

Trabajo de Fin de Grado

Grado en Farmacia

Curso 2023/24

Hidrogeles de alginato para la absorción de contaminantes

María Paola Camara de León

alu0101165097@ull.edu.es

Tutora: María José Trujillo Rodríguez

Co-tutor Raúl González Martín

Agradecimientos

Ante todo, quiero Agradecer a Dios, a mis Padres, mi hermano y abuelos, que de una manera u otra han estado presentes desde la distancia, apoyándome de forma incondicional en cada paso de este camino, que no ha sido fácil, pero tampoco imposible.


Gracias por enseñarme que con disciplina, constancia y dedicación podemos alcanzar cualquier meta que nos planteamos en la vida. Que la vida va de aprendizajes, experiencias y que lo importante es siempre salir adelante.

Agradezco a mi tutora María Trujillo y Co-tutor Raúl González por el apoyo durante la realización del trabajo de fin de grado, por dedicar su tiempo, por brindar sus conocimientos en todo momento.

Agradecida con todo el equipo de trabajo de MAT4LL, de la Universidad de la laguna, en especial a Sara Lara Torres por enseñarme el uso de los equipos, el acompañarme en los laboratorios, y el hacerme sentir una más del grupo.

Índice

Índice.....	3
Datos referidos a la memoria.....	5
Resumen	6
Abstract	6
Introducción.....	7
1. Química Analítica Verde.....	7
2. Microextracción analítica y nuevas fases extractantes	7
3. Alginato	8
Objetivos.....	10
Material y métodos.....	11
1. Reactivos y disoluciones.....	11
2. Materiales.....	12
3. Equipos.....	12
4. Procedimiento Experimental	13
4.1. Síntesis de las gotas de hidrogel.....	13
4.2. Caracterización de las gotas de hidrogel.....	14
4.3. Estudios de lixiviación del metal de las gotas de hidrogel.....	15
4.3.1. Simulación de un proceso de microextracción tipo μ -dSPE y análisis.....	15
4.3.2. Determinación del contenido total de metal en los hidrogeles.....	16

4.3.3. Análisis por ICP-MS.....	16
Resultados 	18
1. Síntesis de las gotas de hidrogel.....	18
2. Estudio del tipo de secado de los hidrogeles	19
Conclusiones	22
Bibliografía	27

Datos referidos a la memoria

Número de páginas de la memoria	28
Número de palabras totales de la memoria sin contar resumen, abstract, pie de tablas o figuras y referencias.	3096
Número de palabras del resumen	161
Número de palabras del abstract	144

Resumen

Se sintetizaron hidrogeles de alginato a partir de mezclas de dos iones metálicos divalentes (Ca^{2+} y Cu^{2+}) que tienen gran afinidad por el alginato y en diferentes proporciones. Los hidrogeles se prepararon haciendo gotear la disolución de los iones metálicos sobre la de alginato y empleando posteriormente dos métodos de secado (a vacío o liofilización), con la finalidad de comparar con cuál de los dos métodos se mantenía la forma esférica de hidrogel.

Posteriormente, se caracterizaron morfológicamente mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) con la finalidad de obtener una imagen ampliada de las estructuras de hidrogel. Finalmente, se empleó un método analítico de digestión ácida con microondas y posterior uso del plasma acoplado inductivamente con detección por espectrometría de masas (ICP-MS) para determinar el contenido de metal de los hidrogeles y el porcentaje de lixiviación de metal cuando estos entran en contacto con agua, todo ello para evaluar si estos materiales son útiles en procedimientos de adsorción de contaminantes de agua.

Abstract

Alginate hydrogels were synthesized from mixtures of two divalent ions (Ca^{2+} and Cu^{2+}) that have great affinity for alginate, in different proportions. The hydrogels were prepared by dripping the metal ion solution onto the alginate solution and subsequently drying using two methods (either vacuum or freeze-drying), in order to compare which of the two methods maintained the spherical shape of the hydrogel.

Subsequently, they were characterized morphologically using scanning electron microscopy (SEM) to obtain an enlarged image of the hydrogel structures. Finally, an analytical method of acid digestion with microwaves and subsequent use of inductively coupled plasma with detection by mass spectrometry (ICP-MS) was used to determine the metal content of the hydrogels and the percentage of metal leaching when they come into contact with water, with the final goal of evaluating if these materials are useful in adsorption procedures for pollutants of water.

Introducción

1. Química Analítica Verde

La Química Analítica Verde (GAC) surgió como una tendencia dirigida a minimizar el impacto en el medio ambiente generado durante los procedimientos químicos desarrollados en el laboratorio y la industria química (1). Se ha dirigido en mayor medida a mejorar la etapa de preparación de muestras porque es la principal fuente de error y contaminación del proceso analítico. La Figura 1 muestra un resumen de los 12 principios de la GAC (2). La estrategia principal que ha surgido es la minimización, sustitución o eliminación de disolventes orgánicos. Para poder conseguir esto, una posibilidad es usar métodos de microextracción y nuevos materiales más sostenibles, tal y como se describe en los siguientes apartados.

- S**eleccionar una técnica analítica directa
- I**ntegrar los procesos analíticos y las operaciones
- G**enerar la menor cantidad de residuos posible y tratarlos adecuadamente
- N**unca desperdiciar energía
- I**mplementar automatización y miniaturización de los métodos
- F**avorecer los reactivos obtenidos por fuentes renovables
- I**crementar la seguridad para el operador
- C**alibrar y realizar mediciones in situ
- A**segurarse de que el número y el tamaño de la muestra sean mínimos
- N**ombrar métodos multi analíticos o multiparámetros
- C**ontemplar la eliminación o reemplazo de los reactivos tóxicos
- E**mplear alternativas más seguras y sustentables

Figura 1. Los principios de la Química Analítica Verde expresados como el mnemónico SIGNIFICANCE (1).

2. Microextracción analítica y nuevas fases extractantes

La microextracción es una técnica que involucra el reparto de analitos o compuestos diana entre una muestra y una fase de extracción, que puede ser un líquido o un sólido. Las técnicas de microextracción se caracterizan por

utilizar pequeñas cantidades de material de extracción, y generalmente el volumen del extracto final es significativamente menor que el volumen de la muestra, asegurando la preconcentración de los analitos en la fase de extracción sometida a análisis (3). Existen muchas técnicas de microextracción dependiendo de la naturaleza de la fase de extracción, de la forma en la que se introduce en la muestra y del mecanismo de extracción que tiene lugar.

