

Valoración experimental del ion tiocianato como biomarcador de la exposición al humo del tabaco

**Tamara León Concepción
Curso: 2021-2022**

**Tutora:
Dra. Raquel Rodríguez Raposo
Departamento: Química
Área de Química Física**

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Dra. Raquel Rodríguez Raposo por su ayuda y dedicación durante la elaboración de este trabajo, estando siempre dispuesta a resolver mis dudas y asegurar mi aprendizaje.

Agradecer de manera muy especial a Roberto, por no soltarme nunca de la mano y por confiar en mí más que yo misma.

A mi familia y a mis amigos, por haber sido un apoyo constante y haberme acompañado durante todo el Grado, dándome siempre todo su cariño y sus ánimos para ayudarme a lograr mi objetivo de terminar la carrera universitaria.

Por último, me gustaría dar las gracias a todas las personas que voluntariamente han querido colaborar en este proyecto, porque sin su estimable participación este trabajo no hubiese sido posible.

Índice

1. Resumen/Abstract.....	4
2. Introducción.....	6
2.1 El tabaquismo	
2.2 Marcadores biológicos	
2.3 Ley de Lambert-Beer	
2.4 Método de la adición estándar	
3. Objetivos.....	12
4. Materiales y Métodos.....	13
4.1 Productos	
4.2 Aparatos	
4.3 Informe CEIBA. Anexos I, II y III	
4.4 Procedimiento experimental	
4.4.1 Disoluciones stock	
4.4.2 Disoluciones patrón	
4.4.3 Recogida y preparación de muestras de orina	
4.4.4 Medidas espectrofotométricas en el visible	
4.4.5 Análisis de datos	
5. Resultados y Discusión.....	21
5.1 Espectros de absorción	
5.2 Representación de la Ley de Lambert-Beer	
5.3 Determinación de la $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ en las muestras de orina.	
5.3 a Curva de calibración de Lambert-Beer	
5.3 b Método de la adición estándar	
5.4 Estudio comparativo y tratamiento estadístico de los resultados obtenidos.	
6. Conclusiones.....	33
7. Bibliografía.....	34
8. Anexo I y II.....	37

Resumen

En el presente estudio se ha trabajado con uno de los biomarcadores para el humo del tabaco que existen, el ion $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$. Se eligió este debido a su determinación es sencilla y económica ya que es eliminado por vía renal, a través de la orina, con una vida media de siete días.

La detección de este ion $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, se ha realizado espectrofotométricamente en muestras biológicas de orina de personas expuestas al humo del tabaco, fumadoras o no. Lo que ha requerido la complejación previa de este ion con la adición de Fe(III). Para su cuantificación se han utilizado dos técnicas, la ley de Lambert-Beer y el método de adición estándar, lo que ha permitido comparar los resultados obtenidos por ambos procedimientos.

Se realizaron ensayos variando la proporción de $[\text{Fe}^{3+}] / [\text{SCN}^-]$, con objeto de valorar cual es la relación óptima que garantice que todos los iones tiocianato están coordinados a los iones Fe^{3+} y que, fundamentalmente, se forma el complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$.

Los resultados permiten diferenciar entre fumadores/as y no fumadores/as por ambos métodos. Haciéndose evidente el aumento de la concentración de tiocianato en la orina de un fumador/a respecto a la de un/a no fumador/a. No así entre no fumadores/as y los llamados fumadores/as pasivos/as.

Abstract

In the present work, a tobacco smoke biomarker has been evaluated, the $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ ion. It was selected due to its economic and easy determination because it is eliminated renally, through the urine, with a half-life of seven days.

The detection of this ion, $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, has been performed spectrophotometrically on urine biological samples from people exposed to tobacco smoke, smokers or not. That has required the previous complexation of this ion with the addition of Fe (III). Two techniques have been used for its quantification, the Lambert-Beer Law and the standard addition method, which has made it possible to compare the results obtained by both procedures.

Tests were carried out varying the proportion of $[\text{Fe}^{3+}] / [\text{SCN}^-]$, in order to assess the optimal ratio, which guarantees that all the thiocyanate ions are coordinated to the Fe^{3+} ions and that, the $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ complex is fundamentally, formed.

The results do allow to differentiate between non-smokers and passive smokers, with both methods. Showing an obvious increase in the smokers urine thiocyanate concentration compared to that of a non-smokers. Not so, between non-smokers group and so-called passive smokers group.

2. Introducción

2.1 El tabaquismo

El tabaquismo es un importante problema de salud pública. El humo del tabaco contiene miles de sustancias químicas tóxicas, como son la nicotina, el ácido cianhídrico o el monóxido de carbono, entre otras. La siguiente tabla muestra la cantidad de los principales componentes tóxicos en un cigarrillo y los daños asociados que conlleva su consumo.

Sustancia	Cantidad	Daños
Nicotina	1-25 mg	Provoca la adicción
Monóxido de carbono	10-23 mg	Se une a la hemoglobina de la sangre disminuyendo la cantidad de O ₂ . Responsable de enfermedades vasculares.
Ácido cianhídrico	110-300 mg	Potencialmente mortal. Bloquea las enzimas ferruginosas impidiendo el uso adecuado de O ₂ .
Amoniaco	50-130 µg	Gas que aumenta los niveles de nicotina libre
Arsénico	0,250 µg	Tóxico. Inhibe los sistemas enzimáticos con grupos tioles (-SH). Riesgo cardiovascular y pulmonar
Alquitrán	13-18,5 mg	Se deposita en los pulmones y es una de las principales causas de cáncer
Azúcar	0,006 g	Aditivo que al arder, refuerza el efecto de la nicotina
Acroleína, fenoles, peróxido de nitrógeno, etc.		Gases irritantes que alteran los mecanismos defensivos del pulmón favoreciendo las infecciones

Tabla 1. Principales componentes tóxicos en un cigarrillo y daños asociados que conlleva su consumo. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7)

Según la OMS, el tabaquismo es el principal factor de riesgo de enfermedades y discapacidad en países desarrollados, seguido del consumo de alcohol, el sobrepeso y la obesidad. El número de muertes por consumo de tabaco es de casi 6 millones de personas al año en todo el mundo. Dado que el 11% de las

muertes por cardiopatía isquémica y el 70% de las muertes por cáncer de pulmón, bronquios y tráquea son atribuibles a este hábito. ⁽⁸⁾

Además de la toxicidad, el tabaquismo produce todas las características propias de los trastornos de dependencia generados por sustancias adictivas, por lo que se considera una forma de drogodependencia. La nicotina actúa como una droga adictiva, que provoca tolerancia, dependencia física y psicológica y, lógicamente, síndrome de abstinencia cuando es retirada del organismo.

2.2 Marcadores biológicos

Antiguamente, los estudios sobre índices de exposición tabáquica se basaban en la realización de cuestionarios, pero la subjetividad de las respuestas o, incluso, la falta de sinceridad en muchos casos, restaban fiabilidad a los resultados.

Actualmente se utilizan marcadores biológicos que pueden ser específicos o no. Un marcador biológico es una biomolécula presente en la sangre u otros líquidos o tejidos del cuerpo, y cuya presencia es un signo de una afección o de una enfermedad. Por tanto, su cuantificación puede ser utilizada como indicador de un estado biológico. ⁽⁹⁾

Un buen marcador biológico para el humo del tabaco debe ser sensible, es decir, capaz de detectar con facilidad, a un/a fumador/a. Debe permanecer en el organismo un periodo de tiempo lo suficientemente prolongado, como para evitar dar falsos negativos. Además, sus métodos de determinación tienen que ser sencillos y preferiblemente económicos, ya que la población fumadora es considerable. Por último, sería importante que estuviese relacionado con las consecuencias negativas del consumo de tabaco sobre el organismo. ⁽¹⁰⁾

Dentro de los marcadores no específicos se encuentra el monóxido de carbono (CO), pero su corta prevalencia en el organismo (4h) y bajas sensibilidad y especificidad para determinar pequeñas concentraciones, no lo hacen muy adecuado.

