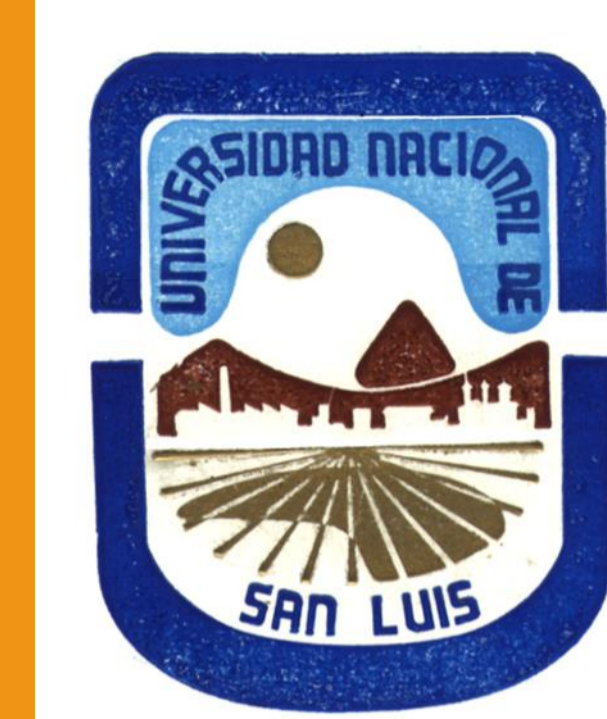


Metodología alternativa para el monitoreo de plomo mediante fluorescencia molecular en muestras apícolas

New methodology for lead monitoring by molecular fluorescence in beekeeping samples

Pereyra Carlos F.¹; Acosta Mariano¹; Fernández Liliana P.¹; Talio María C.¹

¹INQUISAL-CONICET. ²Área de Química Analítica. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Chacabuco y Pedernera. 5700 – San Luis. Argentina.
mctalio@unsl.edu.ar; mcarolinatalio@gmail.com

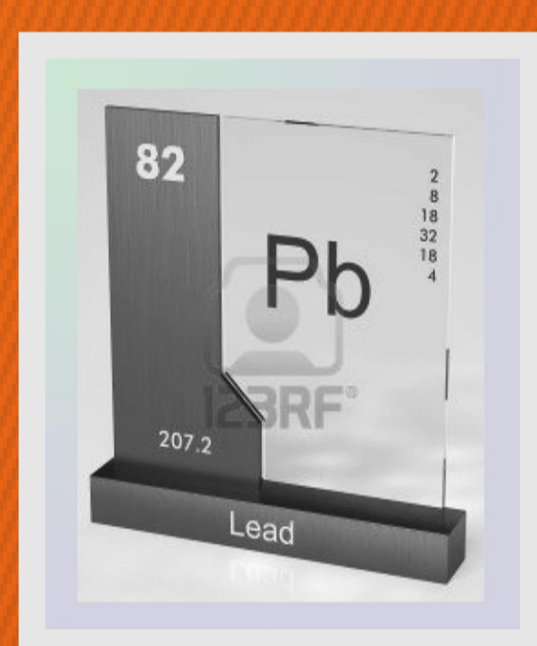


Introducción

Las abejas elaboran productos naturales con propiedades terapéuticas y nutricionales entre los que destacan: miel, jalea real, propóleo y polen. Argentina se presenta como el tercer país productor de miel en el mundo. Sin embargo, su consumo interno no es tan alto y la mayor parte se exporta. Por esta razón, es de vital importancia ampliar los controles relacionados a la presencia de contaminantes ambientales (fundamentalmente metales pesados y pesticidas) para garantizar la calidad del producto.



