



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

**1ª PARTE: SÍNTESIS DE UNA TRIAMINA A PARTIR DE DESECHOS
QUÍMICOS INDUSTRIALES CON INTERÉS PARA EL DISEÑO DE
POLÍMEROS RECICLABLES**

**2ª PARTE: DESARROLLO DE UN MÉTODO DE ICP-MS PARA EL
ANÁLISIS DE TITANIO EN DULCES**

Autor:

Gonzalo de la Torre de Juan

Tutor:

Francisco José Pulido Pelaz

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	2
2. SÍNTESIS DE UNA TRIAMINA A PARTIR DE DESECHOS QUÍMICOS INDUSTRIALES CON INTERÉS PARA EL DISEÑO DE POLÍMEROS RECICLABLES.	3
2.1. Introducción y objetivo.	4
2.2. Procedimiento.	6
2.3. Discusión de resultados.	11
2.4. Conclusiones.	16
2.5. Bibliografía.	17
3. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE ICP-MS PARA EL ANÁLISIS DE TITANIO EN DULCES.	18
3.1. Introducción y objetivo.	19
3.2. Procedimiento.	21
3.3. Discusión de resultados.	25
3.4. Conclusiones.	28
3.5. Bibliografía.	29
ANEXO I: CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA Y CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	31

1. INTRODUCCIÓN.

En esta memoria se presentan los dos proyectos realizados durante el curso 2017-2018 en la Universidad de Gante, en Bélgica, que conforman la asignatura *Bachelor Project*, el cual es equivalente al Trabajo de Fin de Grado en la Universidad de Valladolid.

De acuerdo al reglamento de dicha universidad, cada uno de los proyectos se realizó en uno de los departamentos que constituyen el área de la Química en esta institución.

En primer lugar y dentro del Departamento de Química Orgánica, en el grupo de investigación “Organic synthesis” del Profesor Doctor Johan Winne y bajo la supervisión del estudiante de doctorado Kâmil Ünal, se realizó un estudio de investigación de diferentes rutas sintéticas de aminación de trivinilciclohexano para obtener la correspondiente triamina. Posteriormente, esta triamina sería tratada mediante varios procesos que formarían parte de otro proyecto y de esta manera sería útil para diseñar polímeros reciclables.

Por otro lado, en la parte perteneciente al Departamento de Química Analítica, se investigó la presencia del titanio procedente de un tipo de dulces analizando la concentración total del titanio y caracterizando las nanopartículas de TiO_2 presentes utilizando diferentes metodologías con sistemas de ICP-MS. Este estudio se realizó dentro del grupo de investigación “Atomic & mass spectrometry”, dirigido por el Profesor Doctor Frank Vanhaecke, y fue supervisado por el investigador postdoctoral Eduardo Bolea-Fernández. El resultado de este proyecto podría dar lugar a unas conclusiones relacionadas con la salud y el medio ambiente.

2. SÍNTESIS DE UNA TRIAMINA A PARTIR DE DESECHOS QUÍMICOS INDUSTRIALES CON INTERÉS PARA EL DISEÑO DE POLÍMEROS RECICLABLES.

RESUMEN

En este trabajo se estudiaron diferentes posibilidades para obtener una ruta sintética idónea para la aminación de la molécula trivinilciclohexano.

Cuatro fueron las opciones que se investigaron. En un primer lugar, se experimentó con una secuencia de hidrobtoración continuada con una aminación. Otra ruta investigada fue una síntesis de aminas secundarias a través de N-(benzoiloxi)aminas, ya registrada en bibliografía, que se modificó para tratar de obtener una amina primaria equivalente que luego se pudiera utilizar para sintetizar el producto deseado. Además, se pensó en la posibilidad de realizar una reacción radicalaria seguida de una síntesis de Gabriel. Por último, se estudió la opción de transformar la molécula inicial en el alcohol análogo para posteriormente aminarlo mediante una reacción de Mitsunobu y una síntesis de Gabriel.

Por otra parte, se sintetizó etil fenil hidrazina-1,2-dicarboxilato (EPHD) con el objetivo de utilizarlo como reactivo para la síntesis de una molécula con tres grupos triazolindiona (TAD) que posteriormente puede ser usada con fines relativos al diseño de polímeros reciclables.

ABSTRACT

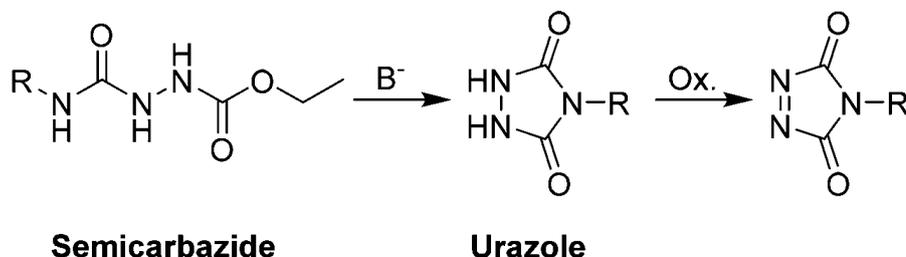
In this work they were studied different possibilities of obtaining an ideal synthetic route for the amination of the molecule trivinylcyclohexane.

There were four options researched. In the first instance, we experimented with a sequence of hydroboration continued by an amination. Another route researched was a synthesis of secondary amines through N-(benzoyloxy)amines. This already registered route was modified in order to obtain an equivalent primary amine that thereafter could be used to synthesize the desired product. Besides, we thought about the possibility of performing a radical reaction followed by a Gabriel synthesis. Finally, the option of transforming the initial molecule into the analogue alcohol was studied in order to subsequently aminate it via Mitsunobu reaction and Gabriel synthesis.

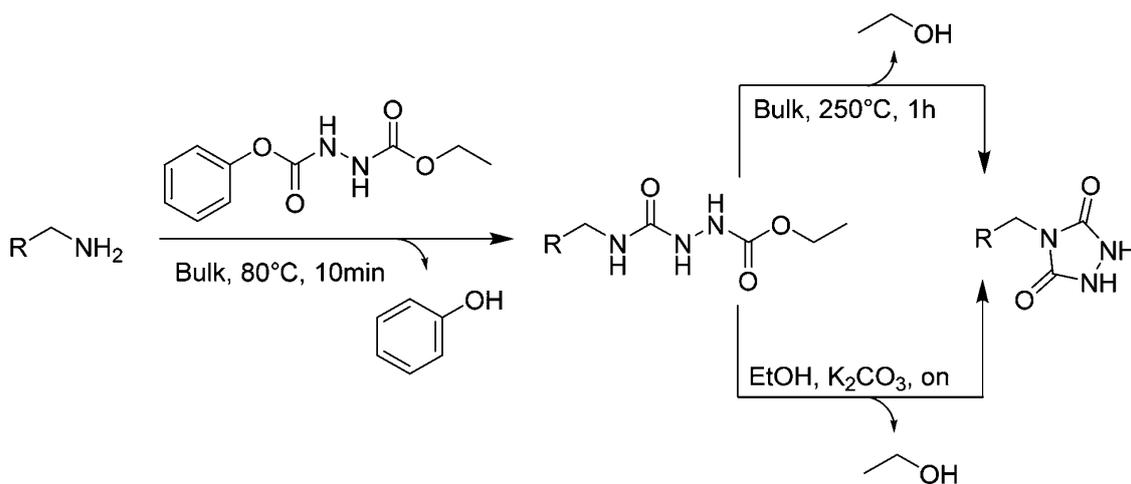
On the other hand, ethyl phenyl hydrazine-1,2-dicarboxylate (EPHD) was synthesized with the aim of using it as a reagent for the synthesis of a molecule with three triazolinedione (TAD) that can later be used for purposes related to the design of recyclable polymers.

2.1. Introducción y objetivo.

Existen algunas rutas sostenibles de síntesis de urazoles, los cuales son las moléculas precursoras de las triazolindionas (**Esquema 1**). Estas rutas no solo evitan el uso de isocianatos, sino que los procedimientos implicados están libres del uso de disolventes, obteniendo además unos rendimientos altos. Para obtener los urazoles con estas rutas, es necesario partir de semicarbazidas (**Esquema 1**), que se pueden conseguir desde las aminas análogas (**Esquema 2**).¹

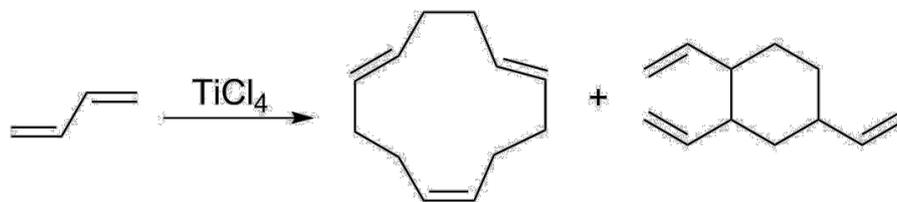


Esquema 1



La molécula con tres grupos TAD (tris-TAD) que se obtendría partiendo de la triamina sintetizada desde el compuesto 1,2,4-trivinilciclohexano es objeto de estudio y se cree que, además de ser útil como reticulado en aceites vegetales, resultaría de gran ayuda para el diseño de polímeros reciclables.

El compuesto 1,2,4-trivinilciclohexano es fácilmente obtenible mediante la producción de ciclododecatrieno (**Esquema 3**) como un subproducto del proceso si este se lleva a cabo en la fase de vapor sobre un catalizador de tetracloruro de paladio a temperaturas entre 400° y 600°. Este ciclododecatrieno se usa en la industria como la sustancia inicial para la obtención industrial del ácido 1,12-dodecandioico.



Esquema 3

La finalidad de esta investigación es encontrar una ruta sintética efectiva para aminor los tres grupos funcionales del trivinilciclohexano y, de esta manera, conseguir el reactivo inicial para producir posteriormente la molécula tris-TAD necesaria para la meta final de diseñar polímeros reciclables.

2.2. Procedimiento.

Los disolventes, de pureza analítica, y los reactivos utilizados fueron obtenidos de distintas casas comerciales y fueron usados sin purificación adicional.

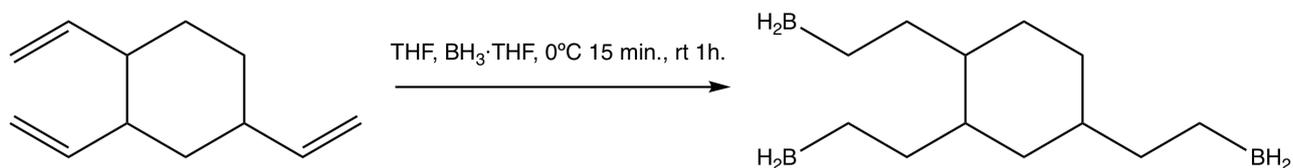
Todos los experimentos se llevaron a cabo en material de vidrio previamente lavado y secado adecuadamente.