La nicotina y uno de sus metabolitos, la cotinina son, ambos marcadores específicos. La nicotina tiene el inconveniente de contar con una vida media corta (< 2h), mientras que la cotinina es de 15 a 40 horas, pudiéndose cuantificar a bajas concentraciones. ⁽¹¹⁾

Más sencillo y económico es la determinación del ion tiocianato (SCN^-), un metabolito hepático del cianuro de hidrógeno (HCN), gas con leve olor a almendras amargas presente en el humo del tabaco. Este accede al torrente sanguíneo en forma de ion cianuro (CN^-), y, rápidamente a través de los pulmones y el estómago, es mayoritariamente transformado en el hígado en tiocianato, sustancia menos peligrosa que en último término es excretado por vía renal. Esta transformación ocurre gracias a la enzima mitocondrial rodanasa que cataliza la adición de azufre al cianuro de modo irreversible. (Figura 1)

Una pequeña cantidad de cianuro se oxida a ácido ciánico (HCNO), que es eliminado como CO_2 por vía respiratoria. ^{(12) (13) (14)}

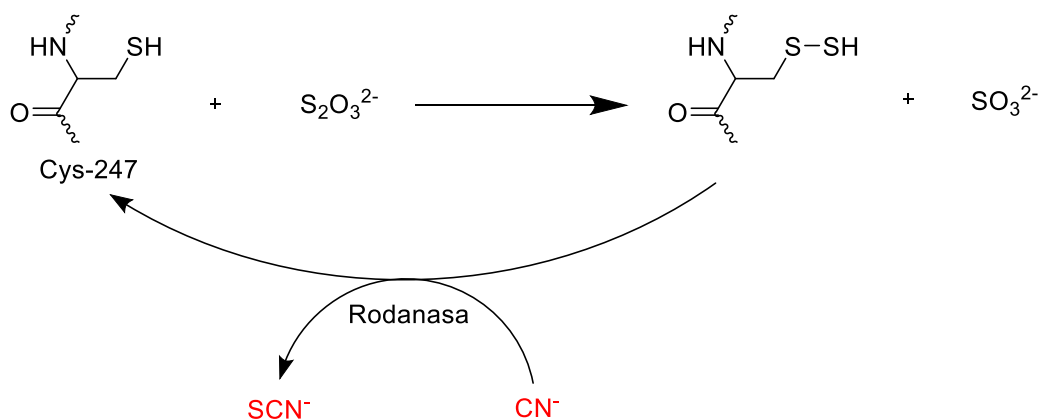


Figura 1: Metabolización del cianuro a tiocianato a través de la enzima rodanasa en el hígado. El tiosulfato reacciona con el grupo tiol de la cisteína-247, dando lugar a un disulfuro, el cual reacciona con el cianuro para producir tiocianato, mientras que, simultáneamente, se convierte nuevamente a su estado tiol normal.

El tiocianato no es un marcador específico dado que algunos alimentos como la col, la cerveza, la coliflor, las almendras, contienen cianógeno $(\text{CN})_2$, que al metabolizarse deriva a tiocianato, aun así, permite una buena correlación del hábito tabáquico. Además, es detectable en el organismo durante 7 días por término medio. ⁽¹⁵⁾

La utilización del SCN^- para la detección del Fe^{3+} es ampliamente utilizada en diferentes ámbitos de la química analítica. Dado que la reacción entre ambos iones da lugar a una serie de complejos de color rojo intenso, fácilmente detectables mediante espectrofotometría de absorción en la zona del visible. Dependiendo de la concentración de tiocianato, respecto de la de Fe^{3+} , se forman diferentes complejos $[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{3-n}$ de índice de coordinación 6, donde n puede valer de uno a seis. (Figura 2). Ejemplos de estos análisis químicos son la determinación de la concentración $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ con KSCN , presente en el agua procedente de los lixiviados de un vertedero o del contenido total de hierro en vinos con NaSCN . (16) (17)

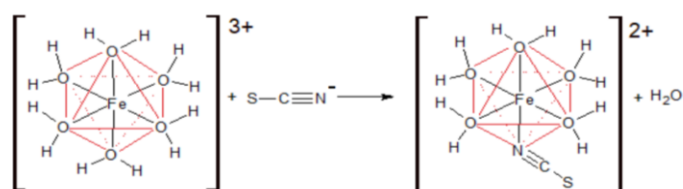
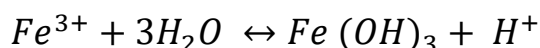


Figura 2: Formación del ion complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$; especie predominante a concentraciones de tiocianato muy inferiores a las del ion férrico. A concentraciones similares, se favorece la formación del $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^+$ y a concentraciones elevadas la del $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3-}$. (18)

La utilización del SCN^- como biomarcador del humo del tabaco, requiere su complejación con la adición de Fe^{3+} a las muestras de orina. Para garantizar que todos los iones tiocianato están coordinados a los iones férricos y que, fundamentalmente, se forma el complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, ha de cumplirse que: $[\text{Fe}^{3+}] \gg [\text{SCN}^-]$. En estas condiciones, se puede asumir que la concentración de tiocianato de una muestra es prácticamente la misma que la del complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ formado, y desestimar la presencia de los otros complejos.

Por otro lado, para impedir la hidrólisis del catión y evitar la formación de hidróxidos de hierro, la sal adicionada de este ion, debe proporcionarse en medio moderadamente ácido.



2.3 Ley de Lambert-Beer

Los métodos espectrofotométricos de absorción molecular se basan en la medida de la disminución de la intensidad del haz de la radiación electromagnética al atravesar una muestra, que contiene una sustancia absorbente. Se define la transmitancia (T) como la relación entre los valores de la potencia de la radiación después (P) y antes (P₀) de cruzar un cuerpo.

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (1)$$

La medida de la radiación retenida se conoce como absorbancia (A) y su relación con la transmitancia es:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} \quad (2)$$

La ecuación que la relaciona con la concentración (c) de un analito absorbente en una disolución de camino óptico de b cm, constituye la llamada ley de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (3)$$

Donde, ε es la absorptividad molar (L/cm·mol) y b se hace 1 cm para que la dependencia de A sea exclusiva de la concentración para una REM monocromática. Este coeficiente es característico de cada sustancia para una longitud de onda determinada.

La ley de Lambert-Beer es una ley límite, dado que solo se cumple para disoluciones diluidas (< 0,01 M). Para concentraciones mayores, cada molécula altera la distribución de cargas de las moléculas vecinas, interfiriendo, a su vez, la capacidad de absorber la radiación produciendo desviaciones de la linealidad.⁽¹⁹⁾

2.4 Método de la adición estándar

Es uno de los métodos de calibración instrumental. Se recurre a él cuando las muestras son complejas y existe la probabilidad de que ocurran efectos debidos

a los otros componentes diferentes al analito a medir. La forma más habitual de aplicarlo es adicionando sucesivos volúmenes de una disolución patrón (V_S) de concentración conocida (C_S) a un único volumen de la muestra problema (V_X), lo que proporciona las disoluciones de trabajo a medir con una misma concentración de analito procedente de la muestra C_X , puesto que se llevan con el disolvente al mismo volumen final, en una matriz casi idéntica.

Si la respuesta del instrumento (S) es proporcional a la concentración, se puede escribir la ecuación 4, donde k es una constante de proporcionalidad y V_t es el volumen total de la muestra medida.

$$S = \frac{kV_S C_S}{V_t} + \frac{kV_X C_X}{V_t} \quad (4)$$

La representación de S , en función de V_S , es una línea recta de la forma:

$$S = S_0 + mV_S \quad (5)$$

La extrapolación de la recta de calibrado hasta cortar con el eje de las X , (V_S)₀ se corresponde con el volumen de patrón añadido para que la muestra de trabajo diese un valor cero de la señal y que, lógicamente, es un volumen negativo:

$$S = \frac{kV_S C_S}{V_t} + \frac{kV_X C_X}{V_t} = 0 \quad (6)$$

La concentración de las disoluciones de trabajo se puede calcular resolviendo la ecuación: ⁽¹⁹⁾

$$C_X = - \frac{(V_S)_0 C_S}{V_X} \quad (7)$$

Objetivos

- Comprobar si el tiocianato es un buen biomarcador de la exposición al humo del tabaco.
- Estimar las concentraciones del tiocianato férrico en orina de individuos fumadores, fumadores pasivos y no fumadores, mediante dos métodos de cuantificación, la ley de Lambert-Beer y el método de la adición estándar.
- Evaluar cómo afecta en sujetos no fumadores la exposición al humo del tabaco.

4. Materiales y Métodos

4.1. Productos

4.1.1 Disolvente

El disolvente utilizado para preparar todas las disoluciones de trabajo fue agua filtrada y purificada mediante ósmosis inversa (RO) con el sistema de depuración Milli.

4.1.2 Compuestos

Los compuestos utilizados para preparar las diferentes disoluciones stock fueron los que se muestran en la tabla 2.

Compuesto	Fórmula molecular	% riqueza	Marca
Cloruro férrico	$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	>99	Acros Organics
Ácido clorhídrico	HCl	37	Scharlau
Tiocianato de amonio	NH_4SCN	99	Honeywell Riedel-de-Haën

Tabla 2. Características principales de los solutos utilizados en la preparación de las diferentes disoluciones stock.

4.2. Aparatos

Balanza.

Los solutos de las disoluciones stock se pesaron en una balanza analítica marca Mettler modelo AE 163®. Con una capacidad de pesada de 160 g o 30 g y una incertidumbre de 0,001g y 0,00001 g, respectivamente. Empleando para este método la capacidad de 30 g.

Centrífuga.

Las muestras de orina se centrifugaron en una centrifuga marca JP Selecta®, modelo Cencom II, con cabezal angular para 6 tubos de 15 ml que permite la regulación electrónica digital de la velocidad y el tiempo. Posee una fuerza centrífuga relativa máxima de 1790 rad/s.

Programa informático.

Para el tratamiento matemático de los datos y resultados obtenidos en este TFG se utilizaron hojas de cálculo de Microsoft Office Excel®. Versión 2022.

Espectrofotómetro visible-ultravioleta.

Las absorbancias de las muestras de trabajo fueron medidas en un espectrofotómetro marca Helios Y de Thermo Spectronic® controlado por el software libre VisionPro®, usando la lámpara tungsteno y cubetas plásticas de 1 cm.

