

Evaluación Espectrométrica del Contenido Metálico Presente en el Atún Enlatado

Jorge E. Tahán, Víctor A. Granadillo, Hernán S. Cubillán,
José M. Sánchez y Romer A. Romero*

Laboratorio de Instrumentación Analítica Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Recibido: 11-05-93 • Aceptado: 21-06-93

Resumen

Se presenta la evaluación espectrométrica del aluminio, cobre, hierro, mercurio, plomo, sodio y zinc en un producto comercial de atún enlatado (EVEBA). Las muestras se mineralizaron por irradiación de microondas, empleando recipientes cerrados con válvulas para liberar presión y reactores de alta presión. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los niveles metálicos hallados por los dos métodos de digestión propuestos ($P > 0.001$). La concentración de mercurio encontrada en las muestras de atún enlatado (i.e., $1,5 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$) es superior a la recomendada por la Organización Mundial de la Salud en peces (ca. $0,5 \mu\text{g/g}$). Los límites de detección, definidos como tres veces la desviación standard del blanco, fueron $40 \mu\text{g/L}$ aluminio, $20 \mu\text{g/L}$ cobre, $70 \mu\text{g/L}$ hierro, 53 ng/L mercurio, $0,1 \mu\text{g/L}$ plomo, $20 \mu\text{g/L}$ sodio y $14 \mu\text{g/L}$ zinc.

Palabras claves: Atún enlatado; aluminio; cobre; hierro; mercurio; plomo; sodio; zinc; espectrometría atómica.

Spectrometric evaluation of the Metal Content in Canned Tuna

Abstract

We present the spectrometric determination of aluminum, copper, iron, mercury, lead, sodium and zinc in a commercial canned tuna product (EVEBA). Two microwave-based mineralization procedures were developed, using either closed vessels with pressure relief valves or high pressure reactors. No significant differences ($P > 0.001$) were obtained between the metal levels found for the two-digestion procedures. The mercury concentration found in the canned tuna samples (i.e., $1.5 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$) was higher than the recommended by the World Health Organization (ca. $0.5 \mu\text{g/g}$) in fish. The detection limits, defined as three times the standard deviation of the blank, were $40 \mu\text{g/L}$ aluminum, $20 \mu\text{g/L}$ copper, $70 \mu\text{g/L}$ iron, 53 ng/L mercury, $0.1 \mu\text{g/L}$ lead, $20 \mu\text{g/L}$ sodium and $14 \mu\text{g/L}$ zinc.

Keywords: Canned tuna; aluminum; copper; iron; mercury; lead; sodium; zinc; atomic spectrometry.

* Enviar correspondencia a Romer A. Romero. Apartado Postal 15202. Las Delicias Maracaibo, Venezuela. Teléfonos: +58-61-51 68 68 y 52 68 85. Fax: +58-61-52 68 85

Introducción

El crecimiento industrial desbordado de los últimos veinte años ha contribuido al deterioro ecológico de diversos reservorios acuíferos, induciendo la acumulación de sustancias tóxicas en especímenes biológicos destinados al consumo humano (1,2). Algunos de ellos, (i.e. atún, almejas, sardinas, pepitonas, etc.) pueden incorporar metales trazas esenciales (i.e., cobre (Cu), hierro (Fe), sodio (Na), zinc (Zn), etc.), así como elementos tóxicos indeseables para el consumo humano (e.g., mercurio (Hg), plomo (Pb), aluminio (Al), etc.) (3,4).

Hoy en día la mayoría de los productos marinos se enlatan. De esta forma, la población tiene un rápido acceso a alimentos preservados de diversas procedencias. Esta situación evidencia la necesidad de aplicar estrictos programas de control de calidad en los productos enlatados.

La espectrometría atómica es la técnica de análisis más apropiada para la evaluación del contenido metálico presente en muestras clínicas (5), biológicas (6) y ambientales (7) debido a su alta sensibilidad, rapidez de análisis y poco tratamiento requerido por la muestra. Sin embargo, previo al análisis espectroscópico se deben emplear procedimientos adecuados de mineralización para liberar al metal de los enlaces de coordinación; éstos se forman con ciertos grupos orgánicos, lo cual impide que se produzca una atomización cuantitativa.