Una de las técnicas más utilizadas en la actualidad es la extracción en fase sólida dispersiva miniaturizada (μ -dSPE), que se fundamenta en la dispersión del sólido utilizado como material de extracción en la muestra de naturaleza líquida, y su posterior separación por centrifugación o filtración (4).

En consideración con los principios de la GAC, los biopolímeros son candidatos con gran potencial para ser utilizados como materiales en microextracción debido a que son obtenidos de fuentes naturales, lo que cumple con uno de los principios mencionados anteriormente. Este grupo de polímeros incluye polisacáridos, proteínas y lípidos, derivados de animales y plantas, siendo los polisacáridos quitosano, celulosa, alginato y agarosa, los más comúnmente utilizados en técnicas de microextracción (5).

3. Alginato

El alginato es un biopolímero extraído de las paredes celulares de especies de algas y que consta de residuos enlazados de ácido D-manurónico y el ácido L-gulirónico (Figura 2).

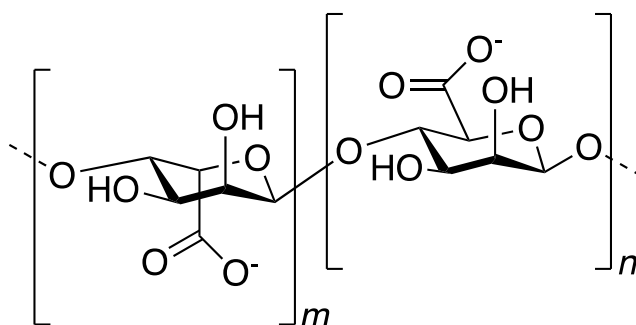


Figura 2. Estructura del alginato.

En cuanto a sus características más relevantes, destaca la capacidad para formar hidrogeles viscosos y biocompatibles cuando se entrecruzan con

diferentes agentes, siendo los cationes divalentes como Ca^{2+} y Cu^{2+} los más comunes. Estos hidrogeles son capaces de absorber agua, experimentando así un cambio de tamaño y volumen *in situ* al añadirlos a una disolución acuosa.

Los hidrogeles en la actualidad se emplean como materiales absorbentes para mantener la humedad (6), como catalizadores (7), en aplicaciones biomédicas (8) y en la industria farmacéutica (9). En química analítica, como se ha comentado resulta de interés su uso en métodos de microextracción de cara a la absorción de contaminantes de muestras acuosas. Sin embargo, antes de emplearlos en estos métodos, es necesario evaluar si los metales del hidrogel se lixivian al estar en contacto con agua. De hecho, si ocurriera este proceso, se podría contaminar el agua analizada con iones metálicos que pueden ser igual o más contaminantes que las especies absorbidas.

Hipótesis y objetivos

En la actualidad, existen muy pocos estudios que incorporen biopolímeros como fase de extracción en técnicas de microextracción. Tampoco se ha estudiado exhaustivamente si existe lixiviación de los metales del hidrogel cuando este se pone en contacto con el agua. Por tanto, el objetivo principal del presente trabajo de fin de grado es la preparación de gotas de hidrogeles de alginato con mezclas de metales en diferentes proporciones y la posterior evaluación de la lixiviación de los metales al contacto con el agua.

Para alcanzar este objetivo general, es necesario establecer una serie de objetivos parciales:

- Estudio bibliográfico de los hidrogeles de alginato descritos para la selección de los iones metálicos adecuados para elaborar gotas de hidrogel.
- Optimización del proceso de síntesis y de la posterior etapa de secado de los hidrogeles.
- Caracterización de las gotas de hidrogel empleando SEM.
- Desarrollo de un método de determinación de los metales en las gotas de hidrogel antes y tras su contacto con agua, empleando microondas como técnica de extracción de metales e ICP-MS.
- Determinación del porcentaje de lixiviación del metal al contactar con agua.

Material y métodos

1. Reactivos y disoluciones

En la Tabla 1 se muestran los reactivos empleados en el trabajo de fin de grado, así como las disoluciones preparadas y su uso.

Tabla 1. Reactivos y disoluciones empleadas.

Reactivos	Pureza	Casa Comercial	Uso	Disoluciones/Derivados
Alginato de sodio	99%	Sigma-Aldrich	Preparación de las gotas de hidrogel	Disolución de Alginato al 2% (p/v)
CaCl ₂	-	Sigma-Aldrich	Preparación de las gotas de hidrogel	Disoluciones de CaCl ₂ al 10% Disoluciones de CuCl ₂ -CaCl ₂ (1:1), (1:2), (2:1)
CuCl ₂	-	Sigma-Aldrich	Preparación de las gotas de hidrogel	Disoluciones de CuCl ₂ al 10% Disoluciones de CuCl ₂ -CaCl ₂ (1:1), (1:2), (2:1)
Agua ultrapura (18.2 MΩ·cm)	-	Sistema Purelab flex Elga	Preparación de disoluciones	-
HNO ₃	65%	Sigma-Aldrich	Digestión microondas y para acidificar el medio en ICP-MS	Disolución al 2% para el análisis de ICP-MS
ICPMulti-element estándar solution VIII	100 mg·L ⁻¹	Agilent Technologies	Determinación de metales	Disolución de 80 µg·L ⁻¹ para los estudios de digestión ácida

2. Materiales

En la Tabla 2 se muestran los materiales más importantes empleados en la fase experimental.

Tabla 2. Materiales empleados en la fase experimental.

Material	Marca Comercial	Uso
Balanza	Sartorius Modelo CP2202S (Goettingen, Alemania)	Pesada de las sales metálicas empleadas en la fase experimental.
Micropipetas	Eppendorf™ (Hamburgo, Alemania).	Preparación de muestras en el ICP-MS
Bureta	Alamo (España) A tl ± 0,05 50,00 mL B tl ± 0,06 25,00 mL	Síntesis de las gotas de hidrogel, se empleó para hacer gotear el alginato
Cristalizador	Nahita 100mm	Preparación de las gotas de hidrogel, en él se colocaban las distintas disoluciones de metales
Embudo Buchner	-	Secado al vacío de las gotas de hidrogel
Kitasato	-	Secado al vacío de las gotas de hidrogel
Tubos Falcon de propileno 25mL	(Ciudad de México, México)	Microextracción
Vortex	Heidolph™ (Schwabach, Alemania)	Sistema de Agitación

3. Equipos

La Tabla 3 incluye la información más importante relativa a la instrumentación usada.

Tabla 3. Equipos empleados en la fase experimental.