4.3 Informe CEIBA

La realización del presente TFG, requirió la previa aprobación del Comité de Ética de la Investigación y Bienestar Animal (CEIBA) de la Universidad de La Laguna.

Para ello, hubo que elaborar un proyecto, que explicara claramente el protocolo a seguir respecto a la forma de reclutar a los participantes, datos personales a recabar de éstos y las medidas de seguridad a tomar para preservar su anonimato. Con qué tipo de muestras biológicas trabajaríamos y cómo se procedería para su recogida, tratamiento y eliminación. El informe requería, además, la confección de la *hoja de información a él o a la participante*, en la que se le informa sobre la investigación en la que se le invita a participar. Y cómo los resultados del estudio serían publicados en el documento de este TFG. Sin que ello supusiera la revelación de ningún dato que pueda llegar a identificarle como participante.

De igual forma se presentaron las *hojas de consentimiento informado*, y de *recogida de datos del voluntario/a*, elaboradas para tal fin.

Los Anexos I y II de este trabajo de fin de grado recogen estas dos últimas hojas.

4.4 Procedimiento experimental

4.4.1 Disoluciones stock:

Se prepararon 3 disoluciones acuosas de 50,0 mL cada una, 0,060 M de FeCl_3 , 0,050 M de NH_4SCN y 0,500 M de HCl .



Figura 3: Disoluciones madre a partir de las cuales se elaboraron las disoluciones patrón.

4.4.2 Disoluciones patrón:

A partir de las tres disoluciones stock se prepararon 3 tandas de disoluciones patrón, para determinar el coeficiente de extinción molar del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, mediante la ley de Lambert-Beer.

Cada tanda tenía diferente proporción de $[\text{Fe}^{3+}] / [\text{SCN}^-]$, con objeto de valorar cual es la relación óptima que garantice que todos los iones tiocianato están coordinados a los iones Fe^{3+} y que, fundamentalmente, se forma el complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$. Los volúmenes tomados de cada disolución stock, las concentraciones de las disoluciones patrón y la proporción $[\text{Fe}^{3+}] / [\text{SCN}^-]$, para las tres relaciones estudiadas, se muestran en las siguientes tablas.

	[SCN ⁻] stock	Vol. stock SCN ⁻ (mL)	[SCN ⁻] patrón	[HCl] stock	Vol. stock HCl (mL)	[HCl] patrón	[FeCl ₃] stock	Vol. stock (mL)	[FeCl ₃] patrón	Fe ³⁺ /SCN ⁻
Blanco	0,050	0	0	0,50	0	0	0,060	0	0	
Patrón 1		0,020	2,00E-05		5,00	0,05		0,170	2,00E-04	10
Patrón 2		0,050	5,00E-05		5,00	0,05		0,420	5,00E-04	10
Patrón 3		0,100	1,00E-04		5,00	0,05		0,830	1,00E-03	10
Patrón 4		0,150	1,50E-04		5,00	0,05		1,25	1,50E-03	10
Patrón 5		0,200	2,00E-04		5,00	0,05		1,67	2,00E-03	10
Patrón 6		0,250	2,50E-04		5,00	0,05		2,08	2,50E-03	10
Patrón 7		0,300	3,00E-04		5,00	0,05		2,50	3,00E-03	10
Patrón 8		0,400	4,00E-04		5,00	0,05		3,33	4,00E-03	10
Patrón 9		0,500	5,00E-04		5,00	0,05		4,17	5,00E-03	10
Patrón 10	0,650	6,50E-04	5,00	0,05	5,42	6,50E-03	10			

Tabla 3: Concentraciones de disoluciones stock y patrón para la proporción 10:1 (Fe³⁺/SCN⁻).

	[SCN ⁻] stock	Vol. stock SCN ⁻ (mL)	[SCN ⁻] patrón	[HCl] stock	Vol. stock HCl (mL)	[HCl] patrón	[FeCl ₃] stock	Vol. stock (mL)	[FeCl ₃] patrón	Fe ³⁺ /SCN ⁻
Blanco	0,050	0	0	0,50	0	0	0,060	0	0	
Patrón 1		0,020	2,00E-05		5,00	0,05		0,330	4,00E-04	20
Patrón 2		0,050	5,00E-05		5,00	0,05		0,830	1,00E-03	20
Patrón 3		0,100	1,00E-04		5,00	0,05		1,67	2,00E-03	20
Patrón 4		0,150	1,50E-04		5,00	0,05		2,50	3,00E-03	20
Patrón 5		0,200	2,00E-04		5,00	0,05		3,33	4,00E-03	20
Patrón 6		0,250	2,50E-04		5,00	0,05		4,17	5,00E-03	20
Patrón 7		0,400	4,00E-04		5,00	0,05		6,67	8,00E-03	20
Patrón 8		0,500	5,00E-04		5,00	0,05		8,33	1,00E-02	20
Patrón 9		0,650	6,50E-04		5,00	0,05		10,83	1,30E-02	20

Tabla 4: Concentraciones de disoluciones stock y patrón para la proporción 20:1 (Fe³⁺/SCN⁻).

	[SCN ⁻] stock	Vol. stock SCN ⁻ (mL)	[SCN ⁻] patrón	[HCl] stock	Vol. stock HCl (mL)	[HCl] patrón	[FeCl ₃] stock	Vol. stock (mL)	[FeCl ₃] patrón	Fe ³⁺ /SCN ⁻
Blanco	0,050	0	0	0,50	0	0	0,060	0	0	
Patrón 1		0,020	2,00E-05		5,00	0,05		0,670	8,00E-04	40
Patrón 2		0,050	5,00E-05		5,00	0,05		1,67	2,00E-03	40
Patrón 3		0,100	1,00E-04		5,00	0,05		3,33	4,00E-03	40
Patrón 4		0,150	1,50E-04		5,00	0,05		5,00	6,00E-03	40
Patrón 5		0,200	2,00E-04		5,00	0,05		6,67	8,00E-03	40
Patrón 6		0,250	2,50E-04		5,00	0,05		8,33	1,00E-02	40
Patrón 7		0,300	3,00E-04		5,00	0,05		10,00	1,20E-02	40
Patrón 8		0,400	4,00E-04		5,00	0,05		13,33	1,60E-02	40
Patrón 9		0,500	5,00E-04		5,00	0,05		16,67	2,00E-02	40
Patrón 10	0,650	6,50E-04	5,00	0,05	21,67	2,60E-02	40			

Tabla 5: Concentraciones de disoluciones stock y patrón para la proporción 40:1 (Fe³⁺/SCN⁻).

4.4.3 Recogida y preparación de las muestras de orina:

Tras firmar la hoja de consentimiento informado por parte de los sujetos voluntarios, se les proporcionó, junto a la hoja de recogida de datos, los recipientes desechables para la recogida de la primera orina del día. Estos cumplían la actual legislación (sección 1.^a del capítulo III de la Orden PRE/1832/2011, de 29 de junio).

Al recoger la muestra, los botes se etiquetaban con un código que mantuviera el anonimato y resumiera los datos usados en el estudio. Estos eran: el género; el intervalo de edad; el hábito en estudio: fumador (F), fumador pasivo (FP) o no fumador (NF) y el número de cigarrillos fumados diariamente por el sujeto. Las muestras eran conservadas en nevera hasta la realización del ensayo espectrofotométrico, por un máximo de 2 días.

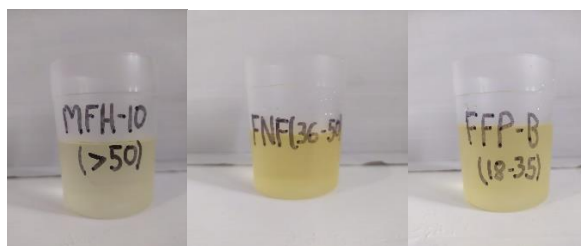


Figura 4: Ejemplos de las muestras de orina de sujeto fumador (F), uno no fumador (NF) y uno fumador pasivo (FP).

Para realizar la medida espectrofotométrica, se centrifugaron 5,00 ml de la muestra de orina recolectada, en tubos igualmente etiquetados, a 1000 rpm durante 5,0 minutos.

A partir de un alícuota de 1,00 ml del sobrenadante se elaboraron disoluciones problema de 50,0 mL (cuatro por orina), adicionando el mismo volumen (5,00 mL) de la disolución stock HCl (0,500 M) y diferentes de la de FeCl₃ (0,060 M), dependiendo de que la muestra procediera de un F (6,83 mL), o del grupo de los NF y FP (1,67 mL). (Tabla 6) Esta diferencia es debida a que las concentraciones de tiocianato en la orina de ambos grupos se espera que sean diferentes, (1-4 ppm para NF y 7-17 ppm para F).⁽²⁰⁾

Tal y como se ha explicado anteriormente, para que fundamentalmente se forme el complejo [Fe(SCN)]²⁺ y podamos asumir que su concentración es

prácticamente la misma que la del tiocianato, la $[Fe^{3+}] \gg [SCN^-]$. Por ello se eligió la proporción de 40:1.