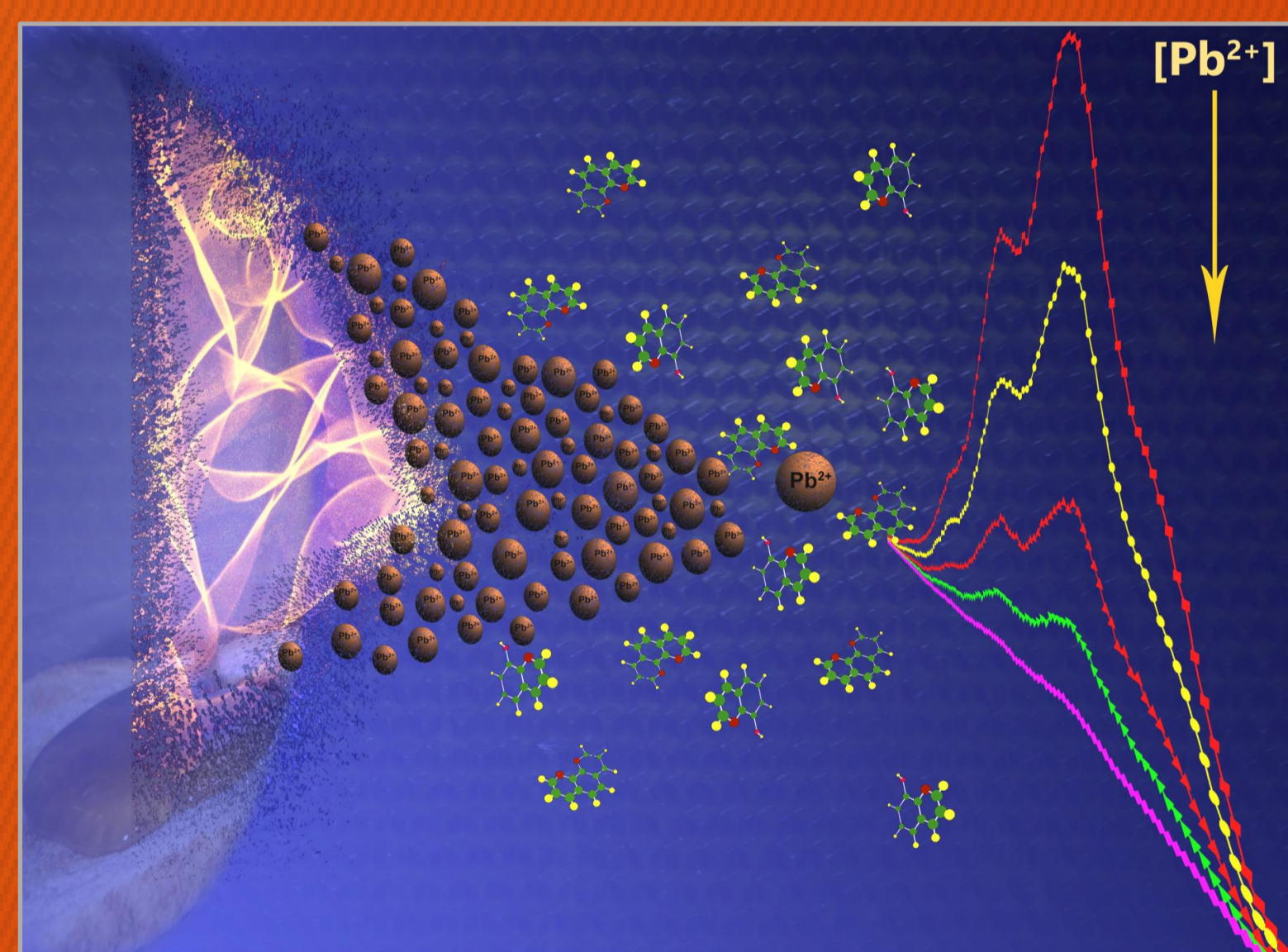
Entre los posibles metales tóxicos presentes en los productos elaborados por las abejas, se debe prestar especial atención al plomo. Dicho metal ha sido clasificado por la IARC como carcinógeno para humanos (Grupo 1). La intoxicación crónica con este metal da lugar a una patología denominada *saturnismo* que se caracteriza por anemia intensa, alteraciones digestivas, cardiovasculares, renales y nerviosas.