Existen controversias respecto al tipo de mineralización aplicada a las muestras bajo análisis. La descomposición a presión atmosférica presenta un alto riesgo de contaminación e induce a pérdidas analíticas por volatilización, mientras que la mineralización a alta presión (en reactores convencionales) consume mucho tiempo (8). La mineralización por irradiación con microondas es una alternativa viable ya que se logra disminuir el tiempo de mineralización y la cantidad del agente oxidante (9).

En este trabajo se presenta el desarrollo de dos procedimientos de digestión para la mineralización de una marca comercial de atún enlatado utilizando irradiación con microondas. Posteriormente, se evaluaron los contenidos metálicos

de Al, Cu, Fe, Hg, Pb, Na y Zn, empleando las espectrometrías de absorción atómica (llama [FAAS], electrotérmica [ETAAS] y vapor frío [CVAAS]) y de emisión atómica con llama [FAES].

Materiales y Métodos

Recolección de Muestras

Se recolectaron 40 latas de una marca de un atún comercial nacional (EVEBA, 140 g c/u). Las muestras se secaron por liofilización, se homogeneizaron y se guardaron a 4 °C en bolsas de polietileno hasta el momento del análisis.

Reactivos

Todos los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico. Las soluciones concentradas de Al, Cu, Fe, Hg, Pb, Na y Zn (ca. 1.000 mg/L) se prepararon a partir de concentrados Titrisol (Merck). Las soluciones patrones se prepararon diariamente por diluciones seriales de los concentrados, usando agua tridestilada y desionizada grado I ASTM, en ácido nítrico 0.01 M (Fisher Scientific Co.). Se emplearon balones volumétricos de polietileno lineal (Nalgene).

Aparatos

Para la determinación del Al, Cu, Fe, y Zn, en el modo de absorción atómica con llama [FAAS], se usó un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Modelo 460; Na y Hg se evaluaron empleando los modos de emisión atómica con llama [FAES] y vapor frío [CVAAS], respectivamente. La Tabla 1 muestra las condiciones instrumentales usados para la determinación espectroscópica de cada metal. Para la determinación del Pb se usó un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Modelo 2380, con un horno de grafito Perkin-Elmer Modelo HGA-500, un muestreador automático Perkin-Elmer Modelo AS-40, en el modo de volumen alterno (10 µl de muestra y 10 µL del isoformador del analito), un impresor secuencial Perkin-Elmer Modelo PRS-10 (impresión de las absorbancias integradas) y un registrador lineal Perkin-Elmer Modelo R-100A. La Tabla 2 muestra las condiciones instrumentales empleadas para la determinación del Pb.

Tabla 1.
Parámetros operacionales para la determinación espectroscópica atómica de metales presentes en el atún enlatado. (5,8,12)

Metal	Longitud de Onda (nm)	Anchura espectral (nm)	Llama
Al	309,3	0,7	óxido nitroso/acetileno
Cu	324,7	0,7	aire/acetileno
Fe	248,3	0,2	aire/acetileno
Hg	253,6	0,7	vapor frío
Na	589,0	0,2	aire/acetileno
Zn	213,9	0,7	aire/acetileno

Tabla 2.
Parámetros operacionales para la determinación por ETAAS del plomo en muestra de atún enlatado. (13)

Longitud de onda: 283.3 nm

Anchura espectral: 0.2 nm

Tubo de grafito: pirolítico

Flujo de gas: 300 mL/min

Etapas	Secado		Calcinado		Atomizado	Limpieza
	1	2	3	4	5	6
Temperatura, °C	120	250	600	600	2000*	2700
Rampa, S	5	20	30	0	0	1
Estadía, s	5	10	15	10	5	1

* Flujo interno de argón (mL/min): 0

Las muestras liofilizadas se mineralizaron en recipientes cerrados con válvulas para liberar presión y en reactores de alta presión PARR Modelo 4782. Ambos sistemas se irradiaron en un horno de microondas CEM Modelo MDS-2000.