Se adicionaron, por tanto, volúmenes de disolución stock de $FeCl_3$ a la disolución problema de tal forma que su concentración fuese 40 veces superior al valor de concentración de tiocianato en la orina publicados (1-4 mg/L en NF y mayor de 7 mg/L en F).⁽²⁰⁾

Las concentraciones obtenidas se muestran en la siguiente tabla:

Grupo	[SCN ⁻] publicado (mg/L)	[SCN ⁻] (M)	[Fe ³⁺] (M)	V Fe ³⁺ añadido (mL)
F	>7	2,05E-04	8,20E-03	6,83
NF y FP	1-4	5,00E-05	2,00E-03	1,67

Tabla 6: Cálculo de los volúmenes de Fe (III) añadidos a las disoluciones problema del grupo de los F y el de los NF y FP, a partir de sus concentraciones de tiocianato en orina de la bibliografía.

Las disoluciones de trabajo a medir en el espectrofotómetro se prepararon adicionando volúmenes crecientes de la disolución patrón (número 7; 40:1) a un único volumen (2 mL) de la muestra problema. Para cada individuo, se repitió el experimento 4 veces.

Nº Cubeta	Volumen muestra problema (mL)	Volumen patrón nº 7 40:1 (mL)
1	2,00	0
2	2,00	0,5
3	2,00	1,00
4	2,00	1,25
5	2,00	1,50
6	2,00	2,00

Tabla 7: Contenido de las disoluciones de trabajo (cubetas) en muestra problema y disolución patrón número 7 de las disoluciones utilizadas en las representaciones de Lambert-Beer.

La siguiente figura ilustra el procedimiento experimental seguido en el presente TFG.

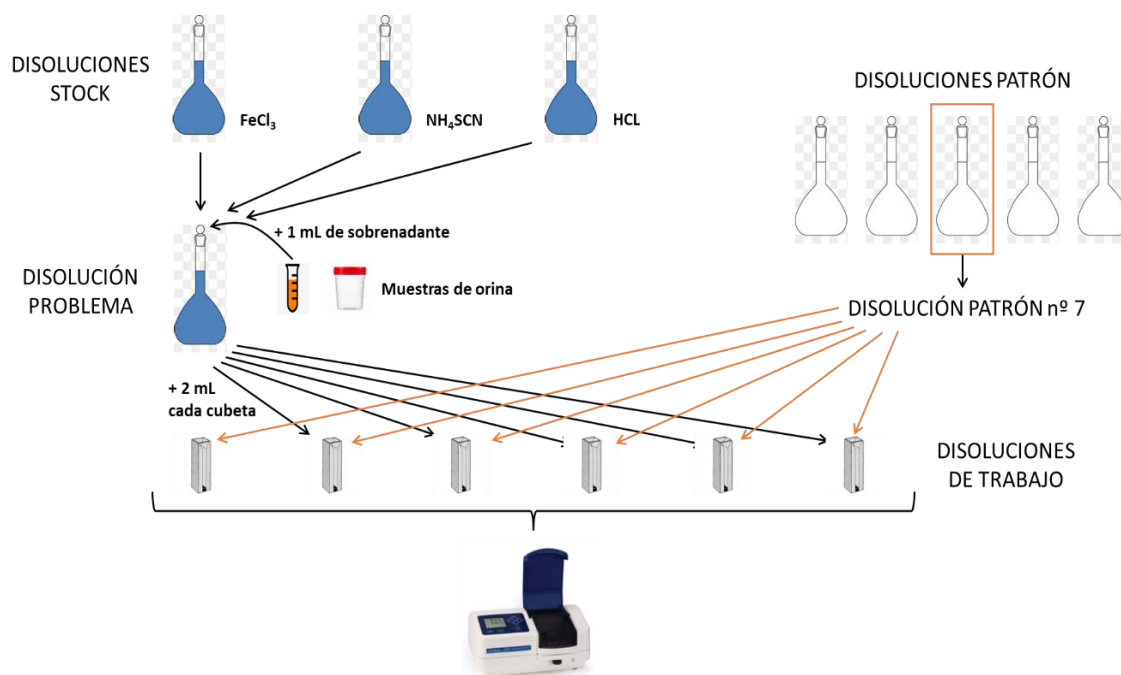


Figura 5: Esquema seguido para la elaboración de las disoluciones de trabajo, a partir de las disoluciones stock, la disolución patrón número 7 y la muestra de orina.

4.4.4 Medidas espectrofotométricas en el visible

Atendiendo al objetivo perseguido, podemos dividirlos en tres apartados:

- Barrido de la disolución stock 0,060 M FeCl_3 para valorar la interferencia con el $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, dado que como se ve en la Figura 3 tiene color amarillo-anaranjado.
- Barridos de las disoluciones patrón nº 1 y nº 10 con la misma relación $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{SCN}^-] = 40$, para localizar la longitud de máxima absorbancia del complejo rojo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$.
- Medidas a la longitud de onda de máxima absorbancia elegida (475 nm), para la detección del ion $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ en las disoluciones patrón (curva de Lambert-Beer) y en las disoluciones de trabajo (método de la adición estándar).

4.4.5 Análisis de datos

Los valores de las absorbancias y las longitudes de ondas se exportaron al programa informático Excel® con objeto de:

1º Representar los espectros y determinar la longitud de onda a la que medir las disoluciones patrón y las disoluciones de trabajo.

2º Determinar el coeficiente de extinción molar del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, mediante la representación de la ley de Lambert-Beer.

3º Calcular las concentraciones de este ion en la muestra de orina con el método de Lambert-Beer y de la adición estándar.

4º El tratamiento comparativo y estadístico de los resultados obtenidos.

5. Resultados y discusión.

5.1 Espectros de absorción.

La Figura 6 muestra conjuntamente los espectros de absorción del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ y del FeCl_3 (proporción 40:1). Y cómo la longitud de onda de máxima absorbancia del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ (460 nm), el FeCl_3 no interfiere. No obstante, para una mayor garantía, la longitud de onda elegida fue un poco mayor (475 nm).

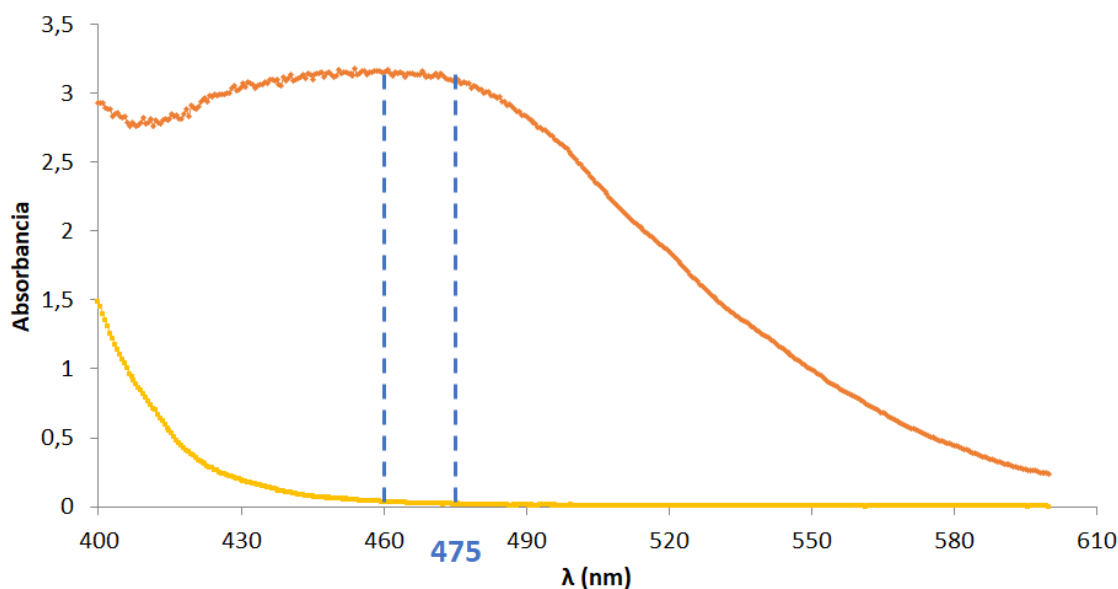


Figura 6: Espectros de absorción superpuestos de la disolución stock FeCl_3 (0,060 M) y la disolución patrón nº 10, proporción 40:1 y la longitud de onda de máxima absorbancia, elegida para el estudio (475).

5.2 Representación de la Ley de Lambert-Beer

En las siguientes tablas se recogen los valores de concentración del NH_4SCN y el FeCl_3 para la elaboración de las disoluciones patrón en la determinación del ϵ del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$. Cada una con una de las proporciones de $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ estudiadas y el ϵ correspondiente obtenido. Estas vienen seguidas por las representaciones de la ley de Lambert-Beer correspondientes.

