

PROYECTO PAPIME PE208418

SEGUNDO AÑO

FES CUAUTITLÁN

PRODUCTO: PRESENTACIÓN ORAL EN CONGRESO NACIONAL
DE QUÍMICA ANALÍTICA



Colegio AMQA-20028



La **Universidad Autónoma de San Luis Potosí** a través de la Facultad de Ciencias Químicas y la Asociación Mexicana de Química Analítica A.C., otorgan el presente

CONSTANCIA

A

Omar Uriel Miranda Ocampo, Alma Luisa Revila Vázquez, José de Jesús Olmos Espejel, Alejandro López Vasquez

por la presentación del trabajo en modalidad oral:

"DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA LA EXTRACCIÓN DE ERITRITOL EN TEJIDO DE MACHOS CAPRINOS"

Lo anterior en el marco de las actividades del **XXXII Congreso Nacional de Química Analítica** celebrado del 10 al 14 de junio del 2019 en el Auditorio Rafael Nieto y Patio de la Autonomía de la UASLP.

San Luis Potosí, S.L.P., a 14 de junio 2019.

"Siempre Autónoma. Por mi Patria Educaré"



XXXII Congreso Nacional de Química Analítica
XXII Simposio Estudiantil

Optimización de la determinación de eritritol en tejido de machos caprinos

Omar Uriel Miranda Ocampo, Alma Luisa Revilla Vázquez*,
Alejandro López Vasquez, José de Jesús Olmos Espejel

almarv@unam.mx

Problemática



Brucella Mellinesi.

Ocasiona problemas en el sistema reproductor de machos y hembras.

Eritritol: fuente de C

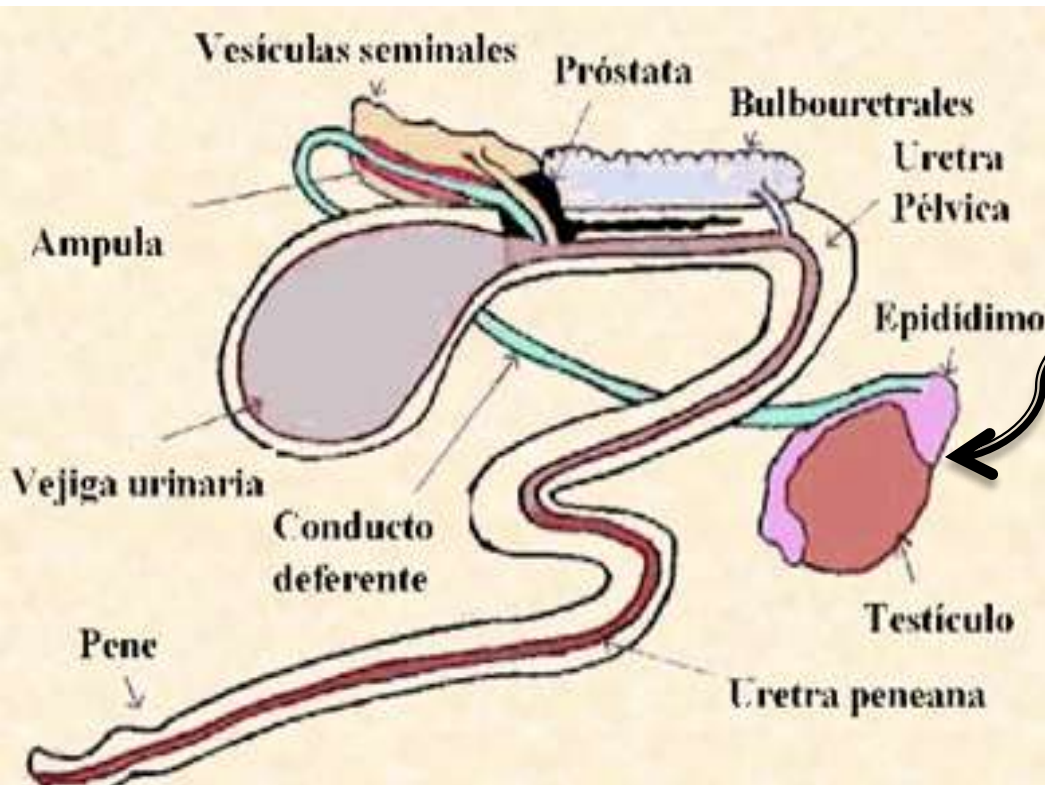


Fig 1. Aparato reproductor de macho Cabrío.

