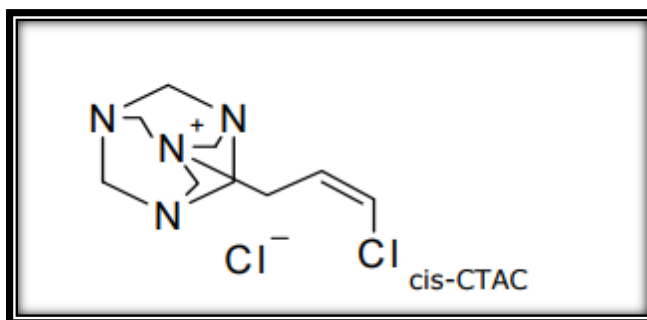


Figura 4. Molécula de Quaternium-15

2.5 Investigaciones relacionadas con formaldehído

Tabla 2. Metodologías sobre cuantificación de formaldehído

Año de publicación	Metodología	Matriz	Reacción	Límites de detección	Muestras/hora	Referencia
2007	Espectrofotometría/Comparativa	Alimentos	Reacción de Formaldehído y acetilacetona, produciendo 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina amarilla.	0.8 – 20.0 µg/mL	NE	[20]
2007	Fluorometria	Bebidas alcohólicas	Reacción de Fluoral-P (4-amina-3-penten-2-ona) con formaldehído, dando lugar a la formación de 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina (DDL), que fluoresce a $\lambda_{ex} = 410$ nm y $\lambda_{em} = 510$ nm.	3.1 ng/mL	60/hora	[21]
2008	Espectrofotometría	Desinfectantes	Reacción de formaldehído con ácido cromotrópico en presencia de sulfato de magnesio produciendo un complejo estable Mg^{+2} / ciclotetracromotropileno	3 to 11 mg/L	NE	[3]
2009	Fluorometria	Alimentos	Determinación del formaldehído, basado en el uso de microondas en línea acelerando su reacción de Hantzsch con ciclohexano-1,3-diona	0.02 ng/mL	28/hora	[6]
2015	Espectrofotometría/HPLC. Comparativa	Cosméticos	La cuantificación del formaldehído por ambos métodos se hizo por medio de la reacción de derivatización con la 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH)	Espectrofotometría: 4 – 12 mg/L HPLC: 2 – 32 mg/L	NE	[10]

NE: No especificado

2.6 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR EL FORMALDEHÍDO

Frecuentemente el formaldehído es determinado por métodos fluorométricos, cromatográficos y espectrofotométricos. Los métodos fluorométricos que utilizan la reacción de Hantzsch, son las más usadas para la determinación de formaldehído, la técnica es específica, no destructiva, cuantitativa, además de permitir la detección continua, sin embargo, el requisito de instrumentación grande, compleja y costosa, hace que el método no sea adecuado para un análisis de rutina [20].

En cuanto a la determinación de formaldehído en bebidas y productos alimenticios, un pretratamiento de la muestra, como destilación de vapor y extracción, es necesario para la mayoría de los métodos actuales debido a una menor sensibilidad para detectar y por los efectos de la matriz. Aunque un método catalítico se reportó para la determinación de formaldehído en cervezas, este no es adecuado para cervezas oscuras debido a la absorción de la muestra matriz en la longitud de onda que se mide [6].

2.7 MÉTODO DE 2,4-PENTANODIONA

La 2,4-pentanodiona es un líquido incoloro con olor rancio a temperatura ambiente, fácilmente soluble en agua [38].

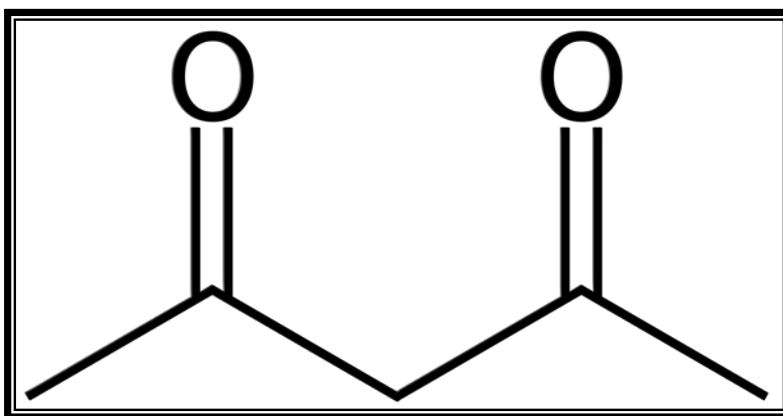


Figura 5. Fórmula estructural de la 2,4-Pentanodiona

2.7.1 Usos de la 2,4-pentanodiona

La 2,4-pentanodiona se utiliza como intermedio químico en la fabricación de productos farmacéuticos, colorantes y productos fitosanitarios. También se usa

como aditivo en gasolinas y lubricantes, para favorecer el secado de barnices y tintas de impresora, como quelante de metales, modificador de poliolefinas y en la síntesis de agentes antibacterianos, en particular sulfametazina [38].

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la 2,4-pentanodiona.

Propiedad	Unidades
Peso molecular	100.12 g mol ⁻¹
Formula molecular	C ₅ H ₈ O ₂
Solubilidad en agua	166 g L ⁻¹ a 20 °C
Punto de fusión	-23.2 °C
Punto de ebullición	140 °C
Presión de vapor	0.92 kPa a 20 °C
Peso específico	0.9763 g/cm ³ a 20 °C
Densidad de vapor	3.45 veces la del aire
Punto de inflamación	35.5 °C
Límite de explosividad	Inferior 2.4% y superior 11.6% (concentración en aire)
Umbral de olor	10- 20 ppb

2.7.2 Reacción de formación del complejo DDL (3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina)

La reacción de Hantzsch (ver figura 6) es comúnmente utilizada para la determinación de formaldehído al cuantificarse la cantidad de 3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina (DDL) formada a partir de la reacción de formaldehído con 2,4 pentanodiona en presencia de sales de amonio.

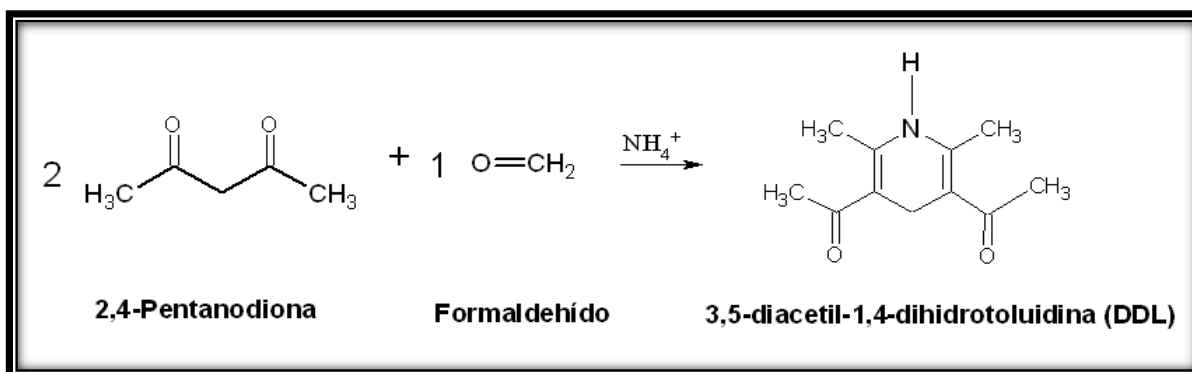


Figura 6. Reacción de Hantzsch de formaldehído con 2,4 pentanodiona

2.8 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un potente método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. La técnica fue inventada y denominada así por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios del siglo XX. El la utilizaba para separar varios pigmentos vegetales, como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar disoluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido.

Sin embargo, fue hasta 1931 que el desarrollo total de esta técnica se produjo, cuando Kuhn y Lederer comenzaron a utilizarla de manera sistemática. La cromatografía de líquidos (CL), sufrió un estancamiento en 1952 cuando se impulsó el desarrollo de la cromatografía de gases (CG), que acaparó los esfuerzos teóricos encaminados al desarrollo de la cromatografía. No obstante, la limitación de la CG en cuanto al tipo de muestras que podía analizar (volátiles o derivados volátiles de las mismas), origino en la década de los sesenta, una vuelta a considerar a la CL, cuya limitación en el tipo de muestras, se reducen a la posibilidad de disolver la muestra, lo que le confiere un rango más amplio de aplicación. Este hecho y el desarrollo de fases estacionarias con diámetros de partícula cada vez menores a los utilizados hasta entonces, permiten obtener columnas de mayor eficacia, extendió la utilización de este tipo de cromatografía.

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos de separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios. La cromatografía es esencialmente un proceso físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una inmóvil (fase estacionaria) y una móvil que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico (fase móvil), la cual pasa a través de la primera. El proceso cromatográfico se da como resultado de repetidos procesos de adsorción-desorción durante el movimiento de los componentes de la mezcla arrastrados por la fase móvil a lo largo de la fase estacionaria (elución), produciéndose la separación debido a las diferencias en las constantes de distribución de los componentes de la mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil. A la

distribución final de los componentes en función de su posición sobre la fase estacionaria, o del tiempo en que eluyen se le denomina cromatograma.

La experiencia acumulada en el desarrollo de la CG, permitió un avance en la CL, al diseñar sistemas de inyección, circulación del eluyente y detección de eficacia comparable a los usados en la CG, dando lugar a la moderna técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE), también conocida como cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). En la cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. La separación cromatográfica en CLAR es el resultado de las interacciones específicas entre las moléculas de la muestra en ambas fases, móvil y estacionaria.

2.8.1 Clasificación de los métodos cromatográficos

Los métodos cromatógrafos se pueden clasificar de dos maneras. La primera de ellas se basa en los medios físicos por los cuales las fases estacionaria y móvil se ponen en contacto. En la cromatografía en columna, un tubo estrecho contiene la fase estacionaria a través de la cual la fase móvil se fuerza a pasar por presión. En la cromatografía en capa, la fase estacionaria se fija sobre una placa plana o en los intersticios de un papel; en este caso la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad. Solo la cromatografía de líquidos puede llevarse a cabo en columna o sobre capa fina; mientras que la cromatografía de gases como la de fluidos supercríticos está restringida a los procedimientos en columna de tal manera que las paredes de la columna contienen la fase móvil. En la Tabla 4 se enlistan tres categorías generales de cromatografía; cromatografía de gases, cromatografía de líquidos, y cromatografía de fluidos supercríticos (CFS).

Tabla 4. Clasificación de los métodos cromatográficos en columna

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
Cromatografía de gases	a) Cromatografía gas-líquido (CGL)	Líquido adsorbido o unido a una superficie solida	Distribución entre un gas y un líquido
	b) Gas-Sólido	Sólido	Adsorción
Cromatografía de líquidos	a) Líquido-líquido o reparto	Líquido adsorbido o unido a una superficie solida	Distribución entre líquidos inmiscibles
	b) Líquido-sólido o adsorción	Sólido	Adsorción
	c) Intercambio de iones	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	d) Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un sólido polimérico.	Distribución-exclusión
	e) Afinidad	Grupo de líquidos específicos unidos a una superficie solida	Distribución entre el líquido de la superficie y el
Cromatografía de fluidos supercríticos (CFS; fase móvil: fluido)		Especies orgánicas enlazadas a una superficie solida	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie

2.8.2 Cromatografía de líquidos

En el inicio de la cromatografía de líquidos, esta se llevaba a cabo en columnas de vidrio con diámetros de 10 a 50 mm. Las longitudes de las columnas eran de 50 a 500 cm rellenas de partículas sólidas cubiertas con un líquido adsorbido que forzaba la fase estacionaria. Para asegurar tasas de flujo favorables los tamaños de partícula se mantenían en más de 150 a 200 μm , incluso así las tasas de flujo eran bajas, de un máximo de unas pocas décimas de mililitro por minuto, lo que hacía que los tiempos de separación fueran de varias horas. Los intentos de aplicar vacío o bombeo no funcionaron, ya que el aumento en la tasa de flujo originaba un aumento de la altura de plato por encima del mínimo característico

que se observaba en gráficas de altura de plato contra tasa de flujo el resultado era menor eficiencia.

Durante la etapa de desarrollo de la CL, los científicos se dieron cuenta de que podían conseguir aumentar la eficacia de la columna de forma significativa al disminuir el tamaño de las partículas del empaque. Pero fue hasta la década de los sesenta, cuando se perfeccionó la técnica para producir y utilizar empaques de tamaño de partícula tan pequeños como del orden de 3 a 10 μm . Esta técnica requería de instrumentos más complejos para poder trabajar con altas presiones, lo que contrastaba con las columnas de vidrio utilizadas hasta el momento, por lo que se empezó a trabajar con materiales más resistentes (acero inoxidable); para diferenciar estos métodos más nuevos de los originales de flujo por gravedad se le denominó Cromatografía Líquida de Alta Redisolución (CLAR o HPLC, por sus siglas en inglés). En la actualidad toda la cromatografía de líquidos se realiza con flujo presurizado por lo que se utilizan las siglas CL o CLAR sin distinción.

2.8.3 Clasificación de la cromatografía de líquidos de alta redisolución

CLAR es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones de su popularidad son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla, su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, pero más por su amplia aplicabilidad a sustancias que son importantes para la industria, muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general.

Los diferentes tipos de cromatografía líquida se pueden clasificar de diferentes maneras, pero la forma más habitual de clasificación es la realizada en base a la naturaleza de la fase estacionaria, ya que es esta la que impone fundamentalmente el mecanismo de separación; de este modo, se pueden describir varias técnicas:

- Cromatografía de reparto (fases ligadas químicamente): La separación, en este caso se basa en un reparto del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria.

- Cromatografía de adsorción (líquido-sólido): La fase estacionaria es un adsorbente y la separación se basa en repetidas etapas de adsorción-desorción.
- Cromatografía de intercambio iónico: Este tipo de cromatografía se da cuando la fase estacionaria presenta en su superficie grupos ionizados capaces de retener selectivamente a iones de signo contrario que circulan en la fase móvil.
- Cromatografía de exclusión molecular: La fase estacionaria, en este caso, es un material poroso de tamaño de poro controlado, que permite la entrada de ciertas moléculas de manera selectiva, dejando fuera otras de mayor tamaño.

La cromatografía de reparto se puede dividir en dos tipos dependiendo de la polaridad de la fase estacionaria.

- Cromatografía de fase normal: La fase estacionaria presenta elevada polaridad (agua, trietilenglicol), y la fase móvil es no polar (hexano, isopropileter), por ejemplo, en una mezcla, el componente más polar eluye primero; al disminuir la polaridad de la fase móvil ocasiona un aumento del tiempo de elución del analito, si por el contrario se aumenta la polaridad de la fase móvil, el tiempo de retención disminuye.
- Cromatografía de fase inversa: Fase estacionaria no polar (cadenas hidrocarbonadas, grupos fenilo), y la fase móvil es un solvente polar (agua, metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano), en la cual los componentes menos polares eluyen primero, debido a que son atraídos con mayor fuerza por la fase estacionaria y para este mismo componente una disminución de la polaridad de la fase móvil disminuye el tiempo de retención.

2.8.4 Cromatografía de reparto

El tipo de cromatografía de líquidos más ampliamente usado es la cromatografía de reparto, en la cual la fase estacionaria es un segundo líquido que es inmisible con la fase líquida móvil. Al principio en este tipo de cromatografía se usaban columnas del tipo líquido-líquido. En la actualidad estas han sido reemplazadas por columnas de fase líquida unida en los sistemas de cromatografía de líquidos modernos, en las cuales los soportes para casi todos los rellenos de fases unidas químicamente se preparan con sílice rígida o composiciones constituidas básicamente por sílice.

La elección de la fase móvil no es fácil, debemos tener en cuenta varios factores:

- Orden polaridad: hidrocarburos < éteres < ésteres < cetonas < aldehídos < amidas < aminas < alcoholes < agua
- Habitualmente la polaridad de la fase estacionaria es distinta de la de los analitos y para la elución se emplea una fase móvil con una polaridad considerablemente distinta.
- Podemos mejorar la separación manipulando el factor de retención (k), variando la composición de la fase móvil, de manera que su valor se encuentre en el intervalo comprendido entre 2 y 10.
- También podemos recurrir si es necesario a variar el factor de selectividad (α), cambiando la naturaleza química de la fase móvil, pero manteniendo el factor de retención en los valores apropiados.
- Es útil el concepto de **índice de polaridad (P')**, que es una medida numérica de la polaridad de un disolvente (oscila entre -2 , para los fluoroalcanos, que son muy poco polares, hasta 102 , para el agua, muy polar). El índice de polaridad de una mezcla de solventes A y B se calcula según la ecuación 1 :

$$P'_{AB} = \varphi_A \times P'_A + \varphi_B \times P'_B \quad \text{Ecuación 1}$$

En la Tabla 5 se muestran aplicaciones de este tipo de cromatografía en diferentes campos de la química.

Tabla 5. Aplicaciones características de la cromatografía de reparto

Campo	Mezclas características
Fármacos	Antibióticos, sedantes, esteroides, analgésicos.
Bioquímica	Aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos.
Productos alimenticios	Edulcorantes artificiales, antioxidantes, aflatoxinas, aditivos.
Productos de la industria química	Aromáticos condensados, tensoactivos, propulsores, colorantes.
Contaminantes	Plaguicidas, herbicidas, fenoles, bifenilospoliclorados.
Ciencias forenses	Fármacos, venenos, alcohol en sangre, narcóticos.
Química clínica	Ácidos biliares, metabolitos de fármacos, extractos de orina, estrógenos.

2.8.5 Cromatografía de adsorción

La cromatografía de adsorción, o líquido-sólido, es la forma clásica de cromatografía de líquidos que introdujo Tswett por primera vez a principios del siglo XX. Debido a que hay muchos aspectos iguales entre la cromatografía de reparto de fase normal y la cromatografía de adsorción, muchos de los principios y las técnicas que se utilizan en la primera se aplican también en la cromatografía de adsorción. La teoría más aceptada por los cromatografistas para explicar las interacciones que se producen en este tipo de cromatografía, es denominada mecanismo de desplazamiento, que permite comprender el comportamiento de los diferentes sistemas de cromatografía de adsorción.

Las fases estacionarias más utilizadas son la sílice y la alúmina, cuya principal característica común reside en la elevada actividad superficial. Los parámetros que permiten orientar sobre la actividad de estas fases estacionarias son:

- La superficie específica
- El tamaño de poro de la partícula

En cromatografía de adsorción, se utilizan como fase móvil disolventes orgánicos de polaridad baja o media (la polaridad está en relación directa con la fuerza

eluotrópica ϵ°), pudiéndose utilizar un rango muy variado de fuerza eluotrópica, bien por cambios de disolvente, bien por mezclas de dos o más disolventes de diferentes polaridades.

La selección de la fase móvil se efectúa convenientemente con la ayuda de la escala de Hildebrand, que clasifica los diferentes disolventes utilizados como fase móvil de acuerdo con la fuerza eluotrópica (ϵ°), que indica su fuerza como eluyente con relación al pentano, al que se le asigna convencionalmente el valor de cero.

Esta cromatografía tiene aplicación para compuestos no polares con masas <5000, relativamente simples, solubles en disolventes no polares y es particularmente adecuada para el análisis de moléculas no ionizantes, insolubles en agua, que frecuentemente son isómeros o compuestos muy relacionados. Se utiliza en la separación de la vitamina D3 y sus metabolitos las vitaminas A, D y E (y compuestos muy relacionados a estas vitaminas), muchas drogas de abuso (LSD, por ejemplo), antidepresivos tricíclicos, bloqueadores beta y los PTH aminoácidos. Los aceites naturales y los extractos de esencias se analizan fácilmente y los pigmentos menos polares de las plantas, tales como los carotenoides y las porfirinas, La tendencia a ser adsorbido disminuye en el siguiente orden: ácido>alcohol>carbonilo>éster>hidrocarburo.

2.8.6 Cromatografía de intercambio iónico

La cromatografía iónica, se refiere a los métodos modernos y eficientes para separar y determinar iones en columnas con relativamente baja capacidad de intercambio iónico o aniónico. Básicamente, en este tipo de cromatografía, se utiliza una fase estacionaria o intercambiador iónico que presenta como grupos activos, permanentemente unidos a la superficie de la partícula mediante enlace químico, cargas de signo contrario a las de los solutos a separar. Estas cargas son compensadas por contraiones presentes en la fase móvil. Un intercambiador iónico es, por lo general, un polímero que tiene grupos cargados unidos. Existen dos tipos de intercambiadores iónicos, catiónicos y aniónicos. Los intercambiadores catiónicos son portadores de grupos con carga negativa que

unen cationes de modo reversible; los intercambiadores aniónicos son portadores de grupos con cargas positivas que unen aniones de forma reversible [22].

Esta técnica cromatografía siempre ha utilizado pequeñas cuentas esféricas y porosas que se forman en la copolimerización del estireno y del divinilbenceno en emulsión. La presencia de divinilbenceno (por lo regular 8%) origina un entrelazamiento o polimerización entrecruzada que confiere estabilidad mecánica a las cuentas. La fase móvil juega un papel importante en la retención del soluto ya que, en este caso, permite controlar los equilibrios entre soluto, contraion y fase estacionaria. La fase móvil debe contener los contraiones apropiados para la resina utilizada, existiendo tres variables que afectan a la retención de un soluto iónico sobre la fase estacionaria:

- La fuerza iónica
- El pH
- El modificador orgánico

2.8.7 Aplicaciones de la cromatografía de intercambio iónico

La cromatografía de intercambio iónico se emplea tanto en la separación de especies inorgánicas como en la separación de compuestos orgánicos. Se ha aplicado a una gran variedad de sistemas orgánicos y bioquímicos, incluyendo fármacos, conservantes alimentarios, azúcares y vitaminas, entre otros [23]. En la Tabla 5, se pueden ver otras aplicaciones [24].

Tabla 6. Usos Industriales de la Cromatografía de Intercambio Iónico

Área	Aplicaciones
Biotecnología	Aplicaciones analíticas tales como control de calidad y control de procesos operativos
Comida e Investigación Clínica	Estudiar variedades del trigo y la correlación de la proteinuria con diversas enfermedades renales.
Fermentación	Las resinas del intercambio catiónico se utilizan para vigilar el proceso de fermentación durante la producción de la β -galactosidasa.
	Separación y Purificación de los componentes de la sangre tales como albúmina, factores de incremento recombinantes y enzimas.

2.8.8 Cromatografía de exclusión molecular

La cromatografía de exclusión molecular o por tamaño, o de gel, es una técnica muy valiosa que se aplica a especies de elevada masa molecular. Se basa en la diferencia de tamaños de las moléculas a separar, comportándose esta técnica como un auténtico tamiz (por lo que también se le conoce como cromatografía de tamiz molecular).

Esta técnica se desarrolló inicialmente para la separación de compuestos biológicos, con eluyentes acuosos, sobre geles de dextrano, que presentan la característica de poseer una reticulación homogénea que permite a las moléculas, al igual que en una criba, pasar de manera selectiva por unos canales de diámetro controlado.

La fase estacionaria en la cromatografía de exclusión es la parte más importante, ya que aquí es donde radica totalmente la capacidad de separación ya que la fase móvil, es un simple vehículo para los solutos, no tiene en absoluto ninguna influencia sobre la separación.

En esta técnica existen dos tipos de relleno: cuentas poliméricas y partículas de sílice; en ambos casos los diámetros oscilan entre 5 y 10 μm .

Las partículas de sílice tienen la ventaja de ser de gran rigidez, lo que facilita el relleno y permite la aplicación de presiones elevadas, mayor estabilidad, lo cual favorece el uso de una gran variedad de solventes, sin olvidar el agua; un equilibrio más rápido al cambiar el solvente y una buena estabilidad a elevadas temperaturas.

La fase móvil tiene el papel de transportador, ya que no actúa directamente sobre el mecanismo de la separación. La fase móvil utilizada para este tipo de cromatografía debe reunir las siguientes características:

- Debe solubilizar perfectamente a la muestra.
- No debe disolver la fase estacionaria.
- No debe interactuar ni con la muestra ni con la fase estacionaria.

2.9 JUSTIFICACIÓN

El formaldehído, además de un potente sensibilizante, es un irritante primario que puede afectar la piel, la conjuntiva y la mucosa oral, y es también considerado un potencial carcinógeno respiratorio.