	$[NH_4SCN]$ Patrón	$[FeCl_3]$ Patrón	Fe^{3+}/SCN^-	Media Absorb.	Desviac Est.	ϵ ($L/mol^{-1}cm^{-1}$)
Blanco	0	0		0	0	3744,95
Patrón 1	2,00E-05	2,00E-04	10	0,0070	0,0012	
Patrón 2	5,00E-05	5,00E-04	10	0,0340	0,0026	
Patrón 3	1,00E-04	1,00E-03	10	0,1068	0,0159	
Patrón 4	1,50E-04	1,50E-03	10	0,2685	0,0025	
Patrón 5	2,00E-04	2,00E-03	10	0,4050	0,0037	
Patrón 6	2,50E-04	2,50E-03	10	0,5633	0,0251	
Patrón 7	3,00E-04	3,00E-03	10	0,8053	0,0045	
Patrón 8	4,00E-04	4,00E-03	10	1,2470	0,0157	
Patrón 9	5,00E-04	5,00E-03	10	1,6645	0,0051	
Patrón 10	6,50E-04	6,50E-03	10	2,4330	0,0072	

Tabla 8: Concentraciones de las disoluciones patrón, con proporción 10:1, para determinar el coeficiente de extinción molar del $[Fe(SCN)]^{2+}$.

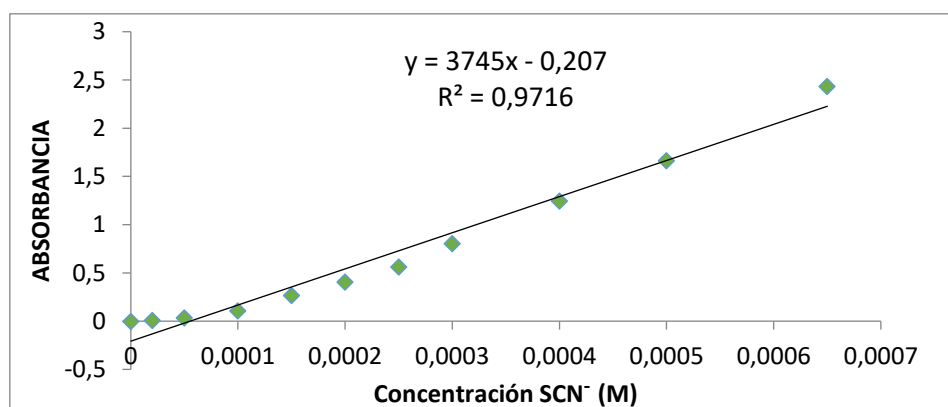


Figura 7: Representación de la absorbancia frente a la concentración de tiocianato con proporción 10:1. Y ecuación que satisface el ajuste.

	$[NH_4SCN]$ Patrón	$[FeCl_3]$ Patrón	Fe^{3+}/SCN^-	Media Absorb.	Desviac Est.	ϵ (L/mol ⁻¹ cm ⁻¹)
Blanco	0	0		0	0	4567,02
Patrón 1	2,00E-05	4,00E-04	20	0,011	0,002	
Patrón 2	5,00E-05	1,00E-03	20	0,0635	0,003	
Patrón 3	1,00E-04	2,00E-03	20	0,206	0,004	
Patrón 4	1,50E-04	3,00E-03	20	0,3955	0,003	
Patrón 5	2,00E-04	4,00E-03	20	0,62075	0,001	
Patrón 6	2,50E-04	5,00E-03	20	0,84275	0,009	
Patrón 7	3,00E-04	8,00E-03	20	1,56675	0,130	
Patrón 8	4,00E-04	1,00E-02	20	2,16	0,019	
Patrón 9	5,00E-04	1,30E-02	20	2,89425	0,005	
Patrón 10	6,50E-04	4,00E-04	20	0,011	0,002	

Tabla 9: Concentraciones de las disoluciones patrón con proporción 20:1 para determinar el coeficiente de extinción molar del $[Fe(SCN)]^{2+}$.

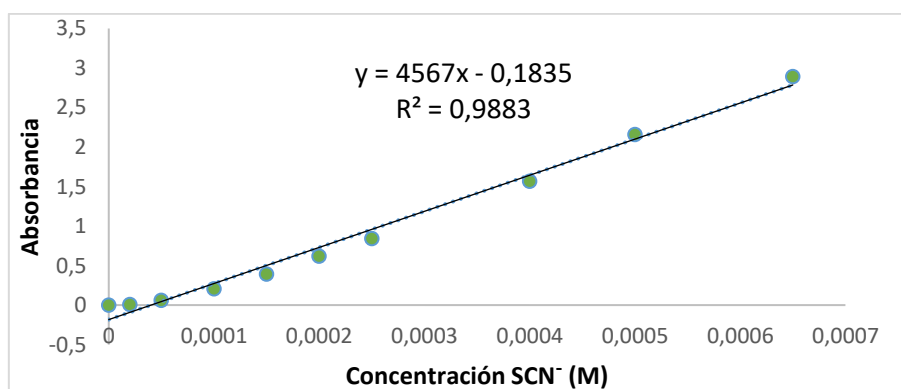


Figura 8: Representación de la absorbancia frente a la concentración de tiocianato con proporción 20:1. Y ecuación que satisface el ajuste.

	$[NH_4SCN]$ Patrón	$[FeCl_3]$ Patrón	Fe^{3+}/SCN^-	Media Absorb.	Desviac Est.	ϵ (L/mol $^{-1}$ cm $^{-1}$)
Blanco	0	0		0	0	5113,9
Patrón 1	2,00E-05	8,00E-04	40	0,0175	0,0047	
Patrón 2	5,00E-05	2,00E-03	40	0,1025	0,0044	
Patrón 3	1,00E-04	4,00E-03	40	0,3025	0,0066	
Patrón 4	1,50E-04	6,00E-03	40	0,54975	0,0044	
Patrón 5	2,00E-04	8,00E-03	40	0,81475	0,0046	
Patrón 6	2,50E-04	1,00E-02	40	1,07425	0,0063	
Patrón 7	3,00E-04	1,20E-02	40	1,344	0,0534	
Patrón 8	4,00E-04	1,60E-02	40	1,92775	0,0230	
Patrón 9	5,00E-04	2,00E-02	40	2,5615	0,0082	
Patrón 10	6,50E-04	2,60E-02	40	3,151	0,0096	

Tabla 10: Concentraciones de las disoluciones patrón con proporción 40:1 para determinar el coeficiente de extinción molar del $[Fe(SCN)]^{2+}$.

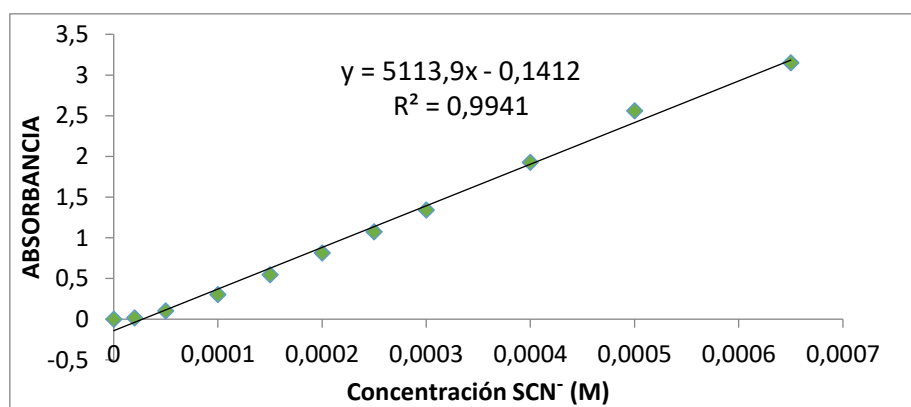


Figura 9: Representación de la absorbancia frente a la concentración de tiocianato con proporción 40:1. Y ecuación que satisface el ajuste.

Como vemos, según aumenta la proporción utilizada, el valor de coeficiente de determinación (R^2) se optimiza. Y el ϵ crece, aproximándose al de la bibliografía ($5445 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ⁽²¹⁾. Por ende, esta proporción fue la elegida para trabajar. Además, seguir aumentándola no era viable a la hora de preparar las disoluciones.

Estos resultados, indican que según aumenta la proporción $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ el complejo mayoritario es $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ y la ley de Lambert-Beer mejora su linealidad.

5.3 Determinación de la $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ en las muestras de orina.

5.3 a Curva de calibración de Lambert-Beer

A continuación, se tabulan las absorbancias registradas y los valores de concentración, calculados a partir de la ecuación de la ley de Lambert-Beer y el ϵ ($5113,9 \text{ L/mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) obtenido, para las muestras de orina de un F, un NF y un FP.

	Absorbancia (475 nm)	$[\text{SCN}^-]$	Conc. SCN^- en la disolución de trabajo (mg/L)	Conc. SCN^- en la muestra de orina (mg/L)
No fumador	0,00625	1,19E-06	0,0700	3,48
Fumador Pasivo	0,0225	4,31E-06	0,251	12,5
Fumador habitual	0,042	8,05E-06	0,468	23,4

Tabla 11: Concentraciones del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ obtenidas mediante la ley de Lambert-Beer para tres muestras de orina de sujetos pertenecientes a cada uno de los grupos estudiados.

5.3 b Método de la adición estándar

Las gráficas 10, 11 y 12 muestran la representación de la absorbancia frente al volumen añadido del estándar (columna 2) en los distintos grupos de estudio (NF, FP, F), mediante el método de la adición estándar, junto a la ecuación del ajuste obtenida en cada caso. En las tablas aparecen los valores correspondientes a la extrapolación (columna 4), así como el resultado del

cálculo de las concentraciones en las disoluciones de trabajo del $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ y en las muestras de orina.