Equipo	Marca Comercial	Uso
Liofilizador	Telstar® modelo lypQuest (Barcelona, Spain)	Secado de gotas por liofilización
SEM ¹	modelo ZEISS EVO 15, (Oxford, Inglaterra)	Caracterización de los hidrogeles
Microondas Ethos 1	Milestone (Soriso, Italia)	Digestión de los hidrogeles
ICP-MS ¹	Agilent Technologies, Inc. 2021 (USA)	Determinación del contenido de metal en hidrogeles y del porcentaje de lixiviación

¹Estos estudios se llevaron a cabo en el Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna (SEGAI-ULL).

4. Procedimiento Experimental

4.1. Síntesis de las gotas de hidrogel

La síntesis se llevó a cabo siguiendo el protocolo de gelificación descrito por Kühbeck (10). Primero, se preparó una disolución de alginato de sodio al 2% (p/v) y las disoluciones que contienen Cu^{2+} o Ca^{2+} o la mezcla de ellos, para lo cual se emplearon como reactivos de partida los cloruros de las sales metálicas correspondientes.

Todas las disoluciones tenían una concentración de metal/es en exceso de 0,24 M ya fuera sólo de Cu^{2+} o Ca^{2+} o de la suma de las mezclas de las dos sales metálicas en diferentes proporciones ($\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$ 1:1, $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$ 1:2, $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$ 2:1). Esta disolución se agitó con ayuda de una barra agitadora. A continuación, empleando una bureta, se adicionó la disolución de alginato sobre las distintas disoluciones de los metales utilizando un flujo en el que se pudiesen formar las gotas de hidrogel (Figura 2). Además, la distancia entre la bureta y la disolución se fijó a 1,5 cm de la disolución del metal para garantizar un tamaño de hidrogel reproducible. Se utilizaron dos buretas distintas para formar los geles: bureta A (tl \pm 0,05; 50,00 mL) y B (tl \pm 0,06; 25,00 mL).

Una vez preparadas, las gotas de hidrogel se dejaron reposar 24 horas en la disolución. Posteriormente, se realizaron los secados mediante dos métodos: con un sistema de vidrio convencional a vacío y por liofilización. En este último, se congelaron previamente a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

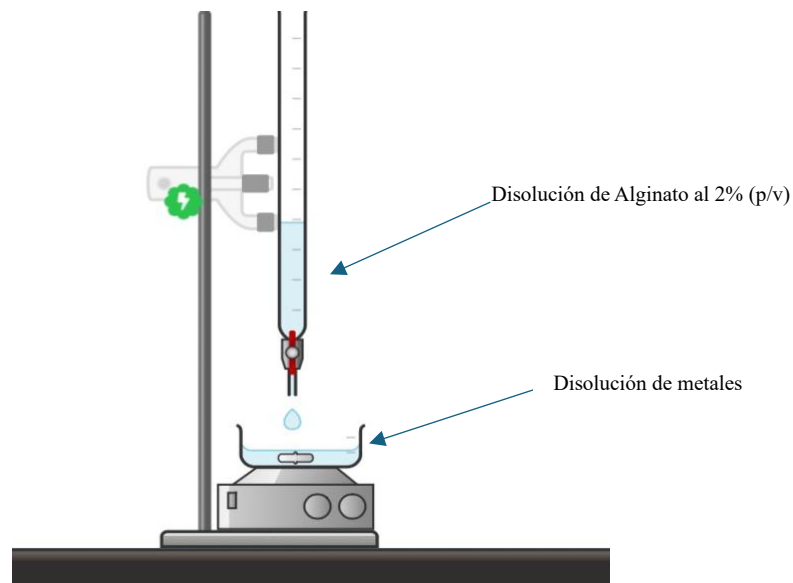


Figura 2. Esquema de gelificación para la síntesis de las gotas de gel.

4.2. Caracterización de las gotas de hidrogel

Para determinar la morfología de las gotas de gel, se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM). Todas las muestras congelaron con nitrógeno líquido, se cortaron a la mitad con bisturí y se colocaron en el porta para su visualización en SEM.

4.3. Estudios de lixiviación del metal de las gotas de hidrogel

4.3.1. Simulación de un proceso de microextracción tipo μ -dSPE y análisis

Se pesaron en la balanza analítica 0,1000 g de los geles de alginato en un tubo de centrífuga de 15,00 mL. Se añadió 10,00 mL de agua ultrapura y se sometió a vórtex durante 10 minutos. Posteriormente, se aisló el agua (A) de las gotas de gel (B) en diferentes tubos Falcon de plástico (Figura 3).

Las muestras que contienen el agua ultrapura (A), se diluyeron 2:10 (v/v) con HNO_3 al 1% y se sometieron a ICP-MS. Además, se realizó un blanco del procedimiento empleando el método de la Figura 3 sin hidrogel.

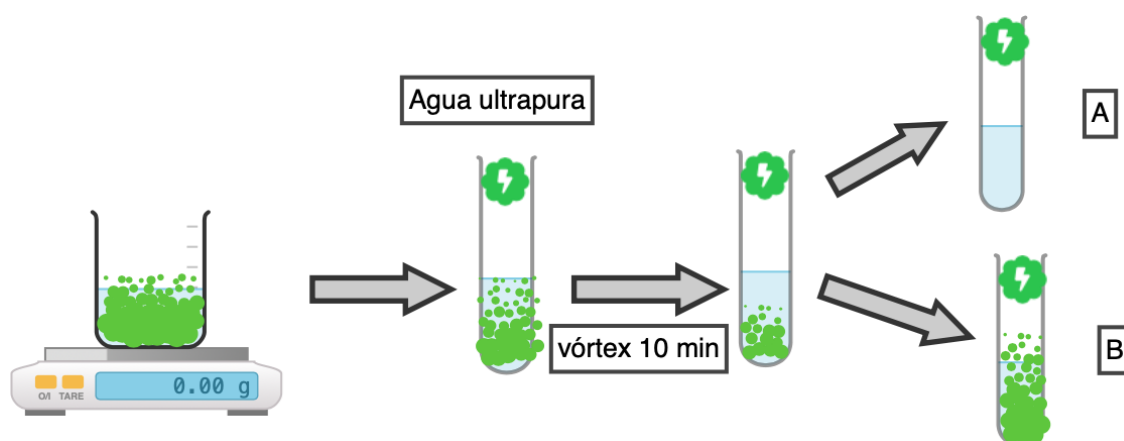


Figura 3. Esquema del procedimiento de microextracción con geles.