2.2.1. Hidroboración y aminación.

Como primera opción para sintetizar la triamina de interés, se experimentó con una metodología² compuesta por las tres etapas que a continuación se describen:

1ª etapa:

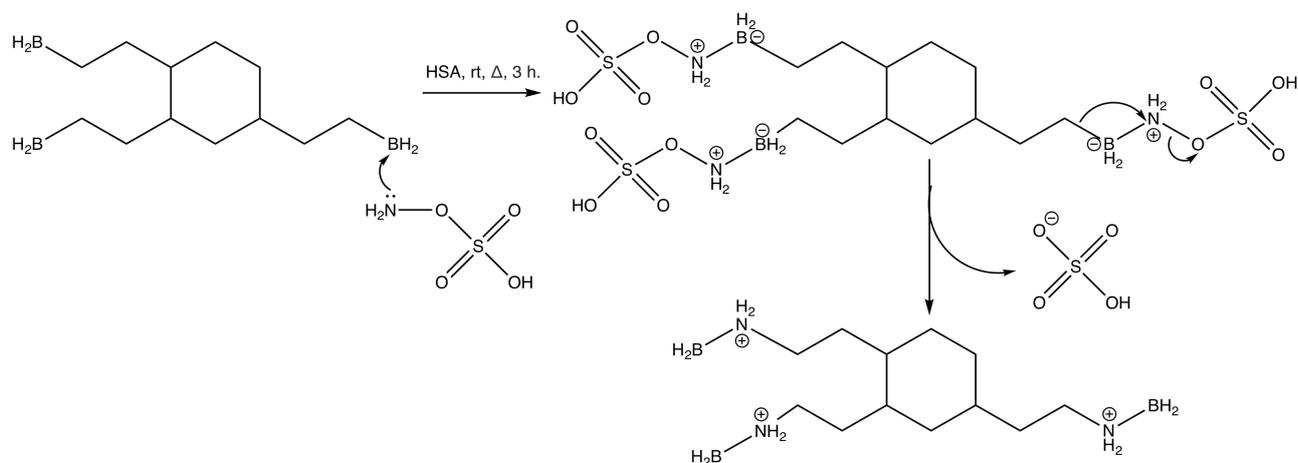
Esta primera parte consiste en la hidroboración del 1,2,4-trivinilciclohexano, en atmósfera libre de oxígeno, utilizando tetrahidrofurano (THF) como disolvente y partiendo de una temperatura de 0°, dejando que llegue posteriormente hasta la temperatura ambiente.



Esquema 4

2ª etapa:

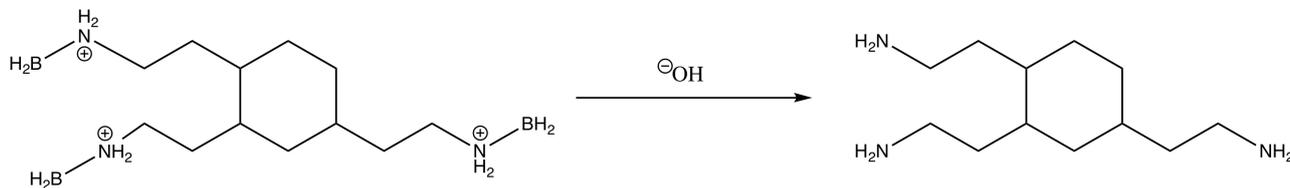
En esta segunda fase, se hace reaccionar el producto de la etapa anterior con ácido hidroxilamina-O-sulfónico (HSA) en ausencia de oxígeno y calentando a reflujo.



Esquema 5

3ª etapa:

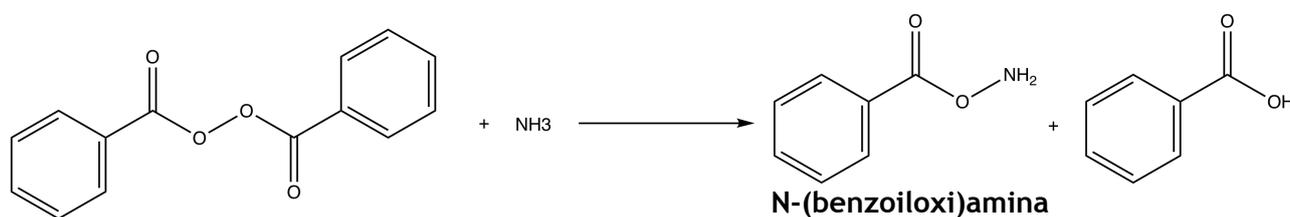
Para terminar se añade hidróxido de sodio (NaOH) con el fin de romper los enlaces N-BH₂ presentes en el producto de la anterior reacción por medio de la neutralización que tiene lugar.



Esquema 6

2.2.2. Síntesis a través de N-(benzoiloxi)aminas.

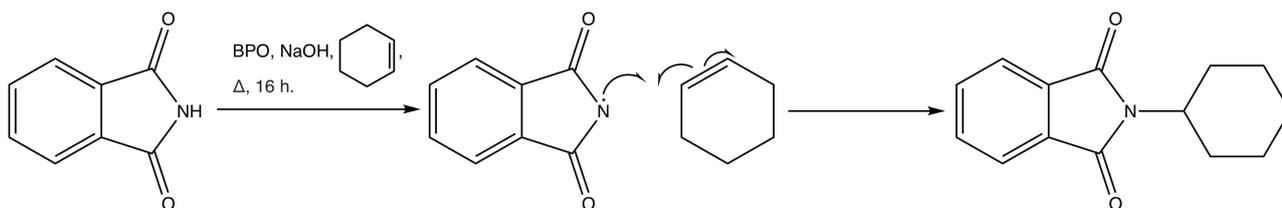
Se investigó una modificación de la síntesis de aminas secundarias vía N-(benzoiloxi)aminas y organoboranos³ sustituyendo la amina primaria como reactivo que se añade al peróxido de benzoilo (BPO) por amoníaco para así intentar obtener una amina primaria análoga en lugar de una secundaria.



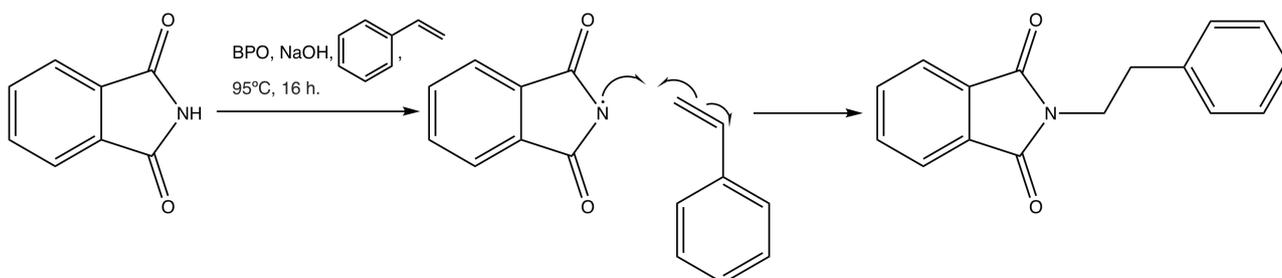
Esquema 7

2.2.3. Reacción radicalaria.

Se trató de sintetizar la triamina por medio de la creación de un radical en el átomo de nitrógeno del primer reactivo, la ftalimida⁴, para hacerlo interaccionar con los dobles enlaces del 1,2,4-trivinilciclohexano en presencia de peróxido de benzoilo, ya que es un iniciador de reacciones radicalarias. Sin embargo, para probar la eficiencia del método, se realizaron dos reacciones análogas previas utilizando ciclohexeno (Esquema 8) y estireno (Esquema 9), respectivamente, en lugar de 1,2,4-trivinilciclohexano.



Esquema 8



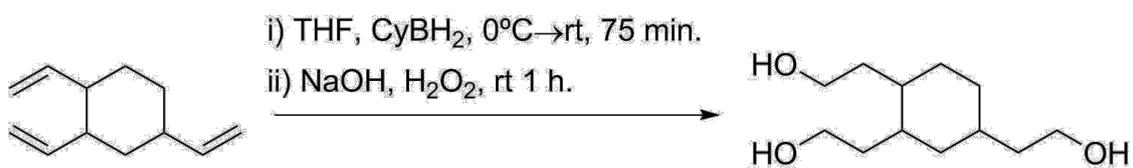
Esquema 9

2.2.4. Reacción de Mitsunobu y síntesis de Gabriel.

La última ruta estudiada consta de las tres etapas siguientes:

1ª etapa:

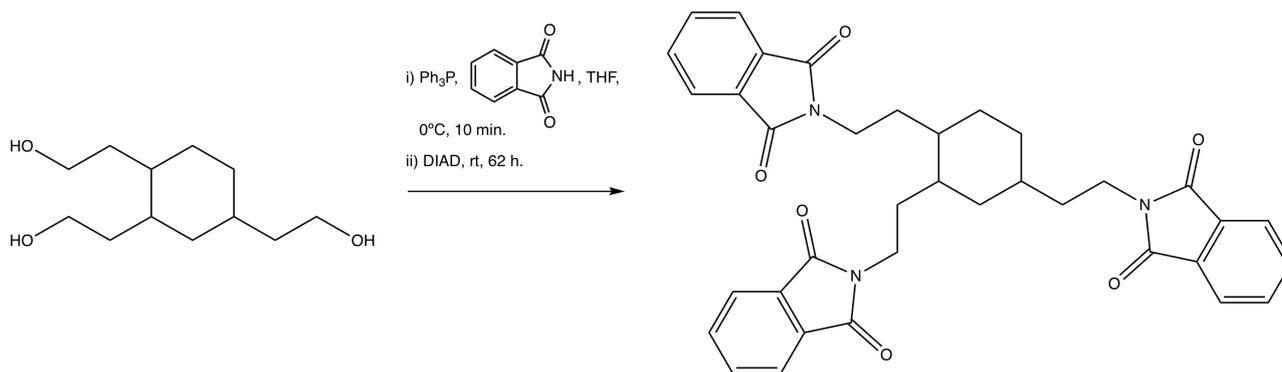
El primer paso es la transformación de la molécula inicial en el triol correspondiente mediante un proceso de hidroborcación continuado por una oxidación efectuada por el ataque de NaOH^2 , siendo el grupo hidróxido el que ataca al carbono al que se une el boro y sustituye a este último.



Esquema 10

2ª etapa:

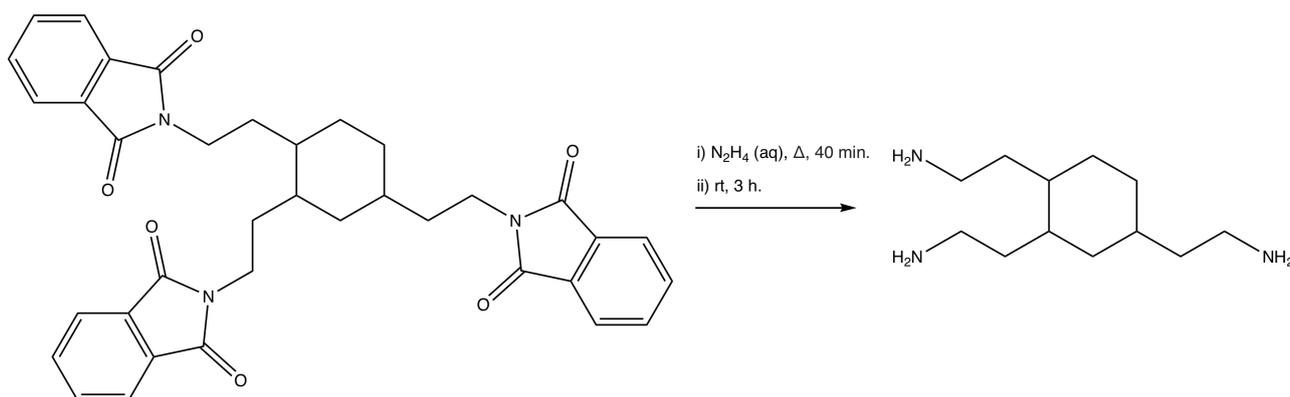
La segunda parte trata de la conversión de cada grupo alcohol en una ftalimida N-sustituida⁵ usando la reacción de Mitsunobu, mediante la cual se hace reaccionar el triol obtenido en la primera etapa con ftalimida en presencia de azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) y trifenilfosfina.



Esquema 11

3^a etapa:

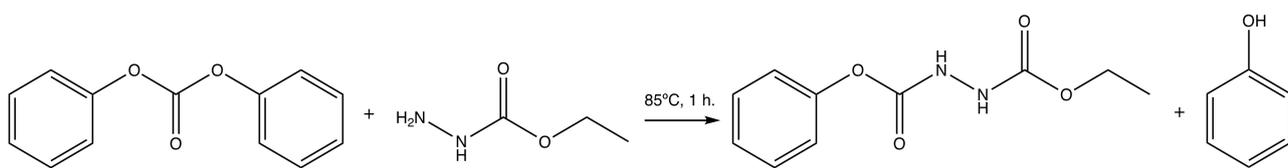
Finalmente, se lleva a cabo una síntesis de Gabriel⁶. De esta manera, el producto obtenido en la anterior etapa reacciona con hidrazina a reflujo para alcanzar la triamina deseada.