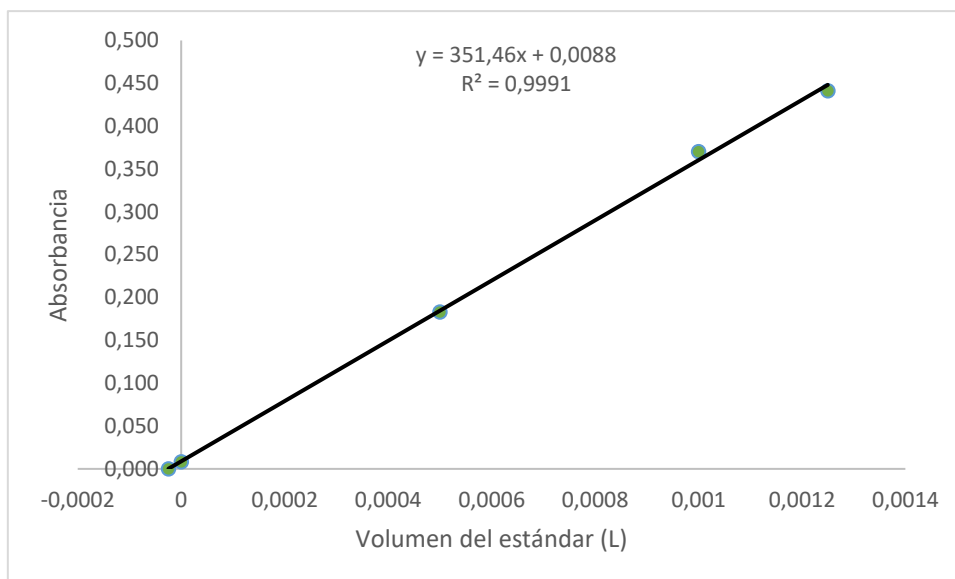


Figura 10: Representación gráfica de la absorbancia frente al volumen añadido del estándar en un individuo NF. Y ecuación que satisface el ajuste.

Nº cubeta	Volumen Patrón 7 (mL)	Absorbancia	V_{x0} (mL)	Conc. SCN^- en la disolución trabajo (M)	Conc. SCN^- en la disolución trabajo (mg/L)	Conc. SCN^- en la muestra problema (mg/L)
1	0	0,008	-2,46E-05	3,69E-06	0,210	10,7
2	0,5	0,183				
3	1	0,370				
4	1,25	0,441				

Tabla 12: Absorbancias obtenidas con el método de la adición estándar. Valor de la abscisa en el origen (V_{x0}) y de las concentraciones de tiocianato en las disoluciones de trabajo y en la muestra de orina para un individuo NF.

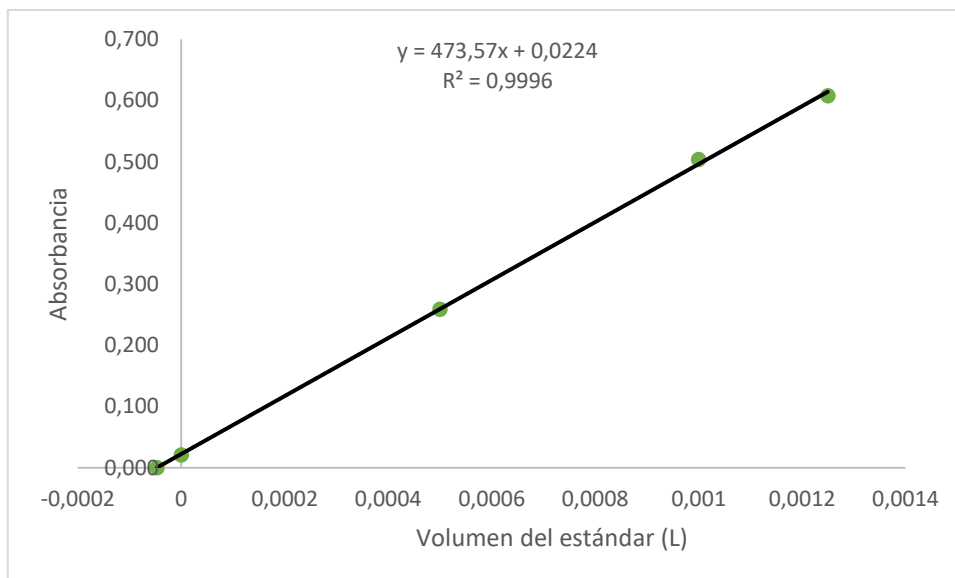


Figura 11: Representación gráfica de la absorbancia frente al volumen añadido del estándar en un individuo FP. Y ecuación que satisface el ajuste.

Nº cubeta	Volumen Patrón 7 (mL)	Absorbancia	V_{x_0} (mL)	Conc. SCN ⁻ en la disolución trabajo (M)	Conc. SCN ⁻ en la disolución trabajo (mg/L)	Conc. SCN ⁻ en la muestra problema (mg/L)
1	0	0,021	-4,71E-05	7,06E-06	0,410	20,5
2	0,5	0,259				
3	1	0,504				
4	1,25	0,608				

Tabla 13: Absorbancias obtenidas con el método de la adición estándar. Valor de la abscisa en el origen (V_{x_0}) y de las concentraciones de tiocianato en las disoluciones de trabajo y en la muestra de orina para un FP.

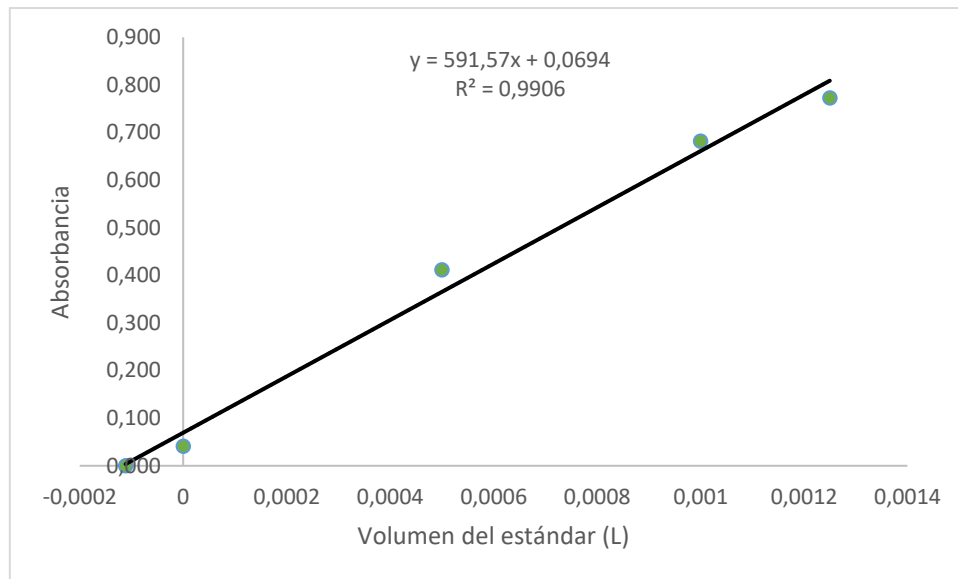


Figura 12: Representación gráfica de la absorbancia frente al volumen añadido del estándar en un individuo F. Y ecuación que satisface el ajuste.

Nº cubeta	Volumen Patrón 7 (mL)	Absorbancia	V_{x_0} (mL)	Conc. SCN ⁻ en la disolución trabajo (M)	Conc. SCN ⁻ en la disolución trabajo (mg/L)	Conc. SCN ⁻ en la muestra problema (mg/L)
1	0	0,041	-1,11E-04	1,67E-05	0,970	48,5
2	0,5	0,412				
3	1	0,682				
4	1,25	0,773				

Tabla 14: Absorbancias obtenidas con el método de la adición estándar. Valor de la abscisa en el origen (V_{x_0}) y de las concentraciones de tiocianato en las disoluciones de trabajo y en la muestra de orina para un individuo F.

5.4 Estudio comparativo y tratamiento estadístico de los resultados obtenidos.

En la siguiente tabla se comparan las concentraciones de tiocianato calculadas con sendas curvas de calibrado, en las disoluciones de trabajo y en las muestras de orina, en los tres grupos de estudio.

De cada individuo se presentan los datos de género (M/F), intervalo de edad y número de cigarrillos fumados por día, utilizando este número como criterio para ordenarlos en su grupo. En los FP se indica el grado de contacto con el humo del tabaco, que ellos mismos manifiestan en la *hoja de recogida de datos del voluntario/a*, como alto (A) o bajo (B).

Los valores medios de concentración de los cuatro experimentos realizados para cada sujeto, y los hallados en los sujetos del mismo grupo se presentan con las desviaciones y los errores estándar correspondientes.