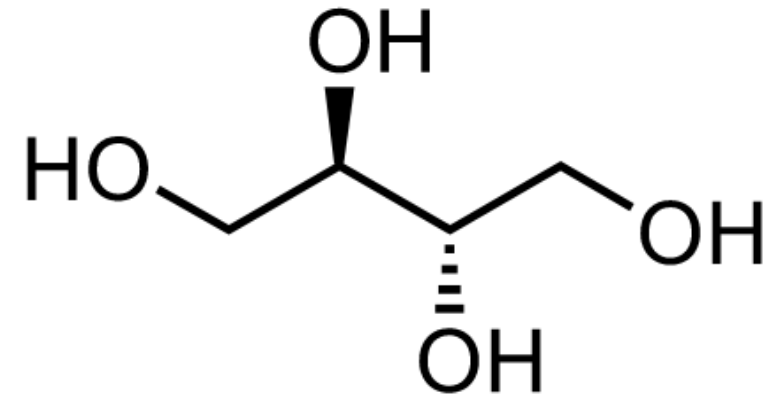
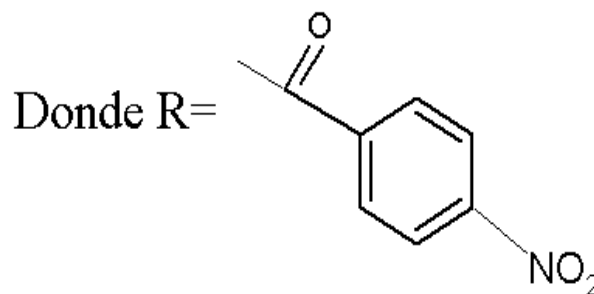
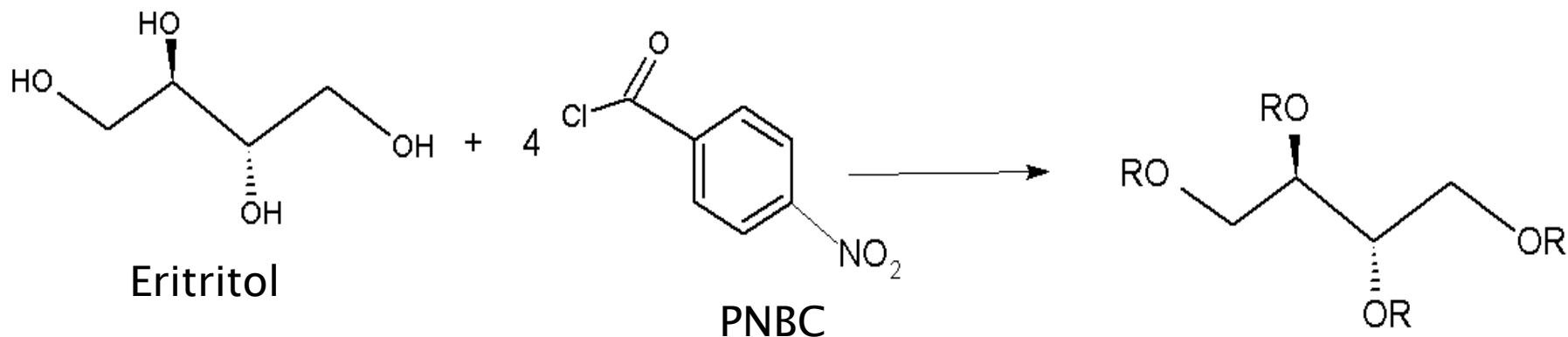


Fig 2. Estructura del eritritol

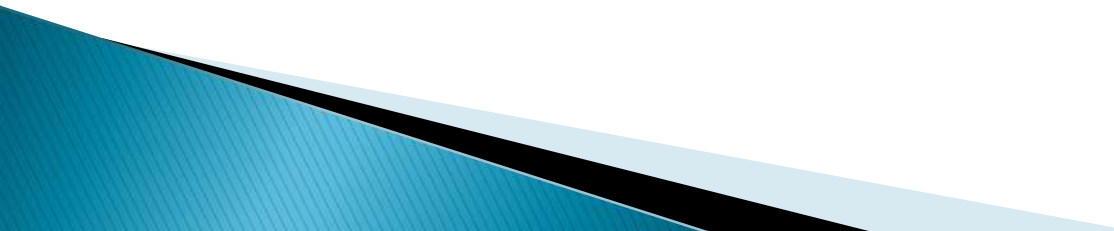
J. D. Anderson, H. Smith. The Metabolism of Erythritol by *Brucella abortus*.
Journal of General Microbiology. 38 , 109-124 (1965).