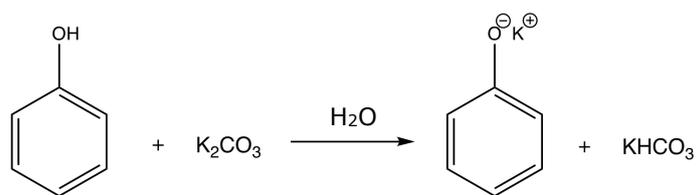
Esquema 12

2.2.5. Síntesis de etil fenil hidrazina-1,2-dicarboxilato (EPHD).

Se llevó a cabo una reacción (**Esquema 13**) presente en la bibliografía¹, con la cual se hizo reaccionar difenil carbonato (DPC) con etil carbazato (EC) a una temperatura de 85°C , ya que ambos reactivos son sólidos a temperatura ambiente, y en una atmósfera ausente de oxígeno. Se obtuvo el compuesto deseado y un subproducto, fenol, que fue eliminado (**Esquema 14**) mediante la adición de agua fría, ya que el fenol es soluble en ella y el enlace O-C se rompería si se usara agua caliente, y carbonato potásico porque la sal correspondiente es incluso más soluble en el agua y esto hace más fácil su eliminación.



Esquema 13



Esquema 14

2.3. Discusión de resultados.

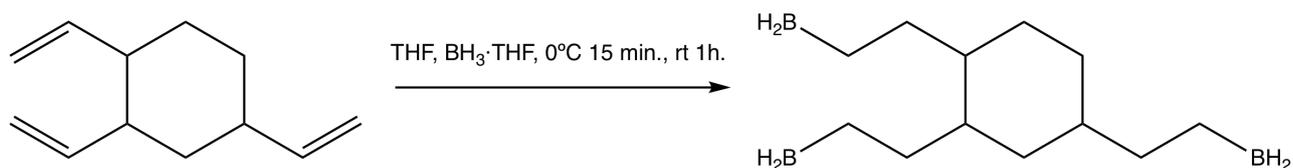
En este apartado se comentará cada una de las metodologías estudiadas que se han mencionado anteriormente haciendo hincapié en los resultados obtenidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y las Cromatografías en Capa Fina (CCF) se encuentra en el Anexo I al final de esta memoria.

2.3.1. Hidroboración y aminación.

1ª etapa:

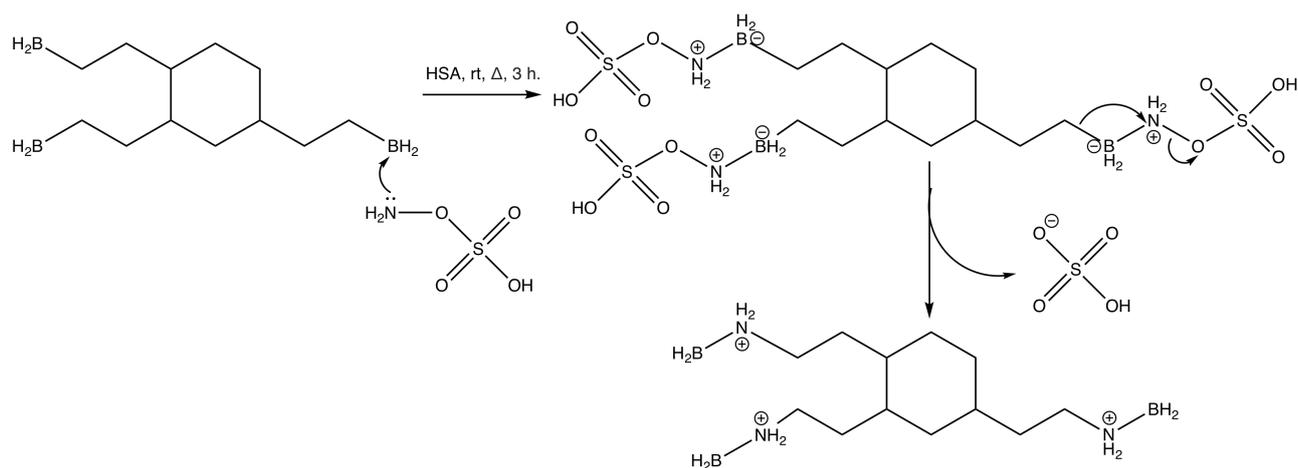
Tras la reacción de 1,2,4-trivinilciclohexano con borano se obtuvo el producto borado deseado.



Esquema 15

2ª etapa:

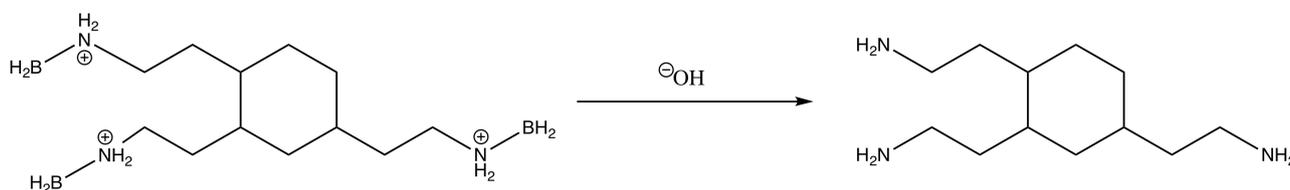
De la adición de HSA en cantidad estequiométrica con respecto a los grupos borano con reflujo y en ausencia de oxígeno se esperaba la introducción de átomos de nitrógeno en la molécula, pero no se comprobó la efectividad del método hasta la siguiente etapa.



Esquema 16

3ª etapa:

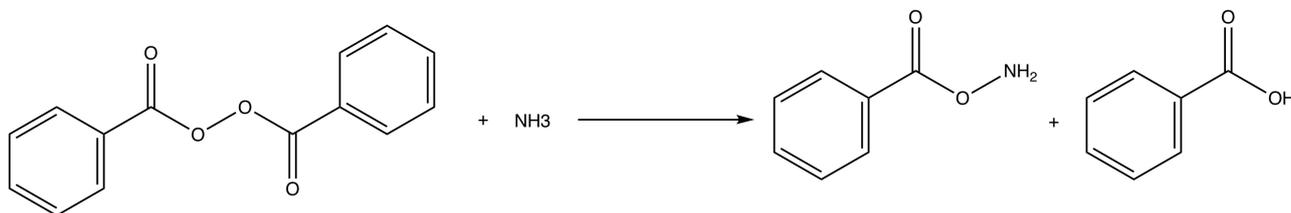
Teniendo como objetivo romper los enlaces N-BH₂, se añadió NaOH y se hizo una extracción con diclorometano. Tras el estudio mediante CCF de las dos fases obtenidas y RMN de la fase básica, se observó que en el resultado no había presencia de la triamina esperada, aunque si había compuestos aminados parcialmente.



Esquema 17

2.3.2. Síntesis a través de N-(benzoiloxi)aminas.

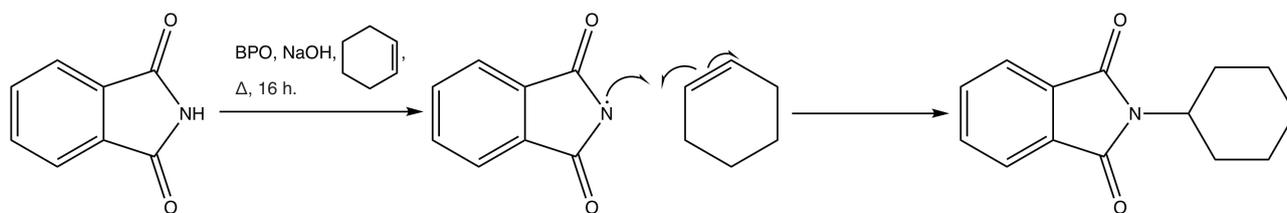
Se trató de obtener una amina primaria haciendo reaccionar amoniaco con peróxido de benzoilo, siendo esta una variación de la idea original³ con la que se sintetizan aminas secundarias mediante la reacción del peróxido de benzoilo con una amina primaria. Sin embargo, el resultado fue negativo, ya que se comprobó mediante CCF y RMN que la reacción no llegó a iniciarse.



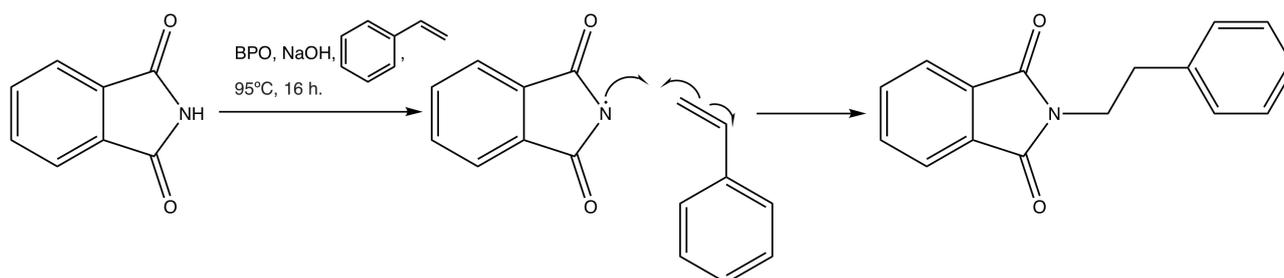
Esquema 18

2.3.3. Reacción radicalaria.

En un primer lugar, se intentó llevar a cabo la reacción radicalaria con ciclohexeno en condiciones normales pero tras realizar CCF y RMN se vio que el proceso no llegó a iniciarse, por lo que se trató de hacer la misma reacción y otra análoga sustituyendo el ciclohexeno por estireno y aplicando presión a 95° y reflujo, respectivamente. Tras 16 horas, se añadió ácido, ya que los ácidos hacen que las reacciones radicalarias terminen. A continuación, se realizó un CCF con la que se comprobó que los reactivos iniciales no habían sufrido ningún cambio con respecto al comienzo del experimento, lo cual se podía constatar con el olor de las disoluciones, ya que en ambos casos los olores son muy característicos.



Esquema 19

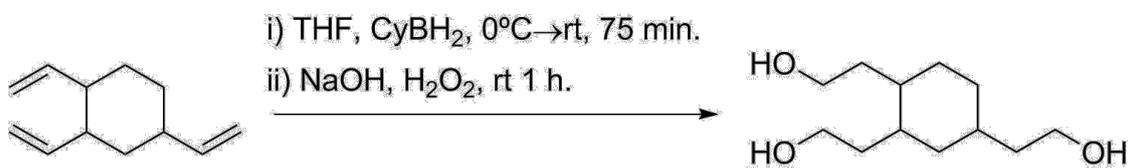


Esquema 20

2.3.4. Reacción de Mitsunobu y síntesis de Gabriel.

1ª etapa:

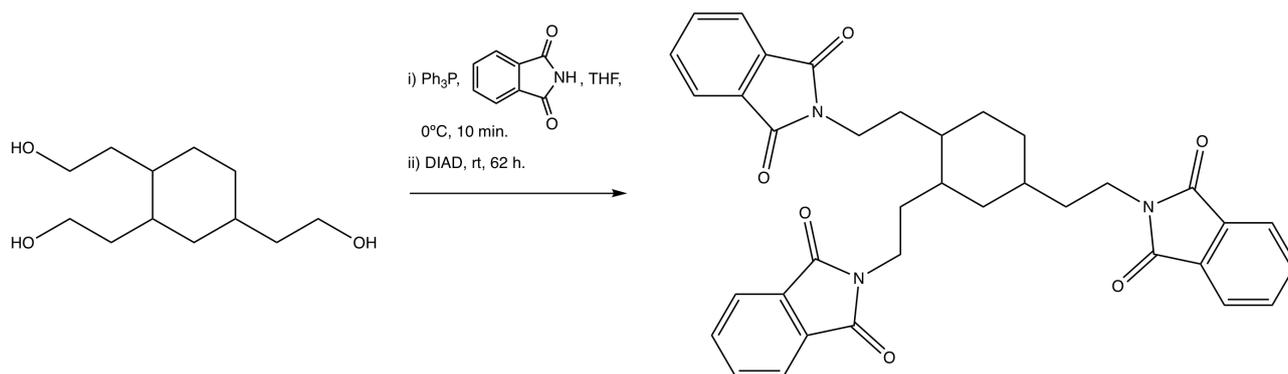
Siguiendo el proceso conveniente para la transformación de un doble enlace en un grupo hidroxilo² y teniendo en cuenta que en la molécula inicial hay tres dobles enlaces, se obtuvo el resultado esperado con una conversión cuantitativa. Como subproducto se obtuvo ciclohexanol, el cual se eliminó mediante la adición de tolueno y su posterior evaporación, aplicando el concepto de azeótropos.