Sujeto	Género	Rango edad	nº cigarrillos	Ley de Lambert-Beer				Método de la adición estándar					
				SCN* (mg/L)	Desv. estándar	Error estándar	SCN* (mg/L)	SCN* (mg/L)	SCN* (mg/L)	Desv. estándar	Error estándar	SCN* (mg/L)	SCN* (mg/L)
18	F	36-50	0	0,070	0,031	0,015	0,13 ± 0,022	6,4 ± 0,022	0,16	0,070	0,035	0,21 ± 0,027	10,5 ± 0,027
20	F	>50	0	0,10	0,071	0,036			0,16	0,16	0,080		
21	M	>50	0	0,12	0,029	0,015			0,20	0,10	0,052		
3	F	36-50	0	0,16	0,045	0,0224			0,23	0,10	0,052		
5	M	18-35	0	0,19	0,053	0,0265			0,30	0,16	0,082		
19	F	18-35	B	0,10	0,037	0,018	0,11 ± 0,026	5,3 ± 0,026	0,09	0,14	0,070	0,23 ± 0,048	11,6 ± 0,048
17	M	18-35	B	0,030	0,027	0,014			0,13	0,084	0,042		
13	M	>50	B	0,070	0,038	0,019			0,14	0,074	0,037		
14	F	18-35	B	0,11	0,014	0,0072			0,24	0,04	0,022		
1	F	18-35	B	0,12	0,0064	0,0032			0,37	0,11	0,056		
15	F	>50	A	0,060	0,026	0,013			0,22	0,17	0,085		
8	M	18-35	A	0,25	0,041	0,020	0,43	0,13	0,065				
4	F	18-35	5-6	0,25	0,047	0,023	0,30 ± 0,016	15,0 ± 0,016	0,78	0,19	0,096	0,83 ± 0,053	41,5 ± 0,053
16	M	>50	10	0,19	0,040	0,020			0,83	0,082	0,041		
6	M	>50	10	0,36	0,020	0,010			0,86	0,035	0,017		
2	M	36-50	15	0,28	0,17	0,086			0,99	0,29	0,15		
10	F	>50	20	0,13	0,037	0,018			0,55	0,054	0,027		
9	F	>50	20	0,47	0,029	0,014			1,00	0,046	0,023		
12	F	>50	30	0,22	0,021	0,011			0,62	0,011	0,006		
7	M	>50	30	0,35	0,068	0,034			0,85	0,057	0,029		
11	F	36-50	35	0,47	0,027	0,014			0,99	0,017	0,009		

Tabla 15: Comparativa de las concentraciones de tiocianato obtenidas con las dos curvas de calibrado (ley de Lambert-Beer y de la adición estándar), en cada grupo de estudio (NF, FP y FH). *Disoluciones de trabajo. #Muestras de orina.

Los histogramas permiten visualizar mejor los resultados tabulados anteriormente.

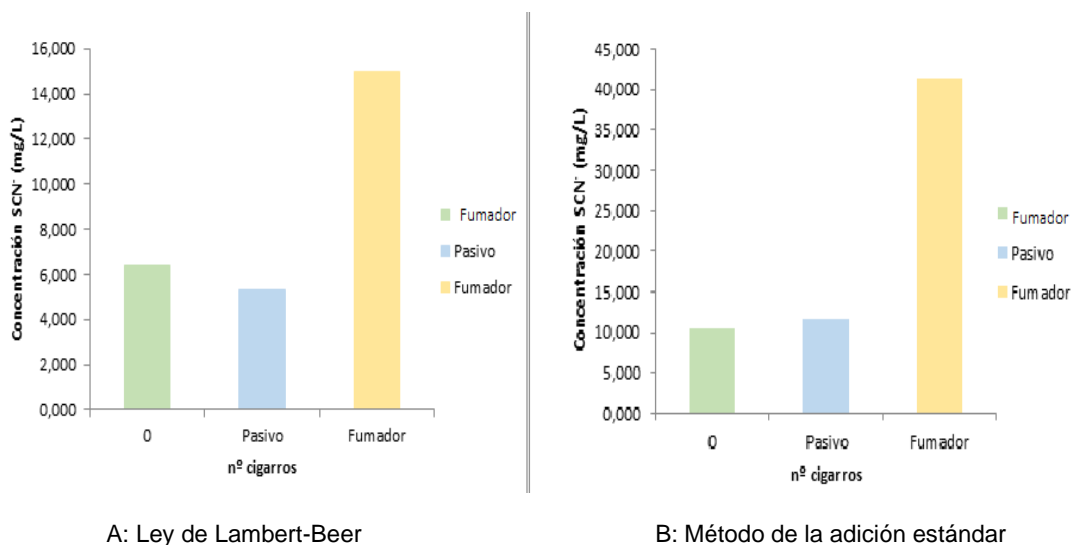


Figura 13: Representación mediante diagramas de barras de la concentración media de tiocianato (mg/L) obtenida en los tres grupos de estudio (NF, FP y FH) con ambos métodos (a y b) en las muestras de orina frente al número de cigarras fumados diariamente.

Según el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses de la Universidad de Sevilla, las concentraciones de tiocianato en orina, en los NF, deberían oscilar entre 1-4 ppm, mientras que en los F entre 7-17 ppm. En nuestros resultados, las concentraciones, por el método de la adición estándar, superan dichos intervalos, mientras que las calculadas por la ley de Lambert-Beer están prácticamente dentro del rango correspondiente.

La diferencia entre NF y FP, no es evidente con ninguno de los dos métodos, aunque el de la adición estándar, muestra una pequeña diferencia entre ambos (1,1 ppm).

Lo que sí es manifiesto por las dos vías, es el aumento de las ppm de tiocianato en la orina de un F, respecto de un NF. Los incrementos porcentuales entre ambos, en comparación con los del Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses de la Universidad de Sevilla, se plasman en la tabla 16.

nº cigarros	Adición estándar		Ley de Lambert-Beer		Valores de la bibliografía	
	Conc. media (mg/L)	Incremento % (mg/L)	Conc. media (mg/L)	Incremento % (mg/L)	Conc. media (mg/L)	Incremento % (mg/L)
0	10,5 ± 0,027		6,4 ± 0,022		2	
Pasivo	11,6 ± 0,048	10,5	5,3 ± 0,026	-----	6	200
1 - 35	41,5 ± 0,053	295,2	15,0 ± 0,016	134,4	12	500

Tabla 16: Incrementos porcentuales en la concentración de tiocianato en orina entre los FP y los F respecto al grupo de NF obtenidos frente a los incrementos reportados en la bibliografía.

Puesto que, como hemos visto anteriormente, los resultados de las concentraciones de tiocianato obtenidas, mediante la ley de Lambert-Beer, se ajustan más a los resultados en ppm que da la bibliografía ⁽²⁰⁾, hemos utilizado estos, para estimar de forma muy aproximada, el número de cigarros por día que se correspondería con la cantidad de tiocianato medida en orina, en uno de los FP.

Para ello, se representaron las concentraciones de tiocianato de los fumadores, frente al número de cigarros fumados por día que ellos mismos manifiestan en la *hoja de recogida de datos del voluntario/a*. El primer punto es el valor medio de la concentración de tiocianato que tienen los NF (0 cigarros fumados). (Figura 14)

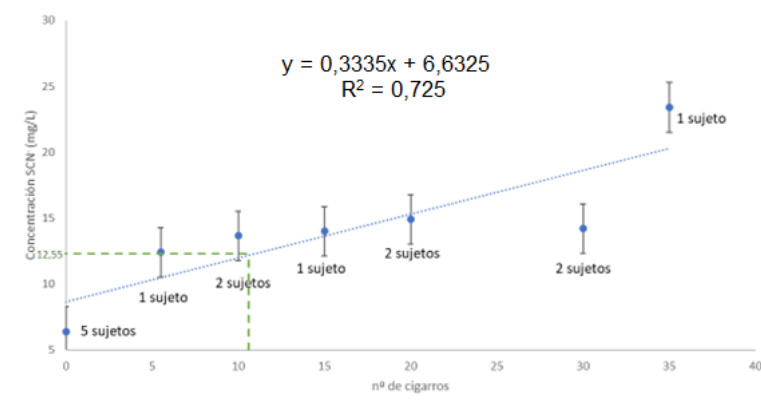


Figura 14: Representación de las concentraciones de tiocianato (mg/L) medidas en los fumadores, frente al número de sus cigarros fumados al día. La extrapolación muestra el número de cigarros aproximados, que la concentración en tiocianato en orina de un FP, supondría fumar.

La distribución de puntos obtenidos nos muestra una tendencia de pendiente positiva, cuyo ajuste a la ecuación de una recta, nos permite obtener por extrapolación, el número aproximado de cigarrillos fumados por día, que dicha cantidad supondría.

Cuando se elige la concentración de un FP con elevada exposición al humo del tabaco (Sujeto 12, Tabla 15), el número de cigarrillos diarios que sale de la extrapolación está entre 11 y 12. Evidentemente, este resultado es meramente ilustrativo, dado que el ajuste de la ecuación tiene un R^2 de 0,725. Además, el número de sujetos F con el mismo número de cigarrillos fumados de los que se ha podido disponer es pequeño. Por último, recordemos que los valores que arroja la ley de Lambert-Beer para FP, era el mismo que para los NF, no permitiendo su diferenciación.