Reacción de derivatización



S. Nojiri, K. Saito, N. Taguchi, M- Oishi, T. Maki. Liquid Chromatography Determination of Sugar Alcohols in Beverages and Foods after Nitrobenzoylation. Food composition and additives. **82**, 1, 134-140 (1999).

Objetivos.

- ▶ Establecer las condiciones óptimas de separación y análisis cromatográfico para determinar eritritol en tejido de macho cabrío utilizando un sistema de CLAR con detección UV-Vis.
 - ▶ Determinar el mejor tratamiento de la muestra que permita obtener de manera reproducible la recuperación del analito.
- 

Separación cromatográfica

▶ Tabla 2. Gradiente de elución

Tiempo (min)	% MeOH	% Agua	Flujo (mL/min)
0	65	35	1.2
6	85	15	1.2
8	65	35	1.2
Tiempo de equilibrio= 4 min			
Tiempo de análisis= 12 min			

Optimización de la derivatización

Tipo de solución	A	B	C
Eritritol –ACN (40 mg/L)	100 µL	100 µL	100 µL
PNBC –ACN (20000 mg/L)	150 µL	150 µL	150 µL
Buffer carbonato (0.1 %) pH 11.22	X	X	100 µL
Buffer boratos (0.1 M) pH 8.2	X	100 µL	X