La exactitud de los métodos se evaluó a través del análisis de los siguientes Materiales Certificados: Atún liofilizado RM-50 (Albacore Tuna) del Instituto Nacional de Standards y Tecnología (NIST, USA), Hojas de Té (NIES-7 Tea Leaves) y Harina de Arroz (NIES-10 Rice Flour), ambos del Instituto Nacional para Estudios Ambientales, Japón.

Mineralización en recipientes cerrados con válvulas para liberar presión

Aproximadamente 800 mg de atún liofilizado o material certificado y 15 mL de HNO₃ concentrado se transfirieron a un recipiente de digestión por microondas con válvula de liberación de presión. Rutinariamente se preparaban 4 muestras y 2 blancos. Los 6 recipientes se colocaron en la base giratoria del microondas y se irradiaron por 15 min, al 100 % de potencia (equivalente a 600 W y 2450 MHz). Los recipientes se enfriaron por 1 h y se les liberó presión. Posteriormente, las soluciones mineralizadas se transfirieron a balones aforados de 25 mL y se diluyeron con agua tridestilada y desionizada grado I ASTM. Los blancos se prepararon con los mismos reactivos pero sin la muestra, cumpliéndose con el mismo procedimiento de descomposición.

Mineralización en reactores de alta presión PARR Modelo 4782

Aproximadamente 80 mg de atún liofilizado o material certificado y 2.5 mL de HNO₃ concentrado se colocaron en una cápsula de Teflón[®] y ésta se cerró. El conjunto se colocó dentro del reactor, transparente éste a las microondas; la tapa se enroscó manualmente. El sistema se introdujo dentro del horno de microondas y se irradió por 70 s al 100 % de potencia. Después de enfriar a temperatura ambiente, la solución mineralizada se transfirió a un balón aforado de 10 mL y se diluyó con agua tridestilada y desionizada grado I ASTM. Los blancos se prepara-

ron con los mismos reactivos, pero sin la muestra, bajo una misma condición de mineralización.

Análisis estadístico

Los resultados analíticos obtenidos al aplicar los dos procedimientos de mineralización se compararon estadísticamente mediante un análisis de varianza (10). Los valores de significancia F se midieron empleando el test de Tukey, con la ayuda de un paquete estadístico comercial (Statgraphics, STSC, Rockville, MD). Se consideró significativa toda $p < 0,05$.

Resultados y Discusión

Inicialmente, se optimizó el volumen de HNO₃ concentrado empleado durante la mineralización del atún comercial en recipientes cerrados con válvulas de liberación de presión. Incrementos en el volumen del ácido (i.e., 5, 10 mL, etc.) aumentaron la señal analítica. Se encontró que 15 mL de HNO₃ concentrado produjeron la mayor señal espectroscópica; esto debido a la destrucción de la materia orgánica capaz de acomplejar a los metales trazas involucrados en este estudio. Se emplearon diferentes tiempos de mineralización del atún en los recipientes con válvulas de liberación de presión (i.e., 1, 2, 4, 8, 16 min) Los mejores resultados analíticos se encontraron con 15 min de irradiación de la muestra al 100 % de potencia. Del mismo modo se optimizaron las condiciones de mineralización en los reactores PARR 4782. Las lecturas analíticas más altas se obtuvieron utilizando 2.5 mL de HNO₃ concentrado, con 70 s de irradiación al 100 % de potencia.

Las mineralizaciones en recipientes cerrados con válvulas de liberación de presión presentaron aproximadamente un 42% de pérdidas de Hg con respecto a los reactores PARR 4782. Para el resto de los metales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3, $p > 0,001$).