Esquema 21

2ª etapa:

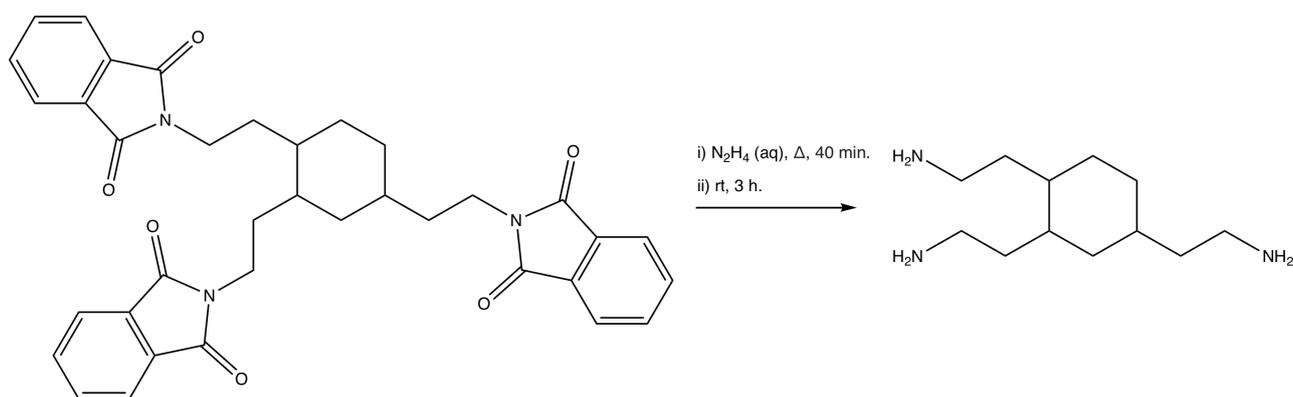
Se llevó a cabo la reacción de Mitsunobu poniendo en disolución el producto de la primera etapa y ftalimida en presencia de trifenilfosfina y DIAD⁵ y se obtuvo un espectro de RMN que concordaba adecuadamente con el resultado esperado y, además, mediante una CCF se comprobó que no quedaba nada del triol inicial.



Esquema 22

3ª etapa:

El último paso fue la síntesis de Gabriel⁶, para la cual se hizo reaccionar el compuesto obtenido en la segunda etapa con hidrazina. A través de una CCF se pensó que existía una mezcla de moléculas en las que se habían sustituido los grupos ftalimida por grupos amino total y parcialmente. Otra evidencia existente era el color de la disolución, ya que era amarilla y las aminas suelen presentar esta característica. Finalmente, se realizó una prueba de RMN del líquido obtenido y se observó que existía principalmente disolvente. También se obtuvo un espectro de RMN del sólido resultante y, aunque se pudo encontrar que mayoritariamente estaba formado por ftalimida, algunos picos del espectro daban lugar a la idea de que la triamina estaba presente en él.

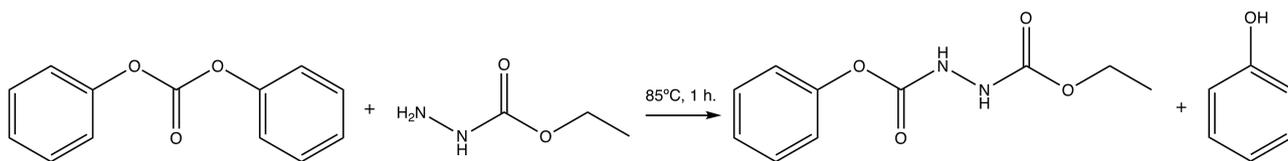


Esquema 23

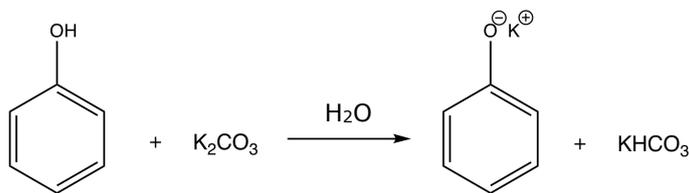
Con el objetivo de aislar la triamina del resto del precipitado, se procedió a realizar una extracción ácida seguida por una extracción básica y la fase orgánica resultante se analizó mediante una prueba de RMN pero se descubrió que no se trataba de la triamina, sino que probablemente era DIAD reducido tras la reacción. Desafortunadamente y debido a la falta de más tiempo, no se llegó a aislar adecuadamente la triamina, por lo que no se llegó a sintetizar la semicarbazida precedente al urazol.

2.3.5. Síntesis de etil fenil hidrazina-1,2-dicarboxilato (EPHD).

Se procedió exactamente como se detalla en la bibliografía correspondiente a esta síntesis y tras el tiempo estimado se obtuvo EPHD y se eliminó adecuadamente el fenol generado como subproducto.



Esquema 24



Esquema 25

2.4. Conclusiones.

Analizando cada una de las metodologías con las que se trabajó para obtener la triamina, se pueden extraer varios puntos.

En primer lugar, se puede pensar que en el primer procedimiento la hidrobtoración funciona correctamente dando el compuesto objetivo y que, sin embargo, el HSA no es capaz de interactuar con los tres grupos funcionales de la molécula al mismo tiempo.

Atendiendo a la segunda técnica que se investigó, cabe decir que el amoniaco, a diferencia de una amina primaria, no es capaz de reaccionar con el peróxido de benzoilo. Debido a este hecho la reacción no llegó a iniciarse si quiera.

Con respecto a la reacción radicalaria, la razón por la que no funcionó fue presumiblemente el hecho de que no llegara a propagarse porque las condiciones con las que se trabajó eran idóneas para que la reacción al menos se iniciara.

La mejor opción entre las estudiadas fue sin duda la utilización de la reacción de Mitsunobu a partir del triol análogo al compuesto inicial y la posterior síntesis de Gabriel. El principal reto en este caso es el aislamiento de la triamina. Una vez obtenida se podría conseguir fácilmente la semicarbazida haciendo reaccionar la anterior molécula con EPHD, como dicta la bibliografía.¹

2.5. Bibliografía.

¹ Vlaminck, Laetitia, Babs Van de Voorde, and Filip E. Du Prez. "Sustainable synthesis routes towards urazole compounds." *Green Chemistry* 19.23 (2017): 5659-5664.

² Brown, Herbert C., et al. "Organoboranes for synthesis. 7. An improved general synthesis of primary amines from alkenes via hydroboration-organoborane chemistry." *Tetrahedron* 43.18 (1987): 4071-4078.

³ Phanstiel IV, O., et al. "Synthesis of secondary amines via N-(benzoyloxy) amines and organoboranes." *The Journal of organic chemistry* 64.3 (1999): 803-806.

⁴ 邹从伟周芬戴久坤沈永刚邹从欢. Patent CN 201410137708. "A method for the synthesis of industrial chemicals N-butyl-N- phthalimide." 08-04-2014.

⁵ Więcek, Małgorzata, et al. "N-Alkenyl and cycloalkyl carbamates as dual acting histamine H₃ and H₄ receptor ligands." *Bioorganic & medicinal chemistry* 19.9 (2011): 2850-2858.

⁶ Gibson, M. S., and R. W. Bradshaw. "The Gabriel synthesis of primary amines." *Angewandte Chemie International Edition* 7.12 (1968): 919-930.

3. DESARROLLO DE UN MÉTODO DE ICP-MS PARA EL ANÁLISIS DE TITANIO EN DULCES.

RESUMEN

En este segundo proyecto se hizo uso de la técnica de análisis de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para investigar la presencia de nanopartículas (NP) de TiO₂ en un producto comercializado de goma de mascar.

La razón de este trabajo es que el uso de las nanopartículas de ingeniería (ENP) ha aumentado exponencialmente en la última década en una gran variedad de campos y, como se constata en diversos estudios, sus efectos pueden ser peligrosos, por lo cual la preocupación por ellas es notable. Respecto a las nanopartículas de titanio, estas han sido encontradas en diferentes productos de alimentación, especialmente en aquellos que son consumidos por las personas más jóvenes, como es el caso de los dulces.

El método de análisis utilizado no está libre de dificultades. De hecho, algunas de las complicaciones con las que se lidió fueron las interferencias espectrales y la capacidad para realizar las mediciones en condiciones aptas para el modo de partículas individuales, es decir, de una en una.

ABSTRACT

In this second project, the mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-MS) analysis technique was used to investigate the presence of TiO₂ nanoparticles (NP) in a commercialized product of chewing gum.

The background of this work is that the engineered nanoparticles (ENP) use has grown exponentially during the last decade in a wide variety of fields and, as noted in several studies, its effects can be dangerous, and therefore the concern about them is remarkable. With respect to the titanium nanoparticles, they have been found in different food products, especially in those that are consumed by young people, as is the case of sweets.

The analysis method that was used is not free from challenges. In fact, some of the difficulties that were dealt with were the spectral interferences and the ability to measure under real single particle conditions, i.e., one by one.

3.1. Introducción y objetivo.

El dióxido de titanio (TiO_2) es un aditivo comúnmente usado en gran cantidad de productos de alimentación, de cuidado personal y de otros tipos que están al alcance de la mayor parte de la población. Cuando las personas consumen alguno de estos productos, el compuesto entra en el organismo y, tras su uso, llega a las aguas residuales y, consecuentemente, entra en contacto con el medio ambiente.⁷

La razón por la que se añade el TiO_2 a determinados productos es para dar a estos una apariencia más atractiva de la que tienen sin él, además de funcionar como excipiente cuando se encuentra en complejos multivitamínicos y medicamentos.⁸

La cantidad de titanio en productos de consumo ha sido cuantificada en alguna ocasión, llegando a la conclusión de que los alimentos con concentraciones más altas de TiO_2 incluyen dulces y golosinas, mientras que dentro de los productos de cuidado personal, las pastas dentífricas y las cremas solares tenían entre 1% y 10% de titanio en su peso. Aunque en algunas clases de productos las concentraciones de titanio encontradas son pequeñas, el uso generalizado y su posterior llegada a las plantas de tratamiento de aguas residuales llaman la atención. También se ha identificado que los niños son quienes están más expuestos debido a que las golosinas tienen mayores cantidades de titanio que otras comidas. Por último, está constatado que la cantidad de titanio a la que está expuesto normalmente un adulto es de 1 mg por cada kilogramo de peso.⁷

Algunos estudios han investigado los efectos que el TiO_2 tiene tanto en la salud humana como en el medio ambiente. Las conclusiones no son claras, ya que los resultados de unos estudios y de otros no concuerdan totalmente. Aun así, debido al uso masivo que se hace hoy en día de las nanopartículas de ingeniería, la preocupación por los posibles efectos peligrosos que estas conllevan está aumentando y existe una necesidad por investigar más acerca de este asunto.⁹

Algunos de los presuntos efectos que el TiO_2 origina en el ser humano están relacionados con la inflamación de las vías respiratorias y con la aparición de asma en el caso de su inhalación; mientras que si se ingiere, los problemas asociados al titanio son la enfermedad de Crohn y el cáncer de colon; y sin embargo, las lesiones en el bazo, el hígado, los riñones y el cerebro se relacionan principalmente a la exposición intravenosa. Respecto a los estudios de ecotoxicología, se conocen aún menos datos acerca de los resultados negativos que pueden causar las nanopartículas de TiO_2 . No obstante, se ha comprobado que esta sustancia inhibe el crecimiento de algunas algas y plantas y que en estas últimas también puede incrementar la peroxidación lipídica y dañar el ADN.^{7,8,10}

Con motivo del interés hacia este compuesto aditivo, el objetivo de este proyecto es la cuantificación de todo el titanio procedente de unos chicles de la marca Stimorol comercializados en supermercados comunes en Bélgica, así como la caracterización y la cuantificación de las nanopartículas de TiO_2 . De esta manera se podrá observar cuán expuesta está una persona que consume este artículo.