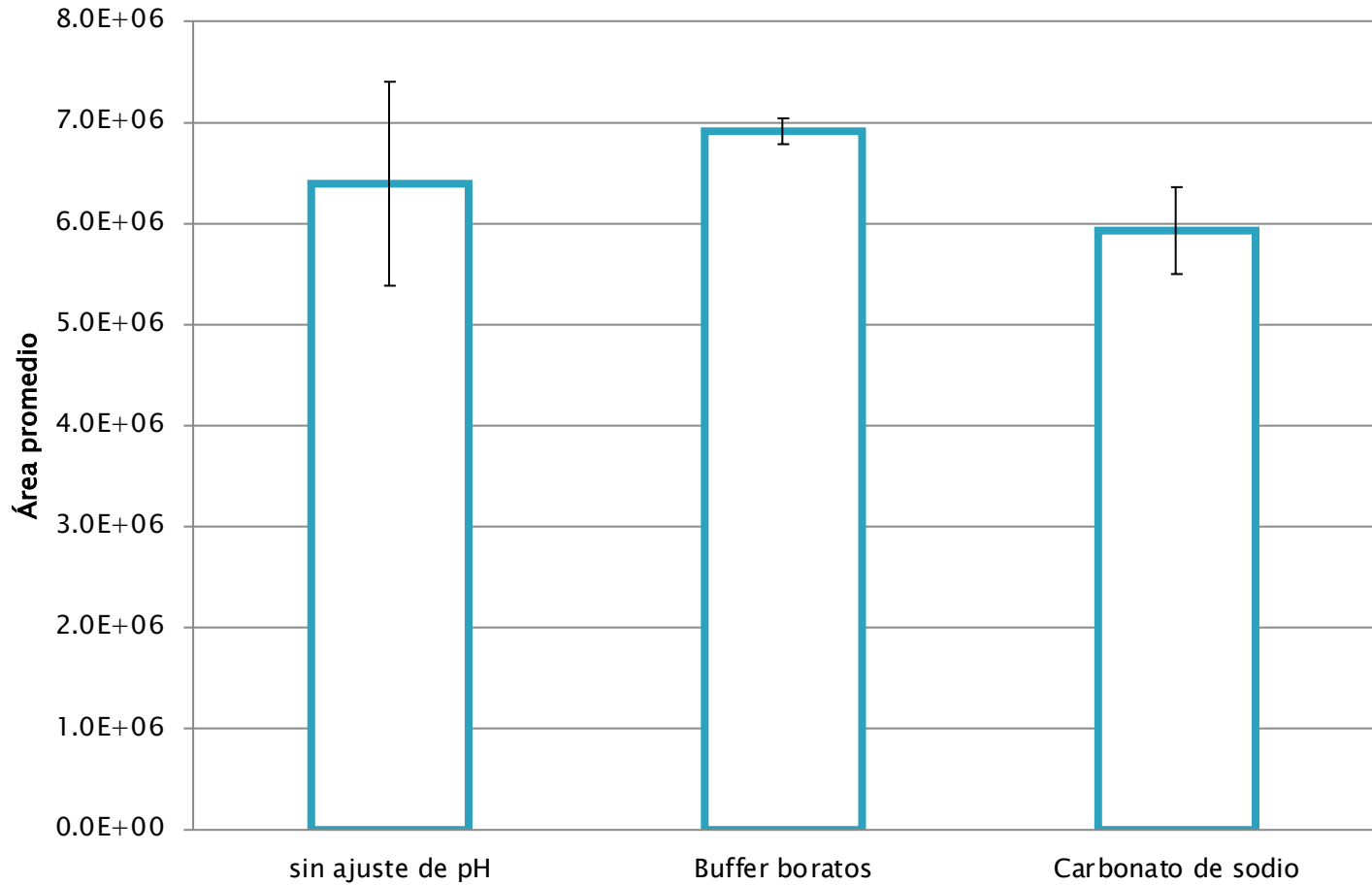


Fig 3. Comparación de las áreas obtenidas

N=3

Separación cromatográfica

Columna ZORBAX SB-Phenyl de 250 mm de largo, 4.6 mm de ancho y diámetro de partícula de 5 μm . Longitud de onda de trabajo: 260 nm.