A temperatura normal el formaldehído es un gas incoloro, de olor característico, que puede liberarse a partir de múltiples reacciones, como la combustión de la madera, tabaco, gas natural o keroseno. También puede aparecer de forma natural en una gran variedad de alimentos, como café, caviar, jamón ahumado o bacalao. Su amplio espectro de acción antimicrobiana, capaz de eliminar gran cantidad de bacterias y hongos, convierte al formaldehído en un buen conservante, presente en múltiples productos. Sin embargo, su uso en cosméticos y en productos de higiene se ha reducido considerablemente debido a su toxicidad [25]. En su lugar se utilizan agentes capaces de liberar formaldehído lenta y progresivamente en las condiciones de uso habituales.

La mayoría de las sustancias liberadoras de formaldehído que tienen interés en alergia cutánea corresponde al grupo que libera formaldehído por descomposición. Dentro de este grupo se encuentran quaternium-15, imidazolidinil-urea, diazolidinil-urea, DMDM hidantoína y bronopol, que se emplean fundamentalmente en cosméticos [14].

Todas estas sustancias tienen la capacidad de liberar pequeñas cantidades de formaldehído de forma lenta, mientras este se va necesitando, de manera que, cuando el formaldehído se agota, el liberador aporta más formaldehído. Así, la cantidad de formaldehído presente en el producto se mantiene baja, pero es suficiente para prevenir el crecimiento de microorganismos [26]. A pesar de que la capacidad biosida de los liberadores se debe en parte a la liberación de formaldehído, también muchos de estos agentes tienen capacidad antimicrobiana por sí mismos, independiente de la liberación de formaldehído [27], [28].

No todos los liberadores se asocian con la misma frecuencia de sensibilización a formaldehído. Tras revisar diversos estudios [29, 30, 31], donde se ofrecen datos sobre la relación entre formaldehído y los liberadores, se puede concluir que, en general, en menos de un 25 % de los casos (y habitualmente en muchos menos)

de sensibilización a bronopol los pacientes reaccionan también a formaldehído, mientras que en más del 50 % de los pacientes con pruebas epicutáneas positivas a quaternium 15 reaccionan también a formaldehído. Los datos de co-sensibilización no son tan consistentes en el caso de otros liberadores y pueden variar: entre 12- 81 % para diazolidinil urea, entre un 11- 63 % para imidazolidinil urea y entre un 37- 83 % para DMDM hidantoína [32].

En nuestro país la Secretaria de Salud público en el DOF en el 2010 el *ACUERDO por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza*, el cual permite una concentración máxima de 0.20 % de formaldehído libre en productos cosméticos [13]. Por lo que es importante conocer si el contenido de formaldehído libre en estos productos cumple con la normatividad. Ya que la dermatitis de contacto es una enfermedad común en la dermatología, en los Estados Unidos de América, su prevalencia es de 13.6 casos por cada 1000 personas, mientras que en Suecia y Holanda la prevalencia de dermatitis alérgica en manos es de 2.7 casos por cada 1000 habitantes y de 12 casos por cada 1000 habitantes respectivamente [33].

2.10 HIPÓTESIS

La cuantificación de formaldehído en cremas preservadas con agentes liberadores de formaldehído es posible, mediante la formación de un complejo DDL (3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina), utilizando un sistema CLAR acoplado a un detector de UV-Vis y por espectrofotometría.

2.11 OBJETIVOS

2.11.1 Objetivo general

Desarrollar un método analítico para la cuantificación de formaldehído en cremas preservadas con agentes liberadores de formaldehído a través de la formación del complejo DDL (3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina) CLAR acoplado a un detector de UV-Vis y por espectrofotometría.

2.11.2 Objetivos específicos

1. Encontrar las condiciones óptimas para la formación del complejo DDL.
2. Establecer las condiciones óptimas de cuantificación por espectrofotometría.
3. Establecer las condiciones óptimas de separación cromatográfica por CLAR.
4. Realizar curva de calibración de formaldehído por CLAR y por espectrofotometría, para obtener límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), repetibilidad, reproducibilidad y linealidad del método.
5. Establecer las condiciones de pretratamiento óptimas para extracción de formaldehído en crema fortificada con formaldehído la cual indica en su etiqueta que no contiene agentes liberadores de formaldehído.
6. Establecer las condiciones óptimas para la cuantificación de formaldehído en cremas que contienen agentes liberadores de formaldehído.
7. Cuantificar el contenido de formaldehído, utilizando el método analítico optimizado por CLAR en cremas comerciales que contienen agentes liberadores de formaldehído.

3 PARTE

EXPERIMENTAL

3.1 EQUIPO, MATERIAL, REACTIVOS

Equipos: Espectrofotómetro modelo DR5000 HACH, Reactor para DQO marca HACH, Baño Ultrasónico Branson 2510 Ultrasonic Cleaner, Balanza analítica Mettler Toledo, Manta de calentamiento con agitador Electrothermal, HPLC Ultimate 3000 Thermo Scientific, Software: Chromeleon Dionex version: 7.2.2.6686, software integración picos: Cobra Wizard, columna Ascentis C18 silica 5 μ m dimensiones 15 cm x 4.6 mm (Supelco Analytical).

Reactivos: Formaldehído al 37 % en agua (Fisher-Scientific), acetato de amonio 98 % (Sigma-Aldrich), acetilacetona [2,4-pentanodiona] 99 % (Sigma-Aldrich), ácido acético 99 % (Sigma-Aldrich), hidróxido de amonio 28-30 % (Fermont), ácido clorhídrico 37.5 % (Fermont), sulfito de sodio 98 % (Técnica Química S.A), carbonato de sodio 98 % (EM. Science), anaranjado de metilo (Sigma-Aldrich) 85 %, timolftaleína (Sigma-Aldrich) 95 %, acetonitrilo grado HPLC 99.97 % (Fermont), metanol grado HPLC (Fermont), THF grado HPLC (Spectrum) 99.9 %, agua destilada.

Material: Micropipetas Eppendorf de volumen variable de 10-100 μ L y de 100-1000 μ L, pipetas volumétricas 2, 5 mL, matraces volumétricos de 10, 50, 500 mL, bureta graduada 25 mL, kit de destilación, material de uso común de laboratorio.

3.2 METODOLOGÍA

Primeramente se realizó la valoración de HCl siguiendo el procedimiento descrito en la NMX-AA-036-SCFI-2001 [35], para posteriormente ser utilizado en la valoración de la disolución de formaldehído la cual se realizó conforme al método descrito en la NOM-201-SSA1-2015 [34].

3.2.1 Valoración del ácido clorhídrico

Pesar aproximadamente y con precisión 0.0265 g del patrón primario de carbonato de sodio, secado a 105°C, añadir unos 25 mL de agua y unas gotas de la disolución de naranja de metilo, valorar con el ácido hasta el vire del indicador (de canela a amarillo). Calcular la normalidad del ácido con la ecuación 2 :

$$N = \frac{\text{g de Na}_2\text{CO}_3}{\text{mL de HCl gastados} * 53} * 1000 \quad \text{Ecuación 2}$$

3.2.2 Disolución stock de formaldehído aproximadamente de 4 mg mL⁻¹

Medir 5 mL de formaldehído al 37 % en un matraz volumétrico de 500 mL y aforar con agua. Calentar la disolución aproximadamente a 30 °C para disolver completamente la formalina y enfriar a temperatura ambiente.

3.2.3 Valoración de la disolución de formaldehído

Pesar 4 g de sulfito de sodio y agregar 20 mL de agua en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 3 gotas de indicador de timolftaleína. La disolución debe ser un color azul pálido. Añadir HCl 0.1 N gota a gota hasta que la disolución se vuelve incolora (usualmente se requieren 6 gotas). Adicionar exactamente 25 mL de disolución stock de formaldehído a la disolución acidificada de sulfito de sodio. Titular con HCl 0.1 N hasta la desaparición de la coloración que persista 3 minutos. Efectuar y calcular el valor promedio. Calcular la concentración exacta de formaldehído aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{mg CH}_2\text{O} / \text{mL} = \frac{\text{mL gastados de HCl } 0.1\text{N} * N \text{ HCl} * 30.03}{25 \text{ mL}} \quad \text{Ecuación 1}$$

3.2.4 Disolución estándar de formaldehído 100 mg L⁻¹

Se toma un volumen adecuado de acuerdo con la concentración obtenida en la valoración del formaldehído, para obtener una concentración de 100 mg L⁻¹ en un volumen de 50 mL.

3.2.5 Disolución buffer acetato de amonio pH 6

Se pesan 100 g de acetato de amonio, se disuelven en 300 mL de agua destilada, se les agrega 4.1 mL de ácido acético glacial, se ajusta el pH a 6 con solución hidróxido de amonio 10 M o de ácido acético 5 M. Aforar a 500 mL con agua destilada.

3.2.6 Disolución 2,4-pentanodiona 0.2 M

Se mide un volumen de 1 mL de 2,4-pentanodiona se vierten en 20 mL de agua destilada, se agita hasta homogenizar completamente, aforar a 50 mL con agua destilada.

3.2.7 Disolución NASH para el análisis por cromatografía

Se pesan 7.5 g de acetato de amonio, se disuelven en 20 mL de agua destilada, se le agregan 150 μ L de ácido acético y 100 μ L de 2,4-pentanodiona, se llevan a un volumen final de 50 mL con agua destilada.

3.2.8 Disolución de THF para el análisis por cromatografía

Se toman 9 mL de THF y se agrega 1 mL de agua destilada.

3.2.9 Destilación por arrastre con vapor

Es una técnica en la cual un compuesto de volatilidad baja se puede purificar por codestilación con agua. La destilación ocurre porque ambos componentes del líquido contribuyen a la presión de vapor, por lo que el proceso se realiza a temperaturas menores a los 100 °C a 760 mm de Hg. La destilación se realiza simplemente haciendo pasar una corriente de vapor a través de un contenedor que contienen la mezcla y se colecta el destilado en un condensador enfriado con agua, observar tabla 7 para ver la solubilidad de distintos compuestos. Otra alternativa, es calentar el matraz manteniendo un volumen constante de agua [36]. Ver figura 7.

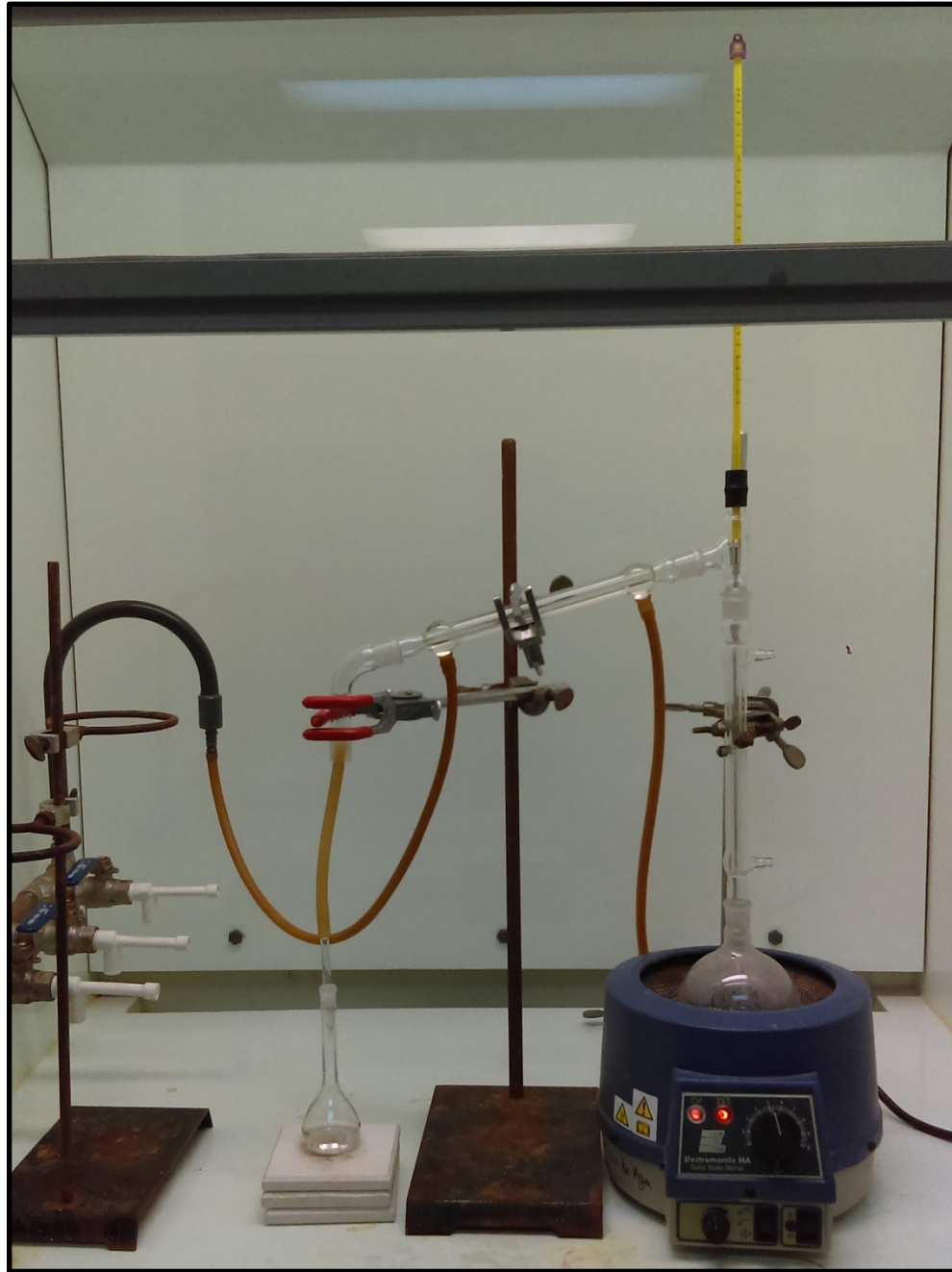


Figura 7. Destilación por arrastre con vapor
Laboratorio de Análisis de Agua de la FCQI, UABC

Tabla 7 Solubilidad y arrastre por vapor

Solubilidad	Tipos de Compuestos	Volatilidad	Volatilidad con Vapor
Soluble en agua y éter (SA, SB, S1)	Alcoholes, aldehídos, cetonas, Ácidos, ésteres, aminas, Nitrilos y cloruros ácidos de bajo peso molecular.	Destilación fácil. Muchos compuestos hierven por debajo de 100 °C.	Volátiles con vapor.
Soluble en agua, pero Insoluble en éter (S2)	Polihidroalcoholes, diaminas, carbohidratos, sales de amina, sales metálicas, ácidos polibásicos; hidroalaldehídos, cetonas y ácidos; aminoácidos.	Baja volatilidad. Con Ciertas excepciones, estos compuestos no pueden destilarse a presión atmosférica.	No volátiles con vapor.
Insoluble en agua, pero Soluble en NaOH y NaHCO ₃ (A1)	Ácidos de alto peso molecular; fenoles con sustituyentes negativos.	Baja volatilidad	Por lo general no volátiles, con algunas excepciones.
Insoluble en agua y NaHCO ₃ , pero soluble en NaOH (A2)	Fenoles, sulfonamidas de aminas Primarias, compuestos nitrados Primarios y secundarios; imidas, tiofenoles.	Puntos de ebullición altos; muchos no pueden destilarse.	Por lo general no volátiles.
Insoluble en agua, pero soluble en HCl diluido (B)	Aminas con un solo grupo Arilo unido al nitrógeno; Hidracinas.	Puntos de ebullición altos.	Muchos son volátiles con vapor.
Insoluble en agua, NaOH diluido y HCl, pero contiene elementos que no son carbono, hidrógeno, oxígeno, ni halógenos (MN)	Compuestos nitrados (ter), Amidas, aminas con Sustituyentes negativos; Sulfonamidas de aminas Secundarias; compuestos azo y azoxi; cianuros de alquilo, o arilo, nitritos, nitratos, sulfatos, fosfatos.	Puntos de ebullición altos; muchos no pueden destilarse.	Algunos son volátiles con vapor.
Insoluble en agua, NaOH diluido y HCl, pero soluble en H ₂ SO ₄ (N)	Alcoholes, aldehídos, cetonas, Ésteres, compuestos Insaturados.	Puntos de ebullición altos.	Por lo general volátiles con vapor.
Insoluble en agua, NaOH diluido, HCl diluido, y H ₂ SO ₄ (I)	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos y sus derivados halogenados.	Volátiles.	Volátiles con vapor.

3.2.10 Formación del complejo DDL para CLAR

Se agrega 1 mL de reactivo Nash a un volumen de 5 mL de muestra, se llevan a un volumen final de 10 mL con agua destilada, se colocan en tubos de ensayo de tamaño adecuado, y se colocan en el digestor por 12 minutos a 100 °C. Pasado el tiempo de calentamiento se dejan enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente colocar las muestras y/o curva en el equipo de CLAR.

3.2.11 Preparación de las muestras para CLAR

Se pesan entre 0.090 y 0.120 g (aproximadamente) de cada muestra, se disuelven con 2 mL de reactivo de THF, se vierten en matraz volumétrico de 10 mL se adiciona 1 mL de reactivo Nash y se lleva a línea final de aforo con agua destilada. Se les desarrolla color de acuerdo al punto anterior.

3.2.12 Formación del complejo DDL para espectrofotometría

Se agrega 4 mL de buffer de acetato de amonio, 1 mL de 2,4-pentanodiona 0.1 M y un volumen de muestra adecuado, en caso de las curvas el volumen de estándar dependerá de la concentración que se quiera utilizar, se llevan a un volumen final de 10 mL con agua destilada, se colocan en tubos de ensayo de 10 mL con tapón de rosca, se agitan hasta mezclarlos correctamente y se colocan en el digestor por 7.5 minutos a 100 °C. Pasado el tiempo de reacción se dejan enfriar a temperatura ambiente para posteriormente medir la su absorbancia a 396 nm en espectrofotómetro con detector de UV-Vis.

3.2.13 Preparación de las muestras para espectrofotometría

Se pesan alrededor de 2 gramos de muestra, se disuelven con 150 mL de agua destilada, ya que se disolvió completamente se pone a destilar, se coloca a una temperatura de 96 °C, se colectan 50 mL de destilado, a partir de este se desarrolla el color de acuerdo al punto anterior.

3.2.14 Optimización de temperatura de reacción

Se realiza un diseño factorial 2^2 , en el que se proponen tres variables (volumen de buffer de acetato de amonio a pH 6, volumen de 2,4-pentanodiona y el tiempo de digestión) con el fin de determinar cuál de ellas es la más influyente en la formación del complejo DDL. Se realizan dos experimentos con diferentes

temperaturas, el primero a 100 °C (ver tabla 8) y el segundo a 150 °C (ver tabla 8). Para estos experimentos se utilizó el reactivo de la 2,4-pentanodiona.

Tabla 8. Diseño factorial 2² realizado a 100 °C

Volumen mL				Tiempo (min)
Buffer acetato de amonio	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final	
4	0	2	10	60
0	4	2	10	60
0	4	2	10	10
0	0	2	10	60
2	2	2	10	35
4	0	2	10	10
0	0	2	10	10
2	2	2	10	35
2	2	2	10	35
4	4	2	10	60
4	4	2	10	10

Para realizar el experimento se prepara un estándar de 100 mg L⁻¹ de formaldehído, del cual se toman 2 mL y se aforan a 10 mL, quedando una concentración final de 20 mg L⁻¹ de formaldehído. Se aplica el método de la 2,4-pentanodiona para formar el complejo DDL el cual es de un color amarillo.

Tabla 9. Experimento por diseño factorial 2² a 150 °C

Volumen mL				Tiempo (min)
Buffer acetato de amonio	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final	
4	0	2	10	60
0	4	2	10	60
0	4	2	10	10
0	0	2	10	60
2	2	2	10	35
4	0	2	10	10
0	0	2	10	10
2	2	2	10	35
2	2	2	10	35
4	4	2	10	60
4	4	2	10	10

3.2.15 Optimización del tiempo de reacción

Se propone un diseño de experimento 2^3 , con tiempos de reacción menores para la formación del complejo. Para realizar el experimento se utiliza un estándar de formaldehído de concentración de 21.2 mg L^{-1} a una temperatura de $100 \text{ }^\circ\text{C}$. En la Tabla 10 se observan las condiciones del experimento.

Tabla 10. Diseño de experimento 2^3

Tiempo (min)	Volumen mL			
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.2 mol L^{-1}	Estándar Formaldehído 21.2 mg L^{-1}	Volumen final
0	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
0	8	0	2	10
0	4	4	2	10
0	0	8	2	10
15	0	8	2	10
15	8	0	2	10
7.5	4	4	2	10
7.5	4	4	2	10
15	4	4	2	10
15	0	0	2	10

Se realiza un diseño factorial Mixed level 3×2^2 , este experimento se realiza para observar mejor los efectos que tienen las variables de tiempo de reacción, volumen de 2,4-pentanodiona y volumen de buffer de acetato de amonio. Se usa un estándar de formaldehído de concentración 21.2 mg L^{-1} . En la Tabla 11 se pueden observar las condiciones del experimento.

Tabla 11. Diseño factorial Mixed Level 3*22

Tiempo (min)	Volumen mL			
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 21.2 mg L ⁻¹	Volumen final
7.5	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
7.5	0	8	2	10
7.5	8	0	2	10
15	4	4	2	10
0	4	4	2	10
7.5	4	4	2	10
15	8	0	2	10
0	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
15	0	0	2	10
15	0	8	2	10
0	8	0	2	10
0	0	8	2	10
7.5	4	4	2	10

3.2.16 Optimización de concentración de la 2,4-pentanodiona

Se realiza un experimento para observar si la concentración de la 2,4-pentanodiona afecta al momento de formar el complejo DDL, y conocer el volumen óptimo a utilizar. Se utilizan concentraciones de 0.1 y 0.4 mol L⁻¹ de la 2,4-pentanodiona, se usan estas concentraciones para saber si aumenta o disminuye la formación de complejo DDL con alguna de ellas, en la tabla 12 se observan las condiciones del experimento con 2,4-pentanodiona 0.4 mol L⁻¹. Se usa un estándar de formaldehído de 20 mg L⁻¹, a una temperatura de 100 °C.

Tabla 12. Experimento realizado con 2,4-pentanediona 0.4 mol L⁻¹

Tiempo (min)	Volumen mL			
	Buffer	2,4-pentanediona 0.4 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final
7.5	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
7.5	0	8	2	10
7.5	8	0	2	10
15	4	4	2	10
0	4	4	2	10
7.5	4	4	2	10
15	8	0	2	10
0	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
15	0	0	2	10
15	0	8	2	10
0	8	0	2	10
0	0	8	2	10
7.5	4	4	2	10

En la tabla 13 se presentan las condiciones del experimento con 2,4-pentanediona 0.1 mol L⁻¹. la concentración del estándar y la temperatura del experimento son las mismas que el anterior.

Tabla 13. Experimento realizado con 2,4-pentanediona 0.1 mol L⁻¹

Tiempo (min)	Volumen mL			
	Buffer	2,4-pentanediona 0.1 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final
7.5	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
7.5	0	8	2	10
7.5	8	0	2	10
15	4	4	2	10
0	4	4	2	10
7.5	4	4	2	10
15	8	0	2	10
0	0	0	2	10
7.5	4	4	2	10
15	0	0	2	10
15	0	8	2	10
0	8	0	2	10
0	0	8	2	10
7.5	4	4	2	10

Se realiza un nuevo experimento, con diferentes volúmenes de 2,4-pentanediona aforados a 50 mL. La concentración del estándar de formaldehído es de 20 mg L⁻¹, a una temperatura de 100 °C por 7.5 minutos. Tomando 1 mL de la disolución de 2,4-pentanediona de diferente concentración.

Tabla 14. Experimento con diferentes concentraciones de 2,4-pentanediona

Concentración 2,4-pentanediona (mol L ⁻¹)	Volumen mL			
	Buffer	2,4-pentanediona	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final
0.01	7	1	2	10
0.02	7	1	2	10
0.04	7	1	2	10
0.06	7	1	2	10

Se realiza experimento con diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona de concentración 0.01 M. Se usa un estándar de formaldehído de 20 mg L⁻¹, y se digestan por 7.5 minutos a una temperatura de 100 °C.

Tabla 15. Experimento con diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L⁻¹

Volumen mL			
Buffer	2,4-pentanodiona 0.01 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final
7	100	2	10
7	200	2	10
7	300	2	10
7	400	2	10
7	500	2	10
7	600	2	10
7	700	2	10
7	800	2	10
7	900	2	10
7	1000	2	10

3.2.17 Análisis de muestras

Se analizan diferentes tipos de cremas, por medio de espectrofotometría y por CLAR acoplado a UV-Vis.

