

EVALUACIÓN DE UN MÉTODO COLORIMÉTRICO DIRECTO PARA LA MEDICIÓN DE CLORURO DE BENZALCONIO

Sabina Baroni¹, María de Lujan Calcagno², María Susana Fortunato¹, Jesús David Álvarez Roncancio¹, Alfredo Gallego¹, y Sonia Edith Korol¹

¹ Cátedra de Salud Pública e Higiene Ambiental. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 954, CABA. e-mail: sabinabaroni@gmail.com

² Cátedra de Matemática. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Introducción

El Cloruro de Benzalconio (CB) es un detergente de amonio cuaternario compuesto por una mezcla de cloruros de alquilbencildimetilamonio. Su fórmula general es $[C_6H_5CH_2N(CH_3)R] Cl$, en la que R representa grupos alquilo de cadena normal de una longitud comprendida entre 8 y 18 átomos de carbono (1).

El CB es considerado en la actualidad un contaminante emergente. Por sus propiedades antimicrobianas, puede favorecer en los cursos de agua la selección de bacterias resistentes. Nuestro grupo de trabajo ha seleccionado bacterias autóctonas capaces de llevar a cabo su degradación. La necesidad de contar con un método sencillo, el cual posea un rango de cuantificación adecuado y que además utilice poco volumen de muestra, nos llevó a desarrollar la técnica que presentamos en este trabajo.

Los métodos colorimétricos de medición reportados para el CB son técnicas complejas que incluyen una fase de separación con solventes orgánicos (1). En su mayor parte estos métodos se basan en la formación de un complejo coloreado con un colorante de carga negativa, posteriormente extraído en la fase orgánica (2, 3). También se han reportado algunos métodos de análisis espectrofotométrico directo, en los que se trabaja con volúmenes de muestra relativamente grandes (4, 6), o que tienen un rango de linealidad bajo (5, 6).

En el método de Cross (2) el CB reacciona con un colorante ácido en exceso en presencia de un buffer que regula el pH de reacción. El complejo es posteriormente extraído a la fase clorofórmica que se mide espectrofotométricamente. Sin embargo con un exceso moderado del colorante puede observarse un cambio de color directamente en la solución acuosa debida a la formación del complejo CB-colorante. Esta respuesta es cuantificable en valores de absorbancia de la mezcla de reacción en función de la concentración de CB presente.

El objetivo de este trabajo fue proponer una técnica colorimétrica sencilla como método de medición del CB, y evaluar el rango de aplicación y su linealidad.

Materiales y Métodos

Se utilizaron disoluciones acuosas de Cloruro de Benzalconio 98,5% pureza Carlo Erba (Sabadell, España). El azul de bromotimol fue provisto por Chroma Gessellschaft, Schmid y Co. (Stuttgart, Alemania). Para establecer la longitud de onda óptima de reacción se realizaron mediciones de absorbancia en función de la longitud de onda en la región del visible (400 a 700) para cada punto de la curva de calibración. Una vez seleccionada la longitud de onda se estableció la concentración óptima del colorante y el tiempo óptimo de reacción realizando medidas de absorbancia en función del tiempo hasta lograr valores máximos y estables. Otras condiciones de la reacción como pH y naturaleza del buffer fueron mantenidas de acuerdo a la técnica original. La técnica se llevó a cabo a temperatura ambiente. El equipo utilizado para la medición fue un

espectrofotómetro HACH DR 5000 UV/Visible. Se utilizaron cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Para los test estadísticos realizados se utilizó el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba) y se estableció el nivel de significación en 0,05.

Resultados

De acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionaron las siguientes condiciones de reacción: La longitud de onda fue 460 nm, la concentración del colorante 0,5 mM y el tiempo de reacción 10 minutos. La técnica propuesta se detalla a continuación: A 1,5 ml de muestra se le agrega igual volumen de buffer fosfato 0,1 M pH 7,5. Luego de agitar en vortex se agrega 0,5 ml de la solución de colorante Azul de Bromotimol 0,5 mM. Se agita nuevamente. Luego de 10 minutos se realiza la lectura de la absorbancia a 460 nm. Se aplicó el modelo de Regresión lineal sobre las lecturas obtenidas en cinco mediciones independientes para cada concentración. Se estableció el rango de linealidad mediante un Anova para bondad de ajuste (p -valor=0,664); la regresión resultó significativa (p -valor <0,0001); la normalidad de los residuos se verificó mediante el test de Shapiro-Wilks (p -valor=0,998). Sobre la base de la estimación de las curvas de cuadrados mínimos se establecieron los límites de detección y cuantificación. El rango de concentración en el que se verificó la linealidad fue de 5 a 40 mg/l. El límite de detección fue de 4 mg/l; y el de cuantificación, 5 mg/l.

Conclusiones

El método propuesto para la medición de CB es útil en un rango de concentraciones de 5 a 40 mg/l. Comparado con los métodos reportados previamente este método es sencillo, rápido, utiliza un volumen pequeño de muestra y es amigable con el medio ambiente ya que no se utilizan solventes orgánicos. Teniendo en cuenta estas ventajas, este método podría aplicarse en la medición de CB en industrias que fabrican o preparan distintas formulaciones del compuesto para uso comercial.

Referencias

1. Farmacopea Nacional Argentina, 7^o Edición (2003) Disponible en Internet: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Farmacopea_Argentina_2013_Ed.7.pdf
2. Cross J.T.(1970) A critical review of techniques for the identification and determination of cationics surfactants. In Cationic surfactants, vol 4, Editor: Marcel Dekker ed. pp.423-449. Ed. Jungermann, New York.
- 3 Lucchesi, G.I. *et al* (2010). Adaptative response and degradation of quaternary ammonium compounds by *Pseudomonas putida* AN ATCC 12633. In Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Vol.2. Editor Mendez Vilas, A. pp 1297-1303. Ed. Formatex, Badajoz.
- 4 Lowry J.B, (1979) Direct spectrophotometric assay of quaternary ammonium compounds using bromothymol blue. Journal of Pharmaceutical Sciences.68: 110-111
- 5 Schep, L.J., *et al.* (1995). A colorimetric ion pairing analytical method for quaternary ammonium compounds using eosin-Y and Triton X-100. Journal of Pharmaceutics. 113: 263-266
6. Li, S.y Zhao, S. (2004) Spectrophotometric Determination of cationic surfactants with benzothiazolyldiazoaminoazobenzene. AnalyticaChimicaActa. 501: 99-102.