Existen muchas técnicas analíticas disponibles para la toma de medidas a escala nanométrica pero solo algunas de ellas pueden ser aplicadas con buenos resultados en estudios de salud y medio ambiente. Entre los métodos para abordar la distribución del tamaño de partícula se encuentran la microscopía electrónica, la cromatografía, la dispersión dinámica de luz, la ultrafiltración analítica y el fraccionamiento campo-flujo. Sin embargo, la falta de especificidad de estas técnicas resulta ser un problema para matrices complejas que pueden contener nanopartículas naturales con distribuciones de tamaños polidispersas y con composiciones

heterogéneas. Por esta razón se necesitan técnicas con sensibilidad en su detección si se requiere información específica acerca de la composición elemental y de la concentración de nanopartículas. Desafortunadamente, también pueden aparecer complicaciones con algunas técnicas de detección debido a la falta de sensibilidad en la caracterización y cuantificación de partículas en concentraciones relevantes para el medio ambiente.¹¹

Una técnica que está resultando de gran valor para la detección y medición de nanopartículas metálicas es el plasma acoplado inductivamente con espectrometría de masas usando el modo de partículas individuales (SP-ICP-MS). Para poder usar esta metodología se debe usar el modo TRA (Time Resolved Analysis), mediante el cual se consigue recopilar la intensidad de una partícula individual cuando esta se vaporiza y se ioniza en el plasma (**Figura 1**). Su combinación de especificidad elemental, resolución en las mediciones e inigualable sensibilidad la hace extremadamente aplicable a la caracterización de elementos como Ag, Au, Ti y Si, estando todos ellos presentes en artículos como alimentos, fármacos y productos de cuidado personal.¹¹⁻¹⁶

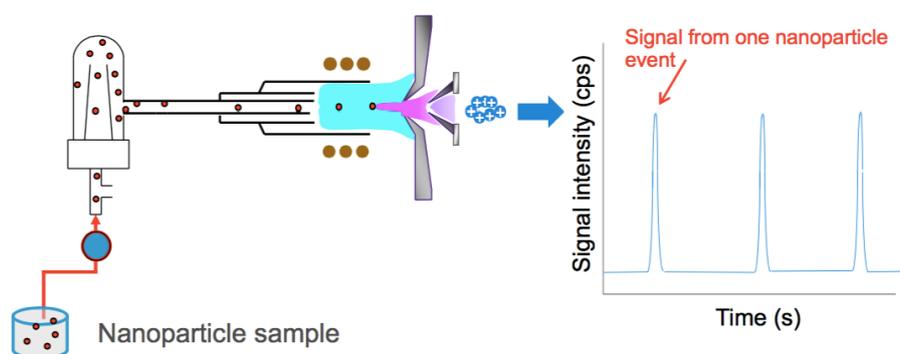


Figura 1

Por otra parte, para el análisis de muestras en las que el elemento a analizar se encuentra en concentraciones muy pequeñas se usa el ICP de triple cuadrupolo (ICP-QQQ). Desde que en 1983 salió a la luz el ICP-MS, esta técnica fue considerada como la ideal para el análisis multielemental de trazas y ultratrazas. Diversas herramientas fueron desarrolladas para conseguir la disminución de la aparición de interferencias de todo tipo pero fue con la creación de la técnica de ICP-QQQ cuando se consiguió minimizar con efectividad estas interferencias y se descubrió que las posibilidades de la técnica eran todavía mayores. En el ICP-QQQ, el cuadrupolo tradicional está precedido por una celda de colisión/reacción (CRC), la cual ayuda a reducir significativamente las interferencias tanto poliatómicas como espectrales usando un gas que puede ralentizar los iones poliatómicos o que reacciona con el ion del analito para cambiar su masa y que así no tenga la misma que otros iones en la muestra. El primer cuadrupolo, situado justo antes que la CRC se usa simplemente como una guía para los iones, ya que permite que pasen a la CRC únicamente los iones con la misma relación masa/carga (m/z) que el analito. En caso de usar el primer y el tercer cuadrupolo, se dice que se opera en modo tándem o MS/MS.¹⁷

Un parámetro importante para el análisis de nanopartículas individuales es el tiempo muerto, que es el periodo durante el cual el instrumento de análisis acumula la señal. Si el tiempo muerto es demasiado largo, la señal de fondo será mayor que la óptima, y si es demasiado corto, la señal no se medirá con fiabilidad.¹⁷

3.2. Procedimiento.

En el desarrollo de este proyecto se utilizaron los sistemas ICP-QQQ Agilent 8900 (**Figura 2**) e ICP-MS Agilent 7900 (**Figura 3**). Los parámetros más relevantes que se establecieron para el trabajo con cada uno de los instrumentos se detallan en las tablas I y II.



Figura 2

La solución de calibración consistía en una mezcla comercializada por la marca Agilent, ya preparada y específica para la calibración de equipos de la propia empresa.

Se hizo uso de una solución stock de Au como material de referencia para el equipo con el que se trabajó en la medición del tamaño de partícula. El tamaño de las partículas de Au de esta disolución era de 50 nm y la concentración era de 1000 ppm.



Figura 3

Para la preparación de las soluciones patrón de Ti se utilizó una solución stock comprada con una concentración de 1000 ppm.



Figura 4

El agua utilizada en todo momento era ultrapura y obtenida con un sistema de purificación Milli-Q. En ciertos casos se añadió HNO₃ a este agua.

Los chicles Stimorol (**Figura 4**) analizados se compraron en abril de 2018 en un supermercado común de Gante.

Tabla I: Parámetros del instrumento de ICP-QQQ usados para este análisis

Parámetro	Valor
Instrumento	ICP-QQQ Agilent 8900
Nebulizador	Concéntrico
Cámara de nebulización	De doble paso (tipo Scott)
Antorcha e inyector	Antorcha de cuarzo e inyector de cuarzo de 1,5 mm de diámetro
Potencia	1600 W
Gas de plasma	Ar; 18 L/min
Gas auxiliar	Ar; 1,15 L/min
Gas nebulizador	Ar; 0,097 L/min
Velocidad de toma de muestra	0,5 mL/min
Discriminación por energía	-8,0 V
Tiempo muerto	100 μs
Tiempo de muestreo	60 μs

Tabla II: Parámetros del instrumento de ICP-MS usados para este análisis

Parámetro	Valor
Instrumento	ICP-MS Agilent 7900
Nebulizador	Concéntrico
Cámara de nebulización	De doble paso (tipo Scott)
Antorcha e inyector	Antorcha de cuarzo e inyector de cuarzo de 1,5 mm de diámetro
Potencia	1600 W
Gas de plasma	Ar; 18 L/min
Gas auxiliar	Ar; 1,10 L/min
Gas nebulizador	Ar; 0,10 L/min
Velocidad de toma de muestra	0,5 mL/min
Tiempo muerto	100 μ s

3.2.1. Puesta a punto.

Se probó el equipo de ICP-MS utilizando una solución de calibración que contenía Li, Mg, Y, Ce y Tl. El Li, el Y y el Tl se usan para tener una relación masa/carga (m/z) baja, una intermedia y una alta y de esta manera obtener un rango amplio en el que va a medir posteriormente el equipo y dentro del cual se va a encontrar la relación m/z del analito que se va a estudiar. El Mg es utilizado para que el sistema tenga en cuenta las dobles cargas y así monitorizarlo. Por último, el Ce ayuda a evitar en cierta medida las interferencias poliatómicas, ya que este elemento forma fácilmente óxidos y de esta manera se monitoriza el equipo.

3.2.2. Curva de calibración.

Lo primero que se hizo fue preparar cinco soluciones patrón de Ti a partir de la solución stock de 1000 ppm y diluyendo con agua ultrapura con 1% de HNO_3 . Estas soluciones patrón tenían concentraciones de 0 ppb, 0,5 ppb, 1 ppb, 2,5 ppb, 5 ppb y 10 ppb.

A continuación se realizaron las medidas en el equipo de ICP-QQQ para obtener la curva de calibración para la cuantificación total de Ti. Se usó una disolución de agua ultrapura con una concentración 0,42 M de HNO_3 para limpiar el equipo entre una medida y otra.

3.2.3. Preparación de la muestra.

La técnica de ICP-MS es específica para la medición de ultratrazas y es por esto que la dilución de las muestras es muy importante, ya que si la concentración es demasiado elevada el equipo puede estropearse, sin olvidar que los resultados no serán óptimos tanto si la dilución es excesiva como si es insuficiente.

Debido a que las muestras con las que se trabajó eran chicles cuyas capas externas se disolvían con gran eficacia al añadir agua, no hizo falta realizar una digestión ácida, sino que bastó con esta adición de 40 mL de agua ultrapura a cada una de los tres dulces elegidos aleatoriamente que fueron sujeto del estudio.

Seguidamente, los tres tubos con los chicles en agua se llevaron a un baño de ultrasonidos durante 25 min para disolver aún más las extracciones.

Por una parte, para la preparación de las muestras de las cuales se iba a obtener la cuantificación total del Ti presente en los chicles, el factor de dilución utilizado fue 10^4 .

Por la otra parte, para la preparación de las muestras cuya medición proporcionaría la información necesaria para la caracterización y cuantificación de las nanopartículas de TiO_2 , inmediatamente después del baño de ultrasonidos se diluyó una muestra representativa de cada uno de los tres casos con un factor de dilución de $5 \cdot 10^5$, ya que se habían hecho pruebas previas en las que se observó que con factores de hasta 10^6 el resultado en la gráfica de cuentas por segundo (CPS) frente al tiempo no proporcionaba prácticamente señal, por lo que la dilución era excesiva, mientras que con un factor de dilución de 10^5 las señales se solapaban, lo que quería decir que la concentración era demasiado grande.

3.2.4. Medida de la muestra para la cuantificación total de Ti.

Se utilizó el sistema de ICP-QQQ en modo MS/MS, ya que de esta manera las interferencias que pueden afectar al análisis de algunos de los isótopos de Ti son minimizadas con gran eficacia.

El modo de trabajo empleado para la celda de colisión/reacción fue el modo mass-shift para que el amoníaco, que fue el gas de reacción que se seleccionó, con el Ti^+ diera lugar a $\text{Ti}(\text{NH}_3)_6^+$, cuya masa de 150 g/mol sería objeto de la medición y así las interferencias presentes con el primer analito fueran evitadas. El flujo volumétrico del gas de reacción establecido era de 2 mL/min. Se dejó un tiempo de estabilización para el gas de reacción antes de comenzar con las medidas.

El rango de relaciones m/z que se estableció para el primer cuadrupolo comprendía los valores 46-50, mientras que para el segundo cuadrupolo los valores iban desde 148 hasta 152, siendo respectivamente los valores de las masas de Ti^+ y de $\text{Ti}(\text{NH}_3)_6^+$ teniendo en cuenta todos los isótopos.