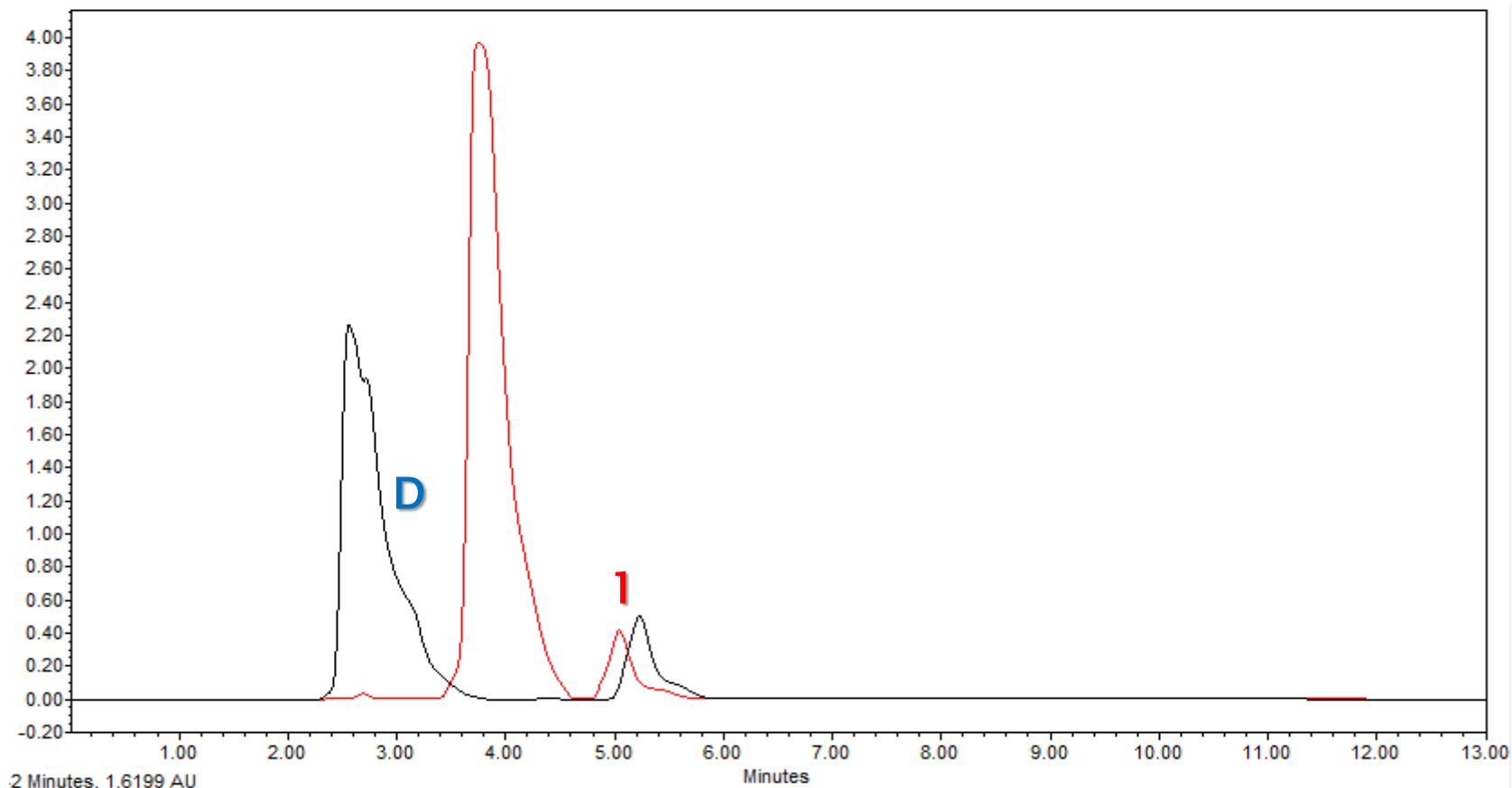


Fig x. Cromatograma de un std de eritritol con PNBC. Derivado en medio de boratos (rojo) y el derivado con carbonato (negro).

D = Exceso de derivatizante, **1** = Derivado eritritol-PNBC

Cambio de columna

- ▶ Columna ZORBAX XDB-Phenyl de 150 mm de largo, 4.6 mm de ancho y diámetro de partícula de 3.5 μm .
- ▶ Flujo isocrático compuesto por 75% MeOH.