Se evaluó la precisión (RSD, %) de los métodos de mineralización propuestos, a través de una serie de determinaciones de los metales en las muestras del atún comercial Eveba. Cuatro alícuotas de atún liofilizado se analizaron por pentaplicado, empleando digestiones en reci-

Tabla 3.
Concentración de metales ($\mu\text{g/g} \pm \text{ISD}$) en el atún enlatado luego de aplicar los métodos de mineralización propuestos

Metal	Técnica	Recipiente cerrado	Reactores a presión
Al	FAAS	$31,6 \pm 0,8$	$30,3 \pm 0,4$
Cu	FAAS	$1,6 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,4$
Fe	FAAS	$473,8 \pm 3,2$	$481,4 \pm 7,1$
Hg	CVAAS	$0,8 \pm 0,1^*$	$1,5 \pm 0,1^*$
Pb	ETAAS	$1,18 \pm 0,2$	$1,15 \pm 0,2$
Na	FAES	$5625,2 \pm 116,4$	$6528,5 \pm 126,1$
Zn	FAAS	$24,6 \pm 0,2$	$22,3 \pm 0,1$

FAAS = Espectrometría de Absorción Atómica con Llama; CVAAS = Espectrometría de Absorción Atómica con Vapor Frío; ETAAS = Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica; FAES = Espectrometría de Emisión Atómica con Llama; * $p < 0.001$.

recipientes cerrados con válvulas de liberación de presión y reactores PARR 4782. Los resultados encontrados fueron los siguientes (RSD %): Al 1,2, Cu 6,0, Fe 1,5, Hg 8,2, Pb 6,1, Na 1,9 y Zn 0,3. Estos resultados son adecuados para esta clase de análisis y demuestran que ambos métodos son altamente reproducibles.

La exactitud de los métodos empleados se evaluó a través del análisis de materiales certificados (Tabla 4). Las mineralizaciones en reactores PARR 4782 reportaron mayor efectividad al evitar pérdidas de mercurio. Sin embargo, los recipientes cerrados demostraron ser eficientes para el resto de los metales.

Las curvas de calibración presentaron un rango lineal hasta $100 \mu\text{g/L}$ Al, 6 mg/L Cu, 6 mg/L Fe, 150 ng Hg, $50 \mu\text{g/L}$ Pb, 30 mg/L Na y $1,2 \text{ mg/L}$ Zn. También se empleó el método de adición standard, con resultados similares a los encontrados por curva de calibración. Esto implicó la ausencia de interferencias no espectrales en la determinación de los metales, después de una adecuada mineralización. Los límites de detección (tres veces la desviación standard del blanco) fueron $40 \mu\text{g/L}$ Al, $20 \mu\text{g/L}$ Cu, $70 \mu\text{g/L}$ Fe, 53 ng/L Hg, $0,1 \mu\text{g/L}$ Pb, $20 \mu\text{g/L}$ Na y $14 \mu\text{g/L}$ Zn.

Los niveles de concentración de Hg encontrados en las muestras de atún Eveba (i.e., $1,5 \text{ } 0,1 \mu\text{g/g}$) fueron superiores a los recomendados por la Organización Mundial de la Salud en peces (ca. $0,5 \mu\text{g/g}$) (11). Esto evidenció el inadecuado control de calidad del producto enlatado, lo que constituye un grave problema de salud pública.

Comentarios Finales

Las pérdidas de mercurio reportadas en los recipientes cerrados con válvulas de liberación de presión limitaron su uso por cuanto se requirieron tiempos considerables de irradiación, situación que aumentó la posibilidad de obtener pérdidas del metal. Para el resto de los metales no se encontraron pérdidas significativas, lo que garantizó la calidad del proceso oxidativo. Los procedimientos de mineralización descritos permitieron evaluar por espectroscopía atómica los contenidos metálicos presentes en muestras de atún enlatado una vez que se garantizó la completa mineralización de los interferentes orgánicos.