3.2.17.1 Análisis de muestras por espectrofotometría

Para analizar las muestras por este método primero se realizó una destilación por arrastre con vapor. Se pesaron 2 g de crema, se disuelven en 150 mL de agua destilada. Se colocan en matraz balón de 500 mL y se inicia con la destilación a una temperatura de 96 °C, hasta recolectar un destilado de 50 mL. Para desarrollar el color, se analizan diferentes volúmenes de 2.5, 3, 3.5, 4 y 5 mL del destilado obtenido, se colocan en matraz volumétrico de 10 mL, se les agrega 2.5 mL de buffer acetato de amonio (pH 6), 1 mL de 2,4-pentanodiona 0.2 mol L⁻¹ y se llevan a línea final de aforo con agua destilada, se agitan y se vierten en tubos con tapón de rosca de 10 mL, posteriormente se colocan en el digestor a 100 °C

durante 7.5 minutos. Se dejan enfriar a temperatura ambiente y se mide la absorbancia a 396 nm.

3.2.17.2 Análisis de muestras por CLAR

Se pesan 0.090 y 0.120 g de muestra de crema, se disuelven con 2 mL de reactivo de THF, se vierten las muestras en matraz volumétrico de 10 mL, se les añade 1 mL de reactivo NASH y se aforan con agua destilada, se agitan hasta mezclar completamente y se vierten en tubos de 10 mL con tapón de rosca, posteriormente se colocan en el digestor por 12 minutos a 100 °C. Se dejan enfriar a temperatura ambiente y se preparan las muestras para analizarlas en el equipo CLAR. Las condiciones del equipo son las siguientes: agua:acetonitrilo (75:25), durante 3 minutos con un flujo de 2 mL/minuto, temperatura ambiente, a 412 nm, columna C18 silica 5 µm dimensiones 15 cm x 4.6 mm. Todas las muestras deben de filtrarse utilizando acrodiscos de 45 micras antes de colocarlos en viales de 2.5 mL.

4 DISCUSIÓN Y RESULTADOS

4.1 Temperatura de reacción

Resultados obtenidos del experimento a 100 °C, donde se miden las absorbancias obtenidas con las diferentes condiciones del experimento. En las muestras donde no se agrega la 2,4-pentanodiona 0.2 mol L⁻¹ o el buffer de acetato de amonio, no hay formación del complejo DDL, los cuales son necesarios para que ocurra la reacción.

Tabla 16. Diseño factorial 2² a 100°C

Volumen mL				Tiempo (min)	Absorbancia 396 nm
Buffer acetato de amonio	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final		
4	0	2	10	60	0.000
0	4	2	10	60	0.001
0	4	2	10	10	0.001
0	0	2	10	60	0.000
2	2	2	10	35	0.920
4	0	2	10	10	0.000
0	0	2	10	10	0.000
2	2	2	10	35	0.764
2	2	2	10	35	0.597
4	4	2	10	60	0.278
4	4	2	10	10	1.434

De acuerdo al gráfico de efectos (ver figura 8) se observa que, entre menor tiempo de reacción y mayor volumen de buffer de acetato de amonio a pH 6 y de 2,4-pentanodiona, más grande es la absorbancia obtenida.

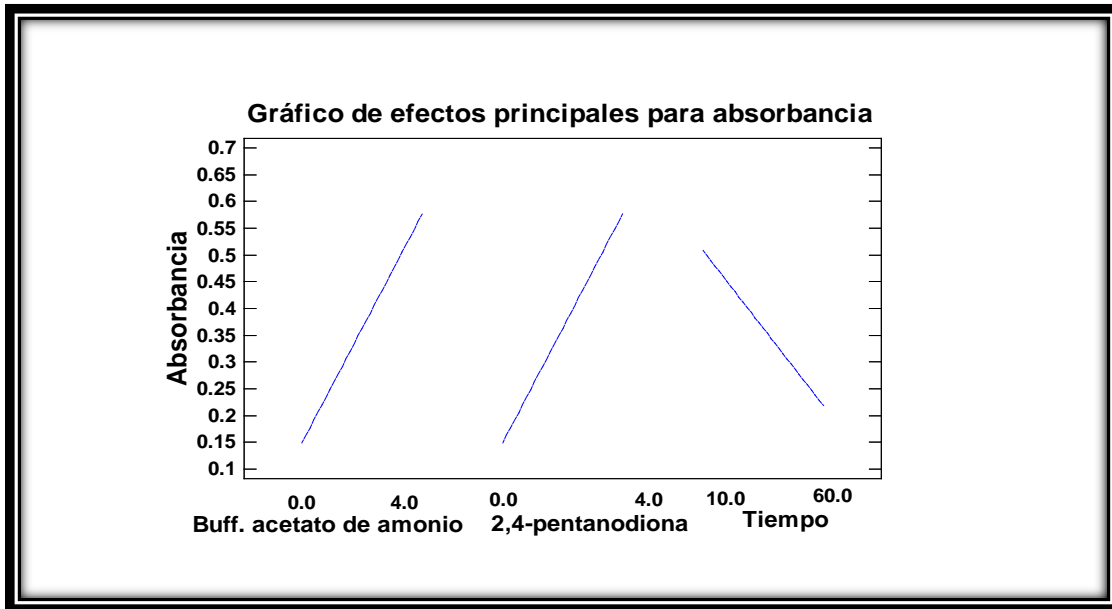


Figura 8. Gráfico de efectos principales experimento a 100 °C

En la tabla 17 se observa que el valor de 4 mL para el buffer de acetato de amonio a pH 6 y de 4 mL para la 2,4-pentanodiona y 10 minutos de tiempo de reacción son los óptimos para obtener una mejor absorbancia.

Tabla 17. Valores óptimos del diseño de experimento 2² a 100 °C

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Buffer acetato de amonio	0	4	4
2,4-pentanodiona	0	4	4
Tiempo	10	60	10

Resultados obtenidos para el experimento a 150 °C. Se puede observar que al aumentar la temperatura la absorbancia baja en comparación con los resultados del experimento realizado a 100 °C, aunque se sigue observando que a menor tiempo de reacción es mayor la absorbancia obtenida. Ver tabla 18.

Tabla 18. Diseño factorial 2² a 150°C

Volumen mL				Tiempo (min)	Absorbancia 396 nm
Buffer acetato de amonio	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final		
4	0	2	10	60	0.009
0	4	2	10	60	0.027
0	4	2	10	10	0.000
0	0	2	10	60	0.000
2	2	2	10	35	0.197
4	0	2	10	10	0.001
0	0	2	10	10	0.000
2	2	2	10	35	0.169
2	2	2	10	35	0.173
4	4	2	10	60	0.112
4	4	2	10	10	0.337

De acuerdo al gráfico de efectos (Figura 9), los resultados son similares a los obtenidos en el experimento a 100 °C, en menor tiempo de reacción y mayor volumen de reactivos, más absorbancia en el complejo.

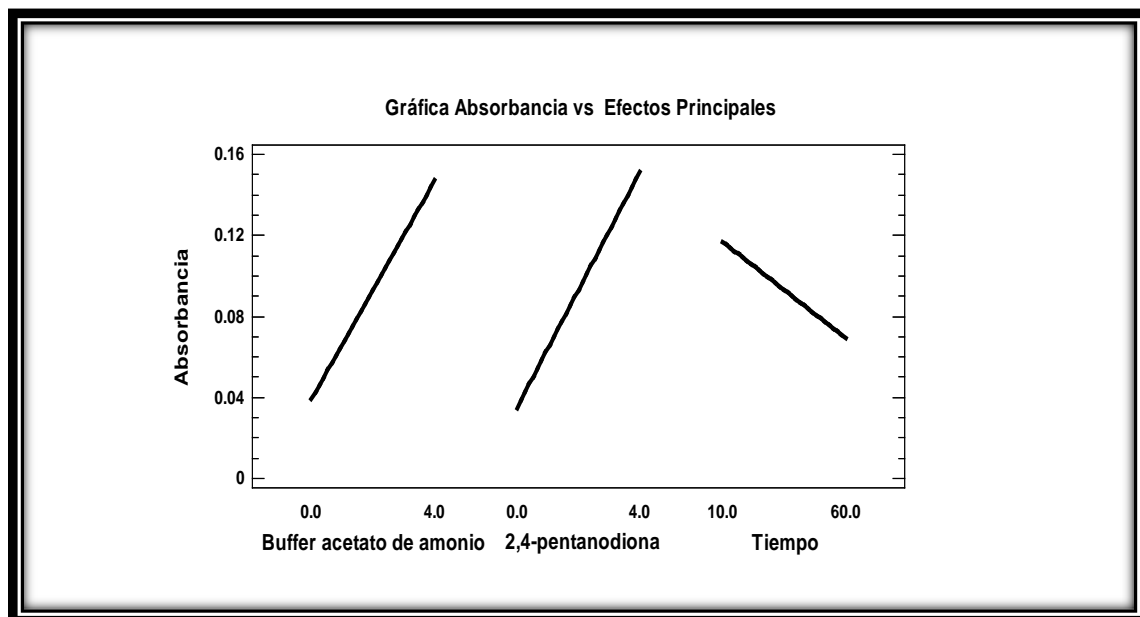


Figura 9. Gráfico de efectos principales a 150 °C

Se obtienen unos valores óptimos iguales al experimento anterior, ya que como se observa en el gráfico, a un tiempo de reacción de 10 minutos la absorbancia es mayor que a 60 minutos, también se tiene que con volúmenes mayores de buffer y de 2,4-pentanodiona la absorbancia medida es más grande. En la tabla 19 se presentan los valores óptimos para este experimento.

Tabla 19. Valores óptimos del diseño de experimento 2² a 150 °C

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Buffer acetato de amonio	0	4	4
2,4-pentanodiona	0	4	4
Tiempo	10	60	10

De acuerdo a los resultados obtenidos en los dos experimentos realizados, se puede decir que la temperatura si afecta en la formación del complejo DDL, los valores óptimos son iguales para ambos experimentos, pero las absorbancias obtenidas en el ensayo realizado a 100 °C son mayores a las que se obtuvieron en el ensayo a los 150 °C.

4.2 Tiempo de reacción

De acuerdo a los resultados obtenidos en el experimento anterior se realiza un nuevo diseño, cambiando el volumen de buffer y de 2,4-pentanodiona y bajando el tiempo de reacción. Ver tabla 20, en este experimento se obtienen absorbancias similares entre los diferentes tiempos de reacción que son 0, 7.5 y 15 minutos. En cuanto al volumen de reactivos no se observa diferencia significativa si se agregan 4 y 8 mL. El experimento se realiza con un estándar de formaldehído de 21.2 mg L⁻¹, a una temperatura de 100 °C.

Tabla 20. Diseño factorial 2³

Tiempo (min)	Volumen mL				Absorbancia 396 nm
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.2 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 21.2 mg L ⁻¹	Volumen final	
0	0	0	2	10	0.002
7.5	4	4	2	10	3.183
0	8	0	2	10	0.001
0	4	4	2	10	3.207
0	0	8	2	10	0.031
15	0	8	2	10	0.004
15	8	0	2	10	0.000
7.5	4	4	2	10	3.176
7.5	4	4	2	10	3.186
15	4	4	2	10	3.108
15	0	0	2	10	0.000

En los resultados obtenidos en este experimento se obtienen absorbancias similares entre los diferentes tiempos de reacción que son 0, 7.5 y 15 minutos. En cuanto al volumen de reactivos no se observa diferencia significativa si se agregan 4 y 8 mL, como se observa en la figura 14, el tiempo de reacción, y la interacción entre el tiempo, volumen de 2,4-pentanodiona y volumen de buffer no afecta en el desarrollo del complejo DDL. Mientras que el volumen de los reactivos y la interacción entre ellos aumentan la absorbancia, a mayor volumen de 2,4-pentanodiona y buffer más grande será la absorbancia.

En la tabla 21 se presenta el análisis de varianza del experimento realizado. Se puede observar que el valor-P de buffer, 2,4-pentanodiona y la interacción entre ellos es significativamente diferente por lo que los cambios en el volumen de cada uno de ellos afectan el desarrollo del complejo DDL.

Tabla 21. Tabla de análisis de varianza diseño factorial 2³

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Tiempo	0.0027	1	0.0027	3.4	0.1389
B: Buffer	22.2289	1	22.2289	28121.48	0.0000
C: 2,4-pentanodiona	22.3485	1	22.3485	28272.84	0.0000
AB	0.0002	1	0.0002	0.26	0.6384
AC	0.0008	1	0.0008	0.98	0.3779
BC	22.2324	1	22.2324	28125.93	0.0000
Error total	0.0032	4	0.0008		
Total (corr.)	27.3376	10			

En el diagrama de Pareto de la figura 10 se puede observar que los volúmenes adicionados de la 2,4-pentanodiona y de buffer de acetato de amonio a pH 6 tiene un efecto positivo en la absorbancia y que el tiempo de reacción disminuye el valor de absorbancia.

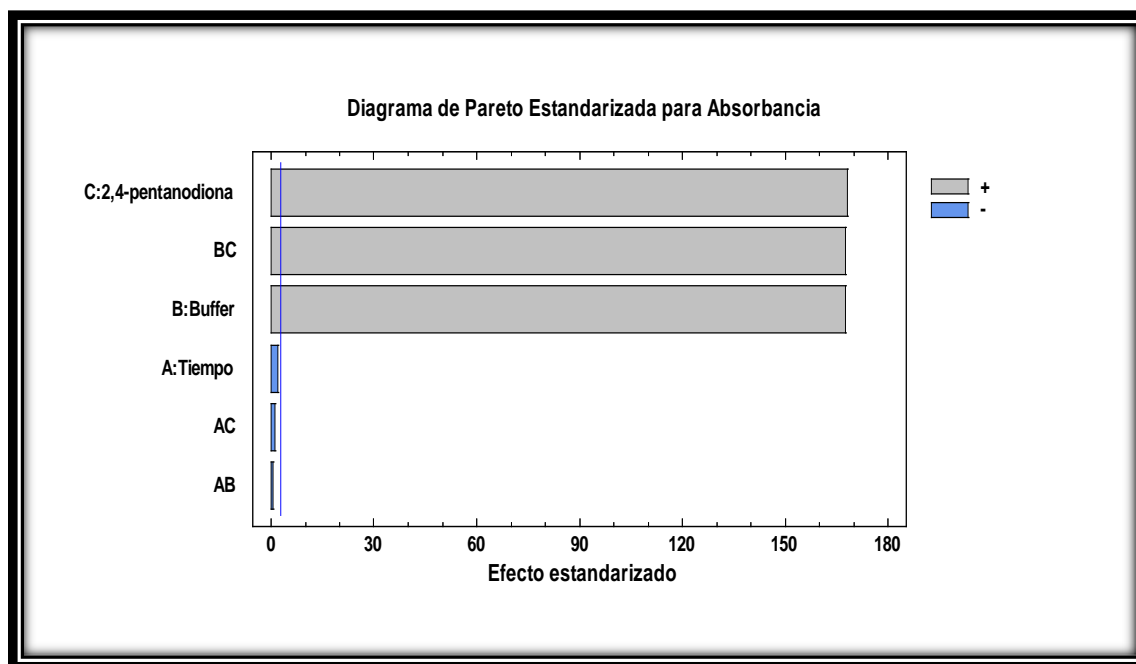


Figura 10. Diagrama de Pareto diseño factorial 2³

Con los datos obtenidos en el experimento anterior, se decidió hacer un diseño mixto factorial 3*2², para encontrar el mejor tiempo de reacción. Se dejan las mismas condiciones de tiempo y volumen de reactivos, este diseño aumenta el

número de experimentos a realizar, con lo que se pretende obtener mayor información acerca de la formación del complejo DDL debido a las interacciones entre reactivos y tiempo de reacción. En la tabla 22 se observan los resultados obtenidos en el experimento, los ensayos se realizan con un estándar de formaldehído de 21.2 mg L^{-1} a una temperatura de $100 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabla 22. Mixed level factorial 3×2^2

Tiempo (min)	Volumen mL				Absorbancia 396 nm
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.2 mol L^{-1}	Estándar Formaldehído 21.2 mg L^{-1}	Volumen final	
7.5	0	0	2	10	0.001
7.5	4	4	2	10	3.182
7.5	0	8	2	10	0.023
7.5	8	0	2	10	0.000
15	4	4	2	10	3.082
0	4	4	2	10	3.218
7.5	4	4	2	10	3.164
15	8	0	2	10	0.000
0	0	0	2	10	0.002
7.5	4	4	2	10	3.183
15	0	0	2	10	0.001
15	0	8	2	10	0.000
0	8	0	2	10	0.000
0	0	8	2	10	0.025
7.5	4	4	2	10	3.174

En los resultados vemos que no se observa alguna diferencia entre los tiempos de reacción ya sea 0, 7.5, 15 minutos, se obtienen mediciones de absorbancia parecidas. En la figura 15 se puede ver la gráfica de superficie de respuesta, en donde se mira que al aumentar el volumen de 2,4-pentanodiona y buffer se obtiene una mayor absorbancia.

En la tabla 23 se muestra el análisis de varianza del ensayo realizado, en donde se observa de nuevo que los valores de los reactivos 2,4-pentanodiona y buffer a pH 6, y la interacción entre ellos son estadísticamente significativos, por lo que un

aumento o disminución de estos afecta en el desarrollo del complejo DDL, haciendo que la cantidad medida de absorbancia sea mayor en caso de aumentar su volumen.

Tabla 23. Tabla de análisis de varianza diseño 3*2²

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Tiempo	0.0043	1	0.0043	5.24	0.0559
B: Buffer	27.1370	1	27.1370	32920.24	0.0000
C: 2,4-pentanodiona	27.2748	1	27.2748	33087.43	0.0000
AA	0.0005	1	0.0005	0.61	0.4598
AB	0.0004	1	0.0004	0.53	0.4887
AC	0.0012	1	0.0012	1.41	0.2746
BC	27.1485	1	27.1485	32934.16	0.0000
Total error	0.0058	7	0.0008		
Total (corr.)	35.9910	14			

En la figura 11 se muestra el grafico de superficie de respuesta y se observa que el factor más influyente es el volumen adicionado de 2,4-pentanodiona, a mayor volumen mayor absorbancia.

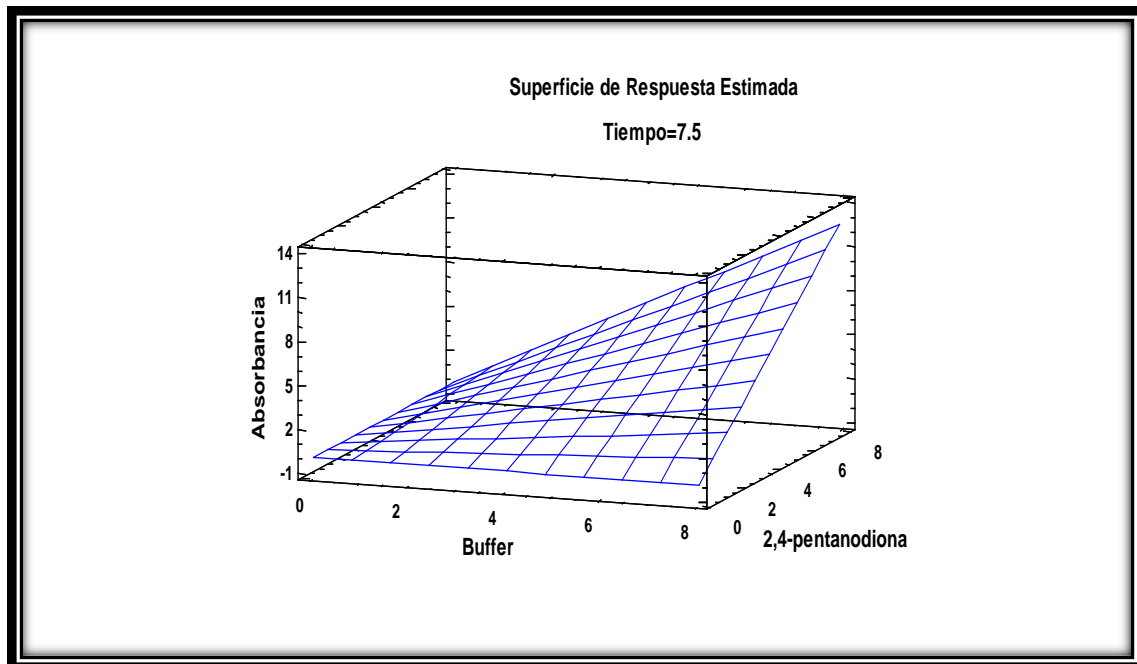


Figura 11. Gráfico de superficie de respuesta del diseño 3*2²

4.3 Concentración de la 2,4-pentanodiona

Al tener los valores óptimos para el tiempo de reacción (7.5 minutos) y del volumen de reactivos (4 mL), se realiza un diseño para observar si la concentración de la 2,4-pentanodiona afecta el desarrollo del complejo DDL. Se utilizan dos concentraciones diferentes de 2,4-pentanodiona (0.4 y 0.1 mol L^{-1}) se le agrega el volumen indicado de reactivos, 2 mL de estándar de formaldehído quedando una concentración final de 20 mg L^{-1} .

En la tabla 24 se presentan los resultados obtenidos, en los que se puede observar que el tiempo de reacción sigue dando una respuesta similar, sin importar el tiempo que dure la digestión las absorbancias medidas son muy cercanas entre ellas, aunque en este experimento se observa que el tiempo de 0 minutos de digestión da una absorbancia ligeramente mayor a los otros tiempos.

Tabla 24. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.4 mol L^{-1}

Tiempo (min)	Volumen mL				Absorbancia 396 nm
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.1 mol L^{-1}	Estándar Formaldehído 20 mg L^{-1}	Volumen final	
7.5	0	0	2	10	0.001
7.5	4	4	2	10	2.916
7.5	0	8	2	10	0.038
7.5	8	0	2	10	0.000
15	4	4	2	10	2.828
0	4	4	2	10	2.995
7.5	4	4	2	10	2.900
15	8	0	2	10	0.000
0	0	0	2	10	0.000
7.5	4	4	2	10	2.883
15	0	0	2	10	0.000
15	0	8	2	10	0.004
0	8	0	2	10	0.000
0	0	8	2	10	0.019
7.5	4	4	2	10	2.884

Esto puede ser debido a que tuvo un mayor tiempo de reacción (sin haberse puesto a temperatura de 100 °C) que los otros ensayos, dándole oportunidad de reaccionar mejor y formar el complejo DDL, mientras que los otros ensayos al ser digeridos a 100 °C alcanzan a formar una cantidad muy cercana de complejo DDL aún con menor tiempo de reacción. En la figura 12 se observan los efectos principales que los reactivos producen en la absorbancia. Al igual que en ensayos anteriores la cantidad de absorbancia medida aumenta al incrementar los volúmenes de 2,4-pentanodiona y buffer a pH 6.

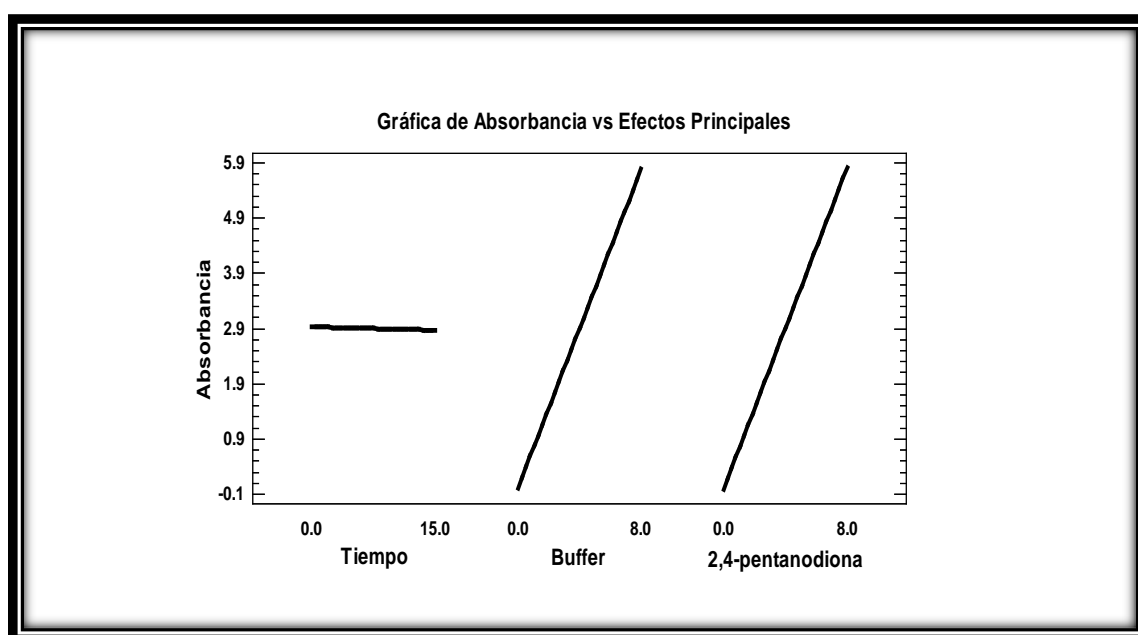


Figura 12. Gráfico de efectos principales 2,4-pentanodiona 0.4 mol L⁻¹

Se realiza un experimento con una concentración de 2,4-pentanodiona 0.1 mol L⁻¹, para ver si esta afecta en el desarrollo de color del complejo DDL. Se obtienen los resultados presentados en la tabla 25. La temperatura de reacción y la concentración de estándar de formaldehído son de 100 °C y 20 mg L⁻¹ respectivamente.

