

Determinación de quinina en tónicas mediante tratamiento de imagen

Kevin U. Antela^{1*}, Alba Ochoa Ballesteros¹, Roberto Sáez Hernández¹, M. Luisa Cervera¹,
Agustín Pastor García¹, María José Luque² y Ángel Morales Rubio¹

¹*Departamento de Química Analítica, Edificio de Investigación, Universidad de Valencia. Carrer del Dr. Moliner, 50, 46100 Burjassot, Valencia (España)*

²*Departamento de Óptica, Facultad de Física, Universidad de Valencia. Carrer del Dr. Moliner, 50, 46100 Burjassot, Valencia (España)*

<https://sites.google.com/view/solinsmartphone/home>

Resumen: En este trabajo se ha desarrollado un método para cuantificar quinina mediante fluorescencia con Smartphone. El procedimiento implica solo la necesidad de una linterna de luz ultravioleta (396 nm), una caja de porexpán, una cubierta plástica con recubrimiento interno de terciopelo negro y un Smartphone. El método proporciona un límite de detección (LOD) de 0.75 mg/L y un límite de cuantificación (LOQ) de 2.50 mg/L. La aplicabilidad del tratamiento de imagen en muestras comerciales de tónica para cuantificar quinina ha proporcionado resultados comparables a los obtenidos con el método de referencia empleando un fluorímetro. En el caso del análisis por Smartphone de las muestras de tónica es necesario realizar un análisis por adición de patrón. Para asegurar la fiabilidad de las medidas, se ha caracterizado la cámara mediante una carta de color y un espectrorradiómetro, con el que se ha también evaluado la estabilidad de la luz de la linterna.

1. Introducción

El clorhidrato o sulfato de quinina es un alcaloide obtenido de la corteza de árboles de especies tropicales [1]. Este compuesto se puede encontrar en especies de la familia de las rubiáceas en concentraciones en torno al 1-2 % junto con otros alcaloides relacionados [1]. Este compuesto tiene propiedades antipalúdicas demostradas, pero se ha utilizado en la industria cosmética y como agente aromatizante en bebidas [1,2].

Entre los métodos de determinación de quinina se pueden encontrar la cromatografía líquida, la cromatografía de gases, la electroforesis capilar, la espectrometría de masas, la espectrometría atómica y la fluorimetría [3]. Este último método proporciona la medida en forma de señal lumínica. Las señales de luz y/o color pueden ser captados por otros dispositivos que permitan captar imágenes, como el Smartphone [2,4].

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de un método de determinación fluorimétrica, utilizando un Smartphone como sensor. Para ello se ha empleado la quinina como analito, y se han realizado estudios de estabilidad de la luz y de condiciones para la correcta medida colorimétrica. Finalmente, el método desarrollado se ha comparado con el empleo de un fluorímetro como método de referencia.

2. Materiales y métodos

Se ha empleado sulfato de quinina dihidratado (Guinama, Valencia, España) y ácido sulfúrico 95-97% (Scharlau, Sentmenat, España) para preparar los patrones y diluir las muestras.

La instrumentación de referencia era un espectrofluorímetro FP-6200 (Jasco, Japón). Para la captura de imágenes, se ha empleado un Samsung Galaxy S/ Edge Model SM-G935F con una cámara de 12.2 MP, una linterna con 9 LEDs ultravioleta con pico de emisión a 396 nm y una caja de porexpán de 20x27x28 cm de dimensiones externas y 12x19x24 cm de dimensiones internas. Para caracterizar colorimétricamente la cámara del teléfono se ha empleado un espectrorradiómetro SpectraScan® PR655 Photo Research® (EE.UU).

* e-mail: kevin.urbanou@uv.es

Caracterización de la cámara

Para caracterizar colorimétricamente la cámara del Smartphone se ha generado en Matlab un conjunto de 120 estímulos auto luminosos en la pantalla de un portátil, cubriendo la gama de colores en la que se produce la fluorescencia y regiones cercanas e incluyendo el blanco y el negro (en el fondo de la carta). Los estímulos se presentaron en dos cartas, organizados en una matriz regular de 6x10. La Fig. 1 muestra una de las cartas de color empleadas para la caracterización de la cámara. La única iluminación presente durante las medidas era la procedente de las cartas. Para la toma de la fotografía de las cartas se ha empleado el modo profesional de la cámara del Smartphone. Las condiciones empleadas fueron ISO de 125, 1/F de 1/45, temperatura de 5900 K y zoom de 1.2

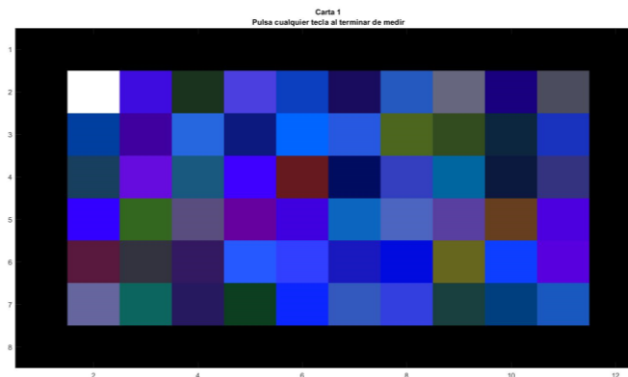


Figura 1: Carta de color empleada para la caracterización del teléfono.