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

El objetivo del presente trabajo es proponer una nueva metodología luminiscente como alternativa a las espectroscopias atómicas tradicionales para el monitoreo de Pb(II) en miel, propóleo, jalea real y polen.

Resultados y discusión

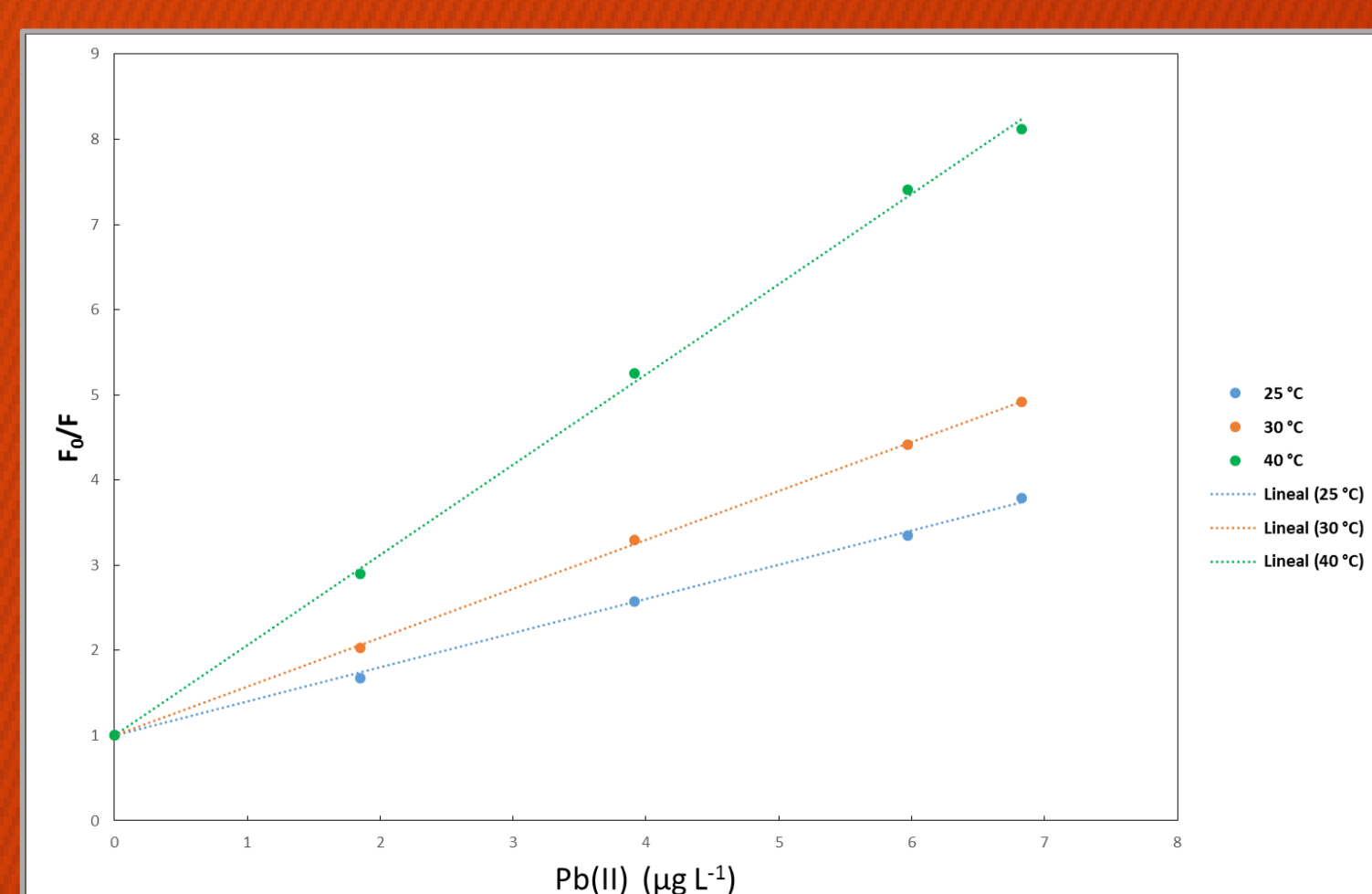


La determinación fluorimétrica de plomo se basa en la formación de un complejo de asociación ternaria con 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) y o-fenantrolina (o-phen) asociado a una etapa previa de sensibilización con la sal biliar colato de sodio (NaC). La determinación de Pb(II) se llevó a cabo mediante fluorescencia molecular, evidenciándose un fenómeno de quenching fluorescente.