Tabla 25. Experimento realizado con 2,4-pentanodiona 0.1 mol L⁻¹

Tiempo (min)	Volumen mL				Absorbancia 396 nm
	Buffer	2,4-pentanodiona 0.1 mol L ⁻¹	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final	
7.5	0	0	2	10	0.003
7.5	4	4	2	10	3.157
7.5	0	8	2	10	0.028
7.5	8	0	2	10	0.002
15	4	4	2	10	3.132
0	4	4	2	10	3.187
7.5	4	4	2	10	3.151
15	8	0	2	10	0.003
0	0	0	2	10	0.000
7.5	4	4	2	10	3.152
15	0	0	2	10	0.001
15	0	8	2	10	0.017
0	8	0	2	10	0.002
0	0	8	2	10	0.004
7.5	4	4	2	10	3.166

En la figura 13, se observa el diagrama de Pareto obtenido cuando se utilizó la 2,4-pentanodiona 0.1 mol L⁻¹ se puede observar que los volúmenes adicionados de la 2,4-pentanodiona y de buffer de acetato de amonio a pH 6 tiene un efecto positivo en la absorbancia y que el tiempo de reacción disminuye el valor de absorbancia.

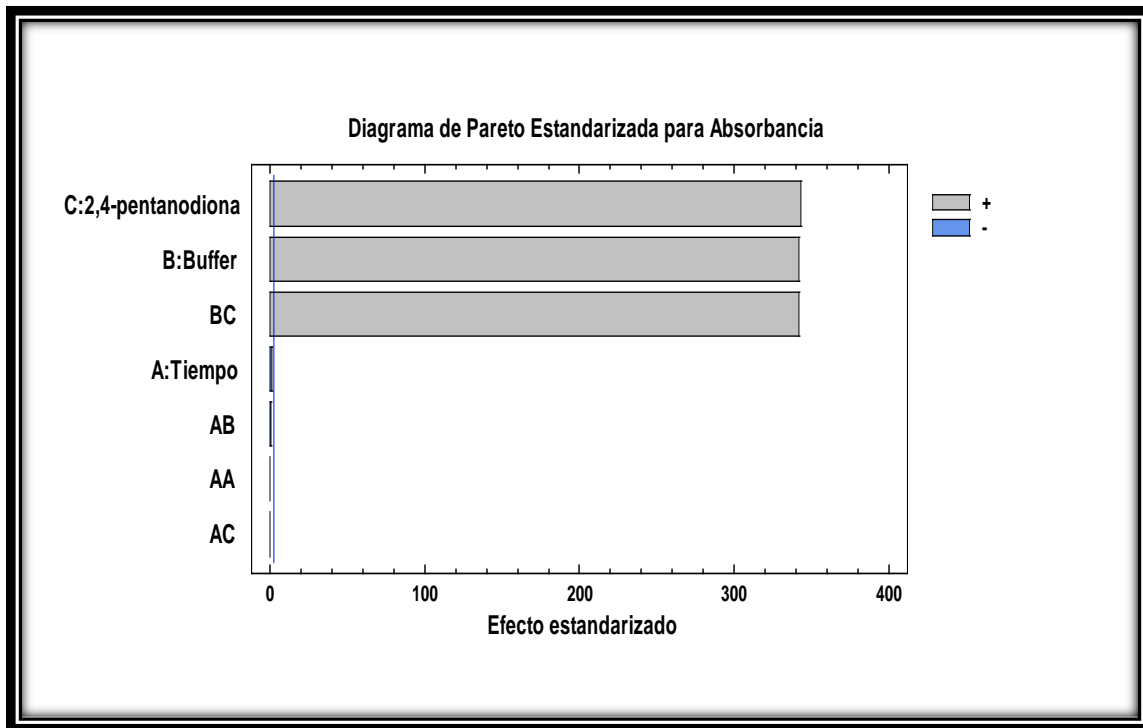


Figura 13. Diagrama de Pareto 2,4-pentanodiona 0.1 mol L⁻¹

Con lo observado en el experimento anterior, se realiza un ensayo con diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona de concentración 0.01 mol L⁻¹, para optimizar la concentración. Se usa un volumen de buffer es de 7 mL para llegar al aforo de 10 mL con los reactivos y el estándar de formaldehído, el tiempo de reacción es de 7.5 minutos, la concentración del estándar de formaldehído es de 20 mg L⁻¹ y la temperatura de reacción es de 100 °C (ver tabla 26).

Tabla 26. Diferentes concentraciones de 2,4-pentanodiona

Concentración 2,4-pentanodiona (mol L ⁻¹)	Volumen mL				Absorbancia 396 nm
	Buffer	2,4-pentanodiona	Estándar Formaldehído 20 mg L ⁻¹	Volumen final	
0.01	7	1	2	10	2.488
0.02	7	1	2	10	3.256
0.04	7	1	2	10	3.243
0.06	7	1	2	10	3.231

Como las absorbancia continuaba dando por encima de la unidad, se optó por preparar complejos de DDL con la 2,4-pentanodiona 0.01 mol L^{-1} a diferentes volúmenes con el fin de que se cumpla con la Ley de Lambert-Beer y poder cuantificar correctamente la concentración de formaldehído. En la tabla 27 se observa que usar entre 500 o 600 μL de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L^{-1} , es el volumen más adecuado para formar el complejo de DDL.

Tabla 27. Diferentes volúmenes de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L^{-1}

Volumen* mL				Absorbancia 396 nm
Buffer	μL de 2,4-pentanodiona 0.01 mol L^{-1}	Estándar*Formaldehído 20 mg L^{-1}	Volumen final*	
7	100	2	10	0.083
7	200	2	10	0.254
7	300	2	10	0.460
7	400	2	10	0.687
7	500	2	10	0.926
7	600	2	10	1.179
7	700	2	10	1.426
7	800	2	10	1.684
7	900	2	10	1.986
7	1000	2	10	2.258

4.4 Curva de calibración por espectrofotometría

Para realizar la curva de calibración se prepararon estándares con las siguientes concentraciones: 5, 6, 7, 8 y 10 mg L^{-1} , a partir de una disolución estándar de 20 mg L^{-1} de formaldehído, se realiza la formación del complejo DDL, y se mide su absorbancia a 396 nm en espectrofotómetro con detector de UV-Vis, se lleva a cero con un blanco de reactivos el cual contiene los reactivos de desarrollo de color excepto el estándar de formaldehído (ver figura14). Se obtiene la ecuación de regresión lineal mostrada en la Ecuación 4:

$$A^{396} = (0.0399 \pm 0.0018) * [\text{mg L}^{-1} \text{ de Formaldehído}] - (-0.0972 \pm 0.0133) \quad \text{Ecuación 4}$$

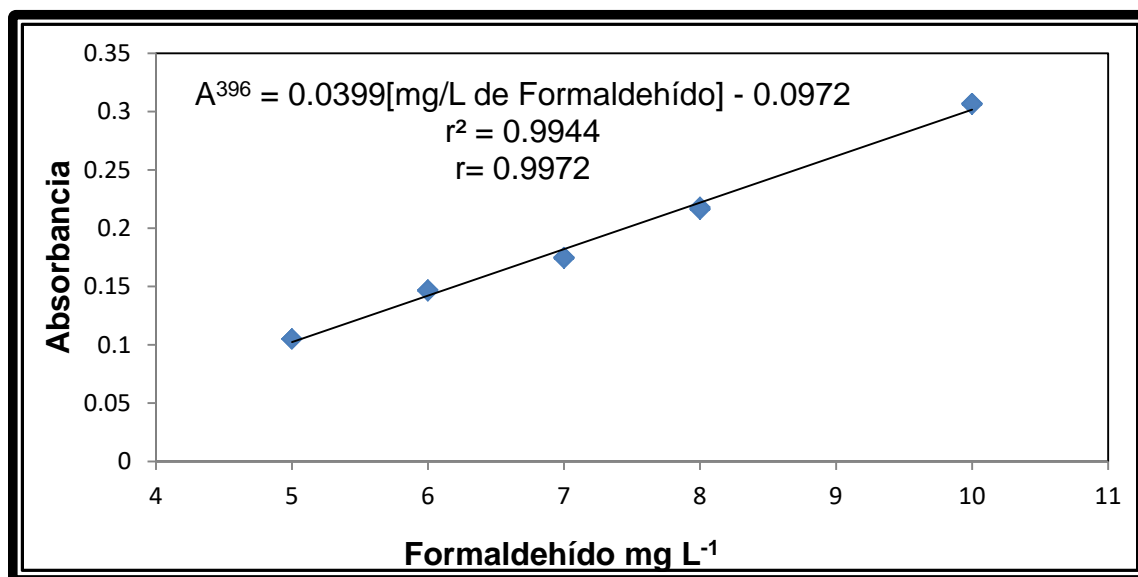


Figura 14. Curva de calibración de formaldehído por espectrofotometría

4.5 Curva de calibración por CLAR

Para aplicar el método de CLAR se realizan dos curvas de calibración externas la primera a intervalo bajo de 0.1 a 1 mg L⁻¹ y la segunda a intervalo alto de 1 a 10 mg L⁻¹.

Para la curva del intervalo bajo se prepararon estándares con las siguientes concentraciones de formaldehído: 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.70, 0.80, 0.90 y 1.00 mg L⁻¹, ver figura 15, para la curva de intervalo alto se prepararon los siguientes estándares de formaldehído: 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 y 10.0 mg L⁻¹, ver figura 16; ambas curvas se preparan a partir de una disolución estándar de 100 mg L⁻¹ de formaldehído, se forma el complejo DDL, posteriormente se preparan las cremas para analizarlas por CLAR. Las condiciones en el CLAR son las siguientes: la composición de la fase móvil es agua:acetonitrilo (75:25), con un flujo de 2 mL/minuto, temperatura ambiente y con detección a una longitud de onda máxima de 412 nm.

Se obtiene la siguiente ecuación de regresión lineal para la curva del intervalo bajo, descrita en la ecuación 5:

$$\text{Area} = (1.3204 \pm 0.028) * [\text{mg L}^{-1} \text{ Formaldehído}] - (0.0484 \pm 0.016) \quad \text{Ecuacion 5}$$

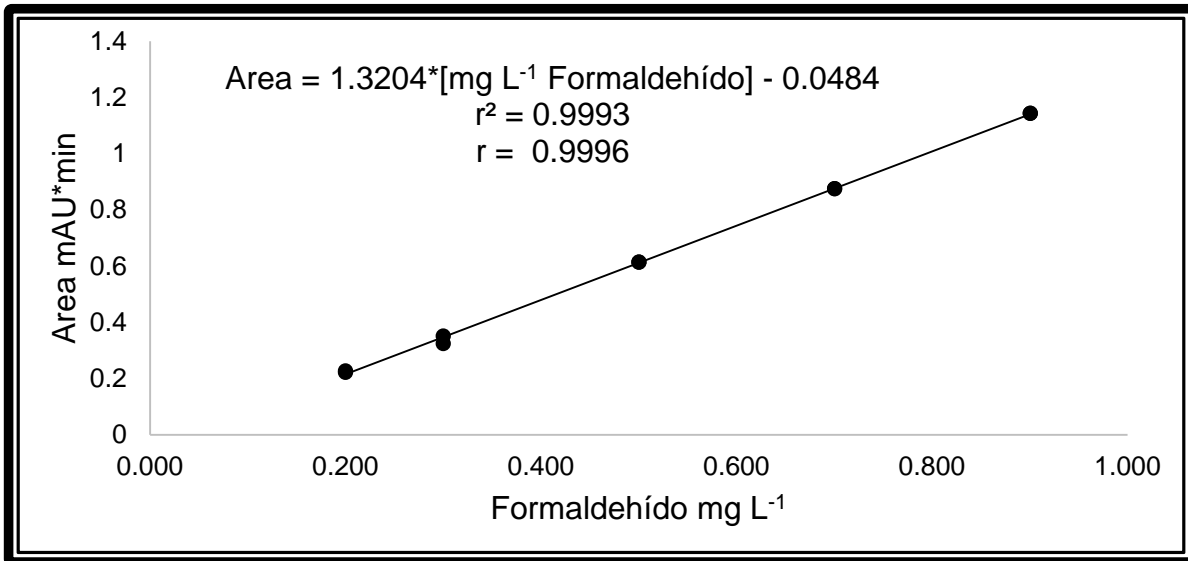


Figura 15. Curva de calibración formaldehído intervalo bajo por CLAR

Se obtiene la siguiente ecuación de regresión lineal para la curva del intervalo alto, descrita en la ecuación 6:

$$\text{Area} = (1.7903 \pm 0.0461) * [\text{mg L}^{-1} \text{Formaldehído}] - (0.6961 \pm 0.2797) \quad \text{Ecuacion 6}$$

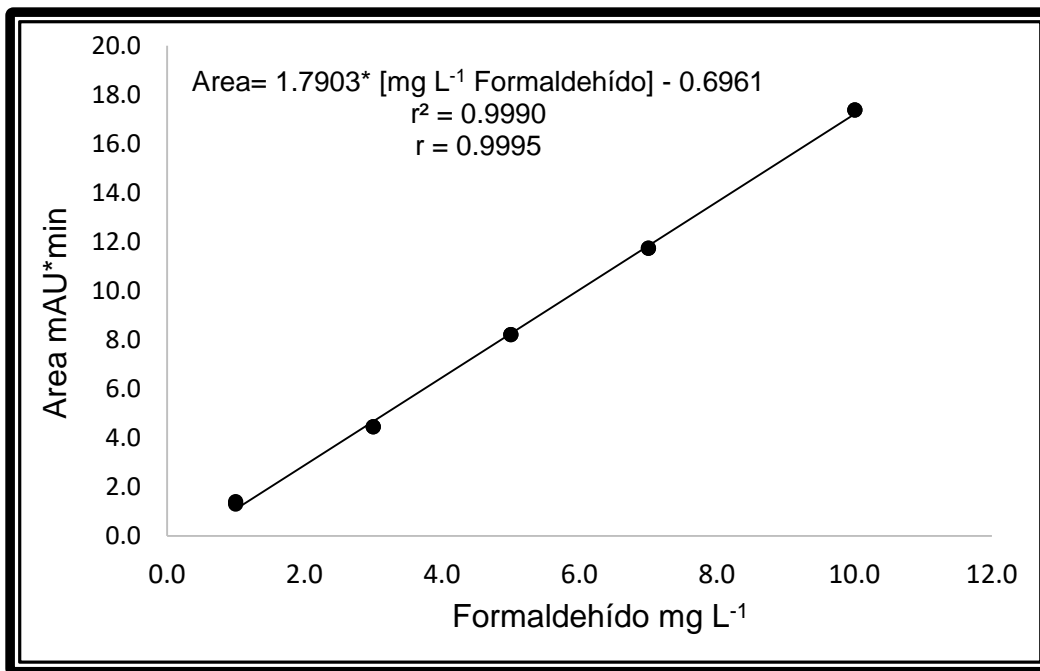


Figura 16. Curva de calibración de formaldehído intervalo alto por CLAR

Se obtienen los cromatogramas de ambas curvas de calibración, en la figura 17 se muestra el cromatograma del intervalo bajo con un tiempo de retención de 1.773 min para el complejo DDL, y en la figura 18 el intervalo alto mostrando el mismo tiempo de retención que para el intervalo bajo. Para ver individualmente cada cromatograma de la curva consultar los anexos.

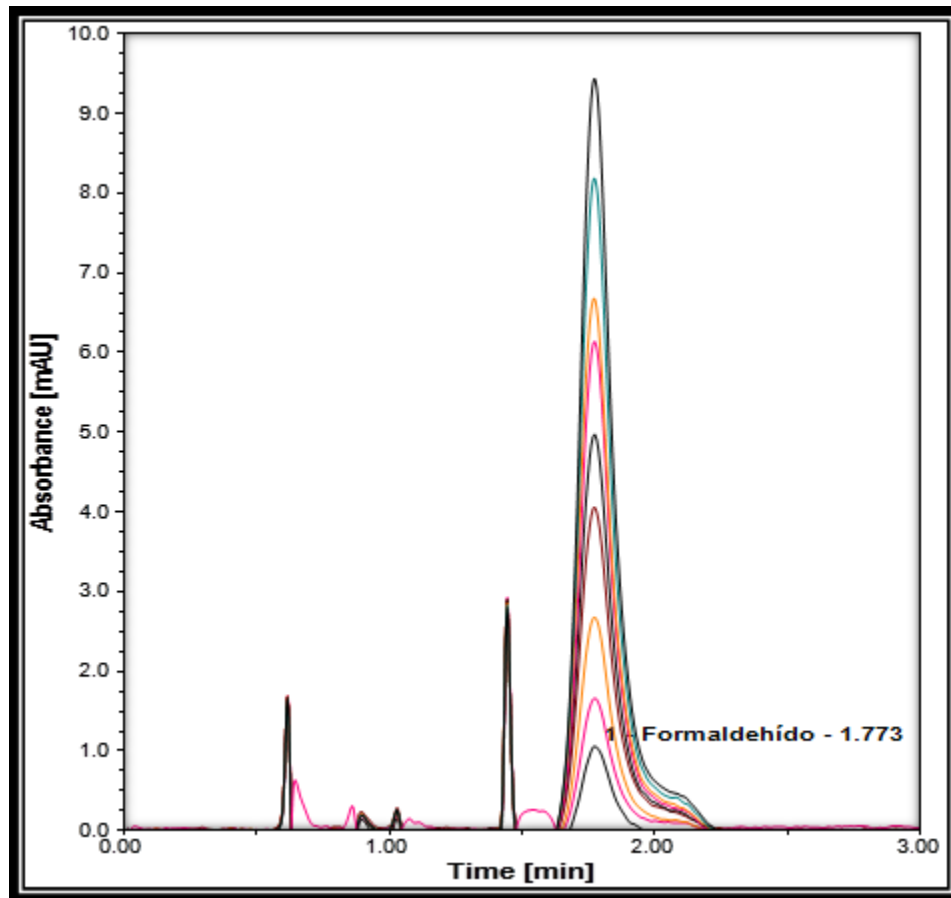


Figura 17. Cromatograma curva de calibración intervalo bajo por CLAR

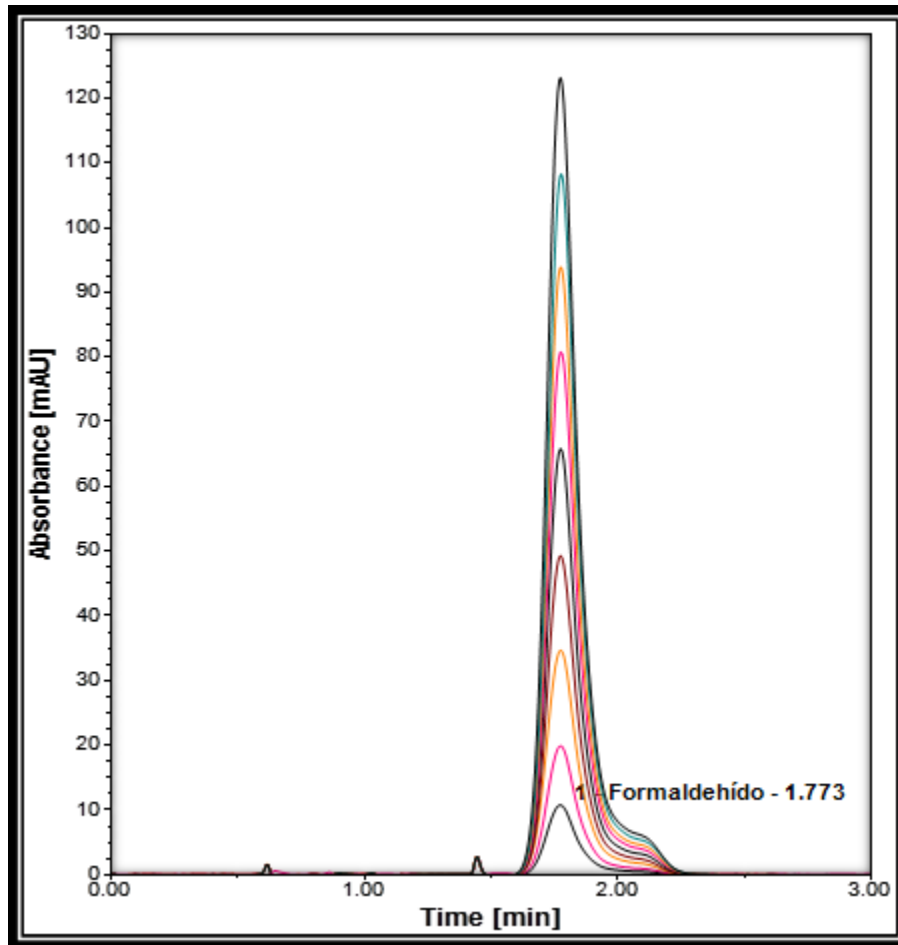


Figura 18. Cromatograma curva de calibración intervalo alto por CLAR

4.6 Crema Avon Care fortificada con formaldehído

Se usa esta muestra de crema con nombre comercial Avon Care para preparar las muestras fortificadas, es importante mencionar que en su etiqueta no indica contenido de formaldehído o agentes liberadores de formaldehído, se preparan 3 muestras fortificadas con distinta concentración de estándar para analizar por CLAR y 5 estándares para analizar por espectrofotometría. Los resultados y la preparación de las muestras por CLAR se pueden ver en la tabla 28.

Tabla 28. Recobro de muestra fortificada Avon Care analizada por CLAR

Muestra (g)	mg L ⁻¹ adicionados	mg L ⁻¹ recuperados	% Recuperación
0.151	1.00	1.1	106.8
0.150	1.50	1.5	103.2
0.152	6.01	6.4	107.0
Promedio			105.6
Desviación estándar			2.1
% CV			2.0

En la tabla 29 se observan la cantidad de formaldehído adicionado a la muestra Avon Care y recuperación de las muestras por método de espectrofotometría, se pesaron 2.004 g de crema Avon Care y se adiciono con formaldehído.

Tabla 29. Recobro de muestra fortificada Avon Care analizada por espectrofotometría

mg L ⁻¹ adicionados	mg L ⁻¹ recuperaados	% Recuperación
5	5.1	101.4
6	6.1	101.9
7	6.8	97.4
8	7.9	98.5
10	10.1	101.2
Promedio		100.1
Desviación estándar		2.0
% CV		2.0

4.7 Determinación de la linealidad del método

Para la determinación de la linealidad del método se debe de reportar la cantidad adicionada vs cantidad recuperada. Utilizando el método de estimación de mínimos cuadrados [39] se calcula el valor de la pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el coeficiente de determinación r^2 , el intervalo de confianza para la pendiente IC_{β_1} , el intervalo de confianza para la ordenada al origen IC_{β_0} y el coeficiente de variación de la regresión $CV_{y/x}$. Esto se realiza para ambos métodos y para las dos curvas en el caso del método de CLAR.