A continuación, las muestras B que contenían el hidrogel tratado con agua se sometieron a digestión ácida en microondas (Figura 4). Para ello, se trasladaron a un tubo de microondas de teflón, se añadieron 5,00 mL de HNO_3 65% y 5,00 mL de agua ultrapura y se realizó la digestión de acuerdo con la rampa de temperaturas de la Tabla 4. Posteriormente, las muestras digeridas se trasladaron a un matraz de 25,00 mL enrasando con agua ultrapura (Figura 4). Estas muestras fueron diluidas en medio ácido (diluciones 1:500 y 1:1000, v/v, con disolución acuosa de HNO_3 al 2%) y analizadas mediante ICP-MS. Como método de control, en cada extracción se realizaron procedimientos blancos análogos sin los geles.

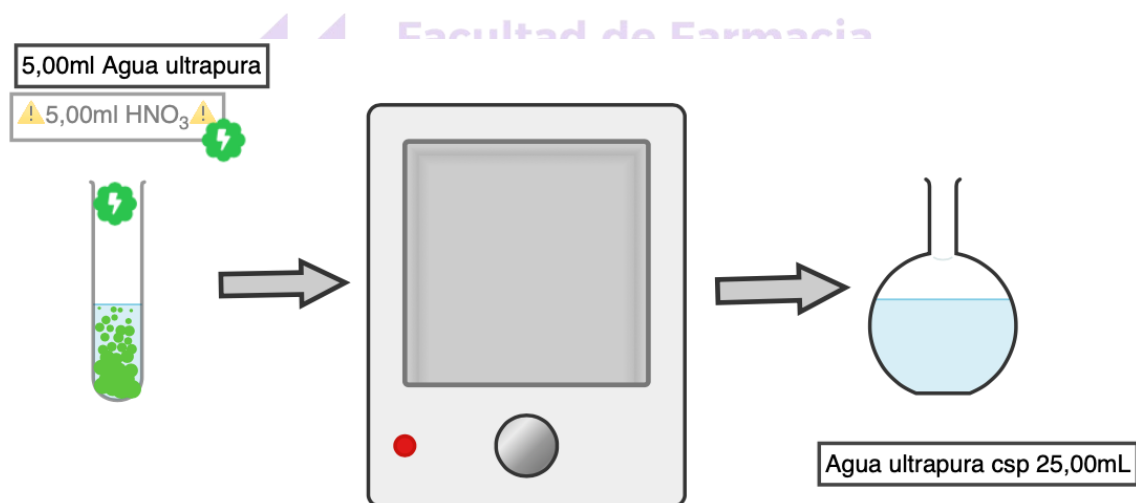


Figura 4. Digestión ácida en microondas.

Tabla 4. Condiciones para la digestión por microondas.

Tiempo (min)	Energía (W)	Temperatura (°C)
0	0	0
10	700	160
20	700	170

4.3.2. Determinación del contenido total de metal en los hidrogeles

Se realizó el mismo procedimiento de digestión ácida en microondas con las gotas de hidrogel sin tratamiento previo empleando 0,100 g de cada gel.

4.3.3. Análisis por ICP-MS

Se emplearon las condiciones descritas en las Tablas 5 y 6 para los análisis por ICP-MS. Para la cuantificación de los metales se usó calibración externa.

Tabla 5. Condiciones ICP-MS.

Parámetro	Condición
Potencia de radiofrecuencia del plasma (RF <i>power</i>)	1.55 kW
Voltaje del plasma (RF <i>matching</i>)	1.20 V
Flujo de He	4 mL·min ⁻¹

Tabla 6. Isótopos medidos durante los análisis de ICP-MS.

Isótopo	Tiempo de análisis (s)	Estándar interno	
		Tipo	Tiempo de análisis (s)
⁴⁴ Ca	0.1	⁴⁵ Sc	0.2
⁶³ Cu	1	⁷⁵ Ge	0.2

Resultados

1. Síntesis de las gotas de hidrogel

En lo que respecta a los hidrogeles de alginato, la mayoría de los estudios descritos en la bibliografía emplean el Ca^{2+} como agente de entrecruzamiento para la formación del gel (11). Además, el grupo de investigación en el que se desarrolla este trabajo tiene experiencia previa en la preparación de hidrogeles de alginato con mezclas de diferentes metales (11). En estos estudios previos, se estudiaron combinaciones de $\text{CuCl}_2:\text{NiCl}_2$, $\text{BaCl}_2:\text{CuCl}_2$, $\text{BaCl}_2:\text{FeCl}_3$ y $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$, si bien los geles de $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$ fueron los más eficaces para la absorción de contaminantes emergentes (12). Por ello, en este trabajo, se prepararon geles de alginato con estos metales, si bien se optimizaron otras variables que influyen en la síntesis. Se prepararon un total de 5 tipos de geles basados en 5 composiciones de metales (Cu^{2+} , Ca^{2+} y mezclas $\text{Cu}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ 1:1, 1:2 y 2:1) y dos métodos de secado (vacío y liofilización).

Las principales variables que se puede considerar son la distancia que hay entre la bureta y el recipiente colector de las gotas de hidrogel, la velocidad del agitador magnético, el uso de un vaso de precipitados o un cristalizador, y la punta de la bureta.

En primer lugar, se fijó una distancia entre la bureta y el cristalizador de 1,5 cm y una agitación de 140 rpm, que resultaron adecuados para obtener gotas de ~2 mm de diámetro.

Tras esto, se estudió la influencia del tipo de material colector de la disolución de partida de los metales: un vaso de precipitados o un cristalizador. Con el uso del vaso de precipitados, se observó la aglomeración de las gotas y, por tanto, se seleccionó el cristalizador para el resto de las experiencias.

A continuación, se emplearon dos buretas distintas (A y B, ver sección 4 del apartado experimental), manteniendo constantes el resto de las variables. El empleo de la bureta B, de punta ancha, generó los mejores resultados en relación con la forma de las gotas porque eran más esféricas en comparación con las obtenidas con la bureta A.

2. Estudio del tipo de secado de los hidrogeles

Los estudios de preparación de geles descritos en la bibliografía han empleado diferentes técnicas de secado como secado al aire (12), al vacío (11), liofilización (11-12) y CO₂ supercrítico (11). En este estudio, se seleccionaron dos técnicas que son fácilmente asequibles para un laboratorio: a vacío y por liofilización. El procedimiento de secado es el que más afectó a la morfología de las gotas de gel, tal y como se observa en la Figura 5. Empleando la técnica de vacío se conserva la morfología esférica. Sin embargo, cuando se empleó la técnica de liofilización, las respectivas gotas de hidrogel de alginato pierden su forma inicial para adquirir una forma irregular de esponja o alga. Por tanto, se seleccionó el método de secado al vacío para los futuros experimentos.