Los parámetros que se establecieron en el sistema con el que se trabajó para la cuantificación del Ti se presentan en la **Tabla I**.

3.2.5. Medida del compuesto de referencia.

La eficiencia del transporte de iones del equipo de ICP-MS se obtiene observando la distribución del tamaño de partícula de un metal de referencia con un tamaño de partícula conocido. En el caso de esta técnica analítica suele usarse el oro. Además, al hacer este análisis también se

Se prepararon tres disoluciones de Au de concentraciones 0 ppb, 0,5 ppb y 1 ppb a partir de la solución stock de 1000 ppm.

Se obtuvo la calibración midiendo las muestras con el ICP-MS Agilent 7900 usando tiempo de integración de 1 s y un tiempo muerto de 100 μs . A partir de los resultados se representó una curva de calibración para el Au.

3.2.6. Medida de la muestra para el análisis de las nanopartículas de TiO_2 .

Usando el instrumento de ICP-MS Agilent 7900 en modo TRA (Time Resolved Analysis) se analizaron las tres muestras previamente preparadas para obtener el tamaño medio de partícula y la concentración de nanopartículas en masa. De esta manera se conseguía aplicar el modo de partículas individuales (SP-ICP-MS) para realizar el análisis adecuado obteniendo una señal por cada nanopartícula de TiO_2 que pasa por el detector.

Los parámetros del ICP-MS con los que se trabajó para obtener la información de las nanopartículas de TiO_2 se pueden observar en la **Tabla II**.

3.3. Discusión de resultados.

3.3.1. Preparación de la muestra.

En las siguientes imágenes se puede observar la evolución desde la extracción del chicle con agua ultrapura (**Figura 5**) pasando por el baño de ultrasonidos para conseguir que el chicle se disolviera en el agua eficazmente (**Figura 6**) y terminando con la muestra habiendo aplicado el correspondiente factor de dilución (**Figura 7**).



Figura 5



Figura 6



Figura 7

3.3.2. Cuantificación total de Ti.

En la curva de calibración (**Figura 8**) que se obtuvo al analizar las soluciones patrón de Ti solo se representaron los resultado para los isótopos ^{47}Ti y ^{49}Ti debido a que, en los resultados del análisis de las muestras, se averiguó que había interferencias afectando a las medidas, sobre todo al isótopo más abundante, el ^{48}Ti , aunque también eran notables en el ^{46}Ti y ^{50}Ti .

Esto no supuso un gran problema ya que con las medidas del ^{47}Ti y ^{49}Ti (**Tabla III**) fue suficiente para obtener la información deseada.

Tabla III: Datos obtenidos para la cuantificación de Ti

^{47}Ti	Concentración (ppb)	0	0,5	1	2,5	5	10
	Intensidad (CPS)	3162,265	11464,997	19297,95	42439,439	81337,427	158573,617
^{49}Ti	Concentración (ppb)	0	0,5	1	2,5	5	10
	Intensidad (CPS)	646,219	6553,179	12342,6	29389,527	58241,047	115060,191

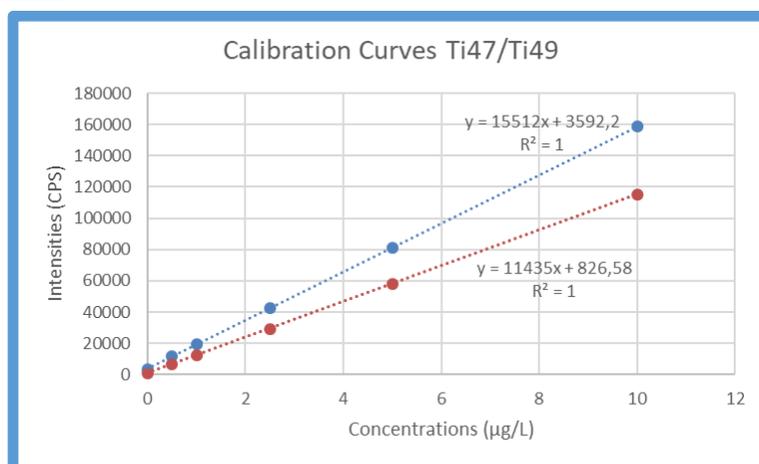


Figura 8

En la **tabla IV** se plasman los resultados (intensidades) obtenidos en el análisis de las muestras, así como la información obtenida a partir de ellos (concentraciones, límite de detección y límite de cuantificación).

Tabla IV	I 1 (CPS)	I 2 (CPS)	I 3 (CPS)	I media (CPS)	C muestra (µg/L)	C chicle (mg/g)	% m/m	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
⁴⁷ Ti	112161,18	124300,998	106902,159	114454,779	7,147	1,33	0,13	0,02	0,08
⁴⁹ Ti	82524,385	84879,141	76425,194	81276,24	7,035	1,31	0,13	0,007	0,02

El valor de la concentración de Ti en el chicle obtenido con uno de los isótopos no es significativamente distinto al otro, con lo que se puede confirmar que el resultado es válido y que, como se mencionó anteriormente, estos dos isótopos no fueron afectados por interferencias.

3.3.3. Análisis de las nanopartículas de TiO₂.

En primer lugar se analizó el compuesto de referencia (Au), a partir del cual se obtuvieron la calibración iónica (**Figuras 9 y 10**) y la distribución del tamaño de partícula (**Figura 11**). También se pudo diseñar la curva de calibración (**Figura 12**) con los valores de intensidad para cada concentración analizada, los cuales figuran en la **tabla V**.

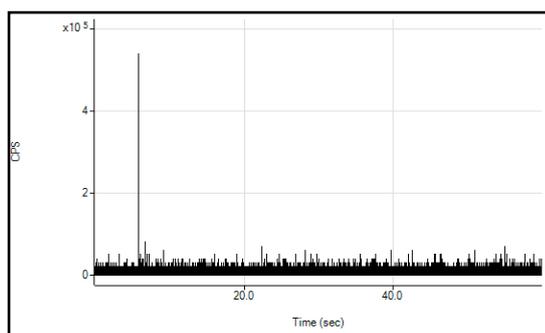


Figura 9

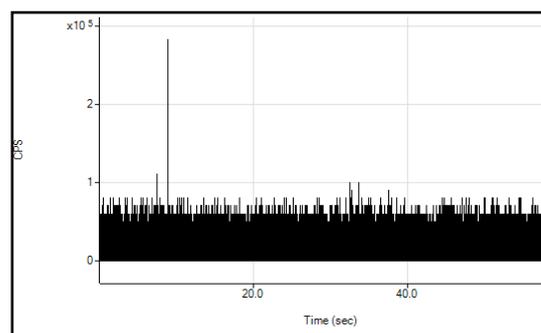


Figura 10

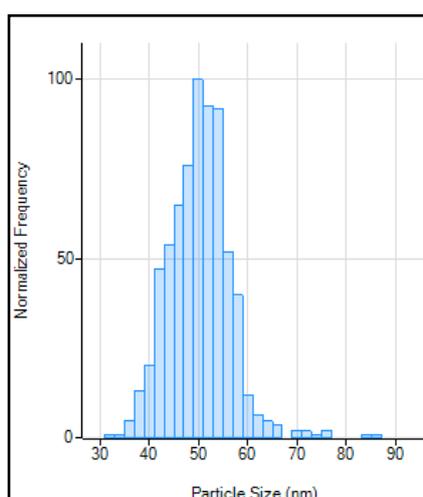


Figura 11

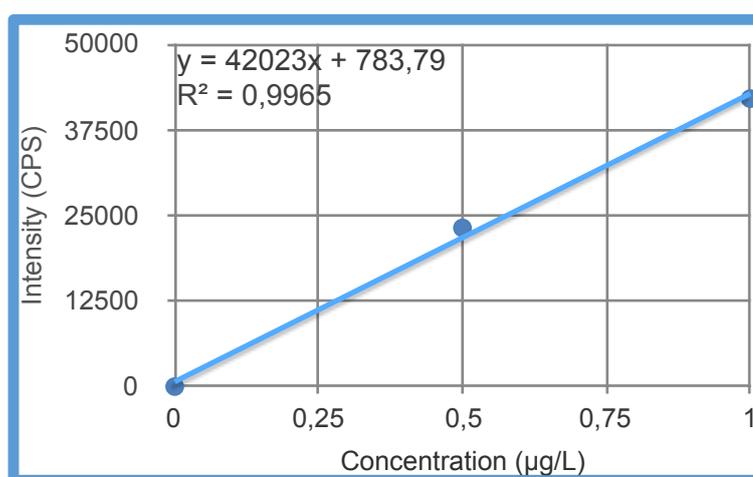


Figura 12

Tabla V: Datos obtenidos para el compuesto de referencia

Au	Concentración (ppb)	0	0,5	1
	Intensidad (CPS)	66,9	23229,024	42089,8

A continuación, se realizaron los análisis de las muestras para la obtención de la representación de las señales de las nanopartículas individuales de TiO₂ (Figura 13) y la distribución del tamaño de partículas (Figura 14).

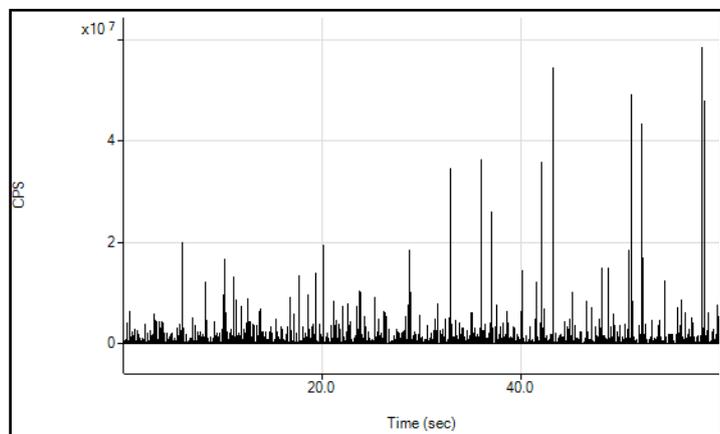


Figura 13

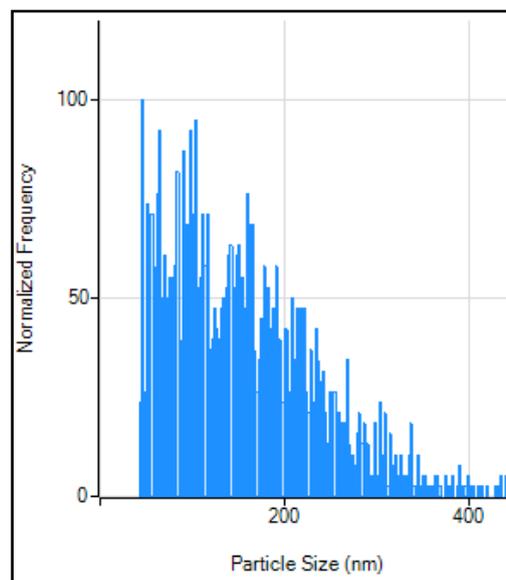


Figura 14

La tabla VI muestra los datos obtenidos con el método utilizado para la caracterización y la cuantificación de las nanopartículas de TiO₂.

Tabla VI: Datos obtenidos acerca de las nanopartículas de TiO ₂ mediante SP-ICP-MS	
Parámetro	Valor
Tamaño medio de partícula (nm)	170
LOD teórico (nm)	17
Rango real de valores (nm)	42-300
Número de partículas en muestra	2073
Número de partículas en chicle	$3,9 \cdot 10^{11}$

3.4. Conclusiones.

En este proyecto se desarrolló un método de ICP-MS para la cuantificación total de Ti y la subsecuente caracterización de nanopartículas de TiO₂ en golosinas.

Usando esta técnica se cuantificó una cantidad significativa de Ti (0,13% m/m) en un tipo de chicle de la marca Stimorol, disponible en el comercio. Para ello, el método se basó en el uso de los isótopos menos interferidos (⁴⁷Ti y ⁴⁹Ti) y en el uso de la calibración externa (LOD < 0.02 µg/L). La cuantificación del Ti en los chicles analizados puede ser un indicador de que otros alimentos también contengan Ti o diferentes elementos y nanopartículas que no son deseables para el consumo y cuyos efectos todavía requieren investigación.