Criterios de aceptación:

➤ *Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:*

- $r^2 \geq 0.98$
- $IC_{\beta 1}$ debe de incluir la unidad
- $IC_{\beta 0}$ debe de incluir el cero

Tabla 30 Resultados linealidad por CLAR

Parámetros		Curva intervalo bajo	Curva intervalo alto
<i>Pendiente</i>	m	1.0000	1.0000
<i>Intercepto</i>	b	-1.11E-16	1.78E-15
<i>Coefficiente de Determinación</i>	r^2	0.9993	0.9990
<i>Coefficiente de Regresión</i>	r	0.9996	0.9995
<i>Coefficiente de variación de la regresión</i>	$CV_{y/x}$	1.4 %	2.1%
<i>Intervalo de Confianza Ordenada</i>	$IC_{(\beta 0)}$	[0.0122 – (-0.0122)]	[0.1562 – (-0.1562)]
<i>Intervalo de confianza Pendiente</i>	$IC_{(\beta 1)}$	1.0211 - 0.9789	1.0257 - 0.9743

En la Figura 19 se observa el grafico de linealidad del método para el intervalo bajo, y en la figura 20 para el intervalo alto..

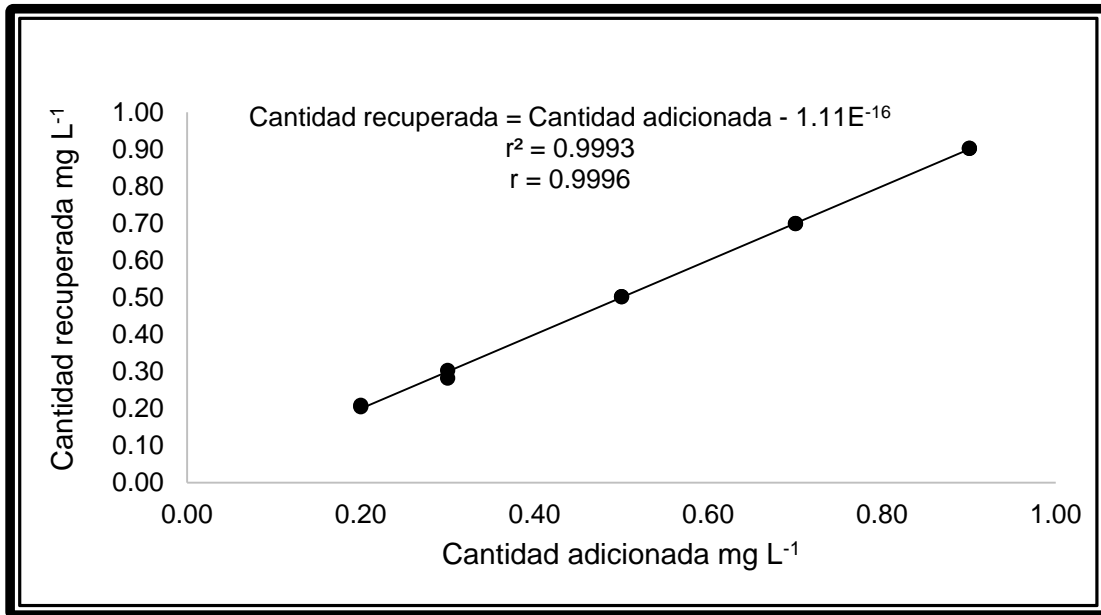


Figura 19. Linealidad del método por CLAR intervalo bajo

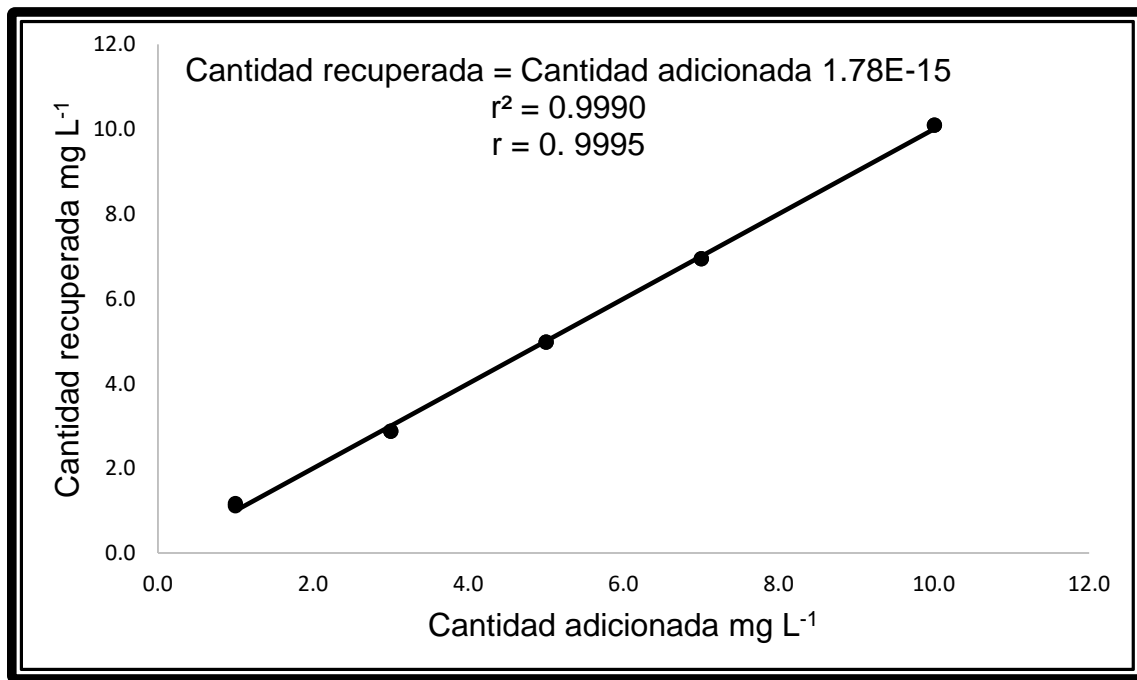


Figura 20. Linealidad del método por CLAR intervalo alto

En la tabla 31, se presentan los datos obtenidos para la linealidad del método por espectrofotometría.

Tabla 31. Resultados linealidad por espectrofotometría

	Fórmula	Espectrofotometría
<i>Pendiente</i>	m	0.0399
<i>Intercepto</i>	b	-0.0972
<i>Coeficiente de Determinación</i>	r ²	0.9944
<i>Coeficiente de Regresión</i>	r	0.9972
<i>Coeficiente de variación de la regresión</i>	CV _{y/x}	2.9%
<i>Intervalo de Confianza Ordenada</i>	IC _(β0)	[(-0.0839) - (-0.1105)]
<i>Intervalo de confianza Pendiente</i>	IC _(β1)	0.0381 - 0.0417

4.8 Límite de detección del método (LD) y límite de cuantificación (LC)

LD con base en la curva de calibración y desviación estándar de la regresión

$$LD = \frac{3.3 * S_{y/x}}{b_1} \quad \text{Ecuación 7}$$

LC con base en la curva de calibración y desviación estándar de la regresión

$$LC = \frac{10 * S_{y/x}}{b_1} \quad \text{Ecuación 8}$$

Los valores obtenidos para el LC y LD del método CLAR se resumen en la Tabla 32.

Tabla 32. Valores para LD y LC por método de CLAR

Límites	Curva intervalo bajo	Curva intervalo alto
LD	0.024 mg L ⁻¹	0.364 mg L ⁻¹
LC	0.074 mg L ⁻¹	1.103 mg L ⁻¹

En la tabla 33 se presentan los resultados para los valores de LD y LC del método de espectrofotometría.

Tabla 33. Valores para LD y LC por el método de espectrofotometría

Límites	Espectrofotometría
LD	0.5 mg/L
LC	1.4 mg/L

4.9 Determinación de exactitud y repetibilidad del método

Se debe preparar el placebo analítico equivalente a una muestra analítica por sextuplicado los cuales deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones y determinar la cantidad recuperada del analito. Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo analítico o muestra adicionada al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje [39]. La exactitud y repetibilidad del método de CLAR se muestra en la Tabla 34.

Tabla 34. Resultados exactitud y repetibilidad del método por CLAR

Cantidad adicionada mg L ⁻¹	Cantidad recuperada mg L ⁻¹	% Recuperación
1.50	1.50	99.9
1.50	1.51	100.3
1.50	1.50	100.1
1.50	1.56	104.0
1.50	1.50	99.9
1.50	1.45	96.6
1.50	1.51	100.6
Promedio		100.2
Desviación Estándar		2.2
% CV		2.2

En la tabla 35 se muestran los resultados de exactitud y repetibilidad del método por espectrofotometría.

Tabla 35. Resultados de exactitud y repetibilidad del método por espectrofotometría

Cantidad adicionada mg L ⁻¹	Cantidad recuperada mg L ⁻¹	% Recuperación
7	7.0	100.7
7	7.0	100.4
7	7.1	101.1
7	6.9	99.3
7	7.0	100.4
7	7.0	100.7
7	7.1	101.4
Promedio		100.6
Desviación estándar		0.7
% CV		0.7

4.10 Espectros de absorción

En la figura 21 se muestran los espectros de absorción para el formaldehído, el destilado de la muestra con nombre comercial Dermoprada y el complejo DDL formado con el destilado de la crema Dermoprada.

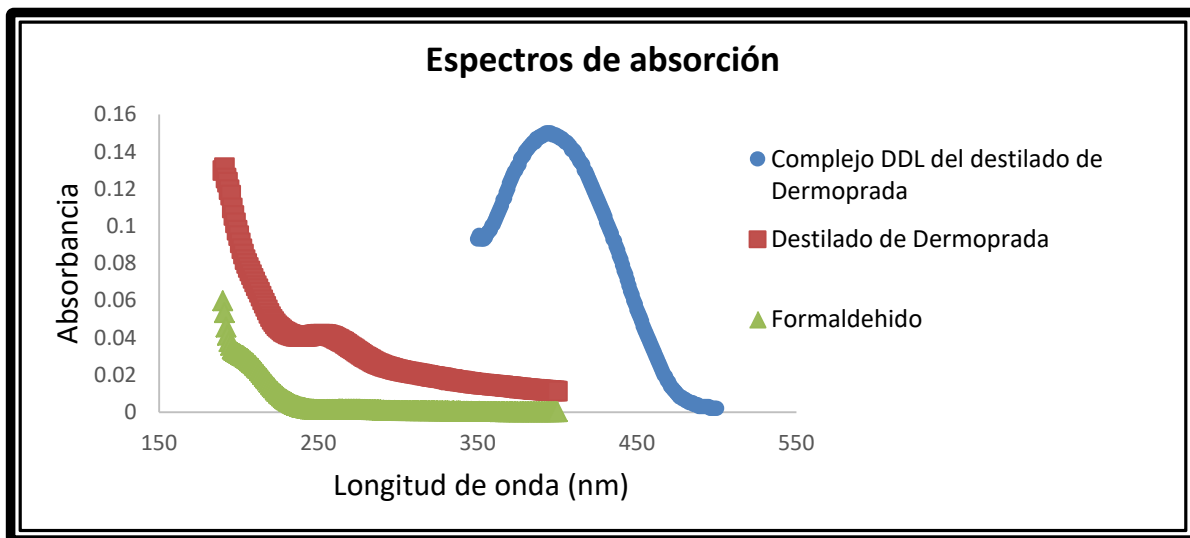


Figura 21. Espectros de absorción de formaldehído, destilado Dermoprada y complejo DDL del destilado de Dermoprada

4.11 Análisis de muestras

Se analizan tres muestras que contienen agentes liberadores de formaldehído. Muestra dermoprada (diazolinidil-urea), avon care con jalea real (imidazolinil-urea) y crema Nuvel (diazolinidil-urea).

Tabla 36 Resultados de muestras analizadas por CLAR

Muestra	Peso Muestra	g kg⁻¹
Dermoprada	0.092	0.353
	0.121	0.329
Nuvel	0.090	0.109
	0.121	0.109
Avon Care Jalea Real	0.091	0.307
	0.120	0.297

Los resultados para las muestras analizadas por espectrofotometría se presentan en la tabla 37, se colocaron 2.005 g de crema dermoprada y se aforaron a 150 mL, se destilaron 50 mL y se analizó el volumen de muestra indicado en la tabla por espectrofotometría a 396 nm.

Tabla 37. Resultados de muestras analizadas por espectrofotometría

mL muestra	g Kg⁻¹
2.5	0.977
3.0	0.964
3.5	0.901
4.0	0.939
5.0	0.927
Promedio	0.942
Desviación estándar	0.030
% CV	3.2

5 CONCLUSIONES

5.1 Conclusiones

Se desarrolló un método analítico para la cuantificación de formaldehído en cremas preservadas con agentes liberadores de formaldehído a través de la formación del complejo DDL (3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina) por CLAR acoplado a un detector de UV-Vis y por espectrofotometría, determinando sus parámetros de desempeño de cada método analítico.

Se determinaron dos formas de pretratamiento de las muestras para la cuantificación de formaldehído en cremas que contiene agentes liberadores de formaldehído. De acuerdo con los datos obtenidos se observa que la concentración de formaldehído va cambiando con el tiempo de un semestre a otro la cantidad cambio de 0.942 g kg^{-1} a 0.353 g kg^{-1} .

El método es confiable para cuantificar el formaldehído en cremas de acuerdo a los parámetros de desempeño determinados. Aunque no se ha encontrado mucha información acerca de su aplicación en otro tipo de cosméticos, o de su aplicación en matrices (suelos, agua, aire, etc.), esto representa un área de oportunidad para la utilización de esta metodología.

6 REFERENCIAS

6.1 REFERENCIAS

- [1] O. M. d. I. S. OMS, «Concise International Chemical Assessment Document 40, Formaldehyde,» 2002.
- [2] «Textos Científicos, Formaldehído:usos,» 20 Agosto 2005. [En línea]. Available: <https://www.textoscientificos.com/quimica/formaldehido/usos>. [Último acceso: 18 Febrero 2017].
- [3] F. Gasparini, P. L. Weinert, L. S. Lima, L. Pezza y H. R. Pezza, «A Simple and Green Analytical Method for the Determination of Formaldehyde,» *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 19, nº 8, pp. 1531-1537, 2008.
- [4] U. E. P. A. EPA, «Formaldehyde; Integrated Risk Information System (IRIS),» *National Center for Environmental Assessment*, pp. 1-16, 1989.
- [5] (. T. P. NTP, «Report on Carcinogens Fourteenth Edition,» *U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service*, 2016.
- [6] J. D. Schroeter, J. Campbell, J. S. Kimbell, R. B. Conolly, H. J. Clewell y M. E. Andersen, «Effects of Endogenous Formaldehyde in Nasal Tissues on Inhaled Formaldehyde Dosimetry Predictions in the Rat, Monkey, and Human Nasal Passages,» *Toxicological Sciences*, pp. 412-424, 2014.
- [7] A. p. S. T. y. e. R. d. E. ATSDR, «Resumen de Salud Pública, Formaldehído,» *Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.*, 1999.
- [8] X.-Q. Zhao y Z.-Q. Zhang, «Microwavw-assisted on-line derivatization for sensitive flow injection fluorometric determination of formaldehyde in some foods,» *Talanta*, pp. 242-245, 2009.
- [9] X. Xu, R. Su, X. Zhao, Z. Liu, D. Li, X. Li, H. Zhang y Z. Wang, «Determination of formaldehyde in beverages using microwave-assisted derivatization and ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography,» *Talanta*, pp. 2632-2638, 2011.
- [10] S. d. S. SSA, «NORMA Oficial Mexicana, NOM-141-SSA1/SCFI-2012, Etiquetado para Productos Cosméticos Preenvasados. Etiquetado Sanitario y Comercial.,» *Diario Oficial*, pp. 8-128, 2012.

- [11] M. Rahman, H.-o.-. Rashid, S. Bhadra y S. A. Rouf, «Development and Validation of Colorimetric and RP-HPLC Methods for the Determination of Formaldehyde in Cosmetics,» *American Chemical Science Journal*, pp. 224-237, 2015.
- [12] M. Kireche, E. Gimenez-Arnau y J.-P. Lepoittevin, «Preservatives in cosmetics: Reactivity of allergenic Formaldehyde-releasers Towards Amino Acids Through Breakdown Products Other Than Formaldehyde,» *Contact Dermatitis*, pp. 192-202, 2010.
- [13] T. S. C. O. C. P. a. N.-F. P. I. F. C. SCCNFP, «Evaluation and Opinion on: Determination of Certain Formaldehyde Releasers in Cosmetics Products,» pp. 2-9, 2002.
- [14] S. d. S. SSA, «ACUERDO por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza.,» *Diario Oficial*, pp. 17-68, 2010.
- [15] N. Latorre, J. F. Silvestre y A. F. Monteagudo, «Dermatitis de contacto alérgica por formaldehído y liberadores de formaldehído,» *Actas Dermosifiliográficas*, pp. 86-97, 2011.
- [16] R. C. Rowe, P. J. Sheskey y M. E. Quinn, *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth edition*, London : Pharmaceutical Press, 2009, p. 337.
- [17] Acofarma, «FICHAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA: Imidazolidinil Urea,» *Acofarma distribución, S.A. de C.V.*
- [18] I. Cosmetics, «THE SCIENCE & SAFETY BEHIND YOUR FAVORITE PRODUCTS,» 2016. [En línea]. Available: <http://www.cosmeticsinfo.org/ingredient/diazolidinyl-urea-0>. [Último acceso: 03 Octubre 2017].
- [19] R. L. Rietschel y J. F. Fowler, *Fisher's Contact Dermatitis*, Sexta ed., Hamilton, Ontario: BC Decker, 2008.
- [20] P. J. Frosch, T. Menné y J.-P. Lepoittevin, *Contact Dermatitis*, Cuarta ed., Berlin: Springer, 2006, p. 475.
- [21] S. Wang, X. Cui y G. Fang, «Rapid Determination of Formaldehyde and Sulfur Dioxide in Food Products and Chinese Herbals.,» *Food Chemistry*, pp. 1487-

1493, 2007.

- [22] F. Santos de Oliveira, E. Teixeira Sousa y J. B. de Andrade, «A sensitive flow analysis system for the fluorimetric determination of low levels of formaldehyde in alcoholic beverages,» *Talanta*, pp. 561-566, 2007.
- [23] I. N. d. S. e. H. e. e. T. INSHT, «Documentación toxicológica para el establecimiento del límite de exposición profesional de la 2,4-Pentanodiona,» *Documentación Límites Exposición Profesional*, pp. 1-5, 2014.
- [24] Álvarez, Constanzo, Diaz Zegarra, Gerez, Hollman, Hurtado, Lucero, Macuso, Ruggieri y Strack, «<http://ufq.unq.edu.ar>,» [En línea]. Available: <http://ufq.unq.edu.ar/Docencia-Virtual/BQblog/Cromatografia%20de%20intercambio%20ionico.pdf>. [Último acceso: 11 Octubre 2017].
- [25] E. Castaños, «<https://lidiakonlaquimica.wordpress.com>,» 15 Agosto 2015. [En línea]. Available: <https://lidiakonlaquimica.wordpress.com/2015/08/15/cromatografia-de-intercambio-ionico/>. [Último acceso: 10 Enero 2018].
- [26] S. Cheryedath, «News Medical Life Sciencies,» 09 Agosto 2016. [En línea]. Available: [https://www.news-medical.net/life-sciences/How-Does-Ion-Exchange-Chromatography-Work-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/How-Does-Ion-Exchange-Chromatography-Work-(Spanish).aspx). [Último acceso: 10 Enero 2018].
- [27] A. Scheman, S. Jacob, M. Zirwas, E. Warshaw, S. Nedorost, R. Katta, J. Cook y M. P. Castanedo-Tardan, «Contact Allergy: Alternatives for the 2007 North American Contact Dermatitis Group (NACDG) Standard Screening Tray,» *Disease a Month*, pp. 7-156, 2008.
- [28] M. Kireche, E. Gimenez-Arnau y J.-P. Lepoittevin, «Preservatives in cosmetics: reactivity of allergenic formaldehyde-releasers towards amino acids through breakdown products other than formaldehyde,» *Contact Dermatitis*, pp. 192-202, 2010.
- [29] L. Kanerva, J. E. Wahlberg, P. Eisner y H. I. Maibach, *Handbook of Occupational Dermatology*, Berlin: Springer, 2000, pp. 474-478.
- [30] J. A. Shepherd, R. D. Waigh y P. Gilbert, «Antibacterial Action of 2-Bromo-2-Nitropropane-1,3-Diol (Bronopol),» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,

vol. 32, nº 11, pp. 1693-1698, Noviembre 1988.

- [31] B. N. Statham, E. V. Smith, O. G. Bodger, C. M. Green, C. M. King, A. D. Ormerod, J. E. Sansom, J. S. English, M. S. Wilkinson, D. J. Gawkrödger y M. M. Chowdhury, «Concomitant contact allergy to methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone and formaldehyde-releasing preservatives,» *Contact Dermatitis*, pp. 56-57, 2010.
- [32] K. Aalto-Korte, O. Kuuliala, K. Suuronen y K. Alanko, «Occupational contact allergy to formaldehyde and formaldehyde releasers,» *Contact Dermatitis*, pp. 280-289, 2008.
- [33] R. L. Rietschel, E. M. Warshaw, D. Sasseville, J. F. Fowler Jr., V. A. DeLeo, D. V. Belsito, J. S. Taylor, F. J. Storrs, C. T. Mathias, H. I. Maibach, J. G. Marks Jr, K. A. Zug y M. Pratt, «Sensitivity of Petrolatum and Aqueous Vehicles for Detecting Allergy to Imidazolidinylurea, Diazolidinylurea, and DMDM Hydantoin: A Retrospective Analysis from the North American Contact Dermatitis Group,» *Dermatitis*, vol. 18, nº 3, pp. 155-162, 2007.
- [34] A. De Groot, I. R. White, M.-A. Flyvholm, G. Lensen y P.-J. Coenraads, «Formaldehyde-releasers in cosmetics: relationship to formaldehyde contact allergy. Part 2. Patch test relationship to formaldehyde contact allergy, experimental provocation tests, amount of formaldehyde released, and assessment of risk to consumers allerg,» *Contact Dermatitis*, pp. 18-31, 2010.
- [35] T. N. Helm, «Medscape,» 04 Junio 2017. [En línea]. Available: <https://emedicine.medscape.com/article/1049216-overview#a5>. [Último acceso: 16 Febrero 2018].
- [36] S. d. C. y. F. I. SCFI, NMX-AA-036-SCFI-2001: Análisis de agua-Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, 2001.
- [37] S. d. S. SSA, «NOM-201-SSA1-2015: Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias,» *Diario Oficial*, 22 Diciembre 2015.
- [38] R. L. Shriner, C. K. Hermann, T. C. Morrill, D. Y. Curtin y R. C. Fuson, *Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos*, 2 ed., Distrito Federal: Limusa-Wiley, 2013, pp. 75-76.

- [39] Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogo, Guía de validación de métodos analíticos, 2002.
- [40] P. C. G. L. E. A.-R. Lourdes Alonzo-Romero Pareyón, «Dermatitis por contacto alérgica a conservadores. Comunicación de un caso.,» *Rev. Cent Dermatol Pascual*, pp. 55-58, 2014.
- [41] «AznathBlogspot,» 23 Agosto 2010. [En línea]. Available: <http://aznath.blogspot.mx/2010/08/tecnicas-para-separar-una-mezcla.html>.