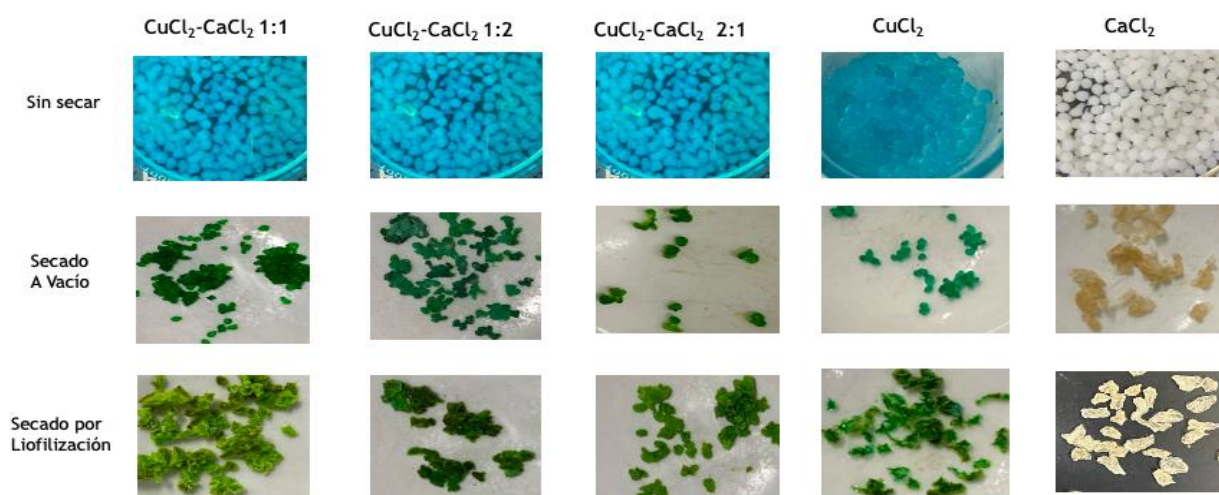


Figura 5. Hidrogeles de alginato empleando mezclas de metales con distintas proporciones y con sus respectivas técnicas de secado.

En cuanto al color, en la Figura 5, se puede observar diferencias dependiendo del metal empleado y la etapa de preparación. Tras la síntesis, las gotas de hidrogel de calcio tienen un color blanco y opaco, mientras que las de cobre y las de las mezclas de metales tienen un color azulado. Una vez los hidrogeles se someten a los procedimientos de secado, las gotas de calcio adquirieron un tono amarillento y las de cobre y cobre-calcio diferentes tonalidades azul verdoso.

3. Caracterización de las gotas de hidrogel

Las gotas de hidrogel en las condiciones experimentales óptimas fueron caracterizadas mediante SEM y espectroscopía dispersiva de rayos X (EDX). Las imágenes SEM se muestran en la Figura 6 y permiten ver la estructura porosa de las gotas de gel. La primera imagen de cada hidrogel incluye un corte a la mitad de la gota para ver la estructura interna del material. Se puede apreciar que las gotas tienen una forma elipsoide. Las gotas del hidrogel $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$ 1:2 presentaron el tamaño máximo, de 3.2 cm largo x 1.9 cm ancho (el tamaño de la tercera dimensión de los geles no pudo ser estimado por la colocación de las esferas en el porta del SEM). El resto de las gotas tienen dimensiones similares, de 1.5 cm largo x 1.2 cm ancho en promedio.

El análisis de EDX permitió confirmar la presencia de calcio, cobre y cloro en las gotas de alginato. Además, en algunas muestras se detectó aluminio, que probablemente proviene del bisturí que se empleó para cortar las bolas de hidrogel durante la preparación de las muestras SEM.