Se demostró que el uso del ICP-MS operando en modo de partículas individuales (tiempo muerto: 100 µs) era adecuado para la caracterización de la fracción de nanopartículas. Se obtuvo una distribución de tamaño de las nanopartículas de TiO₂ ancha, con diámetros de partícula (asumiendo que éstas tienen forma esférica) comprendidos entre 42 y 300 nm, con un tamaño medio de partícula de 170 nm.

Aunque pueden ser aconsejables algunas mejoras para el método desarrollado con respecto a la caracterización de nanopartículas más pequeñas, las cuales se asocian generalmente con una toxicidad más alta, el método SP-ICP-MS puede ser recomendable para el estudio de nanopartículas en diferentes campos, como la salud alimenticia.

3.5. Bibliografía.

⁷ WEIR, Alex, et al. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environmental science & technology*, 2012, vol. 46, no 4, p. 2242-2250.

⁸ SHI, Hongbo, et al. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and fibre toxicology*, 2013, vol. 10, no 1, p. 15.

⁹ Wilbur, Steve. Fundamentals of nanoparticle analysis by ICP-MS. [online]. 2015. [Accessed April 2018]. Available from: https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/Public/ASTS_2015_AtomicTour_Fundamentals_Nanoparticle_Analysis_ICP-MS.pdf

¹⁰ Menard, Anja, Damjana Drobne, and Anita Jemec. "Ecotoxicity of nanosized TiO₂. Review of in vivo data." *Environmental Pollution* 159.3 (2011): 677-684.

¹¹ Stephan, Chady, and Robert Thomas. "Single-Particle ICP-MS: A Key Analytical Technique for Characterizing Nanoparticles." (2017).

¹² Mitrano, Denise M., et al. "Silver nanoparticle characterization using single particle ICP-MS (SP-ICP-MS) and asymmetrical flow field flow fractionation ICP-MS (AF4-ICP-MS)." *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27.7 (2012): 1131-1142.

¹³ THOMAS, Robert. Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners. CRC press, 2013.

¹⁴ MACKEVICA, Aiga; OLSSON, Mikael Emil; HANSEN, Steffen Foss. Quantitative characterization of TiO₂ nanoparticle release from textiles by conventional and single particle ICP-MS. *Journal of Nanoparticle Research*, 2018, vol. 20, no 1, p. 6.

¹⁵ BALCAEN, Lieve, et al. Accurate determination of ultra-trace levels of Ti in blood serum using ICP-MS/MS. *Analytica chimica acta*, 2014, vol. 809, p. 1-8.

¹⁶ BOLEA-FERNANDEZ, Eduardo, et al. Overcoming spectral overlap via inductively coupled plasma-tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS). A tutorial review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2017, vol. 32, no 9, p. 1660-1679.

¹⁷ VANHAECKE, Frank, et al. "Handbook of ICP-QQQ applications using the Agilent 8800 and 8900 3rd edition" Agilent Technologies, Inc. 2017.

ANEXO I: CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA Y CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de protón se obtuvieron con un espectrómetro Phobos 300 MHz (^1H , 300.132 MHz).

Los disolventes deuterados (DMSO, CDCl_3 , D_2O) se adquirieron comercialmente y se almacenaron de forma adecuada.

Los desplazamientos químicos se midieron en ppm y se redondeó a la centésima.

Las CCF se realizaron en placas específicas de vidrio con gel de sílice 60G.

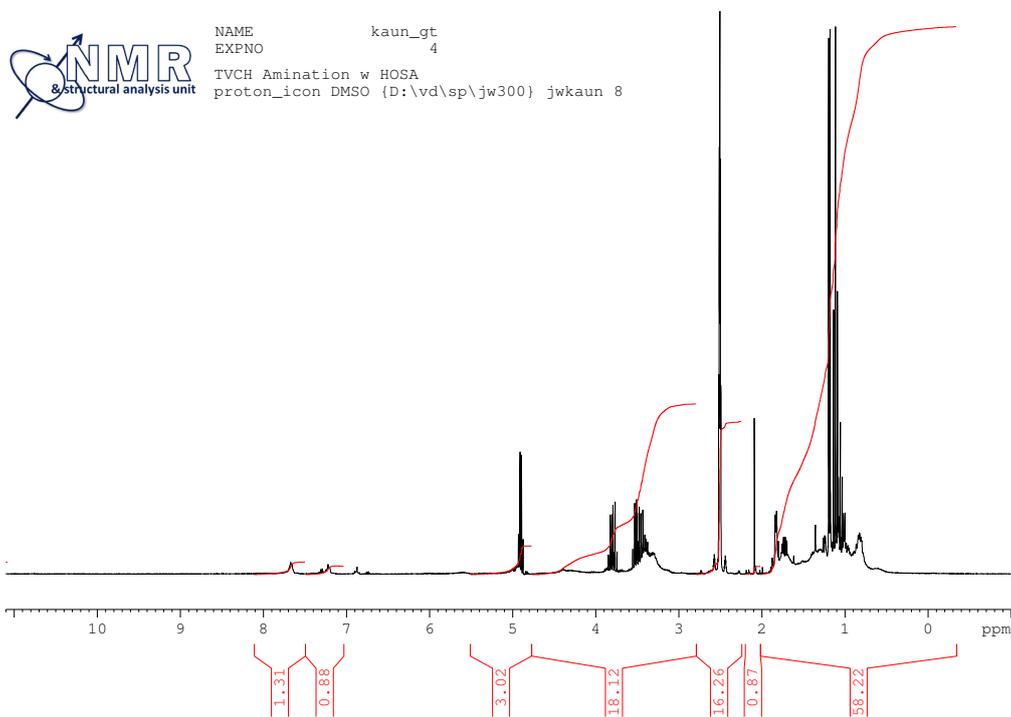
A continuación se muestran tanto los espectros de RMN, indicando el disolvente deuterado que se usó en cada caso para realizar el análisis, como las representaciones de las CCF dibujadas inmediatamente después de la obtención de cada una de ellas, especificando entre paréntesis el eluyente utilizado en cada caso.

Esquema 17:

CCF (eluyente DMSO/MeOH 10:1)

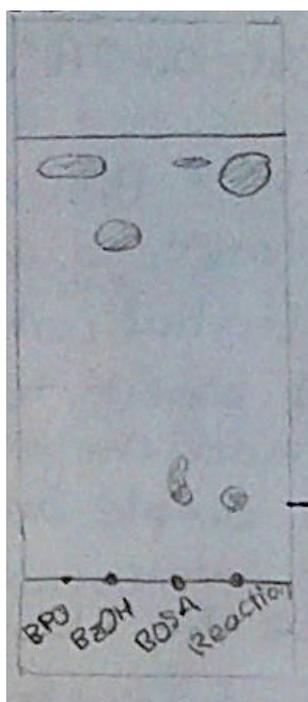


¹H-RMN (300 MHz, DMSO)

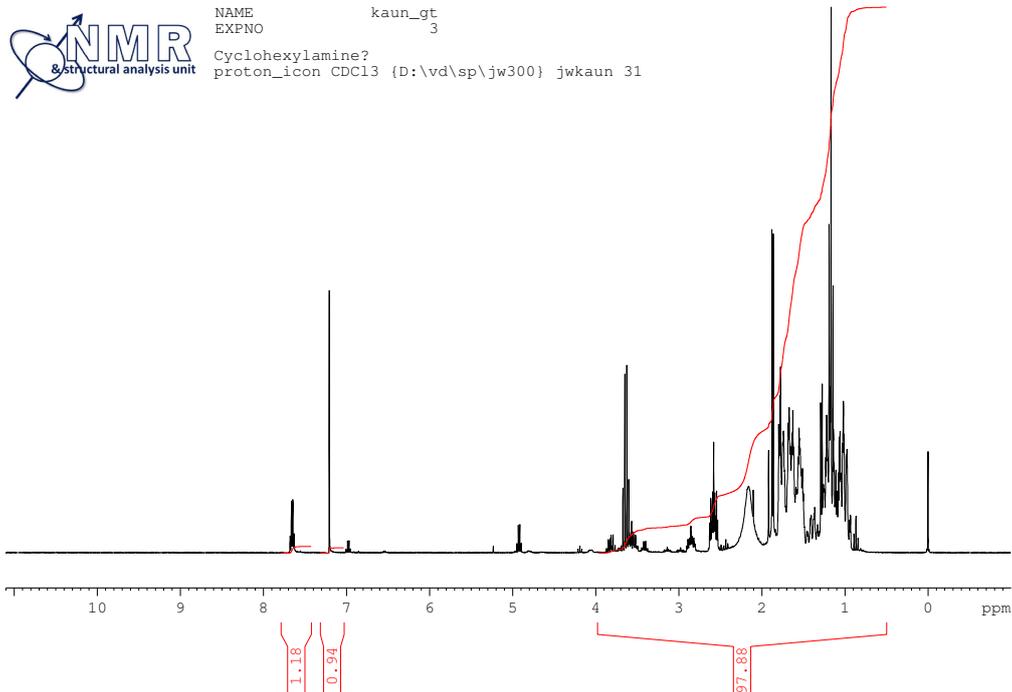


Esquema 18:

CCF (eluyente EtOAc/PE 1:2)



^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)



Esquemas 19 y 20:

CCF (eluyente Et_2O)

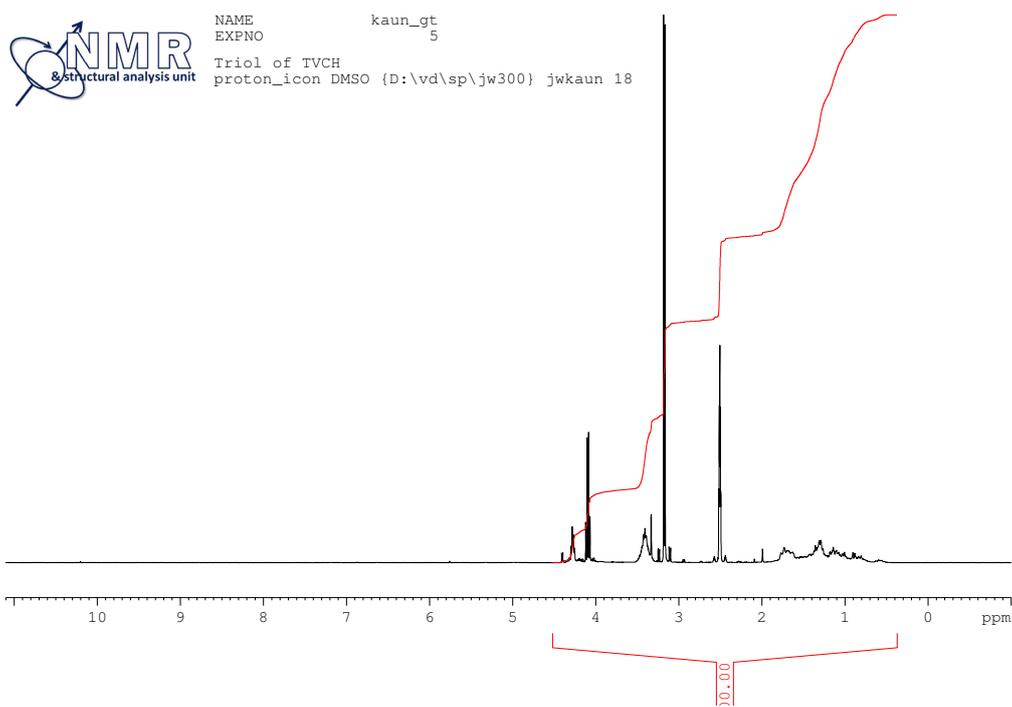


Esquema 21:

CCF (eluyente EtOAc)