7 ANEXOS

7.1 Cromatogramas

7.1.1 Curva de calibración intervalo bajo

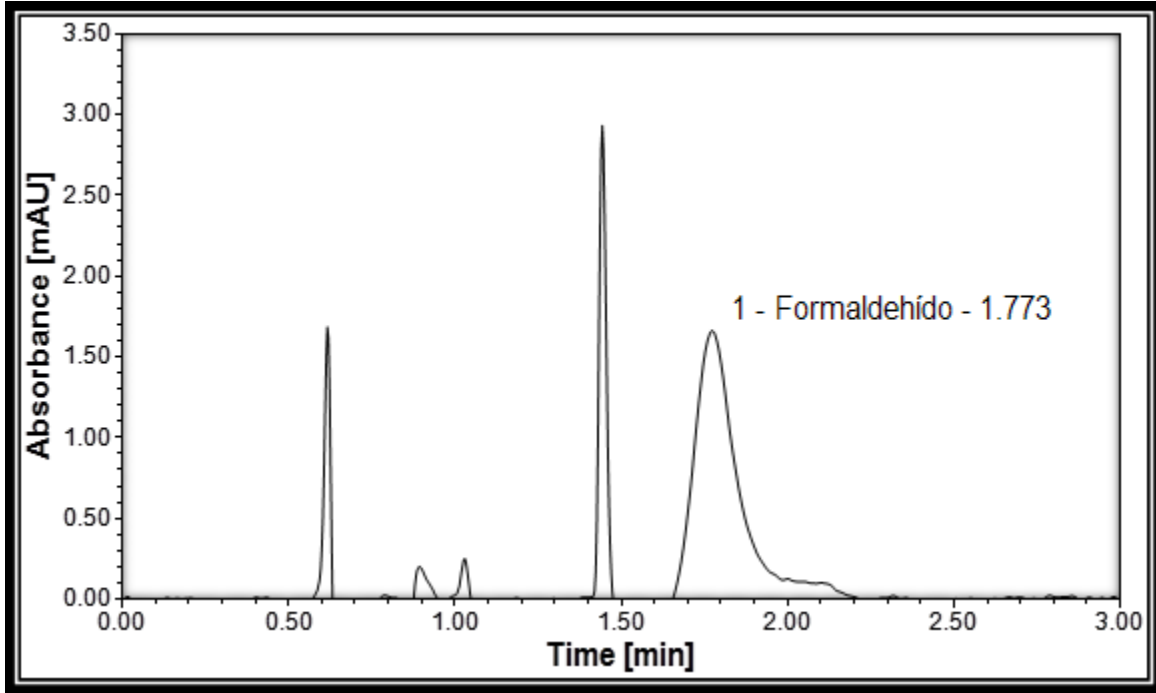


Figura 22. Cromatograma, concentración estándar 0.20 mg L⁻¹

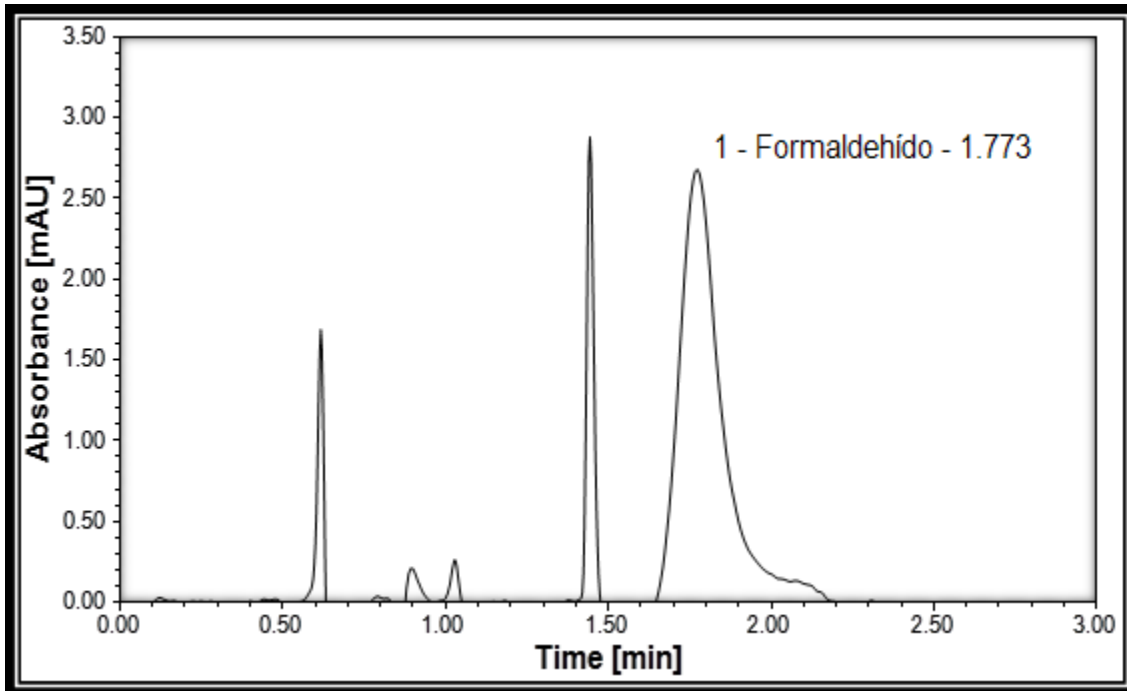


Figura 23. Cromatograma, concentración estándar 0.30 mg L⁻¹

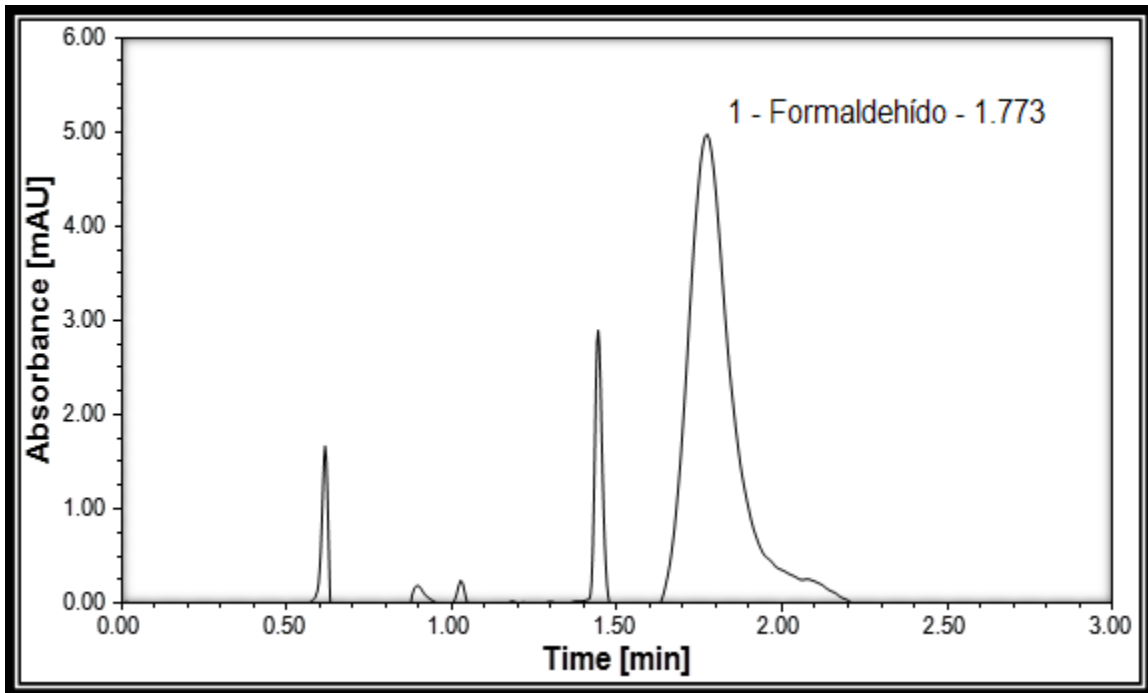


Figura 24. Cromatograma, concentración estándar 0.50 mg L⁻¹

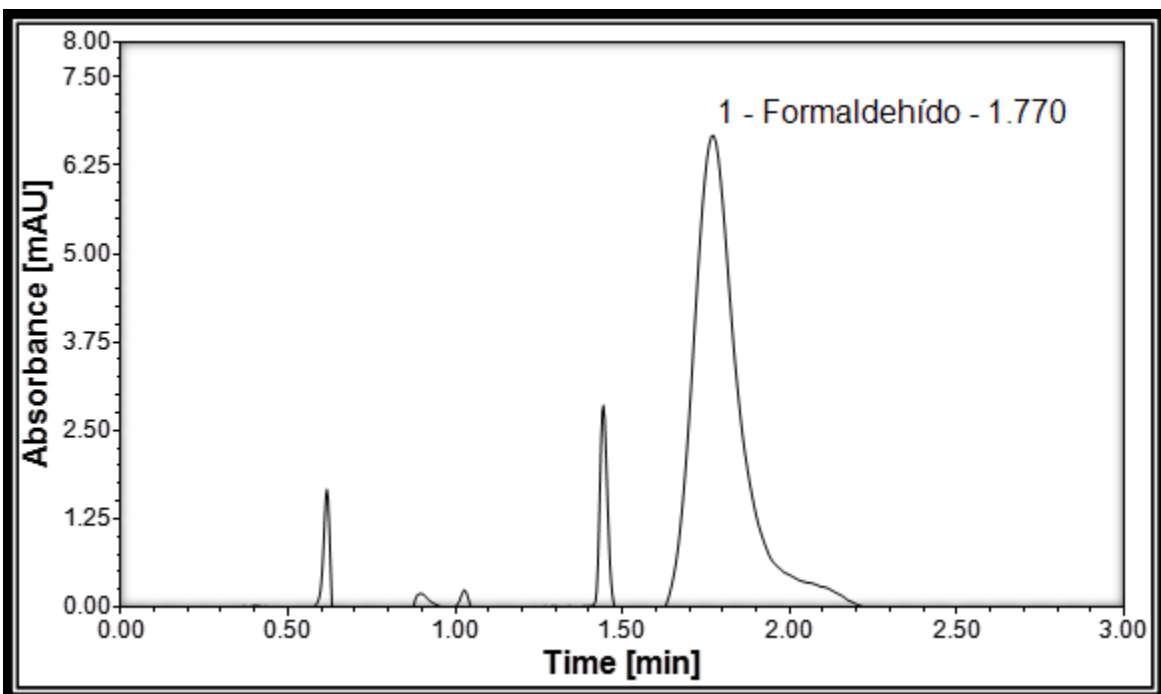


Figura 25. Cromatograma, concentración estándar 0.70 mg L⁻¹

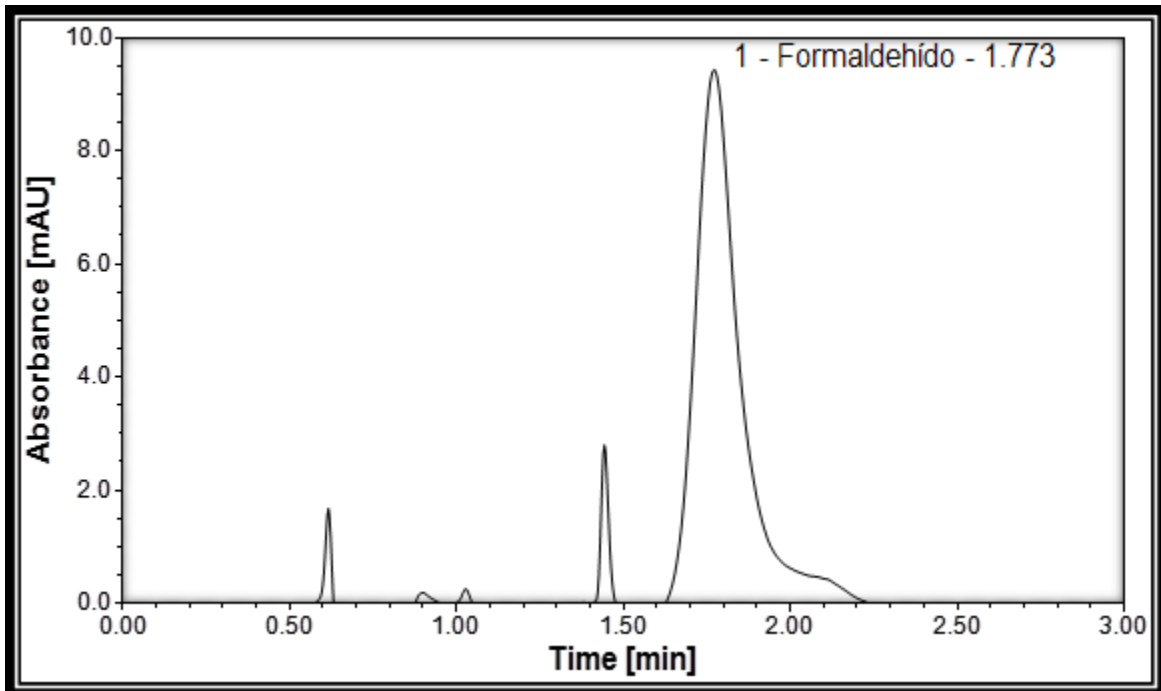


Figura 26. Cromatograma, concentración estándar 0.90 mg L^{-1}

7.1.2 Curva de calibración intervalo alto

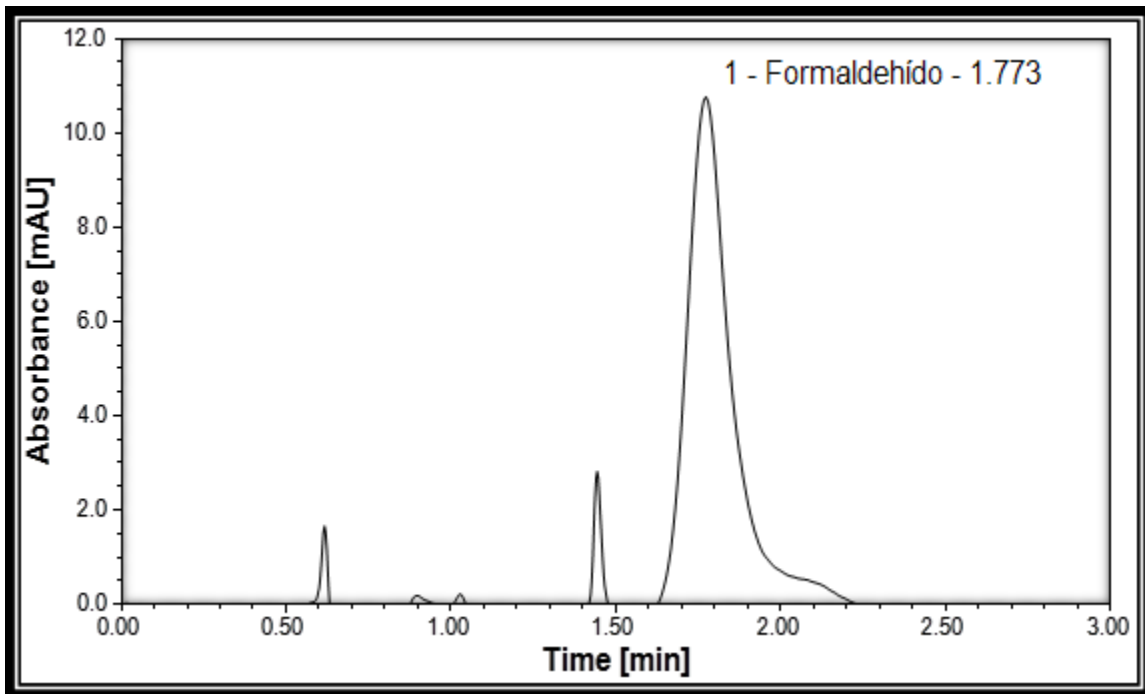


Figura 27. Cromatograma, concentración estándar 1.0 mg L^{-1}

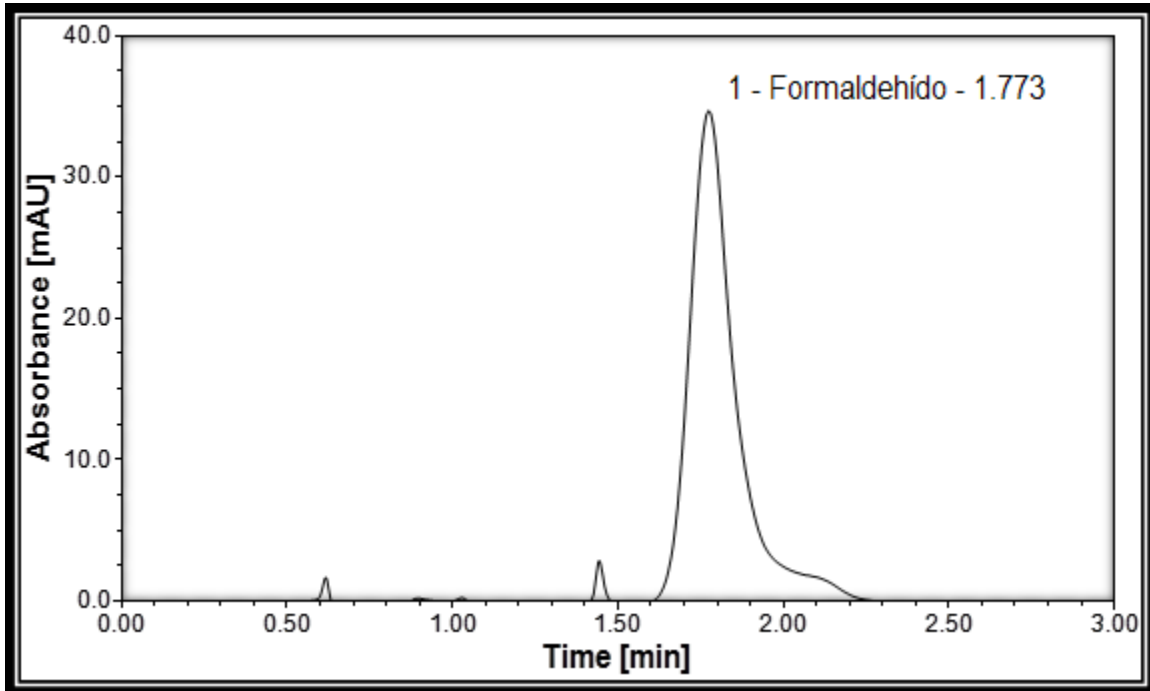


Figura 28. Cromatograma, concentración estándar 3.0 mg L⁻¹

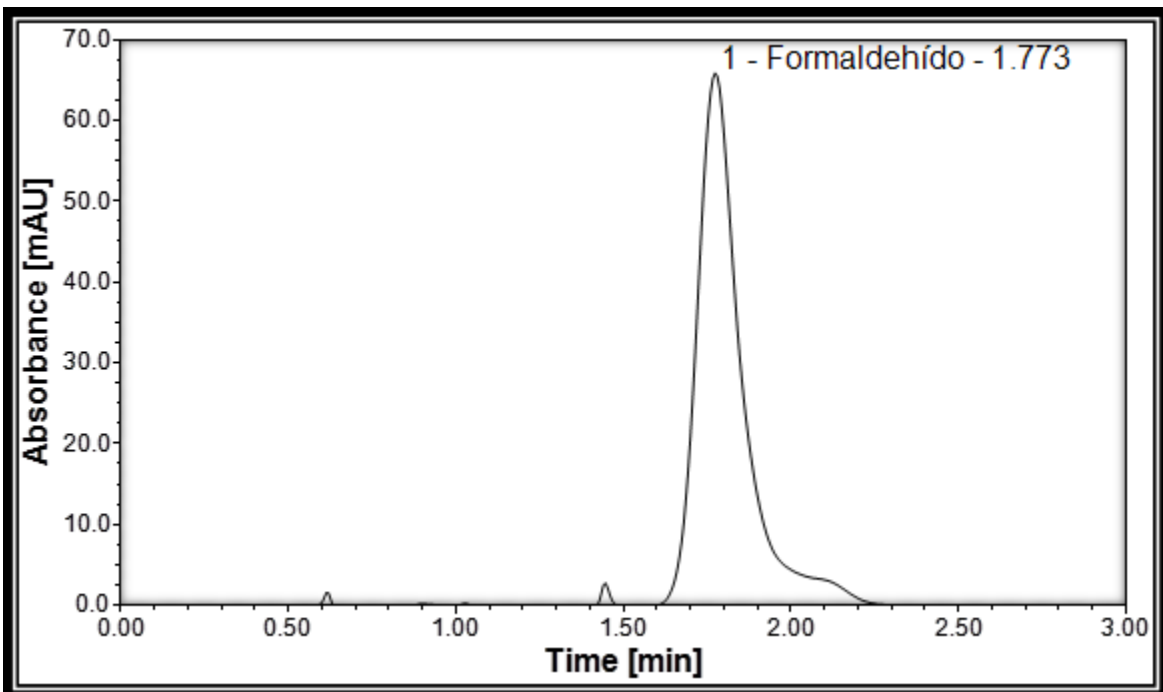


Figura 29. Cromatograma, concentración estándar 5.0 mg L⁻¹

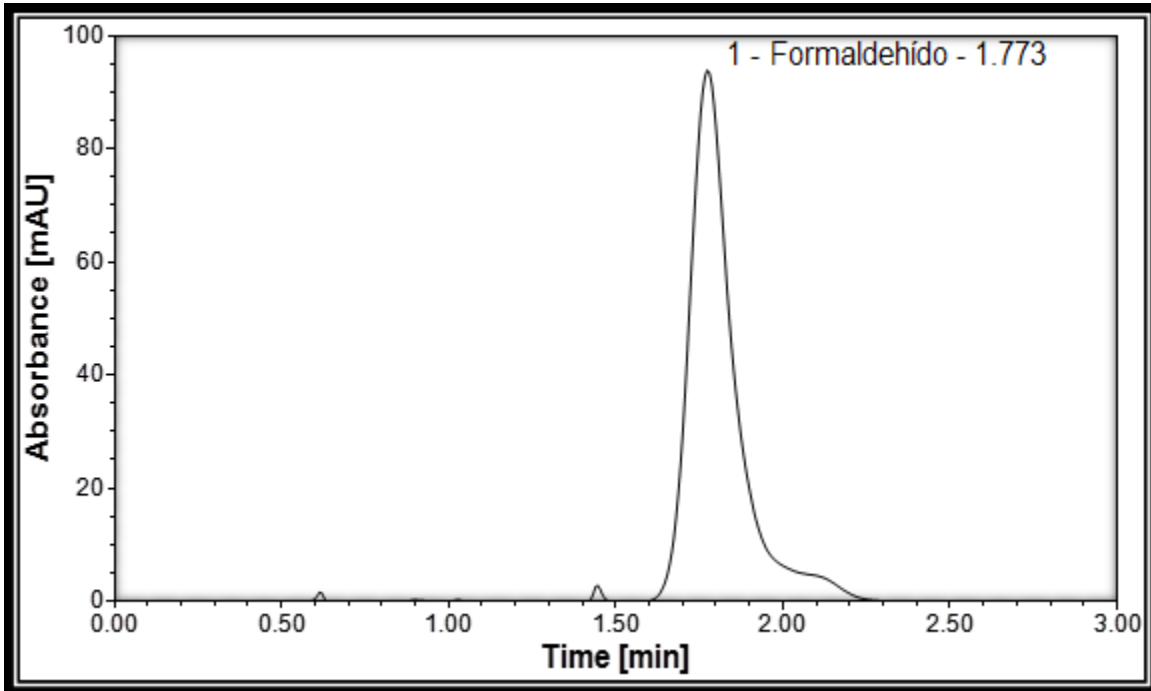


Figura 30. Cromatograma, concentración estándar 7.0 mg L⁻¹

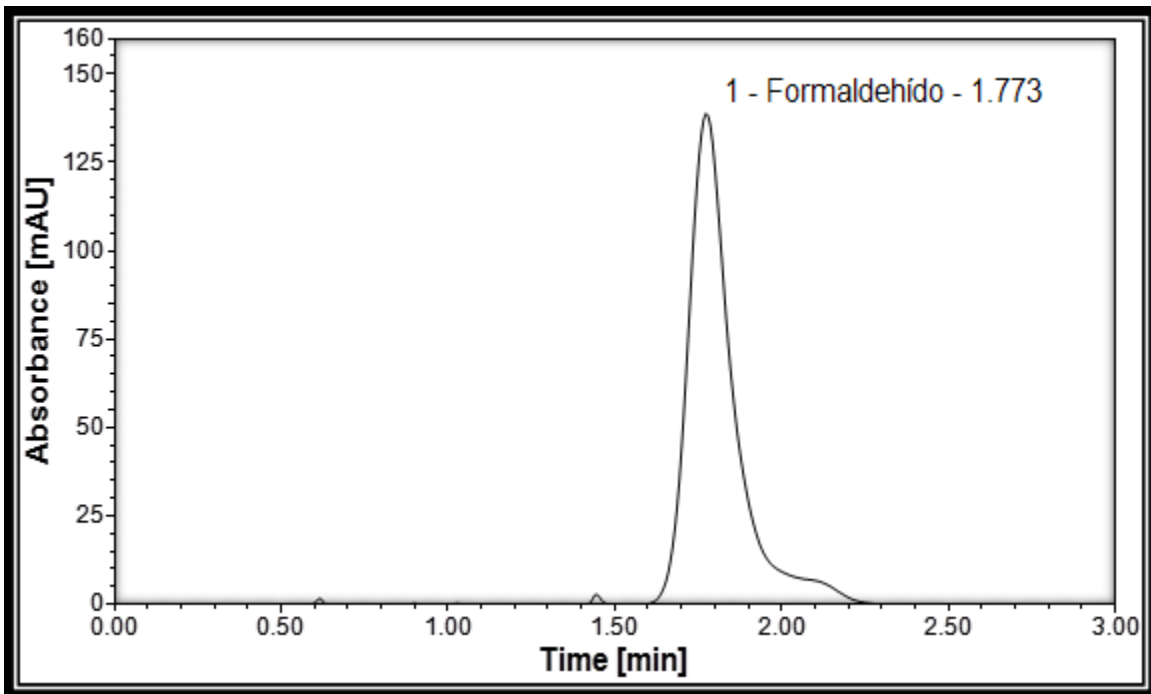


Figura 31. Cromatograma, concentración estándar 10.0 mg L⁻¹

7.1.3 Estándar para exactitud y repetibilidad del método

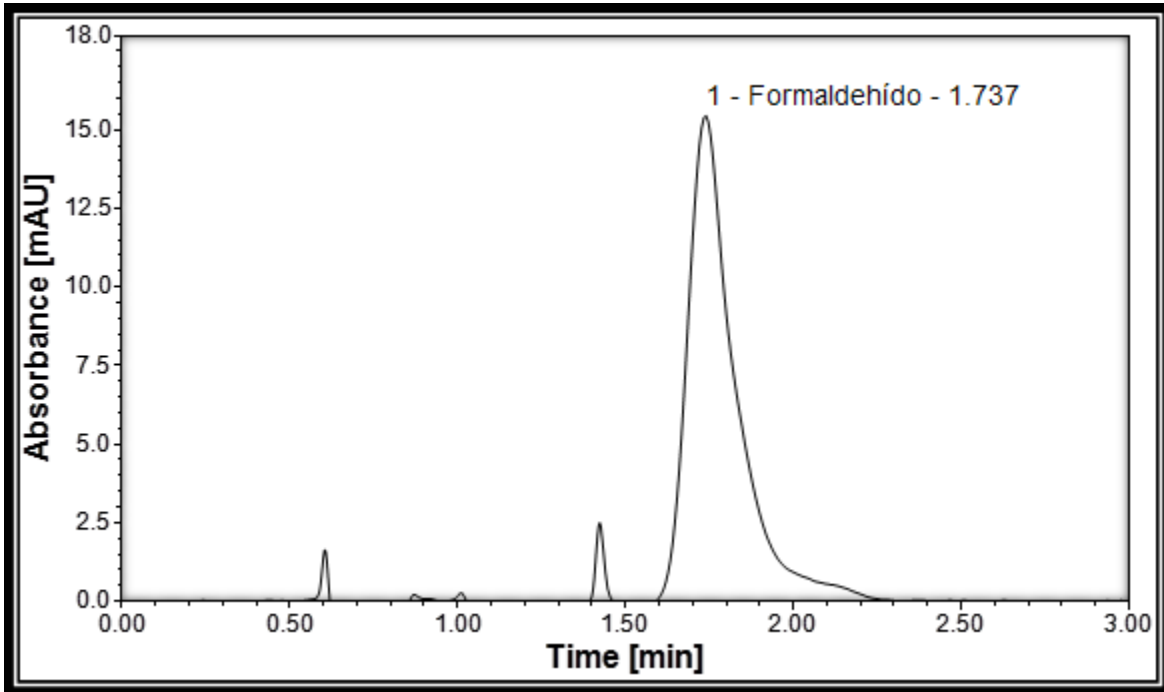


Figura 32. Réplica 1

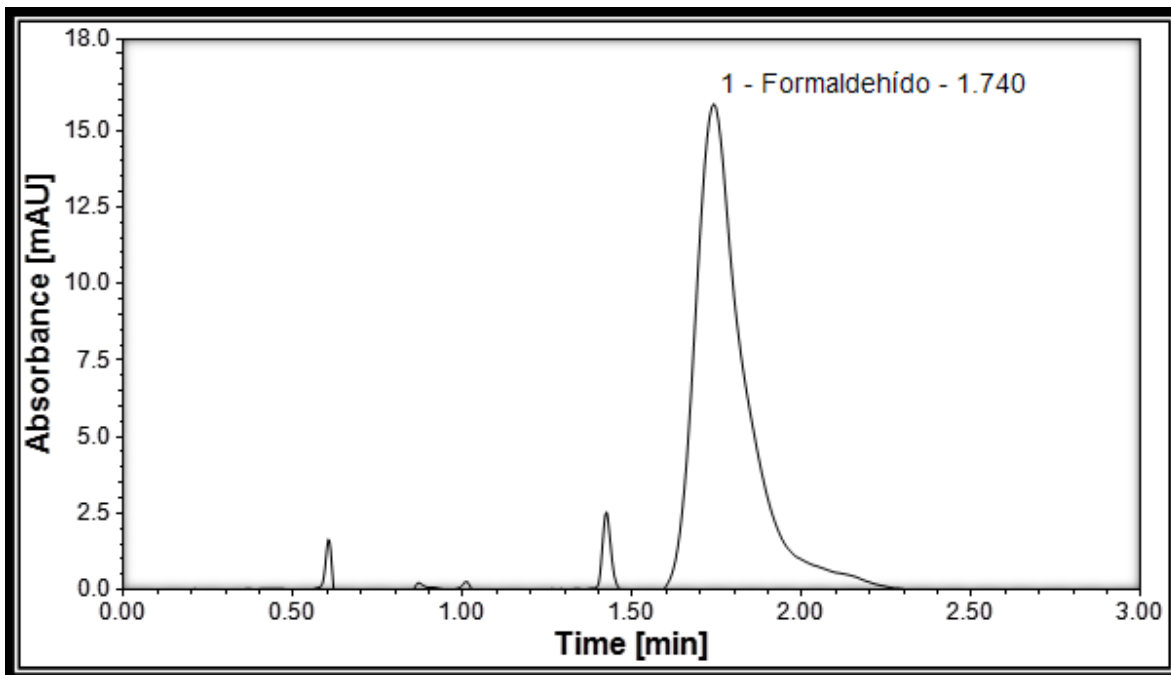


Figura 33. Réplica 2

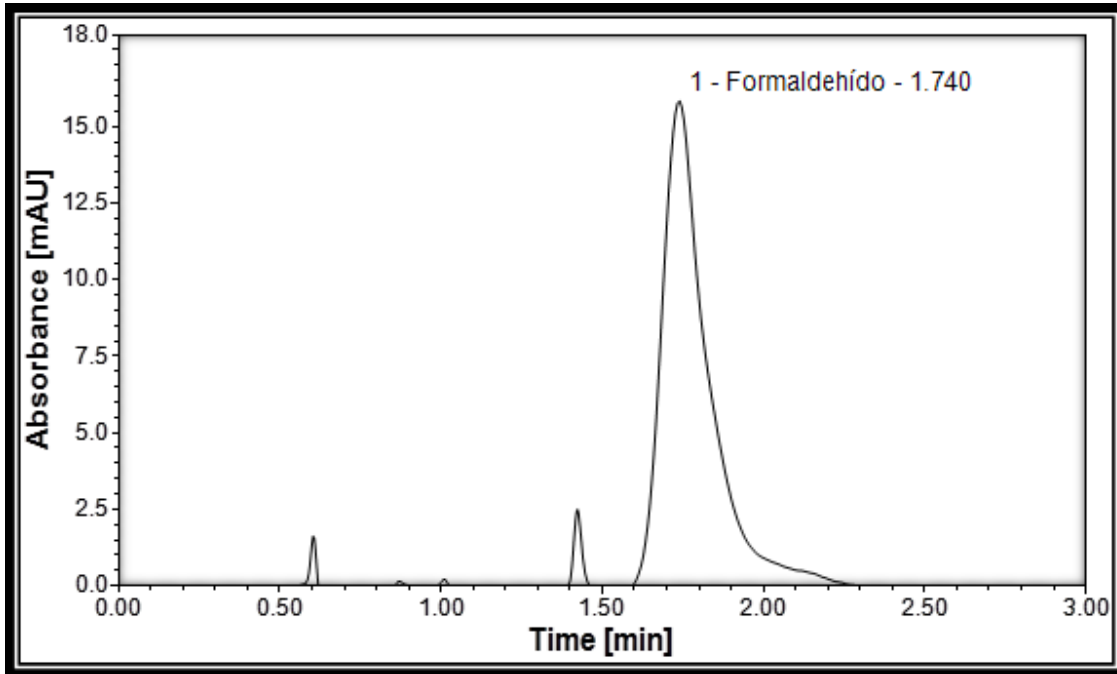


Figura 34. Réplica 3

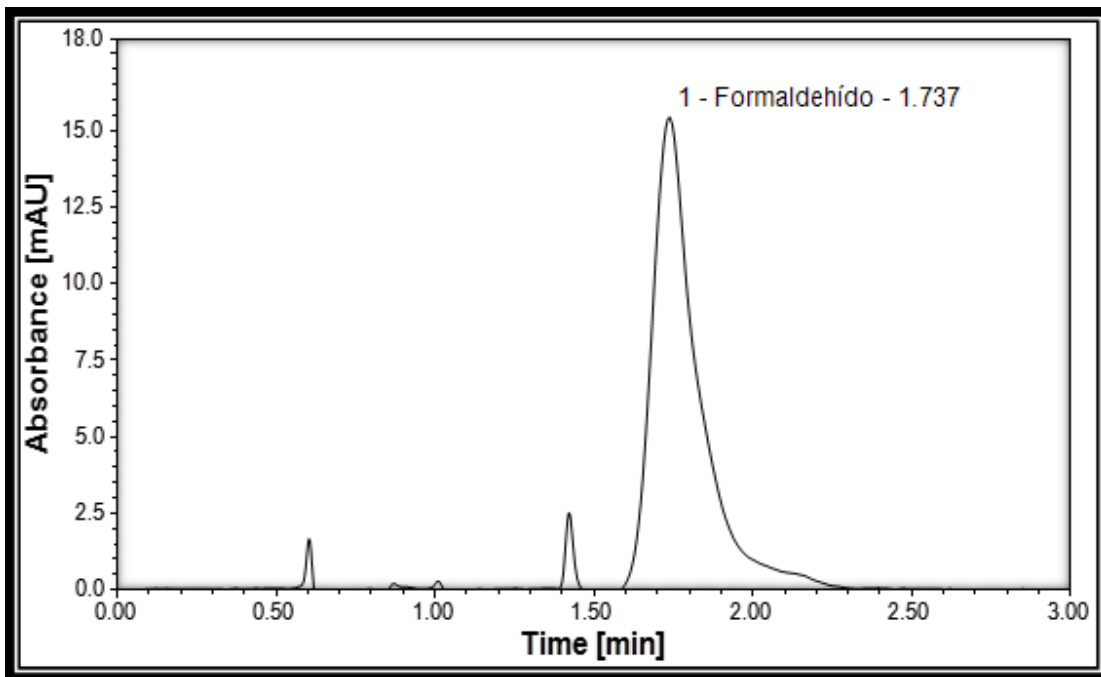


Figura 35. Réplica 4

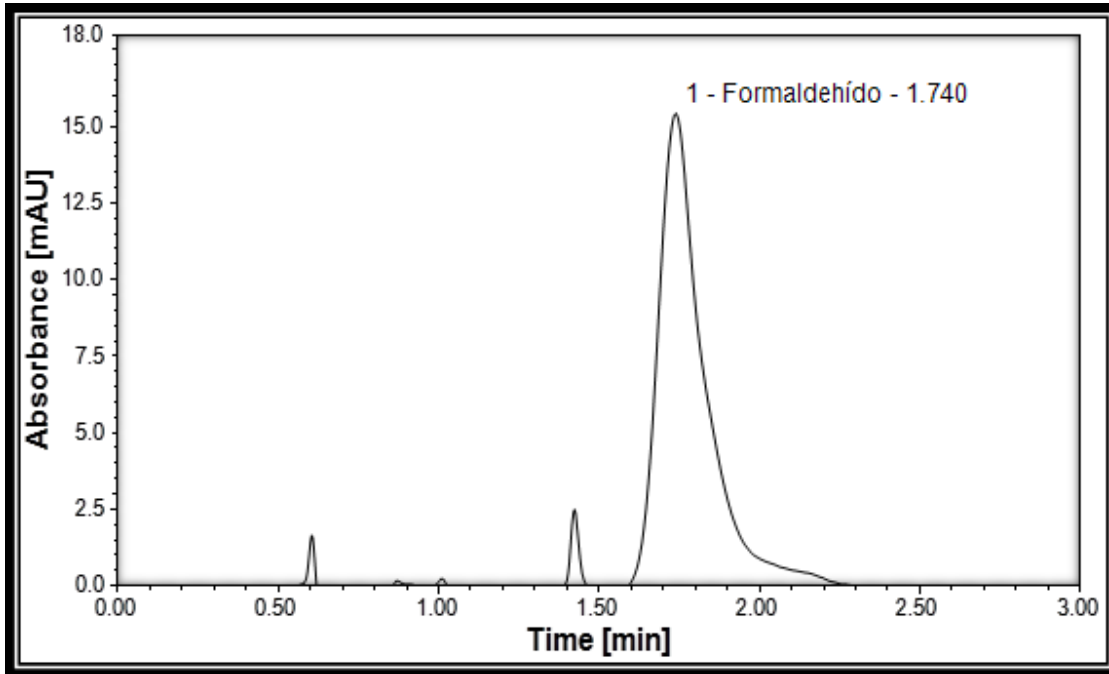


Figura 36. Réplica 5

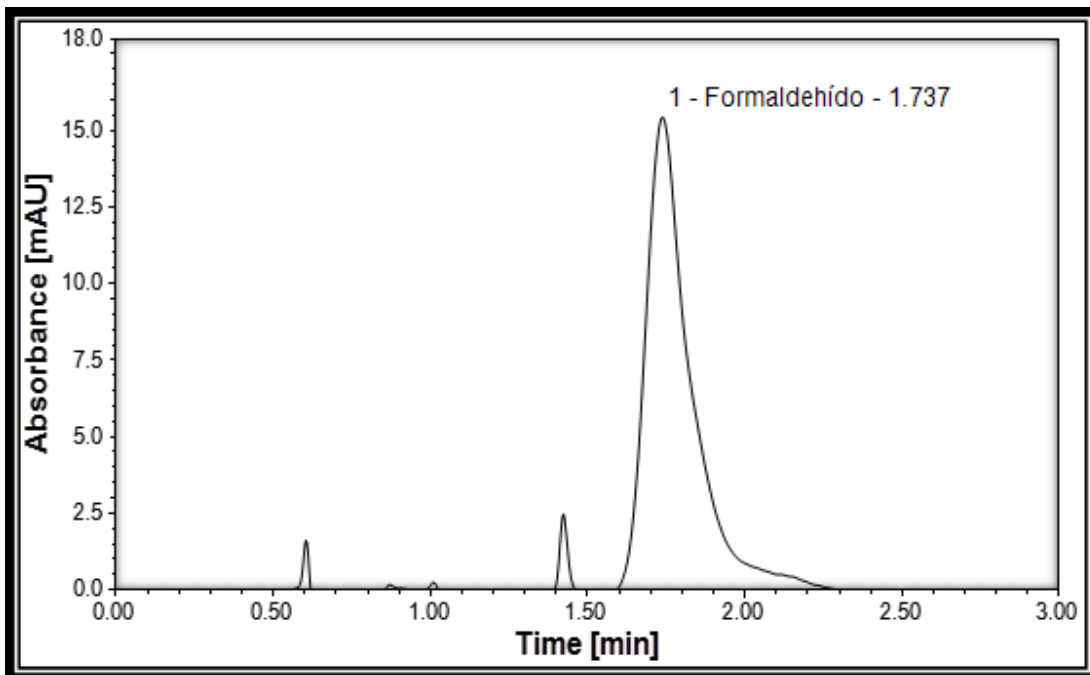


Figura 37. Réplica 6

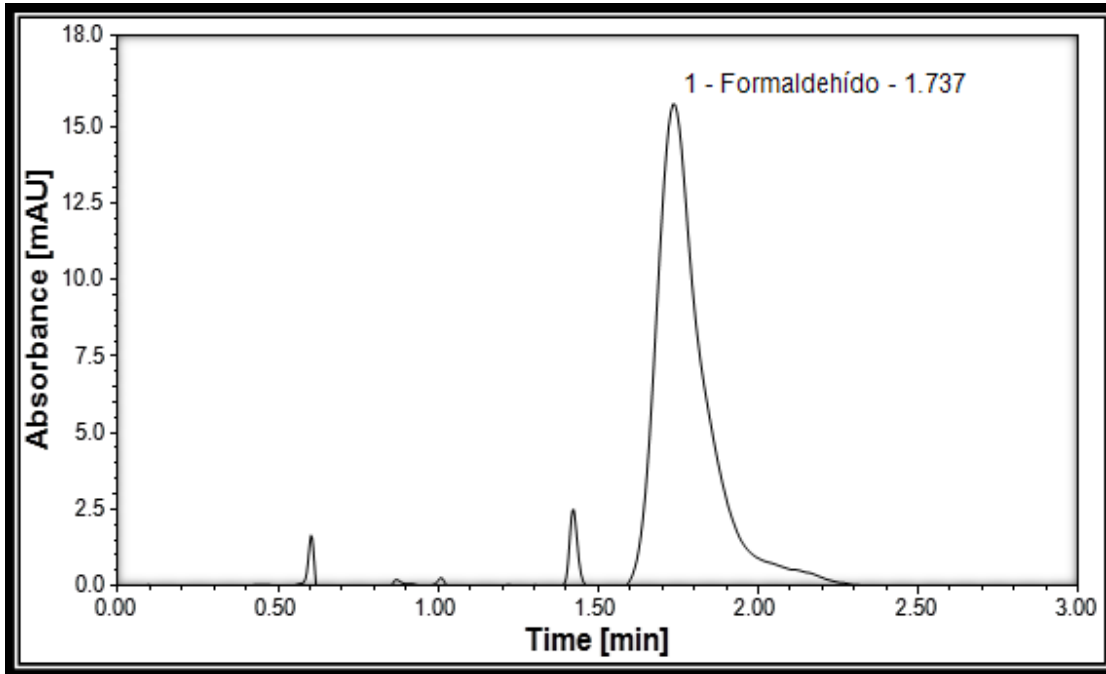


Figura 38. Réplica 7

7.1.4 Muestras analizadas por CLAR

7.1.4.1 Dermoprada

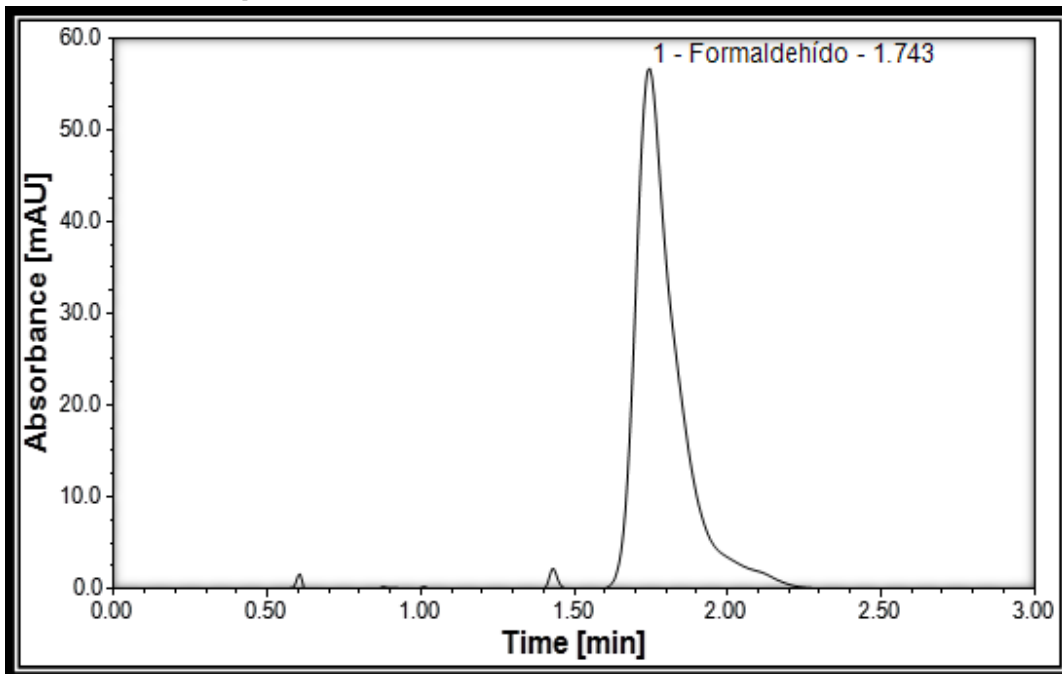


Figura 39. Dermoprada 0.092 g

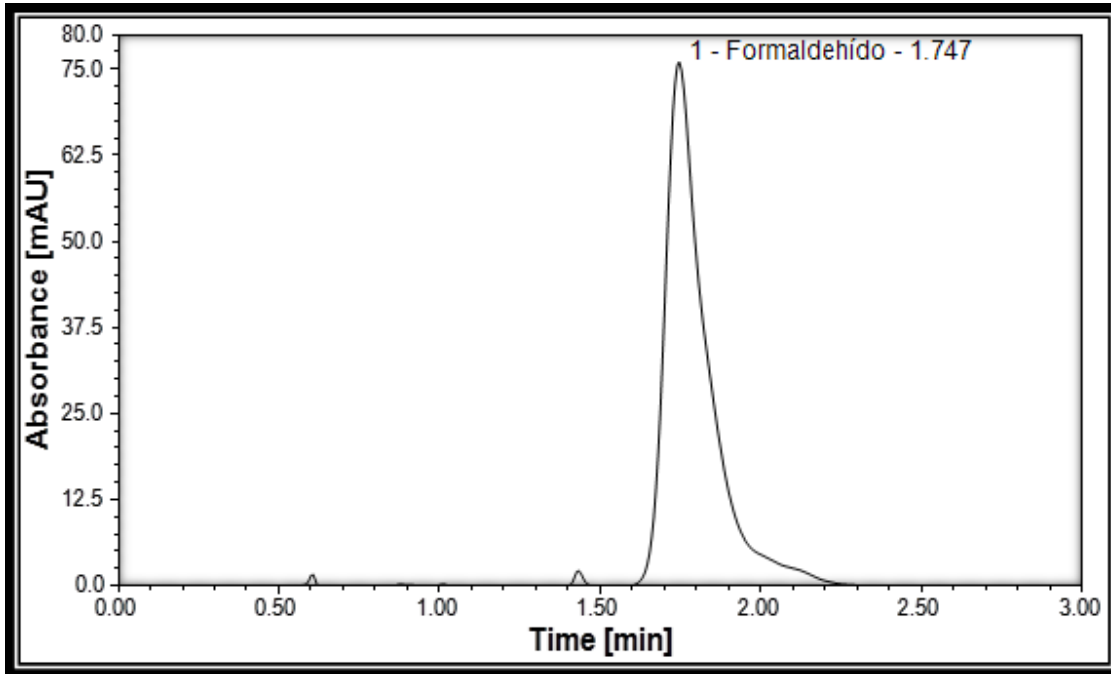


Figura 40. Dermoprada 0.120 g

7.1.4.2 Nuvel

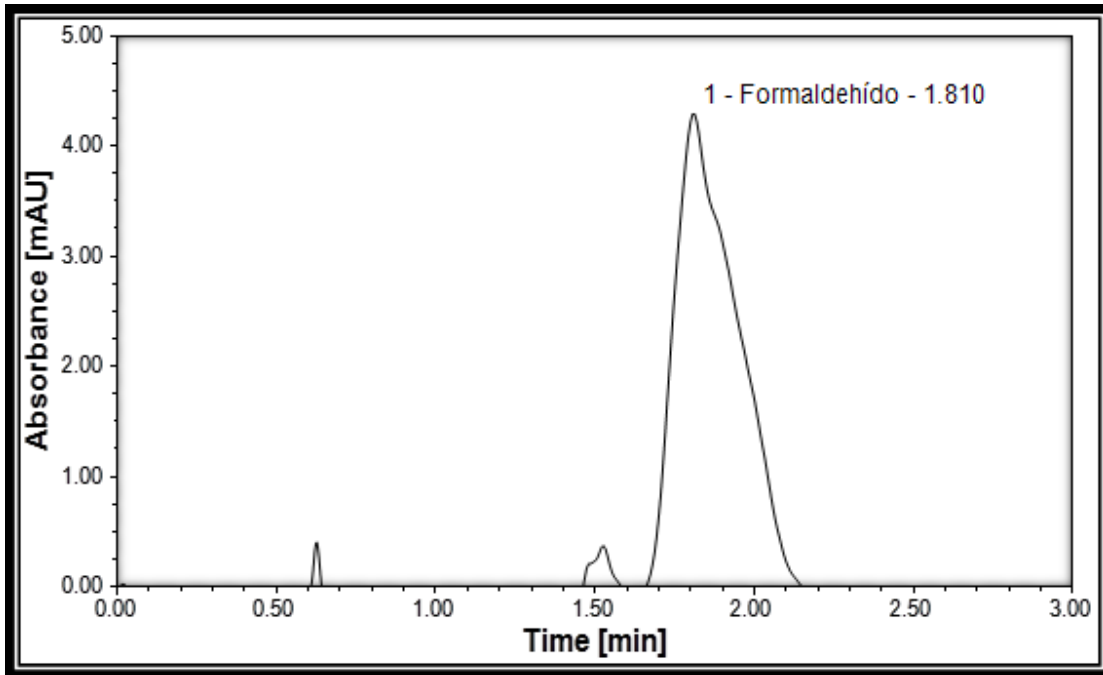


Figura 41. Nuvel 0.090 g

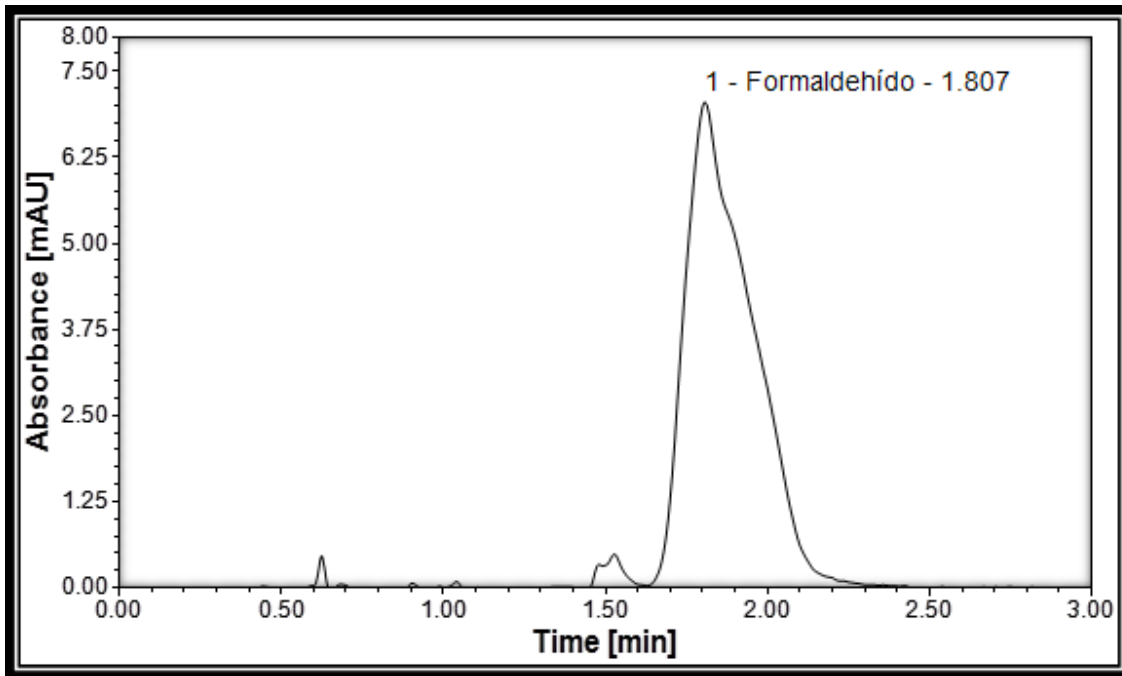


Figura 42. Nuvel 0.121 g

La Asociación Mexicana de Química Analítica y la Universidad de Guanajuato
otorgan la presente

CONSTANCIA

Leonel Jassiel Islas Aguilar, Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo, María del Pilar Haro Vázquez


por la presentación del trabajo

*"Aplicación de dos métodos analíticos en la determinación de formaldehído en un
producto cosmético"*

durante las actividades del XXX Congreso Nacional de Química Analítica que tuvo lugar
del 20 al 24 de junio de 2017 en la ciudad de León, Guanajuato

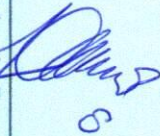
"La teoría guía, el experimento decide"

"I.M. Kolthoff"


Dra. Gabriela Vargas Martínez
Junta de Representantes AMQA


Dra. María Teresa Ramírez Silva
Presidente AMQA


Dr. Carlos Hidalgo Valadez
Rector del Campus León
de la Universidad de Guanajuato


Dr. José Antonio Reyes Aguilera
Comité Local, Campus León, UG



APLICACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS EN LA DETERMINACIÓN DE FORMALDEHÍDO EN UN PRODUCTO COSMÉTICO

Leonel Jassiel Islas Aguilar, Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo*,
María Del Pilar Haro Vázquez.

Universidad Autónoma De Baja California, FCQI, Tijuana B.C. México, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional Tijuana B.C C.P 22390, Tel (664) 9797505 Ext. 54317 Fax (664) 6-82-27-90, *e-mail: gaby@uabc.edu.mx

Introducción

El formaldehído puro no está disponible comercialmente, pero se vende como disolución acuosa entre el 30-50 % y la disolución acuosa de formaldehído al 37 % p/v se denomina como formalina. Diferentes tipos de conservadores antimicrobianos son usados en los cosméticos. Los agentes liberadores de formaldehído son comúnmente usados en lugar del formaldehído. Estos conservadores presentan efectos antimicrobianos y en su descomposición se libera formaldehído [1]. Los conservadores tienen la capacidad de reemplazar al formaldehído liberando cantidades muy pequeñas con el paso del tiempo según sea necesario. Si el formaldehído liberado se consume, estos agentes liberadores suministran más, por lo tanto, la acción de los agentes liberadores se basa en el logro continuo de este equilibrio, de esta manera el nivel real de formaldehído libre en el producto permanece bajo pero suficiente para prevenir o eliminar el crecimiento bacteriano. Por consiguiente, la actividad antimicrobiana de estos conservantes es muy probable que resulte de la liberación de formaldehído, pero también se ha supuesto que algunos de ellos actúan como biosidas por sí mismos, independientemente de la liberación de formaldehído [2].

La concentración máxima permitida de formaldehído libre, autorizado por la Unión Europea (UE) es del 0.2 % en los cosméticos. De acuerdo con la UE, la cantidad máxima de estos liberadores de formaldehído en los cosméticos debe ser de alrededor de 0.1 ~ 0.6 %. De conformidad con el anexo VI de la Directiva 76/768/CE, todos los productos terminados que contengan formaldehído o sustancias del presente anexo que liberen formaldehído deberán estar marcados con la advertencia "**contiene formaldehído**" cuando la concentración de formaldehído en el producto acabado sea superior al 0.05 % [1]. La normatividad mexicana permite una concentración máxima permitida de 0.5 %, para la diazolinidil urea y sus derivados (que es el agente liberador de formaldehído que encontramos en nuestros productos) y una concentración máxima permitida de 0.20 % de formaldehído y ρ -formaldehído y sus derivados (como formaldehído libre) [3].