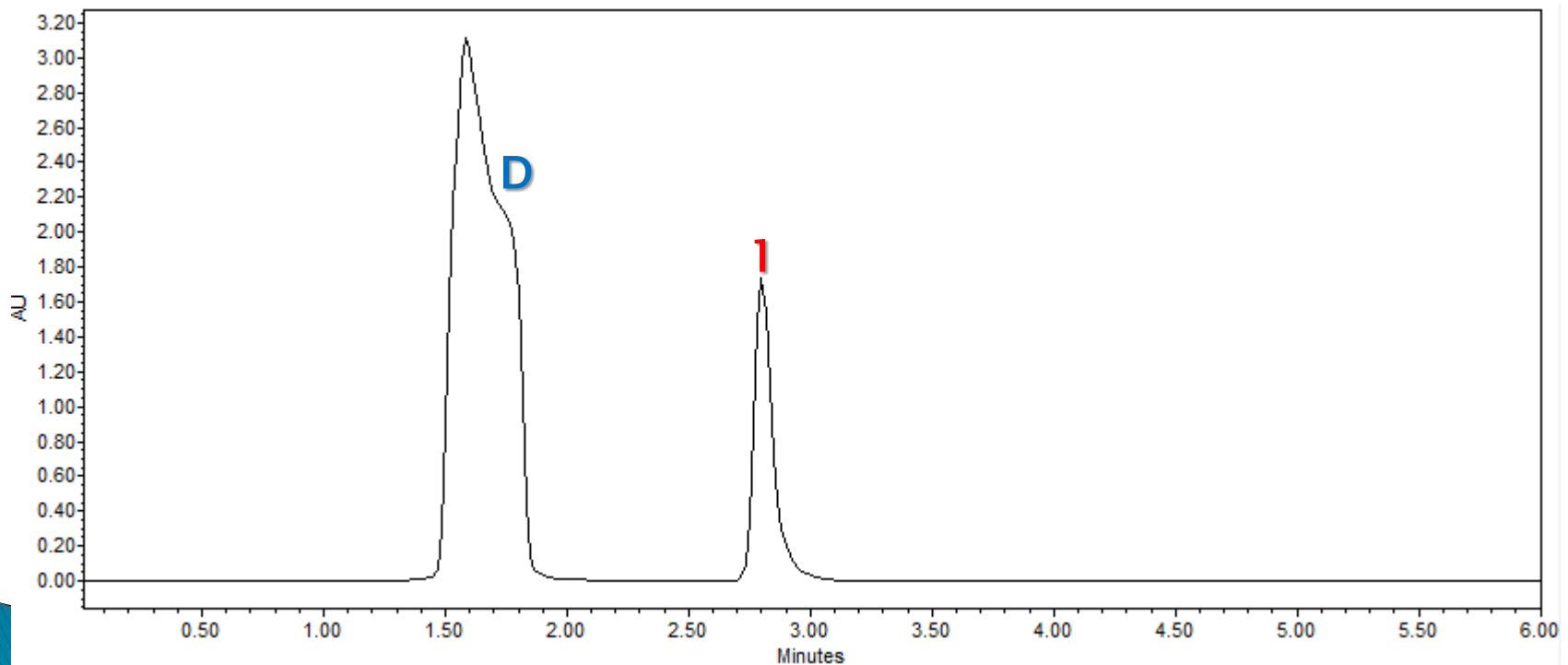
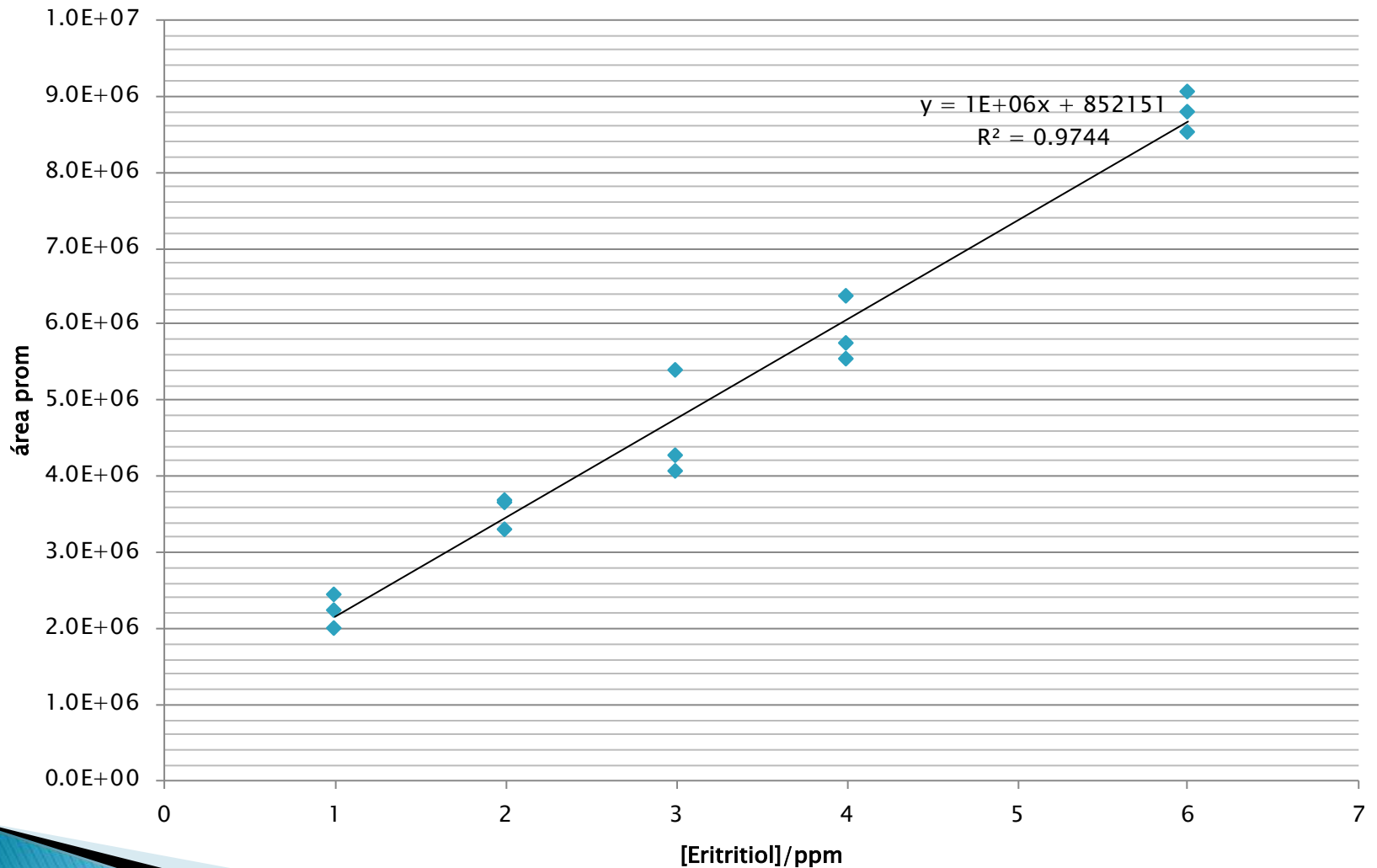


Tabla 2. Preparación de la curva de calibración.