Los valores XYZ de la carta han sido medidos con el espectrorradiómetro. La relación entre los valores RGB de las imágenes de las cartas capturadas por el smartphone y los valores triestímulo se ha modelizado mediante un polinomio de grado 5, para minimizar la diferencia de color CIELAB entre los descriptores medidos por las muestras y los predichos por el modelo [5]

Muestras

Se tomaron 5 muestras de tónicas de diferentes marcas que especificaban en el etiquetado tener cierto contenido de quinina. Las muestras se prepararon por dilución en medio sulfúrico 0.5 M previa desgasificación.

Determinación por espectrofluorimetría

Las muestras se midieron empleando una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso óptico. Las condiciones de medida fueron anchos de banda de excitación y de emisión de 5 nm, sensibilidad media, longitud de onda de excitación 349 nm y longitud de onda de emisión 450 nm.

Determinación por Smartphone

Las muestras preparadas se depositaron en viales de 10 mL y se colocaron a 25 cm de la cámara. Los viales se colocaron sobre la linterna, con un difusor en medio para homogeneizar la luz. Las fotografías fueron tomadas con el modo profesional de la cámara empleando las mismas condiciones indicadas en el apartado de caracterización de la cámara. La Fig. 2 muestra la disposición de la cabina y el Smartphone para cuantificar la quinina mediante este procedimiento.



Figura 2: Disposición para la medida de fluorescencia mediante Smartphone.

3. Resultados y discusión

Estabilidad de la disolución de quinina

Para evaluar cuanto tiempo se podía utilizar una disolución de quinina sin que se degradara se preparó un calibrado entre 0.5 y 5 mg/L de quinina y se midió por espectrofluorimetría durante varios días. El patrón más concentrado saturaba el equipo, por lo que en las condiciones estudiadas el rango de trabajo se sitúa entre 0 y 4 mg/L de quinina. El calibrado preparado se midió durante dos semanas, todos los días (5 días), y posteriormente una tercera semana espaciando los días (lunes y jueves). El calibrado se midió un total de 12 días. La Tabla 1 muestra las pendientes de las regresiones lineales obtenidas para el calibrado preparado los diferentes días, así como la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación (C.V.).

Día	Pendiente	Día	Pendiente	Día	Pendiente
1	240.46	5	246.32	9	238.2
2	246.7	6	246.2	10	239.94
3	247.74	7	248.82	11	239.99
4	250.31	8	241.64	12	245.32
Media	244	Desviación estándar	4	C.V. (%)	1.65

Tabla 1: Variación de la pendiente de la recta de calibrado durante diferentes días (12 días).

Estabilidad de la luz

Para evaluar la estabilidad de las medidas con la linterna, se han realizado medidas con el patrón más concentrado de quinina durante 30 minutos en tres días diferentes con sets de pilas nuevos. Al realizar esta comprobación se ha observado una estabilidad en el parámetro L* del espacio de color CIELAB, proporcionando un valor de 37 ± 2 (3 tandas de 30 minutos, 1 medida por minuto, 90 medidas).

Optimización de la toma de fotos

Para la toma de medidas con el Smartphone se han estudiado diferentes configuraciones para observar en cuál de todas se obtiene el calibrado más sensible y más estable. Debido a que trabajamos con luminosidad de la muestra fluorescente se ha empleado el parámetro L* del espacio de color CIELAB, que, además, ha demostrado ser el más estable a lo largo del tiempo de medición bajo las mismas condiciones. Para tomar las medidas se estudiaron diferentes cubiertas para los viales para evitar problemas debidos a brillos o reflexiones internas. Los estudios se realizaron sin cubierta, con cubiertas con recubrimiento interno de fieltro negro o sin recubrimiento y con un agujero de salida en la cubierta o con dos agujeros de salida. La Tabla 2 muestra los datos obtenidos para calibrados con las diferentes cubiertas. Los resultados muestran que el mejor calibrado se obtiene empleando una cubierta con recubrimiento interno de fieltro y con dos agujeros. El método empleando este recubrimiento proporciona un LOD de 0.75 mg/L y un LOQ de 2.50 mg/L.