El objetivo de este trabajo es determinar formaldehído liberado en un producto de belleza de nombre comercial Dermoprada aplicando primeramente destilación por arrastre de vapor y posteriormente la formación de complejos con dos reacciones. La reacción 1 formando una hidrazona utilizando el clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) y la reacción 2 con la 2,4 pentanodiona.

Experimentación

Equipos: Espectrofotómetro DR5000, Bloque Termostático, Balanza analítica Mettler Toledo, Manta de calentamiento con agitador Electrothermal.



Reactivos: Formaldehído al 37 % en agua (Fisher-Scientific), acetato de amonio 98 % (Sigma-Aldrich), acetilacetona 99%(Sigma-Aldrich), ácido acético 99 % (Sigma-Aldrich), hidróxido de amonio 28-30 % (Fermont).

Metodología: Primero se realizó la valoración de HCl 0.1 N de acuerdo al procedimiento descrito en la NMX-AA-036-SCFI-2001. Determinación de acidez y alcalinidad [4], inciso 9.1.1. Valoración del ácido clorhídrico. Pesar aproximadamente y con precisión 0.0265 g del patrón primario de carbonato de sodio, secado 105°C, añadir unos 25 mL de agua y unas gotas de la disolución de naranja de metilo, valorar con el ácido hasta el vire del indicador (de amarillo a canela). Calcular la normalidad del ácido con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{g \text{ de } Na_2CO_3}{mL \text{ HCl usados } \times 53} \times 1000 \quad (1)$$

Posteriormente se realizó la valoración de formaldehído de acuerdo al procedimiento descrito la NOM-201-SSA1-2015 [5]. Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias, incisos A.3.12.4.13.2, A.3.12.4.13.2.1. Valoración de formaldehído. Medir 125 mL de solución de sulfito de sodio 1 M en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 3 gotas del indicador de timolftaleína. La solución debe ser de un color azul pálido. Añadir HCl 0.1 N gota a gota hasta que la solución se vuelve incolora (usualmente se requieren de 6 gotas). Adicionar exactamente 25 mL de solución stock de formaldehído a la solución acidificada de sulfito de sodio. Titular con HCl 0.1 N hasta la desaparición de la coloración que persista 3 min. Calcular la concentración de formaldehído de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$mgCH_2O/mL = \frac{mL \text{ gastados de HCl } 0.1N \times N \text{ HCl } \times 30.03}{25 \text{ mL}} \quad (2)$$

*Preparación de sulfito de sodio 1 M: Disolver 63.03 g de Na_2CO_3 en 500 mL de agua desionizada.

Para realizar las diferentes determinaciones se determinaron los espectros de absorción mostrados en la figura 1 del formaldehído, la muestra de Dermoprada y la formación del complejo de la crema Dermoprada con la 2,4 pentanodiona una vez que se obtuvieron los destilados.

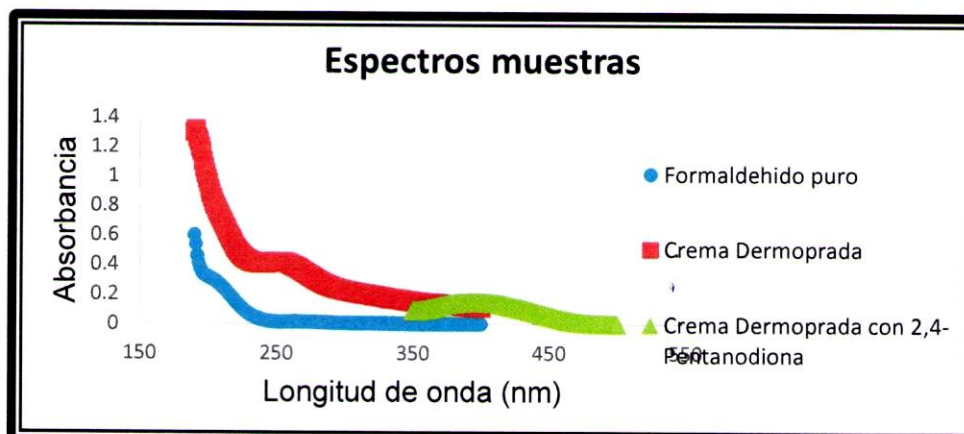


Figura 1. Espectros de absorción.



Para la determinación con 2,4-pentanonodiona se siguió el método modificado descrito por Martínez Acevedo et al., [6]. El diagrama para la determinación se muestra en la figura 2.

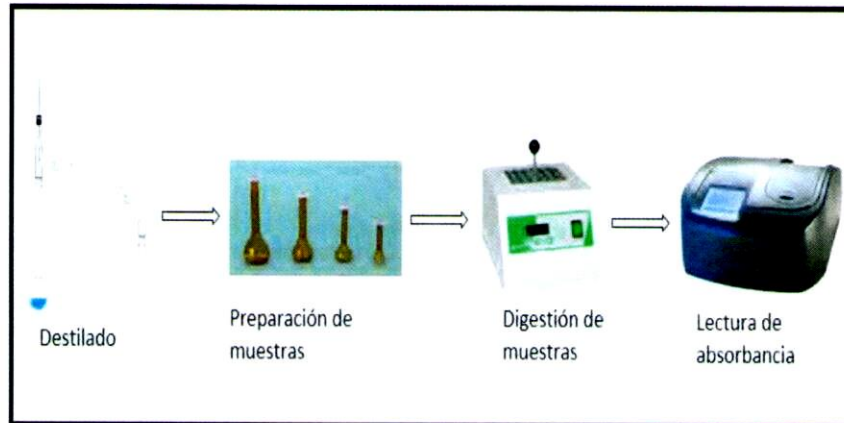


Figura 2. Procedimiento para determinar formaldehído usando 2,4- pentanonodiona.

Para la formación del complejo azul mediante la reacción entre el formaldehído y el MBTH se siguió el método modificado descrito por Carrillo Cedillo et al., [7]. En ambos métodos se prepara un estándar de 20 ppm para realizar el destilado por arrastre de vapor, en el caso del método por MBTH se prepara una disolución patrón de 0.8 ppm a partir del estándar de 20 ppm destilado con la que se prepara la curva y la curva fortificada. En el procedimiento con 2,4-pentanonodiona, la curva se prepara a partir del estándar de 20 ppm obtenido después del destilado. El diagrama para la determinación de formaldehído con MBTH se muestra en la figura 3.

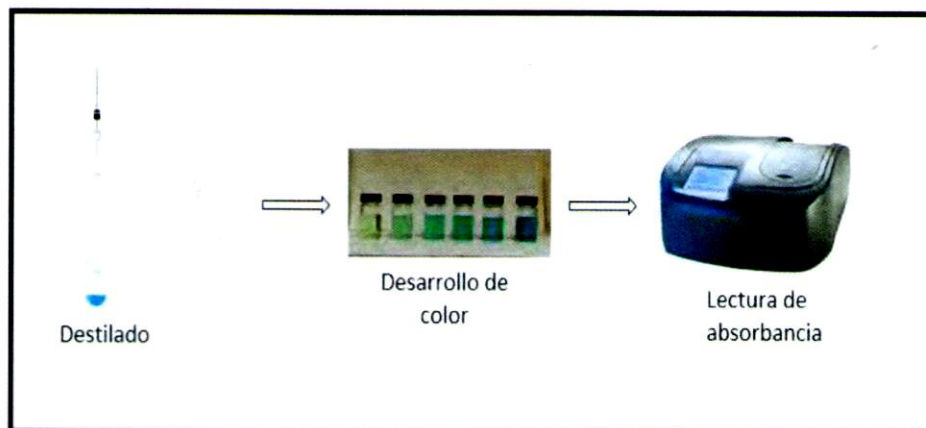


Figura 3. Procedimiento para determinar formaldehído con MBTH



Resultados y Discusión

El MBTH se añade en exceso a una muestra que contiene formaldehído, lo cual provoca múltiples reacciones. En primer lugar, MBTH y formaldehído reaccionan para formar la azina. El exceso de MBTH se oxida por la adición de cloruro férrico, el MBTH oxidado reacciona con la azina para formar un complejo de color azul intenso. La reacción se muestra en la Figura 4.

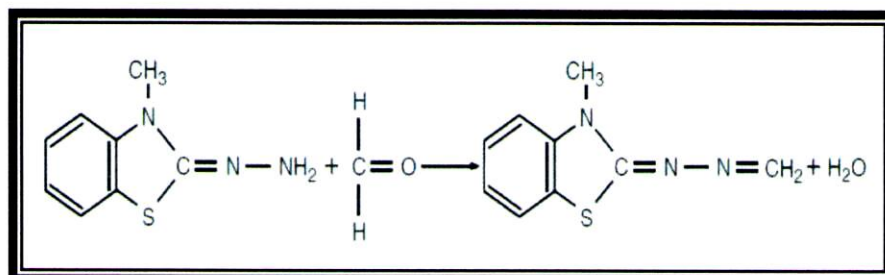


Figura 4. Reacción de formaldehído con MBTH

Para realizar la curva de calibración del método por MBTH, se prepararon estándares con las siguientes concentraciones 60, 120, 240, 360 y 480 ppb, obteniendo la ecuación de regresión lineal:

$$A^{630} = (0.0033 \pm 4.6877E^{-05}) * [\mu\text{g/L de Formaldehído}] - (-0.0387 \pm 0.0137)$$

La reacción de Hantzsch (ver figura 5) es comúnmente utilizada para la determinación de formaldehído al cuantificarse la cantidad de 3,5-diacetil-1,4-dihidrotoluidina (DDL) formada a partir de la reacción de formaldehído con 2,4 pentanodiona en presencia de sales de amonio.

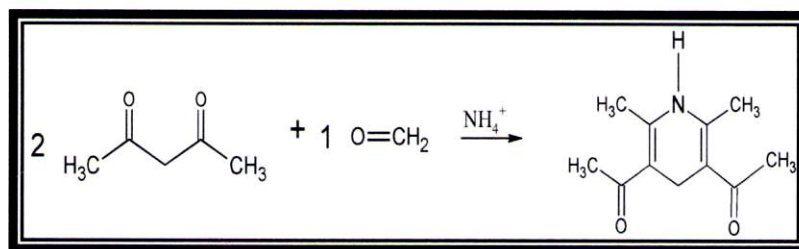


Figura 5. Reacción de Hantzsch con 2,4 pentanodiona.

Para realizar la curva de calibración del método por 2,4-pentanodiona se prepararon estándares con las siguientes concentraciones 5, 6, 7, 8 y 10 ppm obteniendo la ecuación de regresión siguiente:

$$A^{396} = (0.0399 \pm 0.0018) * [\text{mg/L de Formaldehído}] - (-0.0972 \pm 0.0133)$$



Determinación de la linealidad del método

Para la determinación de la linealidad del método se debe de reportar la cantidad adicionada vs cantidad recuperada y los parámetros de desempeño que se presentan en la tabla 1 de acuerdo a la guía de validación de métodos analíticos [8].

Tabla 1. Parámetros de desempeño por ambos métodos

	MBTH	2,4 pentanodiona		MBTH	2,4 pentanodiona