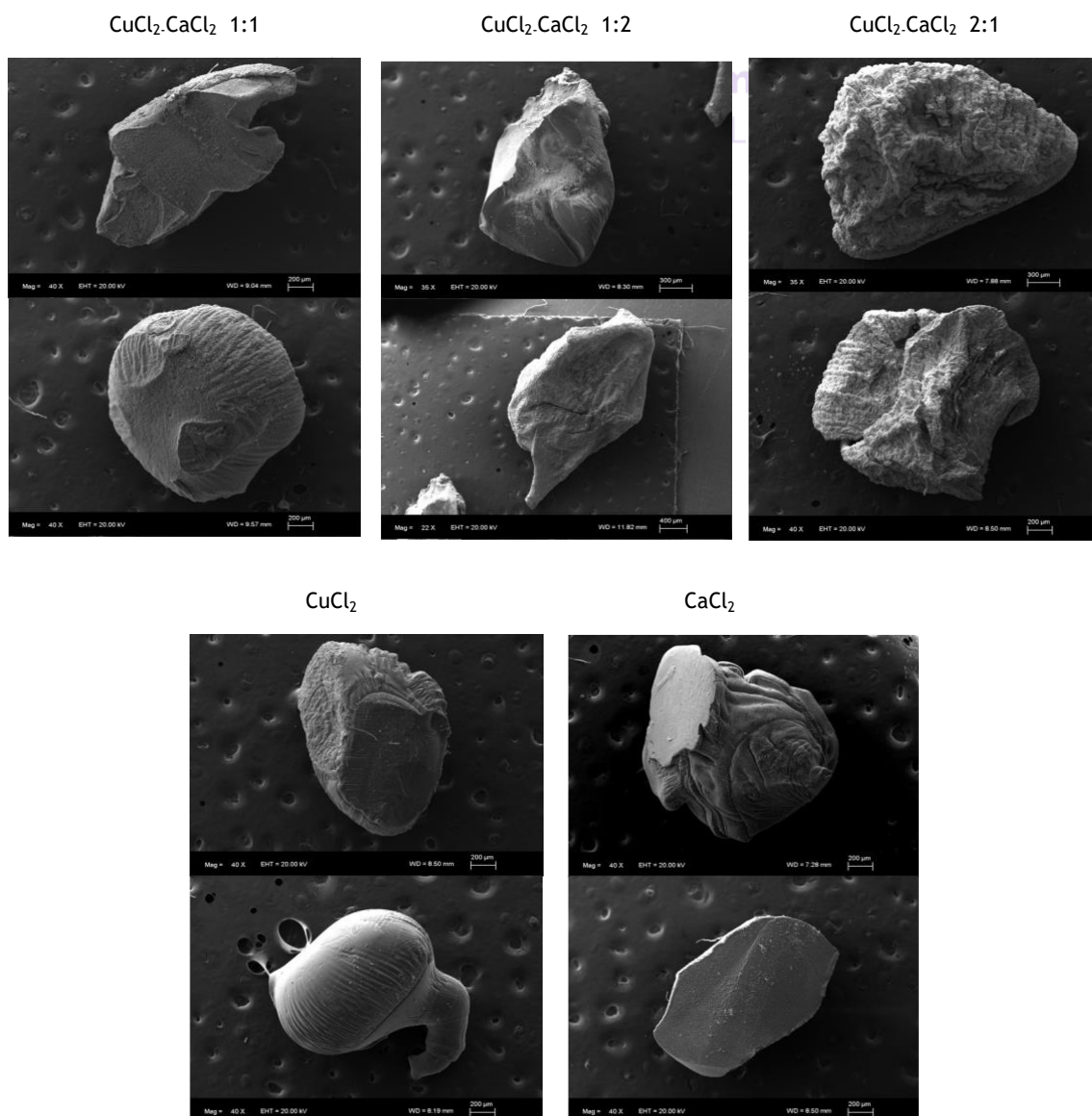


Figura 6. Imágenes SEM de los hidrogeles preparados. Nota: Las gotas de hidrogel se prepararon usando una bureta B y secado al vacío.

4. Lixiviación del metal de las gotas de hidrogel

4.1. Calibración



Facultad de Farmacia
Universidad de La Laguna

Para la determinación de los metales estudiados, se construyó una curva de calibrado empleando disoluciones de concentraciones conocidas de los mismos en el ICP-MS. La Tabla 7 muestra los parámetros de calidad analíticos obtenidos. Se obtuvieron límites de cuantificación de $5,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el cobre y $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el calcio, y coeficientes de determinación (R^2) superiores a 0.996. La reproducibilidad de los calibrados, expresada como desviación estándar relativa (RSD), fue inferior al 9,2 % y 0,70 % en la determinación del calcio y el cobre, respectivamente.

Tabla 7. Parámetros de calidad del método de ICP-MS.

Parámetro de calidad	Cobre	Calcio
Rango calibración ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5 - 1000	10 - 1000
Pendiente \pm desviación estándar	2530 ± 38	23 ± 1
Ordenada en el origen \pm desviación estándar	-19423 ± 15176	554 ± 272
Niveles de calibración	8	7
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9993	0,9963
Error de la estima ($S_{y/x}$)	34586	558
Límite de cuantificación ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5,0	10

4.2. Cantidades de metal obtenidas y lixiviación

Las muestras de hidrogeles digeridas con el método asistido por microondas fueron analizadas mediante ICP-MS y cuantificadas utilizando los calibrados de la Tabla 7. La Figura 7 muestra las concentraciones de metal en los diferentes hidrogeles antes de la extracción (en naranja) y en las muestras de hidrogel que fueron sometidas al proceso de extracción en agua (en azul). Los resultados se muestran en miligramos de metal por gramo de hidrogel. Los hidrogeles contenían entre $113 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y $196 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de cobre y entre $8,30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y $26,2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de calcio. Esta mayor concentración de cobre podría indicar que el alginato interacciona en mayor medida con este metal. Además, la concentración de cobre en los hidrogeles de CuCl_2 fue entre 1,3 y 1,7 veces mayor que la de los hidrogeles de mezclas de $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$. De forma análoga, la

concentración de calcio en los hidrogeles de CaCl_2 fue entre 1,3 y 3,1 veces mayor que la de los hidrogeles de mezclas.