Día	Ecuación	R ²	Rango lineal (mg/L)
Sin cubierta	$y = 1.3607x + 3.4026$	0.9919	6-15
Sin recubrimiento interno y 1 agujero	$y = 1.8474x - 3.3884$	0.987	4-15
Sin recubrimiento interno y 2 agujeros	$y = 1.6298x - 2.5976$	0.9888	4-15
Con recubrimiento interno y 1 agujero	$y = 1.3608x - 1.2417$	0.997	4-15
Con recubrimiento interno y 2 agujeros	$y = 1.6542x - 3.3409$	0.9975	4-15

Tabla 2: Datos de las curvas de calibración para cada uno de los recubrimientos estudiados (x: concentración de quinina en mg/L; y: parámetro L* del espacio de color CIELAB).

Medida de muestras reales

Una vez optimizada la toma de fotos y estudiada la estabilidad de la luz, se evaluó el contenido de quinina en 5 muestras comerciales de diferentes marcas, tanto con el método de referencia como con el nuevo método desarrollado. El contenido de quinina en las muestras se ha determinado empleando un calibrado externo y un calibrado por adición de patrón para comprobar que la matriz de la tónica no interfiriera en la cuantificación de fluorescencia con ambos instrumentos.

Los resultados mostrados en la Tabla 3 indican que la matriz no interfiere en la determinación de quinina con el método de referencia, sin embargo, si interfiere en la cuantificación por Smartphone. Por ello para cuantificar muestras reales mediante el uso de un Smartphone es necesario emplear un calibrado de adición de patrón.

Método	Calibración externa		Calibrado por adición de patrón	
	Fluorímetro	Smartphone	Fluorímetro	Smartphone
Instrumento				
Muestra A	64 ± 2	61 ± 1	66 ± 2	64 ± 1
Muestra B	77 ± 1	55 ± 2	78 ± 1	76 ± 2
Muestra C	62 ± 1	35 ± 1	63 ± 1	63 ± 3
Muestra D	52.0 ± 0.3	33 ± 6	52.9 ± 0.3	51 ± 4
Muestra E	94.4 ± 1.5	49 ± 1	95.4 ± 1.5	96 ± 1

Tabla 3: Análisis de del contenido de quinina expresado en mg/L para diferentes muestras reales con diferente instrumentación y diferente método de análisis.

4. Conclusiones

En el presente trabajo se ha desarrollado un nuevo método para estudiar la fluorescencia de muestras reales como parámetro analítico utilizando un Smartphone. Para captar el color correctamente mediante el Smartphone se ha realizado una caracterización mediante una carta de color mostrada en una pantalla debido a que se están estudiando objetos autoluminosos. Los resultados indican que es necesario el empleo de una cubierta con un recubrimiento interno de terciopelo para lograr una correcta adquisición de las medidas de fluorescencia. El método proporciona un LOD = 0.75 mg/L y un LOQ = 2.50 mg/L. Únicamente con el recubrimiento, un Smartphone, una linterna y una caja de porexpán se ha logrado realizar un análisis fluorimétrico en muestras de tónica para cuantificar quinina. Los contenidos determinados por espectrofluorimetría son comparables a los resultados obtenidos mediante el Smartphone. A pesar de que para espectrofluorimetría la matriz de la tónica no produce interferencias, para la medición por Smartphone sí que se percibe un efecto matriz. Por lo tanto, para cuantificar quinina en tónica mediante Smartphone es necesario utilizar un calibrado por adición de patrón.

Agradecimientos: El grupo de investigación agradece el soporte proporcionado por el proyecto GVA-PROMETEO-2019-056

Bibliografía

- [1] J.C. García, M.J. Sánchez, M.A. Rodríguez, C. Díaz, “4th Order Derivative Spectrophotometric Determination of Quinine in Soft Drinks”, *Mikrochimica Acta*, 110, p.263-268 (1993).
- [2] E. Vidal, A.S. Lorenzetti, M.A. Aguirre, A. Canals, C.E. Domini, “New, inexpensive and simple 3D printable device for nephelometric and fluorimetric determination based on smartphone sensing”, *RSC Advances*, 10(33), 19713-19719 (2020).
- [3] M. Buleandra, A.A. Rabinca, M.C. Cheregi, A.A. Ciucu, “Rapid voltammetric method for quinine determination in soft drinks”, *Food Chemistry*, 253, 1-4 (2018).
- [4] S. Soares, K.G. Torres, E.L. Pimentel, P.B. Martelli, F.R.P. Rocha, “A novel spot test based on digital images for determination of methanol in biodiesel”, *Talanta*, 195, 229-235 (2019).
- [5] P. Sebastián, ML. Cervera, A. Morales, MJ. Luque Cobija. Dontrol de calidad del aceite de fritura mediante smartphones colorimétricamente calibrados. *Actas XII Congreso Nacional del Color*, pp. 75-78 (2019).