Sistema	A	B	C	D	E
Eritritol (40 mg/L)	25 μ L	50 μ L	75 μ L	100 μ L	150 μ L
PNBC (20000 mg/L)	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L
Buffer carbonato s (0.1 M)	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L
Conc. Eritritol [mg/L]	1	2	3	4	6

Curva de calibración



Muestras de tejido de cabra.



Fig 5. Tejido fresco.



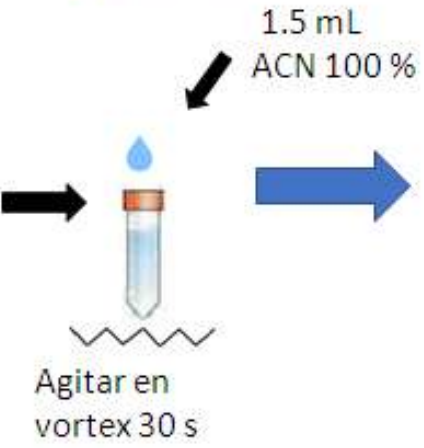
Fig 6. Tejido liofilizado.

Evaluación del efecto matriz en extractos de músculo de testículo de caprino

1. Homogeneizar



2. Extracción



3. Centrifugación



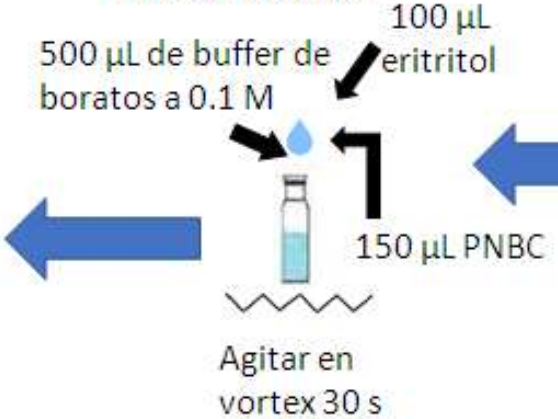
Sobrenadante



4. Evaporación



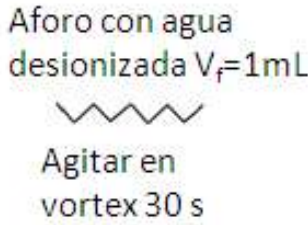
5. Reconstitución



6. Incubación



8. Análisis cromatográfico



Evaluación en extractos de músculo de caprino.