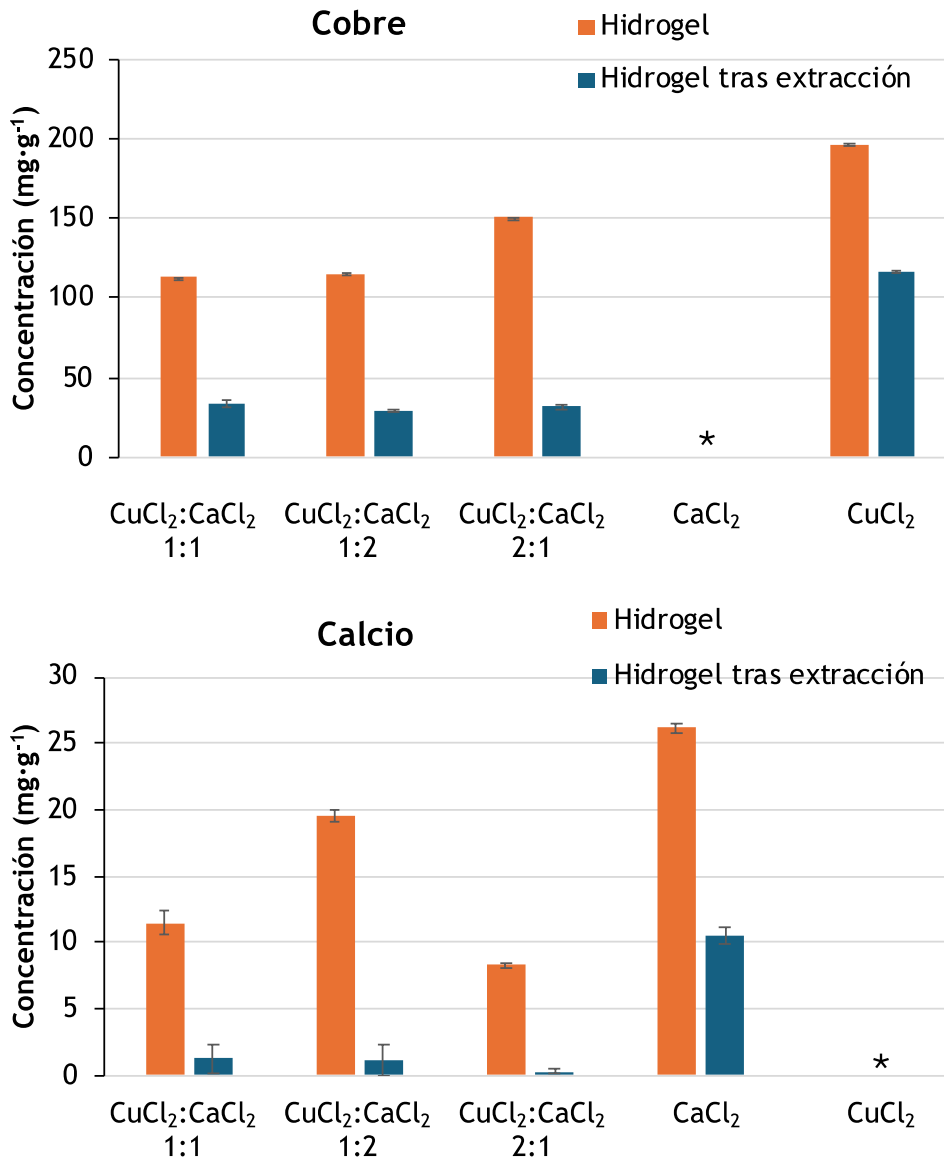


Figura 7. Concentración de metal determinada en las muestras de hidrogel antes de la extracción y tras la simulación de la extracción en agua. (* Metal no detectado).

En hidrogeles preparados con mezclas de metales (1:1, 1:2 o 2:1 $\text{CuCl}_2:\text{CaCl}_2$), se observó que la concentración de cobre era mayor en los hidrogeles 2:1. De forma análoga, se cuantificó una mayor concentración de calcio en la muestra 1:2.

A partir de estos datos, el porcentaje de lixiviación de metal se determinó empleando la Ecuación 1.

$$\% \text{ lixiviación} = \left(1 - \frac{[Metal]_{\text{hidrogel tras extracción}}}{[Metal]_{\text{hidrogel}}} \right) \cdot 100 \quad \text{Ecuación 1.}$$

donde $[Metal]_{\text{hidrogel tras extracción}}$ y $[Metal]_{\text{hidrogel}}$ son las concentraciones de metal determinadas en el hidrogel tras la extracción en agua y en el hidrogel original, respectivamente.

Los resultados de lixiviación se indican en la Figura 8. Los porcentajes variaron entre el 41 % y 79 % para el cobre y el 60 % y 96 % para el calcio. Por tanto, el calcio tiene mayor tendencia de lixiviarse del hidrogel. Además, la lixiviación es mayor en los hidrogeles formados por mezclas de metales que en los geles de un sólo metal.

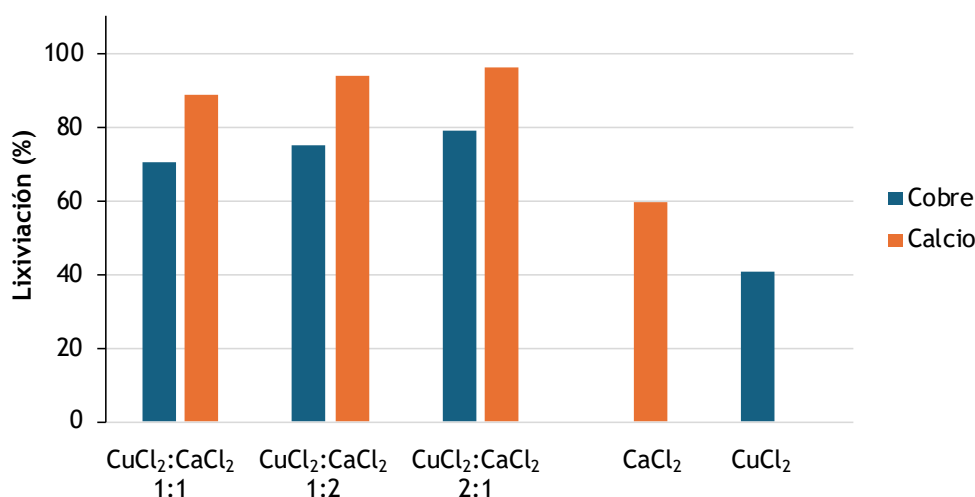


Figura 8. Porcentaje de lixiviación de cobre y calcio de los hidrogeles cuando se ponen en contacto con agua.

De forma adicional, se analizó el contenido de metal en el agua tras la extracción (fase A del apartado 4, sección experimental). Los contenidos de metal detectado oscilaron entre 68,0 mg·L⁻¹ y 125 mg·L⁻¹ para el calcio y entre el 739 mg·L⁻¹ y 1096 mg·L⁻¹ para el cobre. Estos resultados confirman la desorción de los metales en el agua. En lo que respecta al cobre, que muestra cierta toxicidad, los contenidos detectados se encuentran por encima del nivel límite de 2 mg·L⁻¹ que establece la Directiva UE 2020/2184, relativa a la calidad

de las aguas potables, por lo que esta concentración supondría un riesgo para la salud humana.

Finalmente, se determinó el error relativo cometido en la determinación a partir de las masas de metal detectado en cada tipo de muestra analizada. Los resultados, que se muestran en la Tabla 8, indican que el error cometido en la determinación fue bajo, inferior al 0,15 % en todos los casos. Por lo tanto, el método analítico propuesto es totalmente válido.

Tabla 8. Masa de metal determinado en todas las muestras analizadas y error relativo cometido.

Tipo de muestra	Masa de metal \pm desviación estándar ¹ (mg)				Error relativo ⁶ (%)
	Metal hidrogel ²	Metal hidrogel tras extracción ³	Metal agua tras extracción ⁴	Metal suma ⁵	
Cobre					
CuCl ₂	19,6 \pm 0,1	11,6 \pm 0,1	8,9 \pm 0,6	20,5	0,05
CuCl ₂ : CaCl ₂ 1:1	11,3 \pm 0,2	3,35 \pm 0,01	7,4 \pm 0,2	10,7	-0,05
CuCl ₂ : CaCl ₂ 1:2	11,5 \pm 0,1	2,89 \pm 0,01	8,9 \pm 0,8	11,8	0,02
CuCl ₂ : CaCl ₂ 2:1	15,1 \pm 0,2	3,16 \pm 0,01	11,0 \pm 0,1	14,1	-0,06
Calcio					
CaCl ₂	2,6 \pm 0,06	1,06 \pm 0,04	1,6 \pm 0,2	2,3	-0,12
CuCl ₂ : CaCl ₂ 1:1	1,2 \pm 0,1	0,13 \pm 0,08	0,9 \pm 0,2	1,0	-0,14
CuCl ₂ : CaCl ₂ 1:2	2,0 \pm 0,1	0,12 \pm 0,05	1,6 \pm 0,2	1,7	-0,11
CuCl ₂ : CaCl ₂ 2:1	0,83 \pm 0,02	0,03 \pm 0,02	0,7 \pm 0,1	0,7	-0,15

¹ Se determinaron dos muestras de cada tipo (n = 2). Cada muestra fue analizada por triplicado (m = 3).