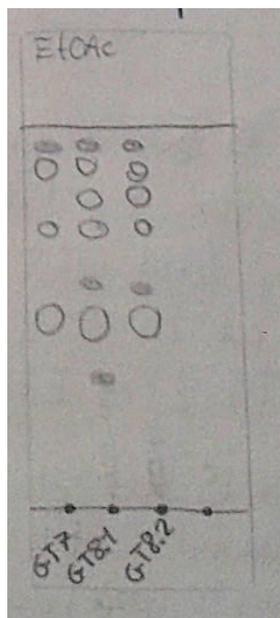


^1H -RMN (300 MHz, DMSO)

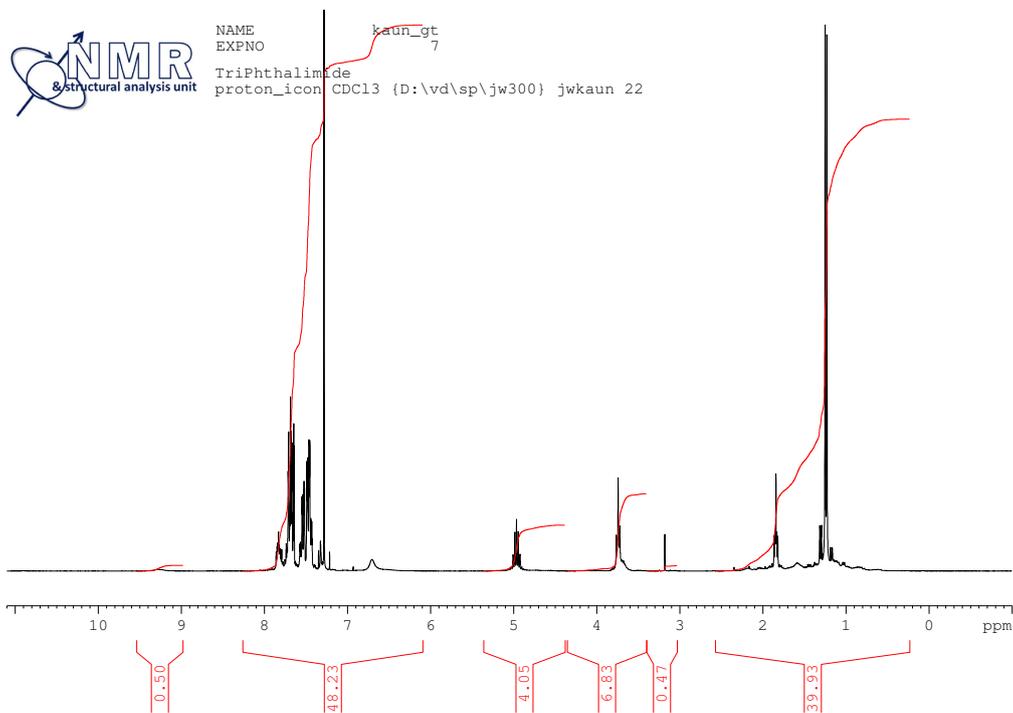


Esquema 22:

CCF (eluyente EtOAc)

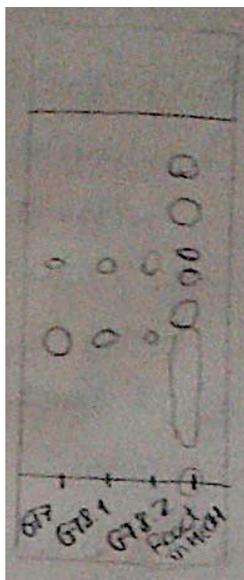


^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)



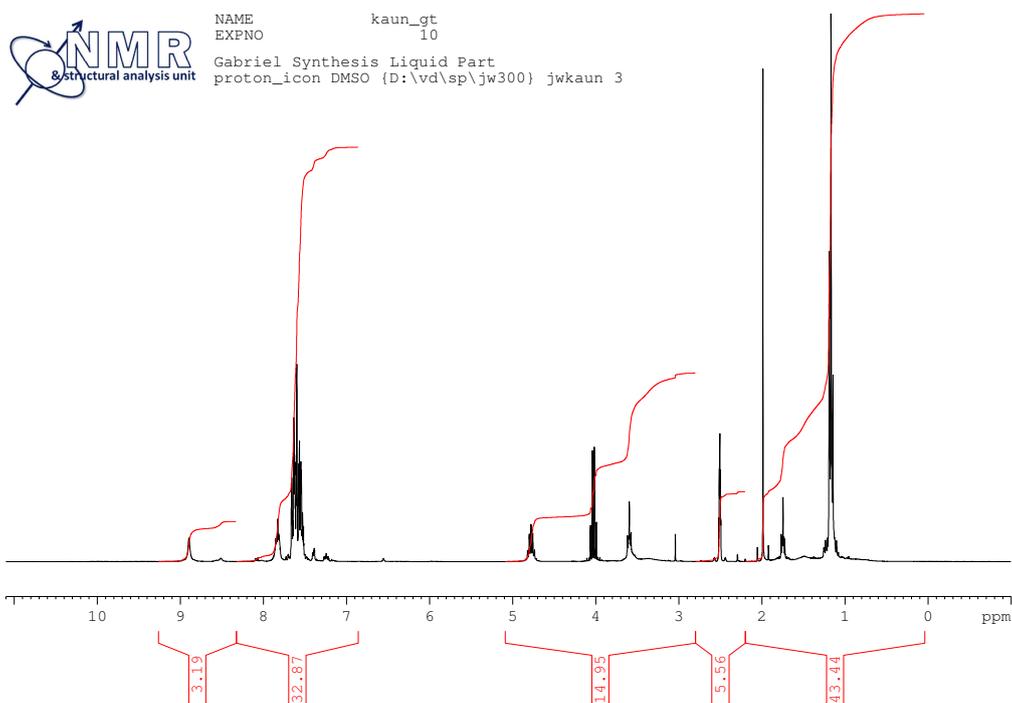
Esquema 23:

CCF (eluyente EtOAc)



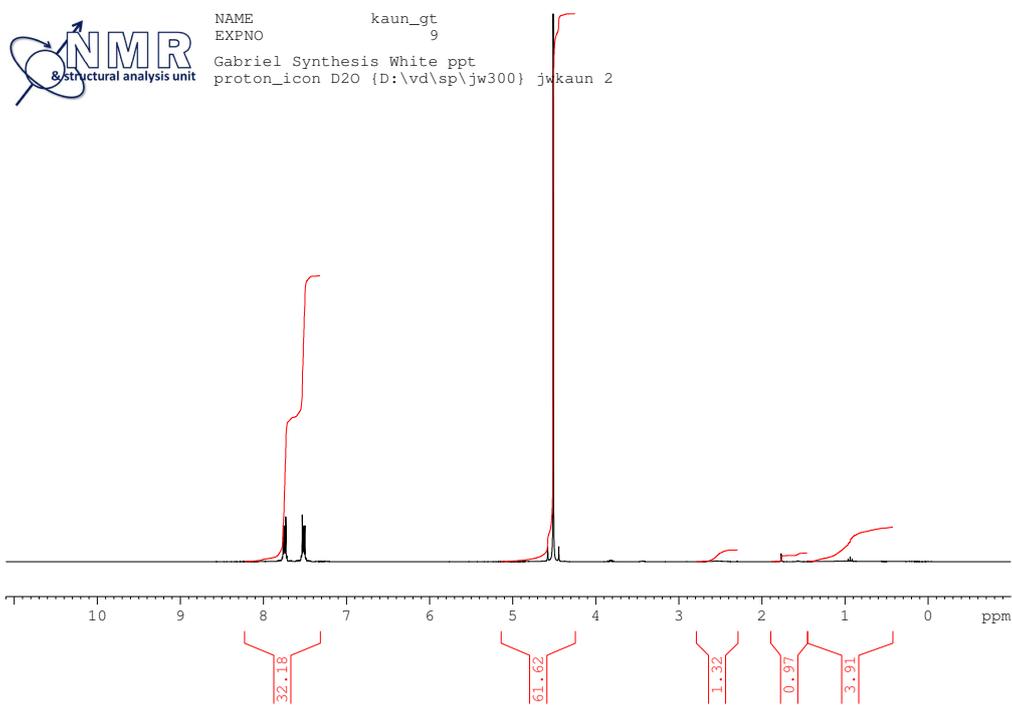
Líquido

¹H-RMN (300 MHz, DMSO)



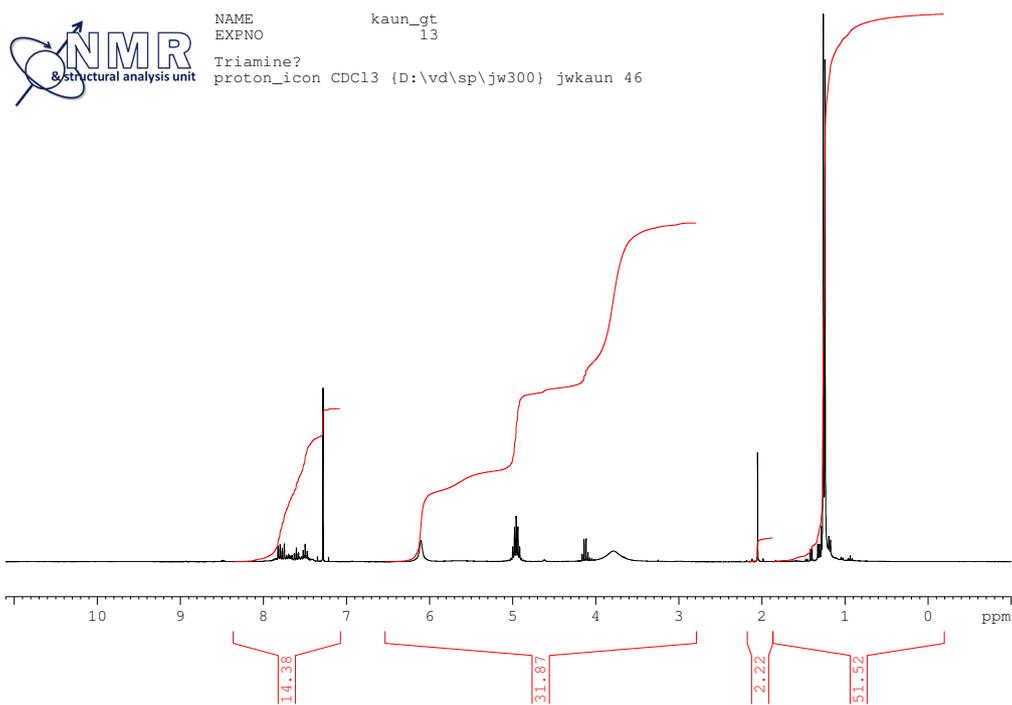
Precipitado

^1H -RMN (300 MHz, D_2O)



Extracción ácida

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)



LISTADO DE TABLAS Y ESQUEMAS

ESQUEMAS

Esquema 1	4
Esquema 2	4
Esquema 3	5
Esquema 4	6
Esquema 5	6
Esquema 6	7
Esquema 7	7
Esquema 8	8
Esquema 9	8
Esquema 10	8
Esquema 11	9
Esquema 12	9
Esquema 13	10
Esquema 14	10
Esquema 15	11
Esquema 16	11
Esquema 17	12
Esquema 18	12
Esquema 19	13
Esquema 20	13
Esquema 21	13
Esquema 22	14
Esquema 23	14
Esquema 24	15
Esquema 25	15

FIGURAS

Figura 1	20
Figura 2	21
Figura 3	21
Figura 4	21
Figura 5	25
Figura 6	25
Figura 7	25
Figura 8	25
Figura 9	26
Figura 10	26
Figura 11	26
Figura 12	26
Figura 13	27
Figura 14	27

TABLAS

Tabla I	21
Tabla II	22
Tabla III	25
Tabla IV	26
Tabla V	26
Tabla VI	27