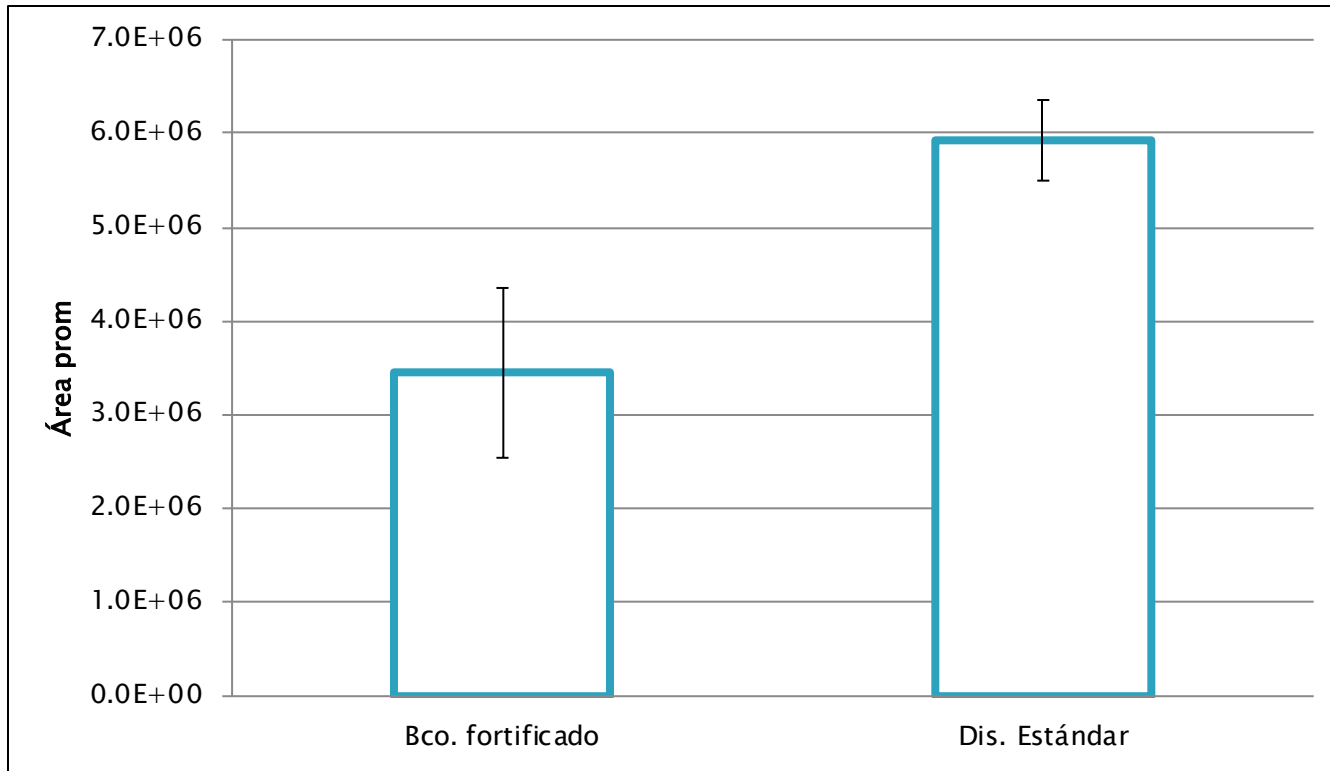
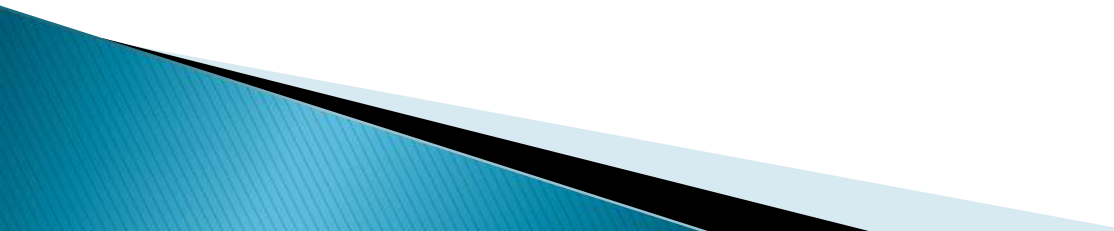


Figura 9. Comparación de las áreas obtenidas con un extracto de testículo caprino fortificado a 5 mg/L y una disolución estándar a la misma concentración de eritritol.

Conclusiones

- ▶ Se encontraron las condiciones cromatográficas que permiten la determinación de eritritol mediante CLAR-UV a través de una reacción de derivatización con PNBC.
 - ▶ El sistema se ajustó a un modelo lineal, siendo reproducible entre días.
 - ▶ Se continua trabajando en el tratamiento de la muestra y se plantea usar un estándar interno.
- 

Referencias:

- ▶ [1] J. D. Anderson, H. Smith. The Metabolism of Erythritol by *Brucella abortus*. Journal of General Microbiology. **38** , 109–124 (1965).
- ▶ [2] T. Higashi, N. Takayama, T. Nishio, E. Taniguchi, K. Shimada. Procedure for increasing the detection responses of estrogens in LC–MS based on introduction of a nitrobenzene moiety followed by electron capture atmospheric pressure chemical ionization. Analytical and Bioanalytical Chemistry. **386**, 658–665 (2006).
- ▶ [3] A. Kiyoshima, K. Kudo, N. Nishida, N. Ikeda. HPLC Simultaneous determination of glyceron and mannitol in human tissues for forensic analysis. Forensic Science International. **125**, 127–133 (2002).
- ▶ [4] S. Nojiri, K. Saito, N. Taguchi. M– Oishi, T. Maki. Liquid Chromatography Determination of Sugar Alcohols in Beverages and Foods after Nitrobenzoylation. Food composition and additives. **82**, 1, 134–140 (1999).
- ▶ [5] M. Grembecka, A. Lebidzińska, P. Szefer. Simultaneous separation and determination of erythritol, xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, fructose, glucose, sucrose and maltose in food products by high performance liquid chromatography coupled to charged aerosol detector, Microchemical Journal. **117**, 77–82 (2014).
- ▶ [6] T. Shindou, Y. Sasaki, H. Miki, T. Eguchi, K. Hagiwara, T. Ichikawa. Determination of Erythritol in Fermented Foods by High Performance Liquid Chromatography. Food Hygiene and Safety Science, **29**,(6) 419–422 (1988).