Símbolo	Resultado	Resultado	Símbolo	Resultado	Resultado
m	0.0033	0.0399	$CV_{y/x}$	1.6%	2.9 %
b	-0.0387	-0.0972	$IC_{(\beta 0)}$	(-0.0250) - (0.0524)	(-0.0839) - (-0.1105)
r^2	0.9994	0.9944	$IC_{(\beta 1)}$	0.0032 - 0.0033	0.0381 - 0.0417
r	0.9997	0.9972	LD	13.1 $\mu\text{g/L}$	0.5 mg/L
LC	39.6 $\mu\text{g/L}$	1.4 mg/L			

Para identificar interferencias se preparó una muestra de crema fortificada con formaldehído de la marca AVON Care y se obtuvo lo que se muestra en la tabla 2, este producto cosmético en su etiqueta indica que no contiene un agente liberador de formaldehído.

Para aplicar los dos métodos se utilizó una muestra comercial Dermoprada en crema y se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 3.

Tabla 2. Recobro muestra fortificada (AVON Care)

Numero de replica	MBTH % Recobro	2,4 pentanodiona % Recobro
1	110.0	91.9
2	120.0	93.3
3	121.7	94.6
4	123.6	97.2
5	125.4	100.6
Promedio	120.1	95.5
Desviación estándar	6.0	3.5
% CV	5.0	3.6

Tabla 3. Comparación de muestra Dermoprada por ambos métodos.

Numero de replica	MBTH g/Kg	2,4 pentanodiona g/Kg
1	1.2	2.0
2	1.4	1.9
3	1.6	1.8
4	1.6	1.9
5	1.6	1.9
Promedio	1.5	1.9
Desviación estándar	0.2	0.1
% CV	12.3	3.2



Conclusiones

Se logró cuantificar formaldehído liberado a partir de una muestra analizada cuyo nombre comercial es dermoprada la cual indica en su etiqueta que contiene la diazodindil urea utilizando previamente destilación por arrastre de vapor y posteriormente aplicando la reacción con el MBTH y la 2,4 pentanodiona, los valores obtenidos por ambos métodos no pasan el límite establecido para productos de belleza establecidos en la normatividad mexicana que es de 2.15 g de formaldehído liberado por kg de producto.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California.

Referencias

- [1] Md. Motiur Rahman, Harun-or-Rashid, Subrata Bhadra, A. S. Shamsur Rouf, Development and Validation of Colorimetric and RPHPLC Methods for the Determination of Formaldehyde in Cosmetics, **5** [3], 224-237, (2015).
- [2] M. Kireche, E. Gimenez-Arnau, J.P. Lepoittevin, Preservatives in cosmetics: reactivity of allergenic formaldehyde-releasers towards amino acids through breakdown products other than formaldehyde, **63**, 192-202, (2010).
- [3] Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza. Secretaria de Salud. Diario Oficial. 2da Sección, 17-68, 21 de mayo (2010).
- [4] Norma mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001, Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. 1 de agosto, 1-22, (2001).
- [5] Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. 18 de Octubre, 1-57, (2002).
- [6] A.L. Martínez Acevedo, E.G. Carrillo Cedillo, M.P. Cañizares Macías, G.C. Díaz Trujillo, Cuantificación espectrofotométrica de formaldehído por análisis de inyección de flujo. Memorias in extenso del XXVII Congreso Nacional de Química Analítica. 509-512 (2014).
- [7] E.G Carrillo Cedillo, G. C. Díaz Trujillo, M.P. Haro Vázquez, M.P. Cañizares Macías. Estudio de optimización de parámetros de inyección en flujo para determinar formaldehído en agua. Memorias in extenso del XXIV Congreso Nacional de Química Analítica. 12-17 (2011).
- [8] Guía de validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C (2002).

LIBRO DE RESÚMENES

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



Campus León

“LA TEORÍA GUÍA, EL EXPERIMENTO DECIDE.” (I. M. Kolthoff).



XXX Congreso Nacional de Química Analítica y XX Simposio Estudiantil

ASOCIACIÓN MEXICANA DE QUÍMICA ANALÍTICA

COMITÉ DIRECTIVO (2016-2018)

Dra. María Teresa Ramírez Silva	Presidente
Dr. Alberto Rojas Hernández	Secretario
Dra. Iliana Margarita De La Garza Rodríguez	Tesorero
Dra. Dafne Sarahia Guzmán Hernández	Vocal
Dr. Jorge Juárez Gómez	Vocal
Dra. María Elena Páez Hernández	Vocal

JUNTA DE REPRESENTANTES (2016-2018)

SECCIÓN	Nombre de Representante	ADSCRIPCIÓN
Calidad	Dra. Rocío Álvarez Román	Universidad Autónoma de Nuevo León
	M. en C. Alex Arias Martínez	Centro de Investigación en Polímeros S.A. de C.V. (Comex)
Educación	Dra. Olivia Zamora Martínez	Universidad Nacional Autónoma de México
	M. en C. Silvia Citlalli Gama González	Universidad Nacional Autónoma de México
Estudiantil	Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo	Universidad Autónoma de Baja California
	Q. Alberto Colín Segundo	Universidad Nacional Autónoma de México
Métodos Espectroscópicos	Dra. Minerva Monroy Barreto	Universidad Nacional Autónoma de México
	M. en C. Gabriel Palacios Huerta	Universidad de Guadalajara
Métodos de Separación	Dra. Judith Amador Hernández	Universidad Autónoma de Coahuila
	Dra. María Gabriela Vargas Martínez	Universidad Nacional Autónoma de México
Química Analítica Ambiental	Dr. Carlos Mario Morales Bautista	Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
	Dr. Eugenio Octavio Reyes Salas	Universidad Nacional Autónoma de México
Electroquímica Analítica	Dra. Luz María Torres Rodríguez	Universidad Autónoma de San Luis Potosí

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

Dr. Mario Ávila Rodríguez
 Dra. María Guadalupe de la Rosa Álvarez
 Dra. María de los Ángeles Mendoza
 Dra. María Concepción García Castañeda
 Dr. Julio César Armas Pérez
 Dr. Édgar Vásquez Núñez
 Dr. José Carlos Cárdenas Guerra
 Dr. José Antonio Reyes Aguilera

“LA TEORÍA GUÍA, EL EXPERIMENTO DECIDE” (I.M.KOLTHOFF)

Primera edición

México, Junio de 2017

ISBN: 978-607-8441-45-7

Obra propiedad de la Asociación Mexicana de Química Analítica

Derechos reservados por los autores

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra

Sin la autorización escrita de la Asociación Mexicana de Química Analítica