



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Departamento de Química



“ANÁLISIS MULTIELEMENTAL EN MIELES DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA”



TRABAJO DE TESIS DE GRADO
LICENCIATURA EN QUÍMICA

Presentado por

María Lilia Goitía

Director

Dr. JOSÉ MANUEL CAMIÑA

Co-directora

MSc. MARÍA SUSANA BOERIS

SANTA ROSA - LA PAMPA
2007

Índice

Capítulo 1- INTRODUCCIÓN

1.1- LA MIEL	1
1.1.1- Definición	1
1.1.2- Composición	2
1.1.3- La miel y los elementos de transición	3
1.2- ANTECEDENTES REFERIDOS A LA DETERMINACIÓN DE METALES EN MIEL	6
1.2.1- Métodos electroquímicos	6
1.2.2- Métodos espectroscópicos	7
1.3- TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS	9
1.3.1- Generalidades de la espectroscopia atómica	9
1.3.2- Atomización de la muestra	9
1.3.2.1- Atomizadores continuos.....	10
1.3.2.2- Atomizadores discretos.....	10
1.3.3- Tipos y fuentes de espectros atómicos	11
1.3.3.1- Fuentes de espectros atómicos.....	12
1.3.3.2- Absorción de energía radiante por los átomos.....	12
1.3.3.3- Espectros de emisión atómica.....	13
1.3.3.4- Espectros de absorción atómica.....	13
1.3.4- Atomización con llama	13
1.3.4.1- Tipos de llamas utilizados en la espectroscopia atómica.....	14
1.3.4.2- Estructura de la llama.....	15
1.3.4.3- Atomizadores de llama.....	16
1.3.5- Atomizadores electrotérmicos	18
1.3.5.1- Modificadores de matriz para hornos.....	20
1.4- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)	20
1.4.1- Introducción	20
1.4.2- Fuente de radiación	21

1.4.2.1- Lámparas de cátodo hueco.....	22
1.4.3- Rendijas y lentes.....	23
1.4.4- Monocromador.....	24
1.4.5- Detectores.....	24
1.4.6- Interferencias.....	25
1.4.6.1- Tipos de interferencias.....	25
1.5- ESPECTROSCOPIA DE EMISION OPTICA POR PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-OES).....	27
1.5.1- Introducción.....	27
1.5.2- La fuente de plasma acoplado inductivamente	29
1.5.3- Introducción de la muestra.....	30
1.5.4- Atomización e ionización de los analitos.....	31
1.5.5- Espectros y aspecto del plasma.....	32
1.5.5.1- Características del plasma.....	32
1.5.5.2- Espectros obtenidos a partir de fuentes de energía elevada.....	32
1.5.6- Ventajas del plasma acoplado por inducción.....	33
1.6- FOTOMETRIA DE LLAMA.....	34
1.6.1- Introducción.....	34
1.6.2- Equipo.....	35
1.6.2.1- Quemador.....	35
1.6.2.2- Espejos y lentes.....	36
1.6.2.3- Rendijas.....	36
1.6.2.4- Monocromadores.....	37
1.6.2.5- Filtros.....	37
1.6.2.6- Detectores.....	38
1.6.3- Ventajas.....	38
1.7 - TRATAMIENTO DE MUESTRA.....	38
1.7.1- Mineralización de la muestra.....	38

Capítulo 2- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1- Reactivos y material de laboratorio.....	41
2.2- Instrumental.....	41
2.3- Mineralización de la muestra	41
2.4- Análisis instrumental.....	42
2.4.1- Espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).....	42
2.4.2- Espectroscopia de absorción atómica (AAS).....	42
2.4.3- Fotometría de llama (FP).....	42

Capítulo 3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1- Muestreo de mieles naturales.....	43
3.2- Análisis elemental en mieles naturales.....	45

Capítulo 4- CONCLUSIONES

4.1- De las metodologías analíticas empleadas.....	47
4.2- De los metales presentes en mieles naturales de La Pampa.....	47

Capítulo 5- BIBLIOGRAFÍA.....	49
--------------------------------------	-----------

Resumen

Se realizó el análisis multielemental en 20 muestras de mieles naturales provenientes de distintas regiones de la Provincia de La Pampa. Para ello se utilizaron distintas técnicas analíticas. Para la determinación de los siguientes elementos se utilizó un equipo de espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente. Los valores hallados fueron los siguientes (en mg/ 100 g de miel): Al: $0,27 \pm 0,42$; Mn: $0,03 \pm 0,01$; Zn: $0,10 \pm 0,03$; Cu: $0,11 \pm 0,03$; Fe: $0,44 \pm 0,12$; P: $0,37 \pm 0,07$; Cr; n.d; Pb: n.d.; Cd: n.d.

Por otra parte, se realizó la cuantificación de Ca y Mg, para lo cual se utilizó un equipo de absorción atómica. Las concentraciones halladas fueron las siguientes (en mg/ 100 g de miel): Ca: $2,81 \pm 0,39$; Mg: $1,40 \pm 0,17$.

Por último, se cuantificó la concentración de los metales Na y K, utilizando un fotómetro de llama. Las concentraciones halladas fueron (en mg/100 g de miel): Na: $2,86 \pm 0,63$; K: $48,10 \pm 19,42$.

De las conclusiones surgen que existen importantes variaciones en los niveles de los elementos hallados, principalmente en K, que pueden depender del origen geográfico, del origen floral, del período de cosecha y del efecto antropogénico, éste último por una eventual fertilización con K.

Capítulo 1- INTRODUCCIÓN

1.1- LA MIEL

1.1.1- Definición

La miel es elaborada por las abejas (*Apis melífera*) a partir del néctar de las flores y de otras exudaciones de las plantas. Las abejas que se ocupan de la recolección del néctar y de su posterior elaboración, son las llamadas *obreras pecoreadoras* y el conjunto de desplazamientos que realizan para este fin se denomina *pecorea*. [1]

La miel es un alimento fundamentalmente energético, ya que sus componentes mayoritarios son los hidratos de carbono. [2]. Según la definición mas aceptada, la miel es el alimento azucarado natural elaborado por las abejas obreras a partir del néctar de las flores y de otras exudaciones de las plantas que, una vez ingeridos y transformados en el buche o saco de la miel, lo regurgitan (reenvían el néctar desde el saco de la miel a la boca) más concentrado y lo depositan en los alvéolos de los panales, donde pasa por una nueva concentración. [3-4]. El Código Alimentario la define como el producto azucarado natural elaborado por las abejas a partir del néctar de las flores y de otras exudaciones de las plantas sin adición alguna. [5-6].

La técnica que involucra la extracción de miel de los panales de la colmena, así como el cuidado y crecimiento de la población de abejas, es conocida como apicultura.

La miel es una solución que elaboran las abejas para alimentar a sus larvas y asegurar su subsistencia durante el invierno. Las abejas obreras ingieren el néctar u otros jugos dulces de las flores, al que deshidratan para evitar fermentaciones y a los que añaden sustancias propias de su organismo (enzimas) y lo transforman en miel en sacos especiales situados en su esófago. A continuación, lo depositan en las celdillas de los panales que después sellan para su almacenamiento y maduración dentro de las colmenas.

Existen también mieles como el de la encina, cuya procedencia no es el néctar de las flores sino las secreciones de algunas plantas.

La miel es junto al polen el alimento cotidiano de toda la colonia. Su color y sabor dependen de la edad de la miel y de las fuentes del néctar. Las mieles de color claro suelen ser de mejor calidad que las oscuras. Otras mieles de alta calidad son las

elaboradas a partir de la flor de azahar (flor del naranjo), el trébol y la alfalfa. La humedad de este producto debe ser inferior al 20%, ya que si es superior, suele sufrir fermentaciones por levaduras. [7]

1.1.2- Composición

La tabla 1 muestra la composición total de la miel para 100 g de miel natural. [8-10]

Tabla 1- *Composición de la miel extraída por cada 100 g.*

Nutriente	Valor por cada 100 g de miel	Nutriente	Valor por cada 100 g de miel
Proteínas	0.3 g	Acido Fólico	2 µg
Aminoácidos	0.1 g	Arginina	5 mg
Hidratos de Carbono	82.4 g	Histidina	1 mg
Fructosa	38.2 g	Alanina	6 mg
Glucosa	31.0 g	Acido Aspártico	27 mg
Maltosa	7.2 g	Acido Glutámico	18 mg
Sacarosa	1.5 g	Glicina	7 mg
Trisacáridos	4.2 g	Prolina	90 mg
Acido Glucónico	0.5 g	Serina	6 mg
Vitamina C	0.5 mg	Ca	6 mg
Riboflavina	0.038 mg	Fe	0.42 mg
Niacina	0.121 mg	Mg	2 mg
Acido Pantoténico	0.068 mg	P	4 mg
Vitamina B6	0.024 mg	K	52 mg
Triptofano	4 mg	Na	4 mg
Treonina	4 mg	Zn	0.22 mg
Isoleucina	8 mg	Cu	0.036 mg
Leucina	10 mg	Mn	0.08 mg
Lisina	8 mg	Se	0.8 mg
Metionina	1 mg	Cenizas	0.2 g
Cistina	3 mg	Agua	17.1 g
Fenilalanina	11 mg	Fibra Total Alimentaria	0.2 g
Tirosina	8 mg	Valor Energético	304 kcal
Valina	9 mg		

Los constituyentes mayoritarios de la miel presentan valores promediables y rangos acotados de concentración bien definidos, que se utilizan para los controles bromatológicos y de calidad correspondientes. Sin embargo, la situación es muy diferente para la cuantificación de elementos de transición, ya que existe una gran variabilidad en los valores de concentración, dependiendo de ciertos factores. (Ver 1.1.3)

La miel también está compuesta de:

- Enzimas: diastasa, amilasa, invertasa, catalasa, peroxidasa y lipasa.
- Ácidos orgánicos: málico, vínico, cítrico, láctico, fosfórico, acético y fórmico. Este último le confiere sus propiedades antisépticas.
- Antioxidantes (flavonoides y fenólicos). Aunque la miel contiene ciertas vitaminas y minerales, que no se encuentran en los azúcares refinados, las cantidades son tan pequeñas que no tienen importancia en términos de las necesidades diarias. [7]

1.1.3- La miel y los elementos de transición

La composición de la miel resulta muy variada, dependiendo de los siguientes factores:

- origen geográfico
- origen floral
- contaminación ambiental en regiones con alta polución ambiental (contaminación primaria)
- proceso de extracción y almacenamiento con herramientas metálicas (contaminación secundaria)

En publicaciones recientes [11-12], se han realizado estudios referidos a elementos de transición a través de espectroscopía de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), espectroscopía de absorción atómica por atomización electrotérmica (ETAAS), espectroscopía de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES), fluorescencia de rayos X (FRX), etc., en donde los autores han precisado un rango de concentraciones de elementos de transición para las mieles de estudio. Sin embargo aclaran que existe una gran heterogeneidad en la composición de esos elementos debido a los factores antes expuestos. Por lo anterior, es esperable que exista una importante dispersión de los resultados analíticos en virtud de la naturaleza propia de la miel, además de posibles contaminaciones durante la extracción y almacenamiento.

Por otra parte, haciendo una comparación entre los diversos autores, se observan diferencias significativas en la composición de elementos de transición para las muestras que cada uno analizó individualmente, lo que nuevamente nos lleva a definir a la miel como una matriz sumamente heterogénea y variable para dichos elementos.

El Código Alimentario Argentino [6] ha fijado pautas para niveles máximos de concentración de Cu, Pb y As, sin tener en cuenta otros elementos relevantes para los fines de consumo humano. La determinación de ciertos elementos de transición en miel resulta vital debido a los fenómenos de biomagnificación que se pueden producir en la población humana que las consuma. Por otra parte, sería posible realizar una clasificación de mieles en función del contenido de ciertos elementos de transición, a fin de poder adecuar la miel exportada a normas internacionales o para hallar correlaciones con el origen floral, entre otras alternativas.

La gran heterogeneidad propia de la miel y de su tratamiento previo a la venta, puede incorporar niveles importantes de elementos de transición y resultar ser no aptas para exportación, produciéndose con ello importantes pérdidas económicas. Por este motivo, un grupo de investigadores ha propuesto generar mieles certificadas a fin de que los laboratorios encargados del análisis de rutina en miel puedan chequear sus metodologías y sus determinaciones contra estos materiales y estar en condiciones de poder realizar ensayos de calidad a los fines de exportación, entre otras aplicaciones. Por otra parte, el estudio de elementos de transición en miel ha sido y sigue siendo de gran interés para la evaluación de polución ambiental en zonas industriales, mineras, urbanas, etc. [13-14], por lo que, bajo éstos aspectos, sería de gran utilidad utilizar métodos rápidos y económicos para la cuantificación de elementos de transición.

En la actualidad, existen propuestas muy firmes para el uso de miel certificada como material de referencia para el estudio de elementos de transición en el orden de vestigios [15-16], con lo cual en un futuro muy cercano se podrá contar con esos materiales para poder realizar la validación de nuevas metodologías analíticas como la que se propone en el presente trabajo.

En la tabla 2 se pueden apreciar los valores promedios de ciertos elementos de transición para distintas mieles analizadas por distintas metodologías instrumentales en diferentes lugares del mundo (en $\mu\text{g/g}$):

Tabla 2- Concentraciones (en $\mu\text{g/g}$) de distintos elementos de transición en miel hallados en bibliografía. Los valores corresponden a los promedios reportados, algunos de los cuales corresponden a muestras de miel de distinto origen floral. n.a. no analizado.

