

Optimización de una metodología para la determinación de cobre en muestras apícolas mediante fluorescencia en fase sólida

Optimization of a methodology for the determination of copper in bee samples by solid phase fluorescence

Talio, María C.¹; Muñoz, Vanesa¹, Acosta, Mariano¹, Fernández, Liliana P.^{*1,2}.

¹INQUISAL, CCT-San Luis, Av. Ejército de los Andes 950, San Luis, Argentina. ²Área de Química Analítica. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Chacabuco y Pederñera. 5700 - San Luis. Argentina.
E-mail: mctalio@unsl.edu.ar



Introducción

Las abejas elaboran productos naturales con propiedades terapéuticas y nutricionales entre los que destacan: miel, jalea real, propóleo, polen y apitoxina. Argentina se caracteriza por la calidad de sus mieles, siendo el tercer país productor a nivel mundial. Por ello, es fundamental ampliar los controles que se realizan para garantizar la calidad de tales productos. La legislación estipula una concentración máxima de cobre de 10 mg/kg de miel para su exportación.

El cobre (Cu) es un micronutriente mineral esencial para el organismo humano que se encuentra presente en enzimas con actividad óxido reductasa; forma parte de factores de transcripción que regulan la expresión genética e interviene en el mantenimiento de la integridad del sistema inmune. La deficiencia de Cu genera manifestaciones clínicas como anemia refractaria, alteraciones óseas, hiperpigmentación del cabello, hipotonía, deficiencia del crecimiento y alteraciones en la capacidad fagocítica de los macrófagos.

La aplicación de métodos luminiscentes para determinar trazas de Cu ha mostrado importantes ventajas analíticas como: elevada sensibilidad, selectividad adecuada y amplio intervalo dinámico cuando se han asociado a etapas de separación/preconcentración/sensibilización.

En el presente trabajo se propone una metodología alternativa a las técnicas tradicionales para el monitoreo de Cu(II) en muestras apícolas, utilizando instrumental accesible en laboratorios de control de calidad.

Resultados y discusión

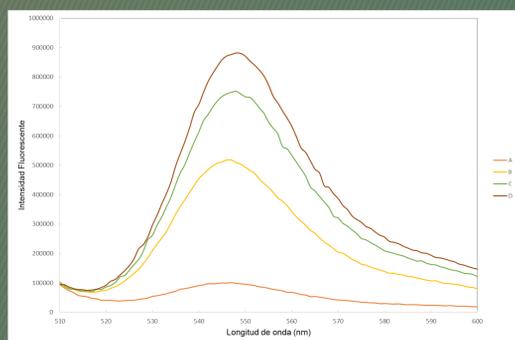


Figura 1: Espectros de emisión fluorescente.
A: Blanco de reactivos; B: Idem A + 0,44 µg L⁻¹ de Cu(II); C: Idem A + 0,88 µg L⁻¹ de Cu(II); D: Idem A + 1,32 µg L⁻¹ de Cu(II).

El metal fue complejoado con o-fenantrolina (o-fen) y el colorante eosina (eo) a pH=7.0, en presencia del tensoactivo catiónico HTAB; los sistemas (muestra apícola, Cu(II), o-fen, eo, HTAB y buffer) fueron filtrados a través de membranas de Nylon y el metal fue cuantificado mediante fluorescencia en fase sólida ($\lambda_{exc} = 515 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 545 \text{ nm}$).

Se estudiaron y optimizaron las variables experimentales que influyen en la etapa separativa y determinativa: naturaleza de la membrana, concentración de o-fen y eo, naturaleza y concentración del agente tensoactivo, pH y concentración del buffer.

Tabla 1: Optimización de variables experimentales y parámetros de calidad analítica para la determinación de Cu(II).

Parámetros experimentales	Condiciones estudiadas	Condiciones óptimas
pH	3,5-12	7
Buffer Fosfato	1 10 ⁻⁵ - 1 10 ⁻² mol L ⁻¹	1 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹
Concentración o-fen	1 10 ⁻⁹ - 1 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	1 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹
Concentración de Eo	1 10 ⁻⁹ - 1 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	1 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹
Concentración de HTAB	1 10 ⁻⁸ - 1 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	2 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹
LOD	-	1,18 ng L ⁻¹
Intervalo de linealidad	-	4,22- 2,21 x10 ⁴ ng L ⁻¹
R ²	-	0,998

Aplicaciones

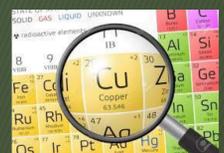
La metodología propuesta se aplicó a la determinación de trazas de Cu(II) en muestras de miel, propóleo, jalea real y apitoxina comercializadas en San Luis (Argentina). La **Tabla 2** muestra las concentraciones del analito halladas y sus correspondientes coeficientes de varianza. La reproducibilidad fue evaluada replicando cuatro veces el procedimiento propuesto, para cada uno de los niveles de sobreagregado. Trabajando en las condiciones óptimas, se logró una recuperación cuantitativa de Cu(II) (cercasas al 100%).

Asimismo, se investigó la tolerancia a potenciales interferentes con muy buenos resultados. La precisión (repetitividad -variación intra días) fue de 0,031 CV y la reproducibilidad (variación inter días) de 0,042 CV. La veracidad del método se obtuvo contrastando los resultados mediante la aplicación de una metodología de referencia (ICP-MS) con resultados satisfactorios.

Tabla 2: Concentraciones de Cu(II) en muestras apícolas comercializadas en San Luis (Argentina).

Muestra	Cu(II) encontrado ± CV (µg L ⁻¹)	Cu(II) encontrado (µg Kg ⁻¹)
1	0,117 ± 0,02	2,268
2	0,213 ± 0,04	3,769
3	0,193 ± 0,05	2,150
4	0,189 ± 0,05	2,513
5	0,278 ± 0,05	2,952
6	0,255 ± 0,09	2,876
7	0,193 ± 0,02	1,895
8	0,066 ± 0,01	0,843
9	0,099 ± 0,03	0,753
10	0,22 ± 0,03	0,892
11	0,017 ± 0,07	0,432
12	0,057 ± 0,01	0,343

- 1: Miel orgánica A (Multiflora: chañar, piquillin y algarrobo blanco).
- 2: Miel orgánica B (Multiflora: melilotus, chilca, usillo y jarilla).
- 3: Multiflora: no especificada.
- 4: Multiflora: no especificada.
- 5: Monoflora: algarrobo blanco.
- 6: Propóleo I
- 7: Propóleo II
- 8: Jalea Real- Miel
- 9: Jalea real:
- 10: Polen
- 11: Apitoxina I
- 12: Apitoxina II



Conclusiones

La metodología propuesta se aplicó exitosamente a la determinación de trazas de Cu(II) en 12 muestras apícolas (miel, propóleo, jalea real, polen y apitoxina, comercializados en San Luis), hallándose concentraciones del metal en el orden de las ppb. Esta metodología demostró ser una alternativa adecuada para la determinación de este micronutriente y para su aplicación al control de calidad de alimentos acorde a la normativa vigente, en resguardo de la salud humana.