Tabla 4. Evaluación espectroscópica de la exactitud de los métodos empleados mediante la mineralización de materiales standard de referencia en recipientes cerrados con válvulas para liberar presión y reactores de alta presión PARR Modelo 4782

Metal	Standard de Referencia	Valor Certificado	Concentraciones metálicas \pm 1SD/ μ g/g	
			Recipientes con válvulas	Reactores de presión
Al	NIES-7 ^a	775 \pm 20	728 \pm 1	762 \pm 2
Cu	NIES-7 ^a	7 \pm 1	6 \pm 1	7 \pm 1
Fe	NIES-10 ^b	13 \pm 1	12 \pm 2	13 \pm 1
Hg	NIST RM 50 ^c	0.95 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	0.92 \pm 0.1
Pb	NIES-7 ^a	0.8 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.4
Na	NIES-7 ^a	16 \pm 2	17 \pm 1	16 \pm 1
Zn	NIES-10 ^b	22 \pm 1	20 \pm 1	21 \pm 1

^a Hojas de Té

^b Harina de Arroz

^c Atún Albacora

Agradecimiento

Esta investigación fue parcialmente financiada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (F-142 y SI-2499) y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de La Universidad del Zulia (CONDES). Los autores desean expresar su agradecimiento a la Embajada Alemana, acreditada en nuestro país, por sus valiosos aportes bibliográficos; así mismo, a la Fundación Alexander von Humboldt y a la Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) de la República de Alemania.

Referencias

1. WILLIAMS, L.L., GLESY, J.P., DEGALAN, N., VERBRUGGE, D.A., TILLIT, D.E., ANKLEY G.T., WELCH R. L.: Prediction of Concentrations of 2, 3, 7, 8 - Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Equivalents from Total Concentrations of Polychlorinated Biphenyls in Fish Fillets. *Environ. Sci. Technol.* 26:1151- 1159, 1992.
2. SIJM, D.T., SEINEN, W., OPPERHUIZEN, A.: Life-Cycle Biomagnification Study in Fish. *Environ. Sci. Technol.* 26:2162-2174, 1992.
3. COLINA DE VARGAS, M., ROMERO R.A.: Alternative Mineralization Procedures for Total Mercury Determination in Biological Materials by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *At. Spectrosc.* 10:160-164, 1989.
4. McCAIN, B.B., CHAN, S.L., KRAHN, M.M., BROWN, D.W., MYERS, M.S., LANDAHL, J.T., PIERCE, S., CLARK, R.C., VARANASI, U.: Chemical Contamination and Associated Fish Diseases in San Diego Bay. *Environ. Sci. Technol.* 26:725-733, 1992.
5. TAHAN, J.E., GRANADILLO, V.A., SANCHEZ, J.M., CUBILLAN, H.S., ROMERO, R.A.: Mineralization of Biological Materials Prior to the Determination of Total Mercury by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* (en la prensa).
6. LAJUNEN, L.H.J., PIISPANEN, J.: Microwave Dissolution of Plant Samples for AAS Analysis. *At. Spectrosc.*, 13:127-131, 1992.

7. COLINA DE VARGAS, M., ROMERO R.A.: Mercury determination by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry in Several Biological Indicators From Lake Maracaibo, Venezuela. *The Analyst*, 117:645-647, 1992.
8. TAHAN, J.E., SANCHEZ, J.M., CUBILLAN, H.S., ROMERO, R.A.: Metal Content of Drinking Water Supplied to Maracaibo City, Venezuela. *Sci. Total Environ.*, (en la prensa).
9. NAVARRO, M., LOPEZ, M.C., LOPEZ, H., SANCHEZ, M.: Microwave Dissolution for the Determination of Mercury in Fish by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 257:155-158, 1992.
10. WALLENSTEIN, S., ZUCHER, C.L., FLEISS, J.L.: Some Statistical Methods useful in Circulation Research. *Circ. Res.*, 47:1-9, 1980.
11. WHO (1989). *Environmental Health Criteria #86, Mercury- Environmental Aspects*. World Health Organization, Geneva.
12. "Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry," Perkin-Elmer, Norwalk, CT, Review January 1982.
13. GRANADILLO V.A., ROMERO R.A.: Graphite Furnace Atomization Behavior of Lead Contained in Clinical and Environmental Materials in the Presence of Pd-Induced Isoformation and Citric Acid. *J. Anal. At. Spectrom.*, (en la prensa).