Entre los parámetros experimentales que influyen sobre la emisión fluorescente, se optimizaron: las concentraciones de los reactivos complejantes, concentración y naturaleza del tensoactivo, concentración y naturaleza del buffer, pH de formación del complejo y orden de adición de los reactivos mencionada metodología se fundamenta en la formación de un complejo ternario del metal con o-fenantrolina (o-phen) y 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) a pH 6 regulado con buffer fosfato.

La cuantificación de Pb(II) se llevó a cabo mediante fluorescencia molecular a $\lambda_{em} = 365$ nm ($\lambda_{exc} = 250$ nm), evidenciándose una disminución en la emisión de los fluoróforos (quenching) ante la presencia de Pb(II). En la **Tabla 1**, se detallan las condiciones óptimas de trabajo y parámetros de calidad analíticos para la determinación de Pb(II).

Figura 1 : Estudio del mecanismo de quenching.



Con la finalidad de establecer el mecanismo de quenching involucrado, se realizaron ensayos experimentales a diferentes temperaturas (25, 30, y 40°C). Un aumento de K_{SV} con el aumento de la temperatura puso en evidencia un mecanismo de quenching estático (Figura 1).

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

| Parámetros experimentales | Condiciones estudiadas | Condiciones óptimas |
|---------------------------|---|---|
| pH | 5-12 | 6 |
| Buffer Fosfato | $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-2}$ mol L ⁻¹ | $1 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹ |
| Concentración o-fen | $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ mol L ⁻¹ | $5 \cdot 10^{-8}$ mol L ⁻¹ |
| Concentración de 8-HQ | $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ mol L ⁻¹ | $7,5 \cdot 10^{-8}$ mol L ⁻¹ |
| Concentración de NaC | $1 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ mol L ⁻¹ | $5 \cdot 10^{-8}$ mol L ⁻¹ |
| LOD | - | 0,035 µg L ⁻¹ |
| Intervalo de linealidad | - | 1,105- 51,80 µg L ⁻¹ |
| R ² | - | 0,998 |

Aplicaciones

La metodología propuesta se aplicó a la determinación de trazas de Pb(II) en muestras de miel, propóleo y jalea real 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 Pb(II) (cercasas al 100%). Asimismo, se investigó la tolerancia a potenciales interferentes resultados satisfactorios.

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

| Muestra | Pb(II) encontrado ± CV (µg L ⁻¹) | Pb(II) encontrado (µg g ⁻¹) |
|---------|--|---|
| 1 | 0,122 ± 0,01 | 1,238 |
| 2 | 0,171 ± 0,03 | 1,779 |
| 3 | 0,213 ± 0,08 | 1,790 |
| 4 | 0,249 ± 0,04 | 2,530 |
| 5 | 0,109 ± 0,04 | 1,121 |
| 6 | 0,202 ± 0,02 | - |
| 7 | 0,133 ± 0,03 | - |
| 8 | 0,107 ± 0,05 | - |
| 9 | ND | ND |

- 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:



Conclusiones

- La metodología propuesta representa una alternativa adecuada para la determinación y monitoreo de Pb(II) con bajo costo operativo, simplicidad instrumental y empleo de solventes no contaminantes del medioambiente.
- Las muestras apícolas producidas y comercializadas en San Luis (Argentina) fueron exitosamente analizadas con recuperaciones cercanas al 100%.
- La importancia del monitoreo de metales pesados como biomarcadores de contaminación es de suma importancia ya que la exposición a estos afecta negativamente la salud humana.
- Adicionalmente, surge la necesidad de regulación y control de dichos productos para poder ser exportados en forma segura y responsable.