² Masa de metal determinada en 0,1 g de hidrogel.

³ Masa de metal determinada en 0,1 g de hidrogel sometido a extracción en agua.

⁴ Masa de metal lixiviado tras extracción en 10 mL de agua ultrapura.

⁵ Suma de la masa de metal en el hidrogel tras la extracción y de la masa de metal lixiviado en el agua.

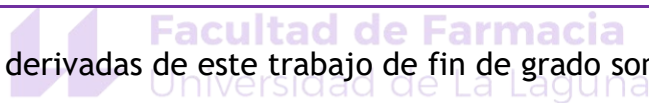
⁶ Se ha tenido en cuenta que debe cumplirse el siguiente balance de masas para cada metal en cada tipo de muestra:

$$metal_{hidrogel} = metal_{hidrogel \text{ tras extracción}} + metal_{agua \text{ tras extracción}}$$

Por tanto, el error relativo, ha sido estimado según la siguiente fórmula:

$$Error \text{ relativo } (\%) = \frac{metal_{suma} - metal_{hidrogel}}{metal_{hidrogel}} \cdot 100$$

Conclusiones



Las conclusiones derivadas de este trabajo de fin de grado son las siguientes:

A partir de la búsqueda bibliográfica realizada y las experiencias previas del grupo, se concluyó que iones metálicos como el Ca^{2+} y el Cu^{2+} son candidatos adecuados para la formación de hidrogeles con el alginato. Los estudios de EDX confirman la presencia de estos metales en los hidrogeles preparados.

De entre las variables optimizadas para la síntesis de las gotas de hidrogel, se obtuvieron gotas más esféricas empleando la bureta B (punta ancha), con uso de un cristizador con distancia entre ambos de 1,5 cm y una agitación constante de 140 rpm.

En cuanto a la técnica de secado, con el método de secado al vacío se obtuvieron los mejores resultados ya que se generaron gotas de hidrogel con formas esféricas, todo ello de acuerdo con las apreciaciones observadas a simple vista y a través de SEM.

Referente a los estudios empleando la técnica de ICP-MS, existen dos resultados de podrían indicar que el alginato presenta una mayor interacción con el cobre que con el calcio: 1) los hidrogeles poseen mayores concentraciones de cobre que de calcio; y 2) los porcentajes de lixiviación de cobre de los hidrogeles al agua son, en general, menores que los correspondientes porcentajes de calcio. De estos primeros resultados podría concluirse que el cobre es, *a priori*, mejor candidato para preparar los hidrogeles. Sin embargo, si se tiene en cuenta la toxicidad de este metal y la elevada concentración de cobre determinada en el agua tras la extracción, finalmente se concluye que este metal en las condiciones de síntesis empleadas tampoco es un buen candidato para preparar este tipo de materiales, especialmente si el objetivo es diseñar materiales sostenibles, que no contaminen al entrar en contacto con agua y que puedan emplearse para la absorción de otros contaminantes.

Por ello, como propuesta para trabajos posteriores, se proponen las siguientes estrategias:

- Reoptimizar el procedimiento de síntesis de los hidrogeles. De hecho, en todos los casos se partió de un exceso del metal en los hidrogeles. Una alternativa sería el emplear concentraciones más bajas del metal de partida y estudiar si de esta forma el porcentaje de lixiviación de metal disminuye.
- Estudiar otros metales y/o combinación de otros metales para preparar los hidrogeles, especialmente metales de menor toxicidad como el Mg^{2+} o Zn^{2+} .

Bibliografía



Facultad de Farmacia
Universidad de La Laguna

- (1) Gałuszka, A; Migaszewski Z.; Namieśnik J. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. *Trends Anal. Chem.* 2013, 50, 78-84.
- (2) Armenta, S.; Garrigues, S.; Esteve-Turrillas, F.A.; Guardia, M. Green extraction techniques in green analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 2019, 116, 248-253.
- (3) Maciel, E. V. S.; Toffoli, A. L.; Neto, E. S.; Domingues Nazario, C. E.; Lanças, F. M. New materials in sample preparation: Recent advances and future trends. *Trends Anal. Chem.* 2019, 119, 115633.
- (4) Pacheco-Fernández, I.; González-Martín, R.; e Silva, F.A.; Freire, M.G.; Pino, V. Insights into coacervative and dispersive liquid-phase microextraction strategies with hydrophilic media - A review. *Anal. Chim. Acta* 2021, 1143, 225-249.
- (5) Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. Rezaee, M.; Assadi, Y.; Hosseini, M. R. M.; Aghaee, E.; Ahmadi, F.; Berijani, S. *J. Chromatogr. A* 2006, 1116, 1-9.
- (6) Pozo Pilay, Maria José. Estudio del efecto del hidrogel en diferentes tipos de cultivos de importancia económica, Universidad estatal de Santa Elena. 2021
- (7) Avendaño J; Paredes, S; Zarazua, Y. Síntesis de fotocatalizadores tipo hidrotalcita y TiO₂ soportados en micropartículas de hidrogel de alginato calcio. Universidad autónoma metropolitana. 2022
- (8) Aguado, C; Llorens, M; Vercet, P; Serrano, A. 2022. ACS Publication. Engineering Three-Dimensional-Printed Bioactive Polylactic Acid Alginate Composite Scaffolds with Antibacterial and In Vivo Osteoinductive Capacity.
- (9) Gonzalez, Mariela. Materiales basados en geles en técnicas de microextracción .2021. Universidad de la Laguna. 25-28
- (10) Šulc, J.; Pacheco-Fernández, I.; Ayala, J. H.; Bajeroová, P.; Pino, V. A green miniaturized aqueous biphasic system prepared with cholinium chloride and a phosphate salt to extract and preconcentrate personal care products in wastewater samples. *J. Chromatogr. A.* 2021, 1648, 462219
- (11) Gonzalez, Mariela. Materiales basados en geles en técnicas de microextracción .2021. Universidad de la Laguna.

- (12) Ayauch, I; Barrak,I; Kassab,Z; Mounir, E; Abdselam,B;Khalid,D. 2020. Impact of the drying process on the efficiency of alginate beads for cadmium removal from water: Kinetic, isotherm and thermodynamic study. El Sevier