	ICP-MS ¹	NAA ²	EDXRF ³	ICP-AES ⁴	TXRF ⁵	ETAAS ⁶
Cd	$6.2 \cdot 10^{-4}$	n.a.	n.a.	0.07	n.a.	$1.9 \cdot 10^{-3}$
Co	n.a.	0.14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Cr	$2.5 \cdot 10^{-3}$	0.06	n.a.	n.a.	0.7	n.a.
Cu	0.18	n.a.	9.7	1.77	1.5	0.35
Fe	0.42	6.90	12.5	19.31	7.0	n.a.
Mn	0.40	n.a.	n.a.	2.74	5.0	n.a.
Ni	0.03	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Pb	0.09	n.a.	2.4	1.26	0.6	0.08
Pt	$< 5 \cdot 10^{-4}$	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Sc	n.a.	$< 3 \cdot 10^{-3}$	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Sn	0.02	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
V	$1.6 \cdot 10^{-3}$	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zn	0.85	2.6	4.2	30.75	5.4	2.0

¹Espectroscopia de masa por plasma acoplado inductivamente, ²Análisis por activación neutrónica,

³Florescencia de rayos X dispersivo de energía, ⁴Espectroscopia de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente, ⁵Florescencia de rayos X por reflexión total, ⁶Espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica.

La tabla 2 muestra la gran variabilidad de datos de concentración para cada analito estudiado, a pesar de la utilización de técnicas espectrométricas de gran relevancia. Esta información resulta importante debido a que la concentración de elementos de transición en mieles de diferente origen geográfico difieren significativamente entre sí. Por ello resulta relevante conocer los niveles actuales de elementos de transición y otros metales en mieles pampeanas, ya que no existen antecedentes previos en el tema.

1.2- ANTECEDENTES REFERIDOS A LA DETERMINACIÓN DE METALES EN MIEL

1.2.1- Métodos electroquímicos

En la bibliografía hallada referida a la determinación de elementos de transición en miel, los métodos electroquímicos son uno de los más empleados. Y. Li y col, utilizaron la voltametría de redisolución anódica diferencial de pulsos, análisis de redisolución potenciométrica para la cuantificación directa de Pb, Cu y Cd en disoluciones de muestras de miel usando una celda de flujo. Para el primer método, el Pb se determina solamente si el electrodo es modificado in situ con Triton X 100 para incrementar la separación entre el pico de Pb y el de Cu. En cambio, si se utiliza el análisis de redisolución potenciométrica, el plomo y el cobre pueden ser determinados utilizando el procedimiento normal. La determinación de cadmio puede ser llevada a cabo, si la concentración del agente oxidante [Hg (II)] en solución va disminuyendo. Los resultados obtenidos son similares a aquellos encontrados con muestras digeridas en bombas PTFE. [17]

G. Sanna y col. han desarrollado un método para la determinación de Cu, Pb, Cd y Zn por voltametría de redisolución anódica con pulso diferencial y microelectrodos de Hg en muestras de miel. La cuantificación simultánea de los cuatro metales en las muestras mineralizadas es obstaculizada por la formación de la especie intermetálica Cu-Zn durante la deposición por etapas. Sin embargo, la adición de sales de Ga (III) para la solución de medida y la deposición de metal a un potencial más bajo que el requerido para la reducción de Zn, permite la determinación de los cuatro elementos con dos experimentos consecutivos realizados sobre la misma solución muestra. Se obtienen altos niveles de reproducibilidad, con una incertidumbre menor que 2 % para concentraciones de metales mayores que $0.2 \mu\text{g g}^{-1}$, independientemente del tipo de metal. [18]

También existen antecedentes utilizando cromatografía de iones con detección voltamétrica. En este trabajo, Buldini y col. aplican una fotólisis UV oxidativa para eliminar los constituyentes orgánicos de la matriz y de ésta manera minimizar el pretratamiento de la muestra. En menos de una hora se eliminan las impurezas y los metales, hierro, cobre, níquel, zinc, plomo, cadmio y cobalto, con excepción del manganeso, pueden ser determinados de manera cuantitativa directamente por cromatografía iónica con detector electroquímico

(voltimetría de redisolución anódica ó catódica con pulso diferencial). En ausencia de métodos oficiales de análisis, los resultados obtenidos por estas técnicas sobre blancos fortificados y muestras reales adicionadas, se compararon con los logrados por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica, resultando en una buena concordancia entre ambos. La técnica propuesta muestra una sensibilidad, límites de detección y desviación estándar satisfactoria para metales pesados de transición determinados en mieles. Además, tanto cromatografía iónica y voltimetría pulsada permite análisis multielemental lo cual puede ser automatizado por completo. [19]

En otros trabajos similares, Muñoz y col. determinaron metales pesados como Zn (II), Cd (II) y Pb (II) disolviendo las muestras de mieles por análisis potenciométricos (stripping) usando una celda de flujo. Los metales pesados en mieles son de interés no solo para el control de calidad sino también puede ser usado como indicador de la contaminación ambiental. Plomo (II) y Cadmio (II) pueden ser directamente determinados. Esto es necesario para evitar la interferencia de Zn-Cu para determinación de Zn (II) por agregado de Ga (III) en la concentración adecuada, la cual puede ser calculada usando una metodología experimental. Los resultados obtenidos fueron comparados con plasma acoplado inductivamente con detector de masas como método de referencia. [20]

1.2.2- Métodos espectroscópicos

Fodor y col. han realizado el estudio del efecto del pretratamiento de muestras de mieles sobre la determinación de elementos vestigios. Para ello proponen varias alternativas de digestión de muestras y lecturas directas, con análisis instrumental realizado por espectroscopia de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Los resultados obtenidos muestran que el método de digestión a través de bomba PTFE es el método más recomendable, mientras que la determinación de vestigios por mineralización a cenizas, es el tratamiento de muestra con mayor grado de error analítico por pérdidas de analito durante el proceso. [21]

Pilar Viñas y col. han propuesto la determinación directa de Pb, Cd, Zn y Cu en mieles utilizando una digestión a través de una mezcla de ácido nítrico 1 % y peróxido de hidrógeno 10 %. La muestra adicionada con la solución digestora fue luego analizada a través de espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). Los resultados

analíticos obtenidos fueron similares a aquellos que utilizaron los tediosos procedimientos de mineralización convencional. [22]

Caroli y col., han analizado elementos vestigios esenciales y potencialmente tóxicos en mieles, a través de técnicas por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) y plasma acoplado inductivamente con espectroscopia de masas (ICP-MS) dependiendo de las concentraciones de los elementos de interés. La disolución de las muestras para una adecuada presentación de los sistemas analíticos fue realizada por calentamiento a 50 ° C, sonicado y adición de agua de alta pureza. Los rangos hallados fueron los siguientes (en ng g⁻¹): As, < 0.5-0.7; Cd, < 0.5-0.74; Cr, 1.03-3.93, Cu; 144-216; Fe, 191-651; Mn, 223-580; Ni, 17-49; Pb, 3.20-186; Pt, <0.50; Sn, <4-27; V, 1.22-1.94; y Zn, 565-1144. [23]

Tuzen y col. han desarrollado una preconcentración multielemental por extracción en fase sólida en un soporte Chromosorb 108 y un quelato ácido. La determinación analítica fue realizada por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica para ciertos metales pesados en muestras ambientales. Fueron estudiados la influencia de parámetros analíticos incluyendo pH, concentración de reactivo, flujo de muestra, soluciones eluentes, volumen de muestra, etc. sobre la cantidad recobrada de cobre, cadmio, plomo, zinc, manganeso, hierro, cromo, níquel y cobalto. También fueron examinados los efectos de iones concomitantes sobre la retención de analitos. Los factores de preconcentración permitieron aplicar el método para la determinación de iones metálicos a materiales de referencia y algunas muestras reales incluyendo agua de río, te negro y miel. [24]

Por otra parte, Hernández y col. han caracterizado diferentes tipos de muestras producidas en las Islas Canarias sobre la base de su contenido en minerales. Diez metales fueron determinados en 116 muestras, 81 de las cuales son de las Islas Canarias y 35 son de varios otros lugares. Hierro, cobre, zinc, magnesio y estroncio son determinados por espectrofotometría de absorción atómica. Potasio, sodio, litio y rubidio por espectrofotometría de emisión atómica. El análisis quimiométrico (incluyendo análisis de componentes principales, análisis de cluster, análisis de discriminantes y regresión lineal) de los datos espectroscópicos, permite la clasificación de las muestras de miel según su origen geográfico. [25]

1.3- TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS

La determinación de elementos metálicos en miel involucra el uso de metodologías analíticas tales como: espectroscopía de absorción atómica (AAS), espectroscopía de absorción atómica por atomización electrotermica (ETAAS), espectroscopía de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y fotometría de llama (FP).

1.3.1- Generalidades de la espectroscopia atómica

La espectroscopia atómica se basa en la absorción y emisión por átomos o iones elementales. Hay dos regiones del espectro que dan información atómica, la ultravioleta/visible y la de rayos X.

Los espectros atómicos ultravioleta y visible se obtienen mediante un adecuado tratamiento térmico, ya sea por una llama o un plasma (este último es un gas muy caliente formado por iones y electrones libres) que convierten los componentes de una muestra en átomos o iones elementales gaseosos. La emisión o absorción de la mezcla gaseosa resultante sirve a continuación para la determinación cualitativa y cuantitativa de uno o varios de los elementos presentes en la muestra.

Estos procedimientos se han aplicado a la determinación de más de 70 elementos con sensibilidades cuyo intervalo se encuentra entre las partes por millón a las partes por billón. Además, los métodos espectroscópicos atómicos están entre los procedimientos analíticos más selectivos y presentan también las ventajas de la rapidez y comodidad.

Los componentes básicos de los equipos son: una fuente, un monocromador, sistema de rendijas y detector.

1.3.2- Atomización de la muestra

Para conseguir que los átomos absorban radiación es necesario reducir la muestra al estado atómico. En general los atomizadores son de dos tipos, *continuos* y *discretos*. En los primeros, la muestra se introduce en el atomizador a una velocidad constante. La señal espectral es, por tanto, constante en el tiempo. Con los atomizadores discretos, una cantidad medida de la muestra se introduce como un bolo de líquido o de sólido. La señal espectral en

este caso alcanza un valor máximo y luego disminuye a cero cuando el vapor atómico abandona la región calentada. [26]

Tabla 3- Clasificación de los métodos ópticos espectrales y atómicos.

Método de atomización	Temperatura de atomización característica, °C	Fundamento del método	Denominación común y abreviatura del método
Llama	1700-3150	Absorción	Espectroscopia de absorción atómica, AAS
Plasma de argón acoplado inductivamente	4000-10000	Emisión	Espectroscopia de plasma acoplado inductivamente, ICP
Electrotérmica	1200-3000	Absorción	Espectroscopia de absorción atómica electrotérmica, ETAAS

1.3.2.1- Atomizadores continuos

Los dos primeros atomizadores de la tabla 3 son los llamados continuos. En cada uno de ellos, la solución de la muestra se convierte en una niebla de pequeñas gotas finamente divididas mediante un chorro de gas comprimido. Este proceso se denomina nebulización. A continuación el flujo de gas transporta la muestra a una región calentada donde tiene lugar la atomización. La figura 1 muestra el conjunto de procesos que ocurren durante la atomización. La primera etapa corresponde a la desolvatación, en la que el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular sólido finamente dividido. La disociación de las moléculas conduce luego a la formación de un gas atómico. A su vez, los átomos pueden disociarse en iones y electrones. Como se indica en la figura, las moléculas, átomos e iones pueden excitarse en el medio calorífico, produciéndose así espectros de emisión moleculares y dos tipos de espectros de emisión atómicos de átomos neutros e iones.

1.3.2.2- Atomizadores discretos

Los atomizadores electrotérmicos son generalmente del tipo discreto, en los que un volumen medido de una disolución se introduce en el dispositivo. La desolvatación se lleva a

cabo al aumentar la temperatura hasta el valor en el que tiene lugar la evaporación rápida del disolvente. A continuación, la temperatura del aparato se aumenta drásticamente de tal forma que las otras etapas de la atomización se producen en un breve período de tiempo. En estas circunstancias la señal espectral adquiere la forma de un pico bien definido. [26]

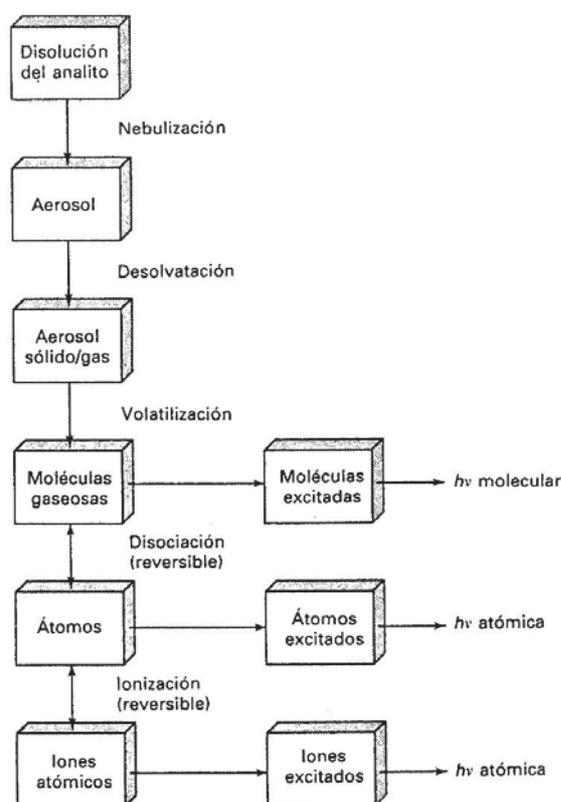


Figura 1- *Procesos que tienen lugar durante la atomización.*

1.3.3- Tipos y fuentes de espectros atómicos

Cuando una muestra se atomiza por cualquiera de los procedimientos indicados en la tabla 3, una importante fracción de los constituyentes metálicos se transforman en átomos gaseosos. Además, según la temperatura del atomizador, una cierta fracción de esos átomos se ioniza, originando así una mezcla gaseosa de átomos e iones elementales.

1.3.3.1- Fuentes de espectros atómicos

Los espectros de emisión o absorción de las partículas atómicas gaseosas (átomos o iones) están constituidos por líneas estrechas y bien definidas que provienen de las transiciones de los electrones más externos. En el caso de los metales, las energías de esas transiciones son tales que implican a la radiación ultravioleta, visible y a la infrarroja cercana. [26]

1.3.3.2- Absorción de energía radiante por los átomos

La espectroscopia de absorción atómica estudia la absorción de energía radiante por los átomos. En el proceso de absorción, un átomo pasa de un estado a otro de mayor energía (figura 2).

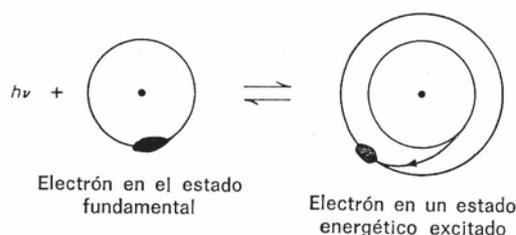


Figura 2- Absorción de radiación por los átomos.

A diferencia de las moléculas, los átomos no vibran ni poseen energía de rotación. Por consiguiente, la excitación electrónica de los átomos no implica energía vibratoria o rotatoria y en consecuencia, los espectros de absorción atómica constan de unas pocas líneas de absorción muy estrechas, como pueden observarse en el diagrama de los niveles energéticos para el Li (figura 3).

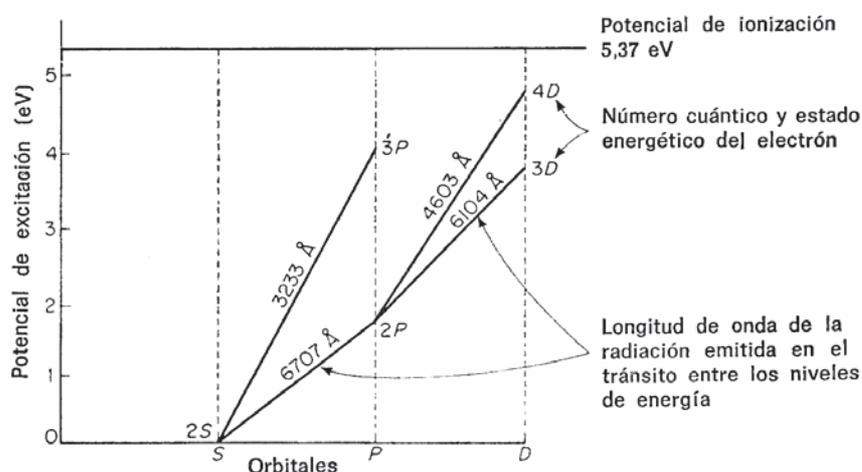


Figura 3- Diagrama parcial de los niveles energéticos del litio.

La frecuencia de las líneas de absorción se obtiene de la ecuación $\Delta E = h \nu$ (ecuación 1), siendo ΔE la energía de excitación del átomo, que es igual a $E_2 - E_1$ (E_1 es la energía del átomo en el nivel energético inferior y E_2 su energía en el superior) y ν es la frecuencia. En definitiva, la energía ΔE de la ecuación 1 es la diferencia de energía entre el estado final y el inicial.

En condiciones normales, la casi totalidad de los átomos se encuentran en el estado de mas baja energía, es decir, en el fundamental. Todos los demás estados de energía son estados excitados. [26-27]

1.3.3.3- Espectros de emisión atómica

A temperatura ambiente, todos los átomos de una muestra de una materia determinada se encuentran esencialmente en el estado fundamental. La excitación de un electrón a orbitales más altos se puede conseguir por el calor de una llama. El tiempo de vida de un átomo excitado es breve y su retorno al estado fundamental va acompañado de la emisión de un fotón de radiación.

1.3.3.4- Espectros de absorción atómica

En un medio gaseoso a elevada temperatura, los átomos son capaces de absorber radiación de las longitudes de onda características de las transiciones electrónicas a estados excitados más elevados. [27]

1.3.4- Atomización con llama

En la atomización con llama, una disolución de la muestra se pulveriza en una llama mediante un nebulizador, el cual transforma la disolución de la muestra en un aerosol constituido por diminutas gotitas de líquido. A continuación ocurren una serie de procesos encadenados como los mostrados en figura 1. Estos procesos dan finalmente como resultado una mezcla de átomos del analito, iones del analito, moléculas de la muestra, moléculas de óxido del analito y con seguridad una variedad de especies moleculares y atómicas que se forman por reacciones entre el combustible, el oxidante y la muestra. Debido a la gran variedad de procesos complejos que tienen lugar, no es sorprendente que la atomización sea la etapa más

crítica en la espectroscopia de llama, y la que limita la precisión de estos métodos. Es por eso, que resulta importante comprender y conocer las características de las llamas y las variables que las afectan. [26-27]

1.3.4.1- Tipos de llamas utilizadas en la espectroscopia atómica

En la tabla 4 se enumeran los combustibles y oxidantes más comunes que se utilizan en espectroscopia de llama y también las temperaturas que se alcanzan con cada una de las mezclas. Obsérvese que cuando se utiliza el aire como oxidante se obtienen temperaturas de 1700 a 2400 °C con varios combustibles. A esas temperaturas, sólo las especies fácilmente excitables tales como los metales alcalinos y los alcalinotérreos producen espectros de emisión aprovechables. Para los metales pesados, los cuales se excitan con menor facilidad, se debe emplear oxígeno u óxido nitroso como oxidante; éstos producen temperaturas de 2500 a 3100 °C con los combustibles comunes.

Tabla 4- *Propiedades de las llamas.*

Combustible	Oxidante	Temperatura, ° C	Velocidad de combustión (cm. s⁻¹)
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800	285

Las velocidades de combustión indicadas en la cuarta columna de la tabla 4 son de considerable importancia, porque las llamas sólo son estables en ciertos intervalos de caudal. Si el caudal no sobrepasa la velocidad de combustión, la llama se propaga hacia atrás por dentro del quemador, dando un fognazo interior. Cuando el caudal aumenta, la llama sube hasta alcanzar un punto por encima del quemador donde el caudal y la velocidad de combustión son iguales. En esta región es donde la llama es estable. A caudales más elevados, la llama sube y

al final alcanza un punto donde se aparta del quemador. Sin lugar a dudas, el caudal de la mezcla combustible/oxidante es una importante variable que se ha de controlar rigurosamente; por otra parte, este caudal depende mucho del tipo de combustible y de oxidante que se utilizan.

1.3.4.2- Estructura de la llama

Como se muestra en la figura 4, las regiones más importantes de la llama son: la *zona de combustión primaria*, la *región interconal* y el *cono exterior*.

El aspecto y el tamaño relativo de esas regiones varían considerablemente con la relación combustible/oxidante. La zona de combustión primaria se reconoce por su luminiscencia azul que proviene de los espectros de bandas de C_2 , CH y otros radicales. En general, en esta zona no se alcanza el equilibrio térmico, y así la zona de combustión primaria rara vez se utiliza para la espectroscopia de llama. El área interconal, la cual es relativamente estrecha en llamas de hidrocarburo estequiométricas, puede alcanzar varios centímetros de altura con fuentes ricas en combustible de acetileno/oxígeno o acetileno/óxido nitroso. La zona es con frecuencia rica en átomos libres y es la parte de la llama que más se utiliza en espectroscopia. El cono exterior es una zona de reacción secundaria donde los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables.

El perfil de la llama proporciona una información útil respecto a los procesos que tienen lugar en las distintas partes de la llama; es una gráfica que muestra las regiones de la llama. La temperatura máxima se localiza algo por encima de la zona de combustión primaria. [26]

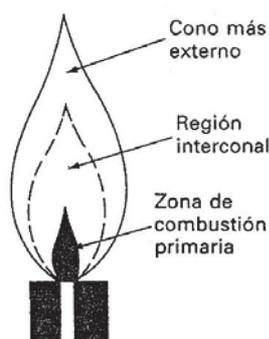


Figura 4- Esquema de una llama de acetileno/aire

Cuando una muestra en solución es aspirada dentro de la llama se producen distintos fenómenos.

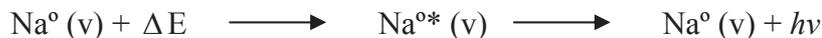
- 1- **Evaporación del solvente:** Inicialmente el solvente es evaporado por efecto de la temperatura
- 2- **Etapa de vaporización:** el analito que aún se encuentra como sal al estado sólido pasa a estado vapor,



- 3- **Etapa de Disociación:** Esas moléculas al estado vapor pueden ahora disociarse en sus correspondientes elementos



- 4- **Emisión de los átomos al estado fundamental:** El $\text{Na}^{\circ} \text{ (v)}$ es capaz de tomar energía de la llama y excitar un electrón que inicialmente estaría en su estado fundamental a un nivel superior y al desexcitarse emite en la frecuencia característica:



Si la temperatura de llama es elevada en esta etapa, también puede existir ionización del átomo, ya que la energía es suficiente para separar un electrón del átomo.

Otro factor importante es la utilización de solventes orgánicos o mezclas hidroalcohólicas, que producen un aumento en la sensibilidad del método, ya que como dichos solventes son generalmente combustibles, se produce un aumento en la temperatura de la llama, que se traduce en un mayor número de átomos excitados.

1.3.4.3- Atomizadores de llama

Los atomizadores de llama se emplean para las medidas de emisión y absorción. Un atomizador de llama consiste en un nebulizador neumático, que transforma la disolución de la muestra en una niebla o *aerosol*, que se introduce en un quemador. El tipo más común de nebulizador es el tubo concéntrico, que se muestra en la figura 5, en el que la muestra líquida

se aspira a través de un tubo capilar mediante un flujo de gas a alta presión alrededor de la punta del capilar (*efecto Venturi*). A este procedimiento de transporte de líquido se le denomina aspiración. Debido a la alta velocidad del gas en el extremo del capilar, el líquido se dispersa en finas gotitas de varios tamaños, las cuales se introducen en la llama. También se emplean los nebulizadores de flujo cruzado en los que el gas a alta presión atraviesa el extremo del capilar en ángulo recto. Con frecuencia, en este tipo de nebulizador el líquido se bombea a través del capilar. En la mayoría de atomizadores, el gas a alta presión es el oxidante; de este modo el aerosol que se forma contiene el oxidante y a continuación se mezcla con el combustible.

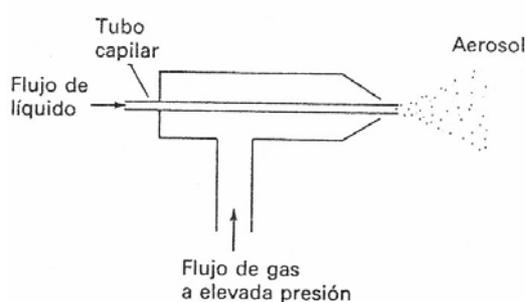


Figura 5- *Un nebulizador de tubo concéntrico*

En la figura 6 se muestra el diagrama de un quemador de flujo laminar que emplea un nebulizador de tubo concéntrico. El aerosol se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores que eliminan las gotitas que no son muy finas. Como consecuencia de la acción de estos deflectores, la mayor parte de la muestra se recoge en el fondo de la cámara de mezcla, donde se drena hacia un contenedor de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible se queman en un quemador provisto de una ranura que produce una llama que por lo general mide entre 5 y 10 cm de longitud.

Los quemadores de flujo laminar proporcionan una llama relativamente estable y con una trayectoria larga. Estas propiedades tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad.

[26]

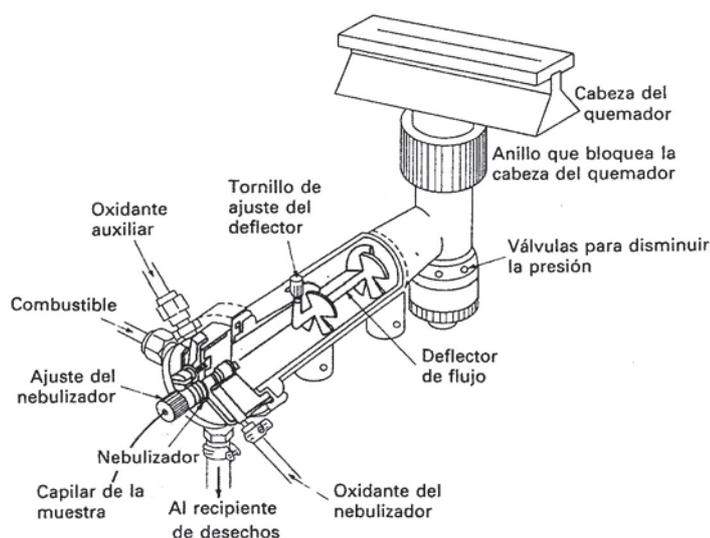


Figura 6- *Quemador de flujo laminar*

1.3.5- Atomizadores electrotérmicos

Un horno de grafito (lugar donde se produce la atomización electrotérmica) no es más que un tubo de grafito calentado eléctricamente, que permite mayor sensibilidad que las llamas y requiere menor cantidad o volumen de muestra (figura 7a), ya que el volumen de inyección en el horno es de 1 a 100 μL . Por el interior del tubo, de unos 38 mm de longitud y con sendas ventanas en sus extremos, se hace pasar la luz procedente de la lámpara de cátodo hueco. Para evitar la oxidación del grafito, se pasa gas Ar alrededor del horno, siendo la temperatura máxima recomendada de 2500 $^{\circ}\text{C}$ durante no más de 7 segundos. Cuando se inyecta la muestra, la gotita debe depositarse en el fondo del horno, ocupando una pequeña área. Si se inyecta una gotita demasiado grande, se derramaría, empeorando la precisión. Incluso puede ocurrir que una gota adherida a la punta de la pipeta se deposite en el borde del orificio de entrada al sacar la pipeta. El automuestreador permite una introducción más reproducible de muestra que la inyección manual, y es muy deseable para obtener una buena precisión.

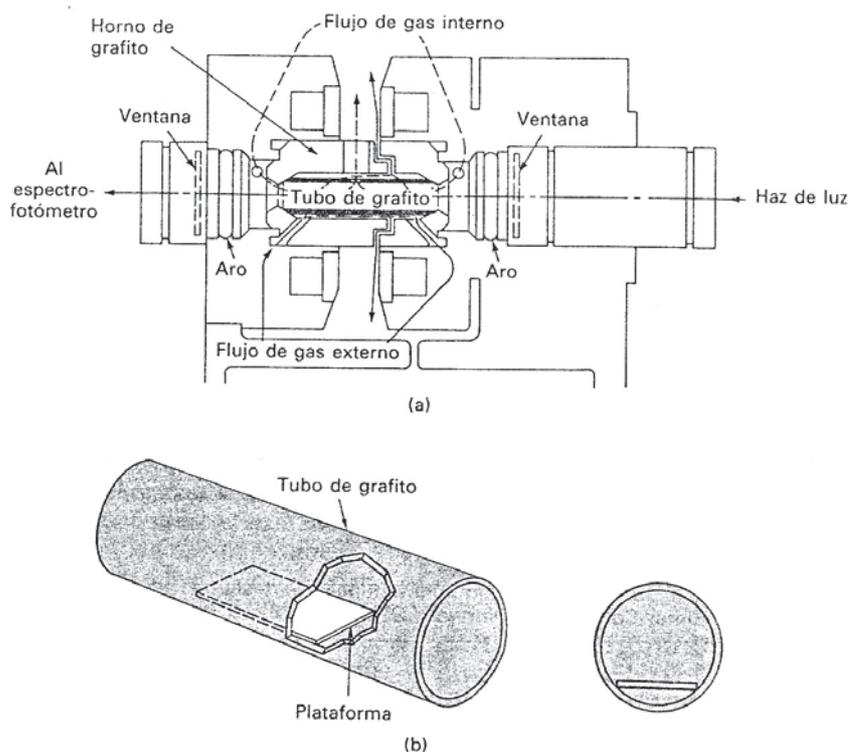


Figura 7- (a) Sección transversal de un horno de grafito. (b) La plataforma L'vov y su posición en el horno de grafito.

En los atomizadores electrotérmicos se evaporan primero unos pocos microlitros de muestra a baja temperatura, y luego se calcinan a una temperatura algo más alta en el horno de grafito, calentado eléctricamente. Después de la calcinación, la corriente se incrementa a varios cientos de amperios, lo que eleva la temperatura aproximadamente a unos 2000 o 3000 °C; la atomización de la muestra se produce en un período de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones, se mide la absorción de las partículas atomizadas en la zona situada inmediatamente por encima de la superficie calentada.

La figura 7b ilustra la denominada plataforma L'vov, que se utiliza con frecuencia en los hornos de grafito. La plataforma también es de grafito y se encuentra debajo del orificio de entrada de la muestra. La muestra se evapora y calcina sobre esta plataforma de la manera usual. Sin embargo, cuando la temperatura se eleva con rapidez, la atomización no se completa porque la muestra no está el suficiente tiempo en contacto directo con la pared del horno. En consecuencia, la atomización tiene lugar en un medio en el cual no se produce un cambio tan rápido de temperatura, y de este modo se obtienen picos más reproducibles.

Los atomizadores electrotérmicos proporcionan una mayor sensibilidad debido a que toda la muestra se atomiza en un período muy breve y el tiempo promedio de residencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más. Por lo general se utilizan para las medidas de absorción. Sin embargo, se están empezando a utilizar para la vaporización de muestras en espectroscopía de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.

Comparados con las llamas, los hornos con inyección automática requieren menos pericia por parte del operario para determinar las condiciones adecuadas para cada tipo de muestras. El horno se purga con Ar o N₂ durante cada uno de los pasos, excepto en el de atomización, para eliminar el material volátil. El flujo gaseoso se interrumpe durante la atomización para evitar que el analito salga del horno. Cuando se pone a punto un método con un nuevo tipo de muestra, es importante registrar la señal en función del tiempo, porque en la señal observada también aparece la del humo que se produce durante la calcinación y el color rojo del horno por el calor en la última parte de la atomización. Un analista experto debe interpretar qué parte de la señal se debe al analito, integrando el pico de forma adecuada.

El horno se calienta transversalmente (de un lado a otro) y así suministra una temperatura casi uniforme a lo largo de todo el tubo. [26-27]

1.3.5.1- Modificadores de matriz para hornos

Idealmente, el medio que contiene el analito (todo lo que hay en la muestra distinto del analito se llama **matriz**) se descompone y vaporiza durante el paso de calcinación. Un modificador de matriz es una sustancia que se añade a la muestra para reducir las pérdidas de analito durante la calcinación, haciendo la matriz más volátil o menos volátil al analito. [28]

1.4- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

1.4.1- Introducción

La espectroscopía de absorción atómica constituye un método para el análisis elemental de soluciones y es de gran utilidad en la determinación de trazas de metales en líquidos. Con esta técnica puede determinarse el contenido total de metales en la muestra, independientemente del estado molecular en que se encuentre. El método es tan sensible que

permite detectar elementos distintos a concentraciones tan bajas como 1 ppm. El creciente desarrollo de esta técnica es debido a su elevada sensibilidad y a la facilidad relativa con que se obtienen los resultados. Una de las ventajas más importantes, es el poder realizar determinaciones aún en presencia de otros muchos elementos. Al no existir interferencias no es necesario separar el elemento problema de los demás elementos presentes en la muestra, con lo que se gana mucho tiempo y se eliminan numerosas fuentes de error.

En la figura 8 se muestra el esquema de un equipo para espectroscopia de absorción atómica. El fundamento es similar al de otros métodos espectroscópicos de absorción.

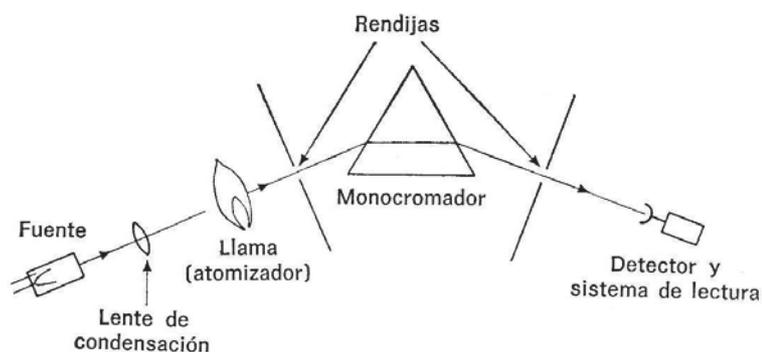


Figura 8- Esquema del equipo utilizado en espectroscopia de absorción atómica

La luz, que procede de una fuente adecuada, alcanza el detector después de atravesar la muestra; la cantidad de luz absorbida se obtiene midiendo la intensidad de la radiación antes y después de atravesar la muestra. [26]

1.4.2- Fuente de radiación

Los métodos analíticos que se basan en la absorción atómica, son potencialmente muy específicos debido a que las líneas de absorción son muy estrechas (de unos 0.002 a 0.005 nm) y las energías de transición electrónicas son únicas para cada elemento.

El problema de trabajar con líneas tan estrechas se ha resuelto utilizando un *cátodo hueco* como fuente de radiación.

1.4.2.1- Lámparas de cátodo hueco

Los monocromadores no pueden aislar líneas más estrechas de 10^{-3} o 10^{-2} nm. Para producir líneas estrechas de frecuencia correcta, se usa una lámpara de cátodo hueco que contenga el metal del mismo elemento que se quiera analizar.

Una lámpara de cátodo hueco (figura 9), contiene en su interior, gas Ne o Ar a una presión de 130-700 Pa (1-5 torr). Cuando se aplica un alto voltaje entre el ánodo y el cátodo, el gas interior se ioniza en el ánodo y son atraídos por el cátodo. Los iones más rápidos chocan contra la superficie catódica arrancando átomos, que están excitados y emiten el espectro característico del metal utilizado. Al chocar contra el cátodo con suficiente energía, emiten fotones volviendo al estado fundamental. Esta radiación atómica tiene la misma frecuencia que la absorbida por átomos de analito en la llama o en el horno. Las lámparas de cátodo hueco emiten espectros con líneas tan estrechas que pueden ser absorbidas completamente por las líneas de absorción de los átomos. De esta forma se puede detectar y medir fácilmente la absorción atómica. La lámpara de cátodo hueco emite el espectro del metal catódico.

Se requiere una lámpara distinta para cada elemento, aunque algunas lámparas se fabrican con más de un elemento en el cátodo. En la práctica, esto es un inconveniente que, sin embargo, está compensado por la ventaja que supone el poder operar con líneas espectrales muy estrechas. El espectro emitido consta de todas las líneas de emisión del metal, incluyendo muchas líneas que no son de absorción, lo que, en general, no interfiere con el método analítico. [26-27]

La finalidad del monocromador en espectroscopia atómica es seleccionar una línea de la lámpara de cátodo hueco y eliminar la mayor parte de emisión procedente de la llama o del horno. [28]

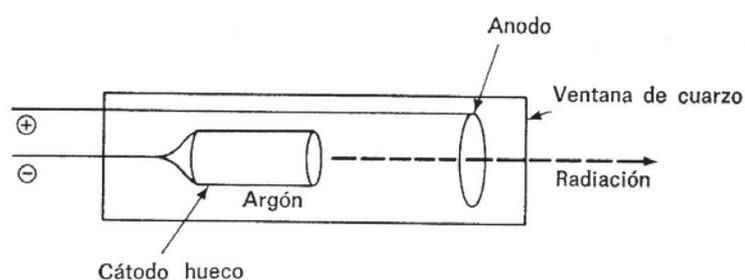


Figura 9- Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.

1.4.3- Rendijas y lentes

Las lentes se utilizan para condensar la radiación en diferentes partes del sistema óptico. La luz debe condensarse para evitar la pérdida de gran parte de la señal. Las lentes de cuarzo dan resultados muy satisfactorios. También se utilizan espejos cóncavos, que reflejan la luz en sus caras absorbiendo poca radiación. En estos sistemas ópticos (figura 10) la luz atraviesa la rendija de entrada y llega al monocromador donde se dispersa y se orienta hacia la rendija de salida. Esta rendija deja pasar la línea de absorción deseada y bloquea las demás líneas del espectro. El sistema de rendijas del monocromador permite seleccionar la longitud de onda de la radiación que llega al atomizador. [26]

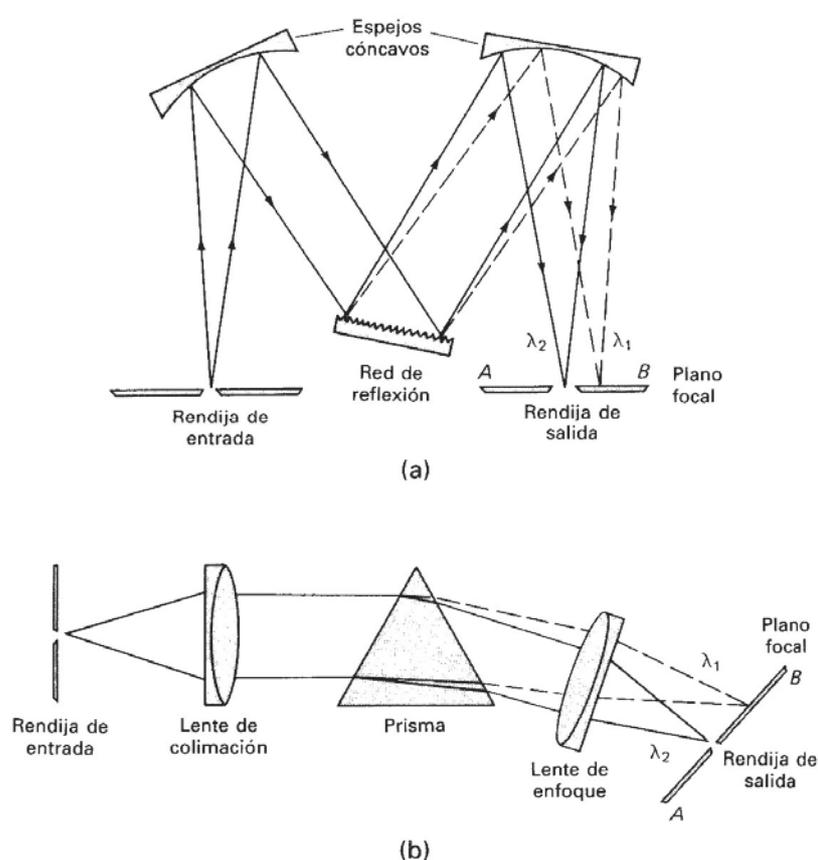


Figura 10- *Sistemas de rendijas, espejos y lentes para dos tipos de monocromadores: (a) monocromador de red de Czerny-Turner; (b) monocromador de prisma de Bunsen. (En ambos casos, $\lambda_1 > \lambda_2$)*

1.4.4- Monocromador

Los monocromadores de uso mas frecuentes en espectroscopia de absorción atómica utilizan prismas y redes de difracción como mecanismos dispersores de longitudes de onda. El monocromador es necesario para separar las líneas de absorción de las demás líneas espectrales emitidas por el cátodo hueco. Para gran parte de los elementos, no es necesario un elevado poder de dispersión, pero para ciertos metales de transición el espectro de emisión del cátodo hueco es tan complicado que es fundamental una elevada dispersión. Los aparatos de espectroscopia de absorción atómica de aplicación más general utilizan monocromadores de elevada dispersión. El diseño de monocromador casi utilizado en forma universal, es el conocido como Czerny Turner (figura 10 a) que corresponde a un diseño óptico simple sin muchas piezas mecánicas y con muy buena capacidad resolutive. Este diseño utiliza normalmente redes de difracción holográficas. Un segundo diseño de monocromadores es el de Bunsen (figura 10 b) que utiliza un prisma de cuarzo como elemento dispersivo de longitudes de onda. Este diseño se encuentra en desuso por la complejidad mecánica del mismo y por el costo del prisma de cuarzo. [26]

1.4.5- Detectores

En espectroscopia ultravioleta los detectores más frecuentes son los tubos fotomultiplicadores. La señal de la fuente es intensa y después de la absorción es ligeramente menos intensa. Su función como detectores es satisfactoria, se mantienen estables y permiten comparar líneas intensas.

El diagrama de un fotomultiplicador se muestra en la figura 11. Los electrones liberados en la superficie metálica son atraídos por un dínodo mantenido a potencial positivo. Estos electrones chocan contra la superficie emitiéndose nuevos electrones, que son atraídos por un segundo dínodo en el que se produce una nueva emisión electrónica y así sucesivamente, hasta que alcancen el detector un número suficiente de electrones. Este número de electrones que se producen en cascada a lo largo de todos los dínodos, es una medida de la intensidad de luz que incide sobre el detector. De esta forma, un simple fotón puede generar una gran cantidad de electrones y producir una señal intensa, pero si el voltaje es demasiado elevado, el detector capta radiación de fondo y la señal posee un elevado ruido. Existe, pues, un potencial óptimo

entre los dínodos (que generalmente es de 90 v) con el que se obtiene la señal más adecuada. [28]

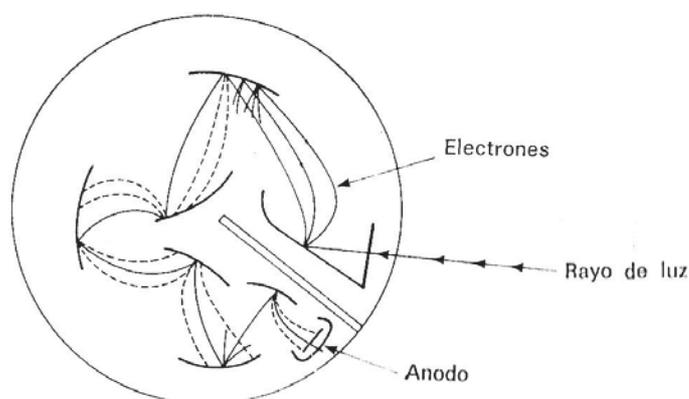


Figura 11- *Fotomultiplicador*

1.4.6- Interferencias

Una interferencia es cualquier efecto que cambia la señal manteniendo invariable la concentración de analito. Las interferencias son frecuentes en espectroscopia atómica y fáciles de pasar inadvertidas, pero se pueden corregir contrarrestando la fuente de la interferencia o preparando patrones que tengan la misma interferencia.

1.4.6.1- Tipos de interferencias

Se presentan **interferencias espectrales** cuando la señal del analito se solapa con señales debidas a otros elementos o moléculas que hay en la muestra o con señales debidas a la llama o al horno. Las interferencias debidas a la llama se pueden sustraer usando un corrector D_2 , Smith-Hieftje o de Zeeman. El mejor medio para tratar solapamiento de líneas de diferentes elementos contenidos en la muestra es escoger otra longitud de onda para hacer el análisis.

Los elementos que forman óxidos diatómicos muy estables no se atomizan por completo a la temperatura de la llama o del horno. El espectro de una molécula es mucho más ancho y más complejo que el de un átomo. En la figura 12 se muestra un espectro de emisión de llama de una salmuera.

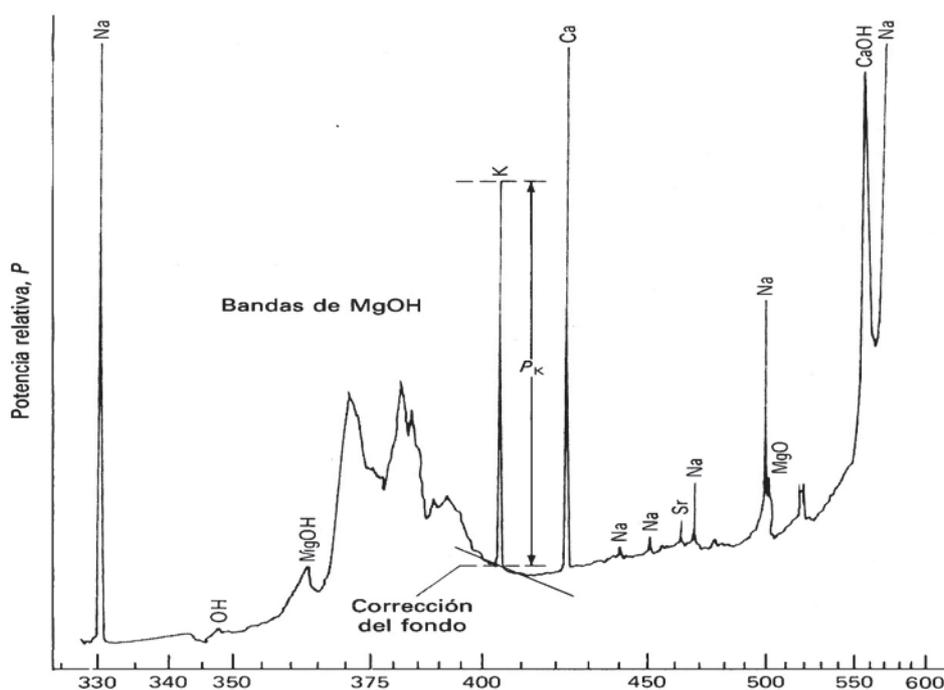


Figura 12- Espectro de emisión de llama de una salmuera.

La más importante son las **interferencias químicas**, que es consecuencia de los aniones que acompañan a los iones metálicos en la muestra. Estos aniones afectan la estabilidad de los compuestos metálicos formados durante la atomización, y por tanto, modifican la eficacia del atomizador para producir átomos metálicos. Algún componente de la muestra puede disminuir el grado de atomización del analito. Por ejemplo, SO_4^{2-} y PO_4^{3-} dificultan la atomización del Ca^{2+} formando quizá sales no volátiles. Los agentes liberadores son sustancias químicas que se añaden a una muestra para disminuir una interferencia química. El EDTA y la 8-hidroxiquinoleína protegen el Ca^{2+} de efectos interferentes del SO_4^{2-} y del PO_4^{3-} . El La^{3+} también se puede usar como agente liberador, aparentemente reacciona preferentemente con PO_4^{3-} y libera al Ca^{2+} . Se recomienda una llama rica en combustible para reducir ciertas especies oxidadas de analito que de lo contrario podrían impedir la atomización. Temperaturas altas de llama eliminan muchos tipos de interferencia química

Otra fuente de interferencia es **el disolvente**. En general, para una misma concentración, las soluciones acuosas generan valores de absorbancia menores que los disolventes orgánicos. La razón es que el metal se atomiza con más dificultad en la solución acuosa.

Las **interferencias físicas** aparecen como consecuencia de variaciones, cambios o diferencias en ciertas propiedades físicas de las soluciones que se procesan: tensión superficial

(σ), la viscosidad (η) y densidad (δ) ya que influyen directamente sobre la velocidad de entrada de la muestra y la eficiencia de atomización. Para corregir estos problemas es habitual preparar patrones que posean una composición lo más cercana posible a la que tiene la muestra.

La **interferencia de ionización** puede ser un problema en el análisis de metales alcalinos a la temperatura relativamente baja de la llama y en el análisis de otros elementos a temperaturas mayores.

Un supresor de ionización es un elemento que se añade a la muestra para disminuir el grado de ionización del analito. Por ejemplo, en el análisis de K se recomienda que las disoluciones contengan 1000 ppm de CsCl, porque el Cs se ioniza más fácilmente que el K. Esto produce una gran concentración de iones y electrones en la llama y de esta manera, la ionización del Cs suprime la ionización del K. La supresión de ionización es deseable en una llama de baja temperatura en la que se necesita observar los átomos neutros.

Autoabsorción se produce como consecuencia de la absorción de la radiación ($h\nu$) por parte de los átomos no excitados presentes en la llama y se produce cuando la concentración del elemento a determinar es alta, se traduce en la aparición de curvas de calibrado en forma cóncava, en lugar de una recta. [28]

1.5- ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ÓPTICA POR PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-OES)

1.5.1- Introducción

En principio, la espectroscopia de emisión atómica pueden ser utilizada para el análisis multielemental de materiales independientemente de la forma física en que se encuentren (gas, líquido, polvo o sólido). Asimismo, derivado de los muy buenos sistemas de detección disponibles y de las múltiples fuentes de excitación posibles, la espectroscopia de emisión atómica se ha convertido en el método de análisis multielemental universalmente utilizado.

En esta técnica de emisión atómica, invariablemente se comienza con una muestra en estado gaseoso, líquido o sólido, y se finaliza con un resultado analítico que puede ser cualitativo o cuantitativo. Generalmente cada método comprende: excitación, dispersión, detección y procesamiento de datos.

En la figura 13 se muestra la cadena de eventos que van desde la muestra hasta la emisión.

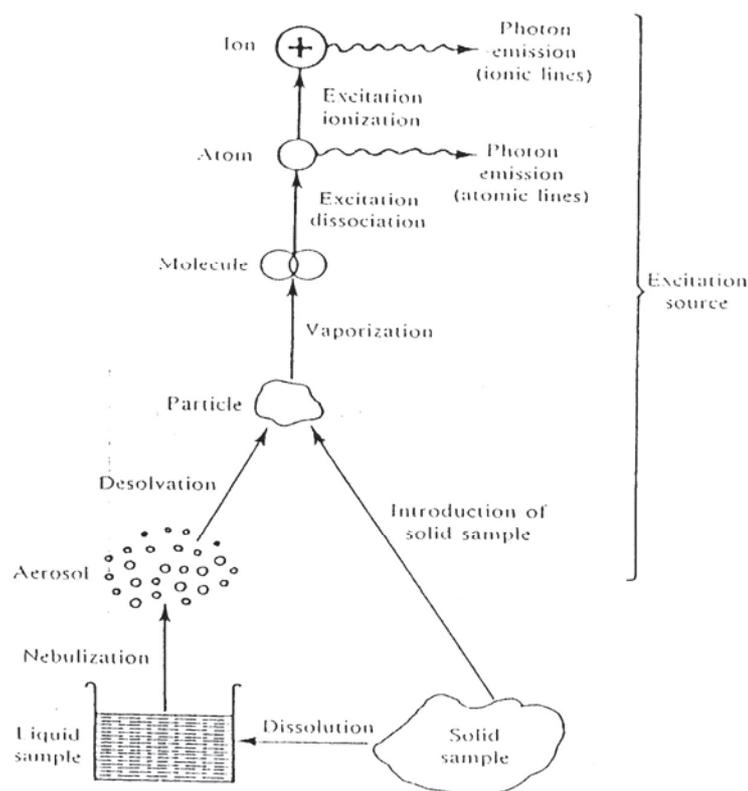


Figura 13- Fenómenos que ocurren desde el ingreso de una muestra hasta la emisión.

Cuando un átomo toma energía de una fuente adecuada tal como una llama o plasma acoplado inductivamente, pasa del estado fundamental al estado excitado, lo que se manifiesta cuando los electrones pasan a niveles de mayor energía. La espectroscopia de emisión atómica se basa en el principio de que los átomos o iones en estado excitado, emiten radiación de una longitud de onda característica cuando los electrones retornan a los orbitales de más baja energía.

Por definición un plasma es una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones (la concentración de ambos es tal que la carga neta se aproxima a cero). En el plasma de argón que se emplea en los análisis de emisión, los iones argón y los electrones son las principales especies conductoras, aunque los cationes de la muestra también están presentes en menor cantidad. Los iones argón, una vez que se han formado en el plasma, son capaces de absorber suficiente potencia de una fuente externa, como para mantener un nivel de temperatura en el que la ionización adicional sustenta el plasma indefinidamente; la temperatura puede llegar a ser de 10000 K. En espectroscopia de plasma de argón se han empleado como fuente de alimentación, el *plasma acoplado*

inductivamente (ICP), es la fuente que parece ofrecer mayores ventajas en relación con la sensibilidad y la ausencia de interferencias. [26]

1.5.2- La fuente de plasma acoplado inductivamente

La figura 14 representa un esquema de una fuente de plasma acoplado inductivamente denominada *antorcha*. Consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluye una corriente de argón con un caudal total comprendido entre 11 y 17 L/min., el diámetro del tubo más grande es aproximadamente de 2,5 cm. Rodeando la parte superior de este tubo se encuentra una bobina de inducción refrigerada por agua, alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una potencia de 2 kW a unos 27 MHz. La ionización del argón que fluye se inicia por medio de una chispa que proviene de una bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interactúan entonces en el campo magnético oscilante (indicado como H en la figura 14) que se produce por la bobina de inducción. Esta interacción hace que los iones y los electrones dentro de la bobina se muevan en trayectorias anulares cerradas que se representan en la figura; el calentamiento óhmico es una consecuencia de la resistencia a este movimiento.

La temperatura del plasma así formado, es suficientemente elevada como para hacer necesario el aislamiento térmico del cilindro externo de cuarzo. Para lograr este aislamiento, se hace fluir argón en forma tangencial alrededor de las paredes del tubo como lo indican las flechas en la figura 14; el caudal de esta corriente de argón es de unos 5 a 15 L/min. El flujo tangencial enfría las paredes interiores del tubo central y centra el plasma radialmente. [26]

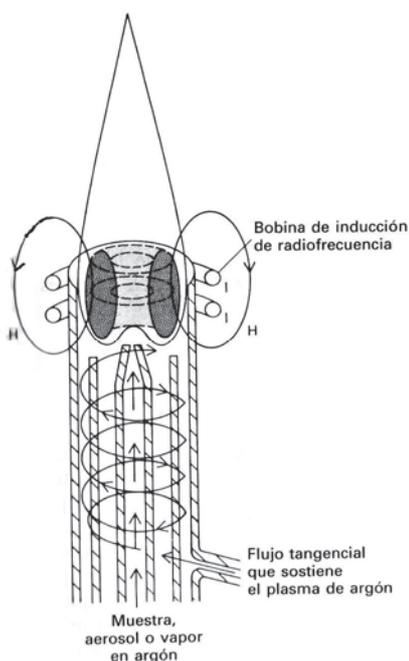


Figura 14- *Típica fuente de plasma acoplado inductivamente.*

1.5.3- Introducción de la muestra

La muestra se introduce dentro del plasma caliente por el extremo superior de los tubos mediante un flujo de argón de 0,3 a 1,5 L/min. a través del tubo de cuarzo central. La muestra puede ser un aerosol, un vapor generado térmicamente o por una chispa, o un polvo fino. Con frecuencia, la mayor fuente de ruido en un método de ICP se origina en la etapa de la introducción de la muestra.

El dispositivo que más se utiliza para la inyección de la muestra, tiene una construcción semejante a la de los nebulizadores que se emplean en los métodos de llama. La figura 15 muestra uno de estos dispositivos típico, en este caso, la muestra se nebuliza por el flujo de argón, y las finas gotitas que resultan se introducen dentro del plasma. También se han producido aerosoles a partir de sólidos y líquidos mediante un nebulizador ultrasónico. [26]

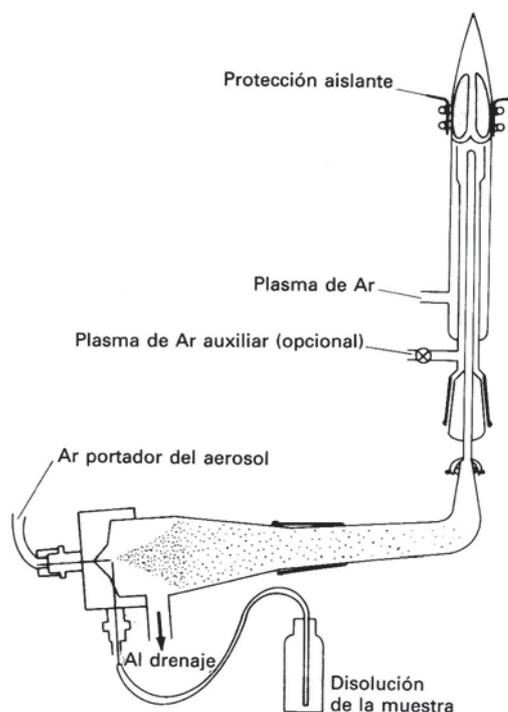


Figura 15- *Típico nebulizador para la inyección de la muestra en una fuente de plasma.*

1.5.4- Atomización e ionización de los analitos

La figura 16 muestra las temperaturas en varias zonas del plasma. En el momento en que los átomos de la muestra alcanzan el punto de observación, habrán permanecido unos 2 milisegundos a temperaturas comprendidas entre 4000 y 8000 K. Éstos tiempos y temperaturas son aproximadamente dos o tres veces mayores que los que se dan en las llamas de combustión más caloríficas (acetileno/ óxido nítrico) que se utilizan en los métodos de llama. En consecuencia, la atomización es más compleja y hay menos problemas de interferencias químicas de manera sorprendente, los efectos de interferencia por ionización son pequeños o no se producen, debido probablemente a que la concentración de electrones que provienen de la ionización del argón es grande en comparación con la que resulta de la ionización de los componentes de la muestra. [26]

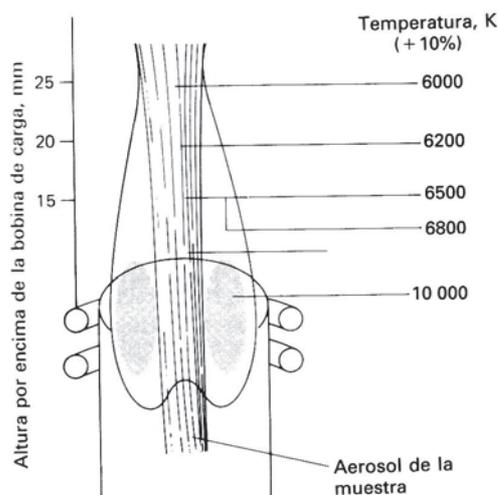


Figura 16- Corte transversal de un plasma con el correspondiente perfil de temperaturas.

1.5.5- Espectros y aspecto del plasma

1.5.5.1- Características del plasma

Un plasma típico tiene un núcleo no transparente, blanco brillante y muy intenso, que terminan en una cola en forma de llama, de color verde para el plasma de Ar. Las observaciones espectrales por lo general se hacen a una altura de 15 a 20 mm por encima de la bobina de inducción. En esta zona la radiación de fondo está claramente libre de las líneas del argón y resulta adecuada para el análisis. La mayoría de las líneas más sensibles de los analitos en esta zona del plasma provienen de iones como Ca^+ , Ca^{2+} , Cd^+ , Cr^{2+} , y Mn^{2+} .

1.5.5.2- Espectros obtenidos a partir de fuentes de energía elevada

Un examen de emisión producida por un plasma de argón revela espectros continuos que provienen aparentemente de una recombinación de iones argón y electrones producidos por un mecanismo térmico. Asimismo, muchas de las líneas que se encuentran en los espectros de plasma también provienen más de los iones que de los átomos. [26]

1.5.6- Ventajas del plasma acoplado inductivamente

Como se mencionó antes, en la espectroscopía de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente, se alcanza una temperatura mucho más alta que el de las llamas ordinarias de combustión. Su elevada temperatura, su estabilidad y su entorno químico inerte del Ar, eliminan gran parte de las interferencias que se encuentran en llamas de combustión. Los plasmas se usan casi exclusivamente en modo emisión (no absorción), porque la temperatura es bastante alta para excitar la mayoría de los átomos. En los instrumentos de ICP se puede determinar de forma rutinaria muchos elementos simultáneamente, ya que en la actualidad existen equipos tanto sea de barrido espectral como de arreglo de diodos. Debido a sus características ventajosas, el plasma está desplazando a las llamas en espectroscopia atómica. Los instrumentos de plasma son más caros que un instrumento de llama, tanto en la adquisición como en su mantenimiento.

Las fuentes de plasma presentan algunas ventajas con respecto a los métodos de llama y electrotérmicos. Entre sus ventajas está la menor interferencia entre elementos, que es una consecuencia directa de sus temperaturas elevadas, además el tiempo de residencia en la llama es unas dos veces mayor. Por consiguiente, la atomización del analito es mas completa y la señal es mayor. La formación de óxidos e hidróxidos de analito es despreciable.

En segundo lugar, se pueden obtener buenos espectros para la mayoría de los elementos con las mismas condiciones de excitación; en consecuencia, es posible registrar simultáneamente los espectros para docenas de elementos. Esta propiedad tiene especial importancia en el análisis multielemental de muestras muy pequeñas.

Otra ventaja de las fuentes más energéticas es que permiten la determinación de bajas concentraciones de elementos que tienden a formar compuestos refractarios (esto es; compuestos que son muy resistentes a la descomposición térmica o por otros tratamientos rigurosos) tales como boro, fósforo, tungsteno, uranio, circonio y niobio). Por otra parte, las fuentes de plasma permiten la determinación de no metales como cloro, bromo, yodo y azufre. Finalmente, los métodos que se basan en fuentes de plasma son aplicables en unos intervalos de concentración que abarcan varios órdenes de magnitud, a diferencia de la mayor parte de los otros métodos espectroscópicos que solo abarcan uno o dos. [26]

1.6- FOTOMETRÍA DE LLAMA

1.6.1- Introducción

La fotometría de llama es una técnica basada en la emisión de radiación producida al introducir un metal en una llama. La longitud de onda de emisión indica el elemento y su intensidad permite calcular la concentración del mismo. Esta técnica es aplicable a cualquier análisis elemental, pero presenta particular importancia en los análisis de los elementos de las dos primeras columnas del sistema periódico, tales como el sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, estroncio y bario, cuya determinación es muy importante en diversas disciplinas. [27]

Aunque la fotometría de llama permite determinar el contenido metálico de una muestra, proporciona muy poca información sobre el estado molecular del metal en la muestra.

La espectrofotometría de llama es una técnica instrumental en la cual se mide la emisión de un elemento introducido como vapor atómico dentro de una llama, y esto se interrelaciona con patrones de concentración perfectamente conocida, obteniéndose una curva de calibración. Posteriormente conociendo la emisión de una muestra desconocida es posible conocer su concentración.

En forma general, la muestra se introduce como un fino spray dentro de una llama donde se produce la excitación por efecto térmico de los elementos que contiene la muestra, luego el elemento a determinar emite radiación característica al desexcitarse (figura 17). Esta radiación característica luego es enfocada hacia un sistema selector de longitud de onda, la radiación dispersada es transmitida luego a través de una ranura o rendija, para ingresar en un amplificador de señales, con posibilidades también de obtener el registro de la señales en algunos casos. [27]

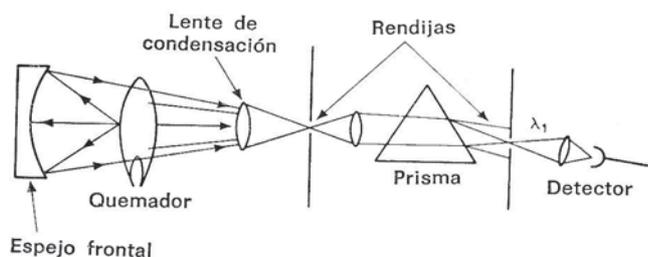


Figura 17- Equipo de fotometría de llama.

1.6.2- Equipo

1.6.2.1- Quemador

El quemador es el componente fundamental de un fotómetro de llama. Su misión consiste en introducir la muestra en la llama, atomizarla y excitar los átomos para inducir la emisión de energía radiante. Con fines analíticos, es esencial que la intensidad de emisión permanezca constante durante períodos de tiempo razonables (1 a 2 minutos). Los dos tipos de quemador más frecuentes son: (a) el quemador de consumo total, y (b) el quemador Lundergardht.

(a) En el *quemador de consumo total* (figura 18) la muestra, que debe encontrarse en estado líquido, se aspira completamente al interior de la llama por medio de una corriente de combustible (propano, butano, etc), oxígeno o aire. A continuación, la muestra se atomiza (reducción al estado atómico) y excita. [27]

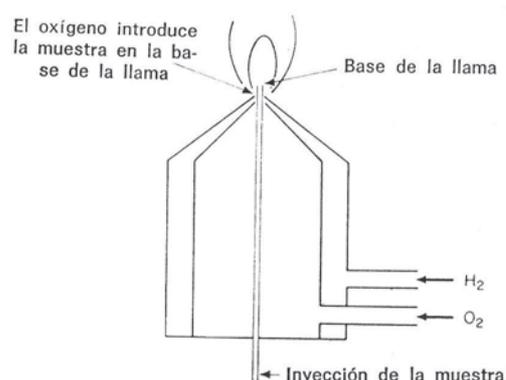


Figura 18- Quemador Beckman de consumo total

(b) En el *quemador Lundergardht* (figura 19) la muestra se aspira, inicialmente, a una cámara de pulverización. Las gotas grandes se eliminan por el fondo de la cámara y las más pequeñas se introducen en la base de la llama en forma de nube. Una porción de la muestra (aproximadamente un 5 %) alcanza la llama. Estas gotas son muy pequeñas y se atomizan con gran facilidad pudiendo surgir dificultades si se produce una evaporación selectiva de la muestra en la cámara de pulverización, dejando los átomos no disociados en el componente menos volátil. En consecuencia, muchos de los átomos de la muestra no alcanzarían la llama y la intensidad de emisión será proporcionalmente menor, con el correspondiente error en la determinación.[27]

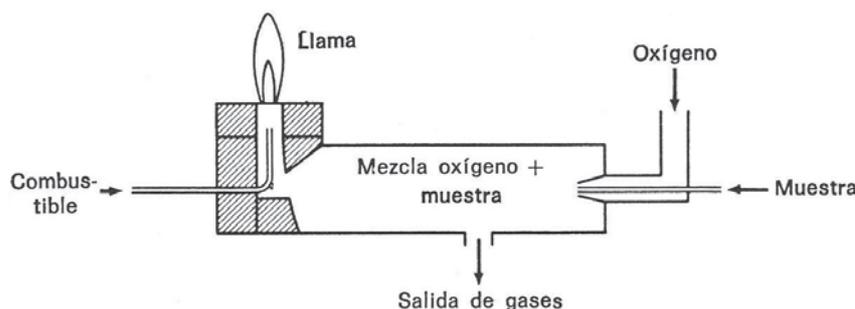


Figura 19- Quemador Lundergardht

1.6.2.2- Espejos y lentes

La radiación emitida por la llama se extiende en todas las direcciones del espacio, perdiéndose la mayor parte de ella y disminuyendo la intensidad de la señal. Para aumentar la cantidad de radiación que incide sobre el detector, se coloca un espejo detrás del quemador para reflejar la radiación que, de otra forma, se dispersaría. Tanto la radiación reflejada como la que procede directamente de llama, se focalizan mediante un espejo cóncavo sobre la entrada del monocromador. Con el objeto de conseguir la mayor precisión posible, se coloca el espejo de forma que su centro de curvatura esté en la dirección de la parte más constante de la llama. En los fotómetros de llama más rudimentarios, se utilizan lentes que aumentan y concentran la radiación emitida hacia un filtro de absorción previo al detector.

1.6.2.3- Rendijas

Los mejores equipos poseen dos rendijas (de entrada y salida) colocadas antes y después del monocromador. La rendija de entrada elimina toda radiación extraña dejando pasar, únicamente, la radiación que procede de la llama y la reflejada en el espejo. La rendija de salida, colocada detrás del monocromador, permite el paso de la radiación del rango de longitud de la onda seleccionada. En la mayor parte de los casos es importante que este intervalo de longitudes de onda que se dirige hacia el detector sea muy estrecho (del orden de muy pocos Å). Así, por ejemplo, cuando las líneas de emisión de otros componentes de la llama son de longitudes de onda similares a las líneas emitidas por los elementos que se quieren determinar, la rendija ha de evitar que las líneas que interfieren alcancen al detector.

Sin embargo, en fotometría de llama, el sistema de rendijas es más rudimentario o no existe, ya que el selector de longitudes de onda es solamente un filtro de absorción. En la figura 20 se muestra el funcionamiento de las rendijas. [27]

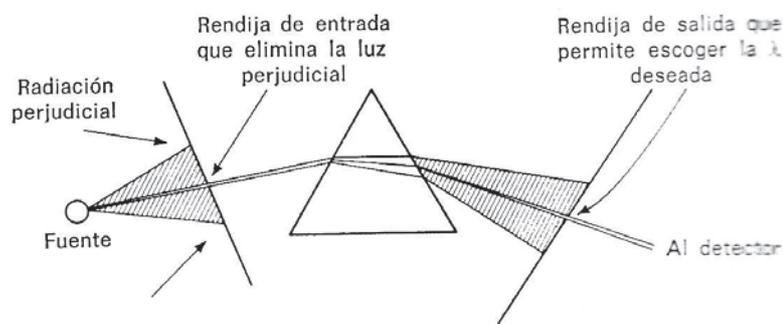


Figura 20- Sistema de rendijas y monocromador

1.6.2.4- Monocromadores

Aunque los equipos más caros y modernos poseen redes de difracción, el monocromador más utilizado antiguamente es el prisma. El vidrio dispersa la luz mejor que la mayor parte de los materiales transparentes, pero presenta el inconveniente de no ser transparente en casi todo el rango de la radiación ultravioleta. Por esta razón, son más frecuentes los prismas de cuarzo por ser transparentes en todo el rango de λ , aún cuando su poder de dispersión es menor que el de vidrio y su costo elevado. Como se mencionó en 1.6.2.2 y 1.6.2.3, los fotómetros de llama más económicos no poseen monocromadores, ya que el sistema selector de λ consta únicamente de un rudimentario filtro de absorción.

1.6.2.5- Filtros

Existen algunos elementos cuyo espectro de emisión consta de muy pocas líneas. En estos casos, el monocromador puede ser sustituido por un filtro óptico, ya que es mayor la anchura del rango de longitudes de onda que puede incidir sobre el detector sin que se produzca error apreciable. Como ya se mencionó, los equipos que utilizan filtros como sistema selector de longitud de onda, se denominan fotómetros. Idealmente los filtros se construyen con materiales que dejan pasar un pequeño intervalo de longitudes de onda, en el que se ha de encontrar la

longitud de onda emitida por la muestra. Los filtros son sistemas selectores de longitudes de onda útiles en análisis rutinarios, pero pierden interés cuando hay que realizar análisis de muchos elementos, en cuyo caso sería necesario disponer de un gran número de filtros o un sistema de monocromación como los mencionados en apartados anteriores. [27]

1.6.2.6- Detectores

La función del detector es medir la intensidad de la radiación que incide sobre él. Los detectores, que han de ser sensibles a todas las longitudes de onda que se hayan de estudiar, actúan transformando la señal radiante en alguna otra forma de energía que pueda medirse y registrarse. Al igual que en espectroscopia de absorción atómica y espectroscopia de emisión por plasma, los detectores más frecuentes son los fotomultiplicadores, que producen una señal eléctrica cuando la radiación incide sobre ellos. [27]

1.6.3- Ventajas

Desde el punto de vista analítico, la fotometría de llama resulta adecuada para la determinación de elementos alcalinos y, en menor grado, alcalinotérreos. Por otra parte su bajo costo lo hace accesible a cualquier laboratorio de análisis de rutina. La desventaja que posee es su baja capacidad de análisis de otros elementos y la imposibilidad de confección de curvas de calibración, debido a las desviaciones producidas por la utilización de filtros en vez de monocromadores como sistemas selectores de longitudes de onda, lo que ocasiona de manera inevitable, desviaciones a la ley de Beer.

1.7 - TRATAMIENTO DE MUESTRA

1.7.1- Mineralización de la muestra

De acuerdo a la bibliografía consultada [20], el tratamiento de muestra juega un rol importantísimo en la determinación de elementos en el orden de vestigios en miel, sobre todo en la etapa de mineralización.

Si bien el análisis a partir de cenizas suele ser una de las mineralizaciones más utilizadas en muestras con matriz orgánica, en el caso de la miel presenta dos desventajas primordiales:

- el elevado contenido de azúcares de la miel produce proyecciones, caramelización y carbonización con la cual es muy difícil obtener cenizas blancas en tiempos razonables,
- existen importantes pérdidas de los elementos de transición por fenómenos de adsorción a las paredes del crisol, más aún en el orden de los vestigios.

Otras mineralizaciones recomendadas resultan ser más adecuadas debido a su gran capacidad de oxidación de material orgánico y muy bajas pérdidas. Así la mineralización con ácidos a través de bomba PTFE resulta ser una de las mejores metodologías para este proceso. Sin embargo tiene la desventaja de ser un método costoso, sobre todo cuando se requiere mineralizar una cantidad importante de muestras y por la necesidad de utilizar sistemas de calentamiento efectivos pero de alto costo, como el caso de sistemas microondas.

Por otra parte, el exceso de ácidos utilizados debe evaporarse de alguna manera en los casos en que la acidez excesiva pueda interferir en la determinación posterior.

Otra mineralización muy frecuentemente utilizada para determinación de nitrógeno Kjeldahl, es el empleo de H₂SO₄ con presencia de catalizadores. La desventaja de este tipo de digestión es la incorporación de interferentes junto al catalizador y el alto punto de ebullición del ácido, lo que dificulta la evaporación del remanente ácido luego de finalizada la digestión.

Por lo expuesto, existe una alternativa que resulta ser sumamente sencilla y económica: el ataque ácido de la miel con mezcla HNO₃-HClO₄. Esta mezcla presenta propiedades relevantes desde tres aspectos:

- el gran poder oxidante del HNO₃, capaz de mineralizar fácilmente la gran cantidad de materia orgánica presente en la miel
- el poder sinergista del HClO₄ para desplazar la reacción de oxidación favorablemente
- bajos puntos de ebullición para ambos ácidos

La reacción involucrada en la oxidación de un azúcar (por ejemplo sacarosa) con HNO₃, es la que se presenta a continuación:



El proceso anterior requiere de un calentamiento moderado, que se puede desarrollar en vaso de precipitados con tapa adecuada y en baño de arena. Las ventajas de utilizar este ataque son las siguientes:

- la mineralización de la miel resulta ser lo bastante rápida (2 a 3 horas aproximadamente) hasta casi seco, sin rastros de vestigios orgánicos
- tanto el HNO_3 como el HClO_4 tienen puntos de ebullición relativamente bajos, lo cuál favorece la evaporación de exceso de ácido, aspecto de importancia en aquellos casos que se requiera realizar ajuste posterior de pH
- muy buen nivel de recuperación, de alrededor del 95%
- requiere poco volumen de la mezcla ácida por unidad de masa de miel
- sumamente económico

Una de las desventajas de este tipo de ataque puede ser la gran cantidad de vapores que se producen durante la reacción, por lo cual resulta indispensable utilizar campana con buena capacidad de extracción de gases y equipo apropiado para el operador (máscara y guantes) a fin de evitar que el operador inhale o tome contacto cutáneo con los vapores tóxicos producidos.

Capítulo 2- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1- Reactivos y material de laboratorio

- Acido Nítrico ultrapuro
- Acido Perclórico ultrapuro
- Patrones metálicos calidad espectroscopia.
- Agua calidad vestigios ultrapura
- Material volumétrico calibrado

2.2- Instrumental

- Equipo de Espectroscopia de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Marca Baird Modelo ICP2070.
- Equipo de absorción Atómica. Marca Metrolab Modelo RC 250 AA.
- Fotómetro de llama marca Crudo Caamaño, modelo convencional.
- Balanza METTLER H20.
- pHmetro marca Horiba modelo F14.
- Purificador de agua marca Barnstead.

2.3- Mineralización de la muestra

Para mineralizar las muestras se utilizó la mezcla $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$. Se emplearon 5 mL de $\text{HNO}_3(\text{c})$ y 2 mL $\text{HClO}_4(\text{c})$ por cada gramo de miel. Se realizó en vasos de precipitados de 250 mL de capacidad, tapado con vidrio de reloj en baño de arena durante algunas horas, hasta mineralización completa de los componentes orgánicos de la miel, quedando una solución transparente y límpida, incolora o levemente amarilla, sin sólidos en suspensión ni remolinos carbonosos.

2.4- Análisis instrumental

2.4.1- Espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

Con este instrumental se determinaron los siguientes elementos: Al^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , PO_4^{3-} . Las lecturas fueron realizadas empleando la línea de emisión más sensible para cada elemento: Al^{3+} $\lambda = 309,271$ nm; Mn^{2+} $\lambda = 257,610$ nm; Zn^{2+} $\lambda = 213,856$ nm; Cu^{2+} $\lambda = 324,754$ nm; Fe^{3+} $\lambda = 259,940$ nm; PO_4^{3-} $\lambda = 213,618$ nm; Cr^{2+} $\lambda = 357,926$ nm; Pb^{2+} $\lambda = 217,028$ nm; Cd^{2+} $\lambda = 228,810$ nm. La cuantificación se realizó a partir de una curva de calibración con cinco niveles de concentración para cada elemento, partiendo de una solución madre de 1000 ppm grado espectroscopia. El rango de los coeficientes de regresión obtenidos para todos los elementos fue de 0,990 a 0,996.

2.4.2- Espectroscopia de absorción atómica (AAS)

Con esta metodología analítica, se determinaron los elementos Ca^{2+} y Mg^{2+} . Se seleccionaron las líneas de absorción más sensibles para la cuantificación. Las curvas de calibración fueron construidas para cinco niveles de concentración para cada elemento, partiendo de una solución madre de 1000 ppm a partir de reactivos de calidad grado analítico. Las longitudes de onda empleadas fueron: Ca^{2+} $\lambda = 423,7$ nm y Mg^{2+} $\lambda = 286,1$ nm. Los coeficientes de regresión obtenidos fueron 0,986 a 0,990 para Mg^{2+} y Ca^{2+} respectivamente.

2.4.3- Fotometría de llama (FP)

Con esta metodología se determinaron las concentraciones de Na^+ y K^+ en los niveles analizados. Debido a las desviaciones instrumentales propias del equipo por la ausencia de monocromador, la cuantificación se realizó por el método directo. Para ello se preparó una solución de Na^+ 9,2 ppm y una solución de K^+ de 24 ppm, utilizando para ello reactivos de calidad grado analítico.

Capítulo 3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1- Muestreo de mieles naturales

El muestreo fue realizado de diciembre de 2005 a marzo de 2006 con muestras naturales provenientes de distintas regiones de la Provincia de La Pampa. Los análisis se realizaron sobre 20 muestras cuyo origen geográfico y fecha de recolección se describen en la Tabla 5. En figura 21 se detallan los sitios de muestreo. La recolección de las muestras estuvo a cargo de la tesista y de personal del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Tabla 5- *Origen geográfico de las muestras de miel analizadas.*

MUESTRA	ORIGEN GEOGRAFICO	FECHA
1	Paraje La Araña	2005
2	Luan toro 1	2005
3	Colonia 25 de Mayo. Escuela Agrotécnica	2005
4	Guatraché	2005
5	General Pico	2005
6	Embajador Martini	2005
7	Ruta 14. Campo Baya Norte	2006
8	Winifreda	2006
9	Victorica	2006
10	Ruta 11. Campo Aldama	2006
11	Metileo	2006
12	Luán Toro 2	2006
13	Realicó	2006
14	Miguel Riglos	2006
15	Miguel Riglos	2006
16	Catriló	2006
17	Pellegrini*	2006
18	Quemú Quemú	2006
19	Catriló	2006
20	Catriló	2006

(*) *Esta muestra puede ser considerada dentro de la región de interés aunque no pertenezca a la provincia.*

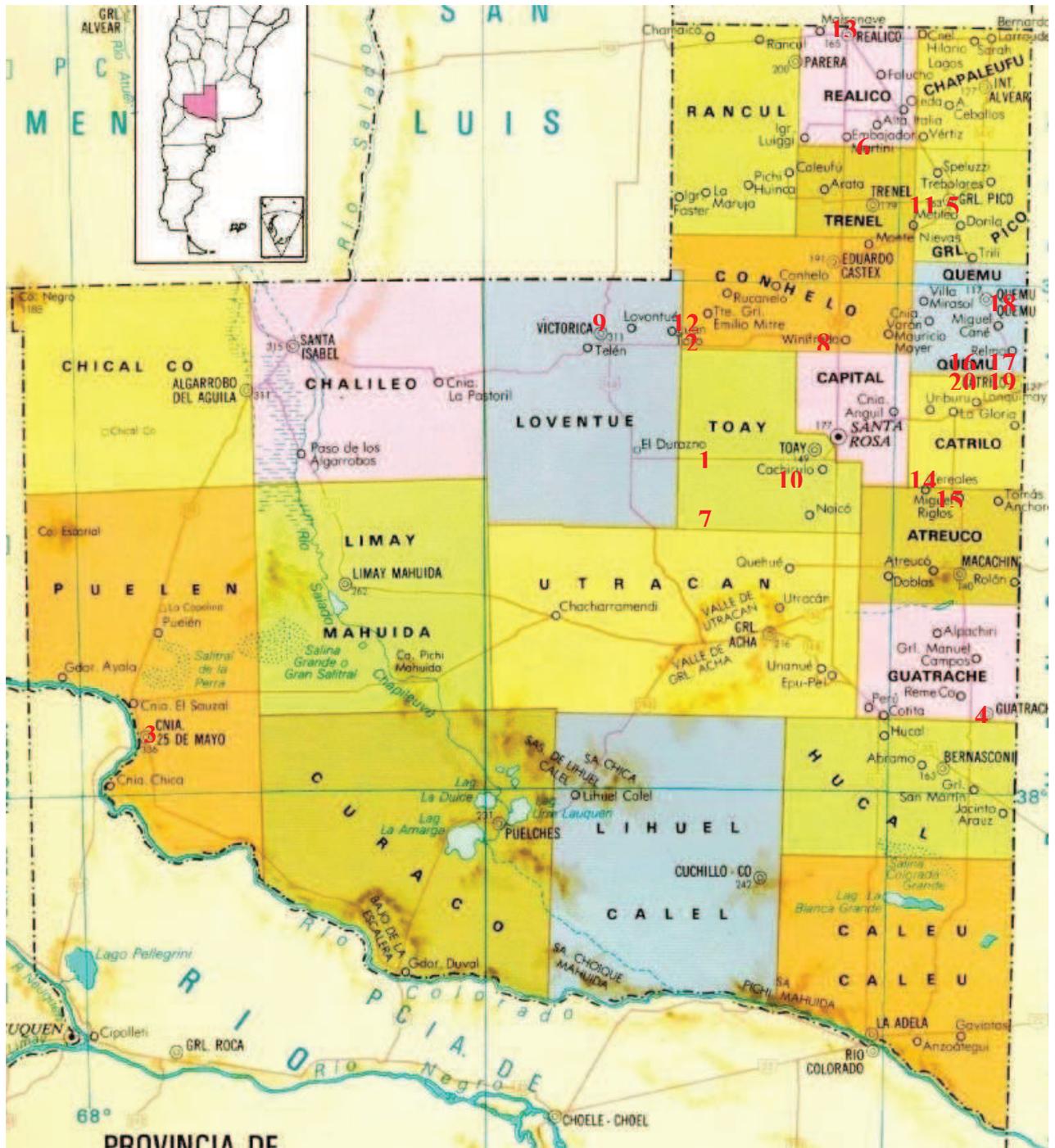


Figura 21- Origen geográfico de las mieles indicadas en tabla 5

3.2- Análisis elemental en mieles naturales

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos para la determinación de las 20 muestras de mieles naturales de diversos orígenes geográficos provinciales detalladas en la tabla 5 a las que se realizaron las determinaciones analíticas de acuerdo a lo descrito en 2.4. Por otra parte, el análisis estadístico de los datos fue realizado determinando los valores medios para cada elemento, como así también el intervalo de confianza respectivo, utilizando para ello el parámetro t de Student, con un nivel de confianza, $\alpha = 0,05$ y una población estadística $n = 20$.

Tabla 6- Resultados de las determinaciones obtenidas para las muestras de miel analizadas ¹.

Muestras	Aluminio	Manganeso	Zinc	Cobre	Hierro	Fósforo	Sodio	Potasio	Calcio	Magnesio	Cromo	Plomo	Cadmio
1	0,26	0,02	0,12	0,18	0,7	0,37	5,46	18,53	3,29	1,20	n.d. ³	n.d. ³	n.d. ³
2	0,54	0,05	0,16	0,18	0,94	0,56	4,56	90,83	4,63	1,72	n.d.	n.d.	n.d.
3	0,03	0,03	0,12	0,05	0,29	0,17	6,24	12,84	2,81	1,35	n.d.	n.d.	n.d.
4	0,55	0,02	0,25	0,18	0,78	0,40	3,26	16,14	2,37	0,93	n.d.	n.d.	n.d.
5	0,02	0,02	0,23	0,01	0,18	0,07	2,09	12,91	1,14	0,75	n.d.	n.d.	n.d.
6	0,04	0,00	0,06	0,01	0,21	0,06	0,87	9,49	3,66	0,86	n.d.	n.d.	n.d.
7	0,26	0,02	0,09	0,19	0,35	0,50	2,02	65,35	2,84	1,15	n.d.	n.d.	n.d.
8	0,23	0,04	0,06	0,18	0,31	0,52	1,64	102,42	3,29	1,50	n.d.	n.d.	n.d.
9	0,30	0,04	0,07	0,18	0,27	0,59	2,57	132,15	4,23	1,73	n.d.	n.d.	n.d.
10	0,19	0,04	0,07	0,19	0,38	0,54	1,64	125,27	4,62	1,71	n.d.	n.d.	n.d.
11	0,16	0,02	0,06	0,09	0,21	0,32	1,47	31,50	1,72	0,90	n.d.	n.d.	n.d.
12	0,79	0,04	0,15	0,10	0,94	0,47	2,38	62,17	2,56	1,18	n.d.	n.d.	n.d.
13	0,29	0,05	0,06	0,08	0,51	0,34	2,86	15,90	2,69	1,18	n.d.	n.d.	n.d.
14	0,18	0,03	0,05	0,09	0,25	0,39	1,72	32,30	2,86	1,20	n.d.	n.d.	n.d.
15	0,26	0,03	0,11	0,09	0,67	0,36	3,58	112,71	3,16	0,86	n.d.	n.d.	n.d.
16	0,18	0,07	0,08	0,09	0,23	0,37	3,22	26,30	3,13	1,28	n.d.	n.d.	n.d.
17	0,21	0,06	0,13	0,10	0,32	0,36	2,48	25,26	2,56	0,86	n.d.	n.d.	n.d.
18	0,43	0,04	0,09	0,09	0,69	0,36	3,34	27,02	3,40	1,25	n.d.	n.d.	n.d.
19	0,23	0,02	0,05	0,08	0,22	0,30	2,30	17,12	2,05	0,86	n.d.	n.d.	n.d.
20	0,31	0,03	0,05	0,09	0,33	0,29	3,49	25,78	2,98	1,15	n.d.	n.d.	n.d.
X ± IC²	0,27 ± 0,42	0,03 ± 0,01	0,10 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,44 ± 0,12	0,37 ± 0,07	2,86 ± 0,63	48,10 ± 19,42	2,81 ± 0,39	1,40 ± 0,17	n.d.	n.d.	n.d.

¹Concentraciones expresadas en mg / 100 g de miel. ²IC = Intervalo de Confianza [$IC_{(0,05; 20)} = t \cdot s / (n)^{1/2}$]. ³n.d. no detectado.

Capítulo 4- CONCLUSIONES

4.1- DE LAS METODOLOGÍAS ANALÍTICAS EMPLEADAS

- La espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) fue la técnica empleada más moderna, con gran capacidad de análisis multielemental por muestras y con muy buenos límites de cuantificación, ideal para los bajos niveles de concentración de ciertos metales en miel.
- La espectroscopia de absorción atómica (AAS) ha resultado adecuada para los elementos analizados, pero tiene la desventaja de tener menores límites de cuantificación que el ICP-OES. Además el instrumental utilizado, debido a su antigüedad posee sistema de lectura analógica, lo que produce una importante limitación en la capacidad analítica del método, que se traslada al resultado final.
- La fotometría de llama, a pesar de sus limitaciones instrumentales y tecnológicas, sigue siendo una metodología adecuada para la determinación de Na^+ y K^+ en miel, aunque por el empleo del método directo, el tiempo de análisis fue muy elevado debido a la gran cantidad de diluciones que son necesarias para poder cuantificar con un mínimo error. En el caso del sodio, la incertidumbre del método es elevada, debido a que los niveles de concentración de ese elemento en miel son muy bajos.

4.2- DE LOS METALES PRESENTES EN MIELES NATURALES DE LA PAMPA

- Del estudio de elementos de transición, metales alcalinos y alcalino-térreos, se observa que las mieles naturales analizadas, presentan bajos niveles de concentración de esas especies, lo que indica que son factibles de utilizar para consumo humano. Esta conclusión es razonable considerando el escaso manipuleo que la miel ha sufrido.
- No se ha detectado la presencia de elementos tóxicos tales como cromo, plomo y cadmio, lo cual permite suponer que las mieles no han sufrido contaminaciones detectables de origen antropogénico.

- Realizando un estudio comparativo entre los valores bibliográficos de la tabla 2 y los resultados hallados en tabla 6, se observa que no existen diferencias significativas respecto a la concentración de las especies metálicas, entre las mieles de La Pampa respecto a otros lugares del mundo.
- En el caso de las muestras 5 y 6, se observa muy bajos valores de concentración para casi todas las especies estudiadas, excepto potasio para muestra 5, y se destacan particularmente del resto de las muestras. La muestra 11 que pertenece a la misma zona (Metileo), difiere en algunas de las variables respecto a las muestras antes citadas. Ello se puede deber a diferencias en el período de cosecha de miel o factores inherentes a la zona (inundaciones, lluvias, etc).
- Por otra parte, se observan valores muy elevados en el contenido de K para las muestras 8, 9 10 y 15, cuyo origen es probablemente debido a fenómenos naturales (procedencia del néctar , suelo, lluvias, etc) o acción antropogénica (fertilización con potasio).
- Muestras procedentes del mismo lugar de muestreo, poseen diferente composición metálica. Tal es el caso de las muestras provenientes de Luan Toro (muestras 2 y 12) cuyas concentraciones difieren entre sí. El otro caso mas espectacular es el de Miguel Riglos (muestras 14 y 15) donde se observan diferencias muy importantes para ciertos elementos, destacándose el caso del potasio. Las mismas pueden atribuirse a diferente origen floral o incorporación antropogénica de potasio, ya que el período de cosecha fue el mismo.
- Por otra parte, en otras muestras cuya procedencia geográfica es cercana entre sí, como en el caso de las muestras 16, 17, 19 y 20 (Catriló y Carlos Pellegrini) la composición entre ellas resulta marcadamente similar, por lo que para este caso, es de suponerse que el conjunto provenga de una extracción realizada durante el mismo período del año, bajo una influencia floral similar y con escasa incidencia humana.

Capítulo 5- BIBLIOGRAFÍA

- [1] Zumla, J. and Lulat, A. (1989). *Journal of the Royal Society Medical* 82 374.
- [2] Morse, R. and Flottum, K. (1990). “ABC and XYZ of Bee Culture”. The A.I. Root Co. Medina, Ohio, USA.
- [3] Crane, E. (1979). “Honey: A Comprehensive Survey”. William Heinemann Ltd. London. United Kingdom.
- [4] Crane, E. (1980). “A Book of Honey”. Penguin Press. England.
- [5] White, J. (1978) “Honey. In *Advances in Food Research*”. Academic Press. New York. USA.
- [6] Código Alimentario Argentino Actualizado. Capítulo 10. Miel.
- [7] El Diario del consumidor. www.consumer.es. Consulta diciembre de 2006.
- [8] Codex para la miel (1981 rev. 1987). Codex Stan 12-1981, rev. 1.
- [9] NHB (1998) Honey Facts. National Honey Board. Logmount, Co. USA.
- [10] Abu-Tarboush, H., Al-Kahtani H. and El-Sarrage, M. (1993). *Food Chemistry* 46 13.
- [11] Caroli, S., Forte, G., Iamiceli, A. and Galopi B. (1999). *Talanta* 50 327.
- [12] Sevimli, H., Bayulgen N. and Varinlioglu, A. (1992). *J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters* 165 (5) 319.
- [13] Morse, R. and Lisk, D. (1980). *American Bee Journal* 120 522.
- [14] Bromenshenk, J., Carlson, S., Simpson, J. and Thomas, J. (1985) *Science* 227 632.
- [15] Caroli, S., Forte, G., Alessandrelli, M., Cresti, R., Spagnoli, M., D’Ilio, S., Pauwels, J. and Kramer, G. (2000). *Microchemical Journal*. 67 227.
- [16] Forte, G., D’Ilio, S. and Caroli, S. (2001). *Journal of AOAC International* 84 (6) 1972.
- [17] Li, Y., Wahdat, F. and Neeb, R. (1995) *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 351 (7), 678-682.
- [18] Sanna, G., Pilo, M.I., Piu, P.C., Tapparo, A. and Seeber, R. (2000) *Analitica Chimica Acta* 415 (1-2) 165-173.
- [19] Buldini, P.L., Cavalli, S., Mevoli A. and Sharma, J.L. (2001) *Food Chemistry*, 73 (4) 487-495.
- [20] Muñoz, E. and Palmero, S. (2006) *Food Chemistry*, 94 (3), 478-483.
- [21] Fodor, P. and Molnar, E. (1993) *Microchimica Acta* 112 113-118.

-
- [22] Viñas, P., López-García, I., Lanzón, M. and Hernández-Córdoba, M. (1997) *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45 3952-3956.
- [23] Caroli, S., Forte, G., Iamicelli, A.L. and Galoppi, B. (1999) *Talanta* 50 327-336.
- [24] Tuzen M., Soylak and Latif E. (2005) *Analytica Chimica Acta*, 548 (1-2), 101-108
- [25] Hernández, O. M., Fraga, J. M. G., Jiménez, F. and Arias, J. J. (2005) *Food Chemistry* 93 (3) 449-458.
- [26] Skoog, D. y Leary, J. 1994 “Análisis Instrumental”. Editorial Mc Graw-Hill. Madrid, España.
- [27] Robinson J. W. (1974) “Undergraduate Instrumental Analysis”. Marcel Drekker, Inc. New York. USA.
- [28] Harris D. C. (2001). “Análisis Químico Cuantitativo”. Editorial Reverté S.A. 2ª edición. Madrid. España.