Este último análisis sería más fiable, si el estudio con FP hubiese sido más amplio, en número de sujetos y en los datos suministrados en la *hoja de recogida de datos del voluntario/a* sobre las horas de contacto con el humo del tabaco, sus hábitos alimenticios, etc. Así como, en la precisión del número de cigarrillos fumados por los F, dado que la mayoría no sabe el valor exacto.

Conclusiones

- Este trabajo ha permitido comprobar que el uso del SCN^- como biomarcador del humo del tabaco es posible. Aunque, dado que este ion por sí, no absorbe en el visible, haya que complejarlo con la adición de Fe (III) complicando algo el procedimiento.
- Hemos comprobado como al incrementar la proporción $[\text{Fe}^{3+}] / [\text{SCN}^-]$ más se acerca el valor obtenido de la absorptividad molar, al valor reportado en la bibliografía, indicando que el complejo mayoritario obtenido, era el de nuestro interés, el $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$.
- Las concentraciones de tiocianato en orina calculadas, utilizando la ley de Lambert-Beer, se ajustan bastante a las teóricamente publicadas para NF y F. Permitiendo, cuantificar el incremento que, en estos últimos, supone. Aunque no ha conseguido diferenciar el grupo de los NF de los FP.
- Sorpresivamente el método de la adición estándar arroja concentraciones de tiocianato en orina elevadas, lo que posiblemente sugiera que haya que hacer modificaciones en el diseño de estos experimentos. Aun así, también ha permitido constatar el incremento tiocianato en orina entre F y NF.
- La recolección de muestras de orina entre familiares, amigos y compañeros de universidad ha puesto de relieve que cada vez fuma menos gente, lo que demuestra la conciencia que existe sobre los problemas de salud que puede acarrear este hábito.

Bibliografía

- [1]. Francisco José Roig Vázquez. Tabaquismo (adicción al tabaco): qué es, síntomas y tratamiento. Top Doctors. Disponible en: <https://www.topdoctors.es/diccionario-medico/tabaquismo>
- [2]. Universidad De Murcia. Componentes del tabaco. UMU. Disponible en: www.um.es/web/adv/diversidad/salud-comunitaria/tabaco/componentes
- [3]. Sergio Bello S., Susana Michalland H., Marina Soto I., Carla Contreras N. Y Judith Salinas C. Efectos de la exposición al humo de tabaco ambiental en no fumadores. *Scielo* 2005; 21: 179-192.
- [4]. Manuel Antonio Ballén, Andrés Jagua Gualdrón, Deisy Lorena Álvarez, Alejandro Rincón. El cigarrillo: implicaciones para la salud. *Scielo* 2006; 54.
- [5]. Jonathan M. Samet, Phd. Los riesgos del tabaquismo activo y pasivo. *Scielo*. 2002
- [6]. M.E. Torija Isasa, L. Villanúa Fungairiño, M.A. Zapata Revilla. Estudio de distintos tipos de vinos aromatizados. *Revista de tecnología e higiene de los alimentos* 1988; 192: 71-76
- [7]. Asenjo Lostao, Begoña, España Ubeira, Rosa Mary, Jiménez Dual, Carmen, Lorente Cebrián, Marisol, Molina Ladrón, Charo, Plo García, Beatriz. Más que hablar... de tabaco. Zaragoza. Disponible en: <https://www.zaragoza.es/contenidos/sectores/adicciones/masquehablar/tabaco/guia-profesor-tabaco.pdf>
- [8]. Instituto Nacional de Estadística [Internet]. España: Cifras INE. Boletín 4/2012 [Citado en 2015]. Disponible en: <http://www.ine.es/revistas/cifraine/0412.pdf>
- [9]. Lorenzo, P. et al. Velázquez. *Farmacología básica y clínica*. Editorial Médica Panamericana. 2018; 18ª edición.

- [10]. J.L. Rodríguez Hermosa, J. Hernández Vázquez. ¿Disponemos del marcador biológico ideal para valorar la exposición al humo del tabaco?. Patología respiratoria 2006; 9(2): 55-56
- [11]. J. Pozuelos Estrada, et Al. Farmacología de la nicotina. Elsevier. 2000; 35(9): 409-417
- [12]. Departamento De Salud Y Servicios Humanos De Los Ee.Uu. Resumen de salud pública. Cianuro. ATSDR 2006. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs8.pdf
- [13]. Quiroga, Patricia N., Olmos, Valentina. Revisión de la toxicocinética y la toxicodinamia del ácido cianhídrico y los cianuros. Scielo 2009; 17
- [14]. Jocecastillo. Método Peroxido De Hidrogeno. Scribd. 2013.
- [15]. M.^a Llanos Amo Saus, Milagros Molina Alarcón, Enrique González Cortés, Manuela García Moreno, Antonia Alfaro Espín. Determinación de tiocianato en suero sanguíneo como medida del hábito tabáquico de un grupo de jóvenes. Ruidera, UCLM 1997.
- [16]. Ies Jovellanos. Simulación de un vertedero. Studylib. Disponible en: http://www.iesjovellanos.com/archivos/Simulacion_de_un_Vertedero.1173600857.pdf
- [17]. Arlene Soto et al. Determinación de Fe(II) en vinos blancos mediante análisis de inyección en flujo con detección espectrofotométrica. UAEH 2006; 96: 281-289
- [18]. Rebeca Córdova-Moreno, Consuelo Moreno-Bonett, Rosa Zugazagoitia-Hérranz, Francisco López-Naranjo Y Cristina Sánchez-Martínez. Modelo educativo teórico-práctico: "El consumo de tabaco". Scielo 2015; 26: 2
- [19]. Principios de Análisis Instrumental (5^a Edición en Español, 2001), D. A. Skoog, F. James Holler y Timothy A. Nieman. Mc Graw Hill.
- [20]. Mr Repetto Y M Repetto. Tabla de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos como referencia para el diagnóstico toxicológico. Ilustre Colegio Oficial de Químicos. Sevilla, 2015; 57

- [21]. Kevin De Berg. Inorganica Chimica Acta. Elsevier. 2017; 466: 1-638.
- [22]. The American Cancer Society [Internet]. [Citado en 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/causas-del-cancer/tabaco-y-cancer/agentes-cancerigenos-en-los-productos-de-tabaco.html>
- [23]. Los Alquimistas. Equilibrio químico. Estudio espectrofotométrico. Esdelibro. 2015; 7. Disponible en: 201000938_equilibrio_trabajo.pdf.
- [24]. D. L. Ashley Et Al. Informe sobre la base científica de la reglamentación de los productos de tabaco: cuarto informe de un grupo de estudio de la OMS. OMS. 2010.
- [25]. Flanagan, Sv, Johnston Rb And Zheng Y. Arsenic in tube well water in Bangladesh: health and economic impacts and implications for arsenic mitigation. Bull World Health Organ 2012; 90: 839-846.
- [26]. World Health Organization (WHO). Hydrogen Cyanide and Cyanides: Human Health Aspects. Concise International Chemical Assessment. 2004
- [27]. Boxer Ge, Rickards Jc. Studies on the metabolism of the carbon of cyanide and thiocyanate. Arch Biochem Biophys. 1952; 39(1):7-26
- [28]. Juan A. Llorens-Molina. Equilibrio De Formación Del Complejo $[\text{Fe}(\text{Scn})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$. Principio de Le Chatelier. UPV
- [29]. Thomas M. Devlin. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. Editorial Reverté. 2004; 4ª edición.

ANEXO II

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (CI)

Título del estudio: *Valoración experimental del ion tiocianato como biomarcador de la exposición al humo del tabaco.*

Alumna: Dña. Tamara León Concepción

Profesor-Tutor: Dra. Raquel Rodríguez Raposo

(Por favor, rellene el siguiente documento de su puño y letra)

Yo,, declaro que

- He leído la hoja de información sobre el estudio que se me ha entregado (Anexo I);
- He hablado con Tamara León Concepción, quien me ha explicado los detalles del mismo;
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He podido preguntar todas mis dudas y éstas han sido resueltas de forma satisfactoria.
- Comprendo que mi participación es voluntaria y anónima.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera y sin tener que dar explicaciones.
- Los datos que suministro en el Anexo III son ciertos.

Al firmar el presente documento, me presto voluntariamente a participar en este estudio y doy mi consentimiento para la utilización de mis muestras de orina y los datos suministrados en el Anexo III, en la investigación de la cual se me informa en la hoja de información al participante.

Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado

La Laguna ade2022

FIRMA DEL PARTICIPANTE

FIRMA DE LA ALUMNA

ANEXO III

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS DEL VOLUNTARIO ANÓNIMO

Por favor, marque con una X o rellene el dato, según corresponda:

- GÉNERO:

MACULINO FEMENINO

OTRO

- EDAD:

(18- 35) AÑOS (36- 50) AÑOS

MAYOR DE 50 AÑOS.....

- FUMADOR/A HABITUAL..... N° DE CIGARROS AL DÍA

- FUMADOR PASIVO

- GRADO DE CONTACTO CON EL HUMO DEL CIGARRO DIARIO PARA EL FUMADOR PASIVO

ALTO..... MEDIO BAJO

- NI FUMADOR ACTIVO, NI FUMADOR PASIVO

Muchas gracias por su colaboración desinteresada en este trabajo de Fin de Grado

CÓDIGO: