



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Influencia del tratamiento de muestra y material de envasado, para la determinación de elementos minerales en zumos.

Alumno: Lorena López Montoro.

Junio, 2016.

ÍNDICE

OBJETIVO

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Contaminación de alimentos en general	1
1.2. Estudio del análisis de metales en alimentos	6
1.2.1. Introducción	6
1.2.2. Clasificación	6
1.2.3. Estudio de elementos tóxicos en alimentos	8
1.2.4. Tratamiento de muestra	15
1.2.5. Técnicas analíticas	22
1.3 Zumos y/o bebidas de fruta	30
1.3.1 Naturaleza y envasado de zumos	30
1.3.2 Metales presentes en bebidas de fruta y causas	33
1.4 Legislación para metales en alimentos	34
2. PARTE EXPERIMENTAL	41
2.1. Reactivos y materiales	41
2.2. Equipos e instrumentación	42
2.2.1. Equipos	42
2.2.2. Instrumentación	43
2.3 Muestras	45
2.3.1. Tipos de muestras	45
2.3.2. Codificación	46
2.3.3. Tratamiento de muestras.....	48
2.4. Análisis químico	53
3. RESULTADOS	54
3.1. Parámetros analíticos del método.	54
3.1.1. Rango dinámico lineal	54
3.1.2. Límites de detección y cuantificación	54
3.1.3. Precisión	55
3.1.4. Exactitud.....	56
3.2. Discusión del análisis químico	56
3.2.1. Estudio comparativo de elementos mayoritarios.....	63
3.2.2. Estudio de micronutrientes con carácter metálico	64
3.2.3. Influencia del tratamiento de muestra y naturaleza del envase	66

4. CONCLUSIONES	73
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

OBJETIVO

Este Trabajo Fin de Grado se plantea con el fin de desarrollar una labor de carácter científica, empleando para ello como herramientas, los conocimientos adquiridos durante el periodo de formación académica. Al mismo tiempo, para aprender a tomar decisiones sobre qué procedimiento analítico, (tratamiento de muestra, técnicas analíticas...), se ha de aplicar al análisis de muestras reales. De esta forma, poder adquirir una experiencia más real con vista al mundo profesional, teniendo en cuenta el interés que el análisis químico tiene en la actualidad en cualquier ámbito para la sociedad, agroalimentario, medio ambiental, clínico, farmacéutico y forense. Culminando con el mismo, la completa formación del Grado en Química.

RESUMEN

En este Trabajo Fin de Grado, se va a desarrollar un trabajo de investigación en el laboratorio, para determinar distintos elementos minerales en muestras de zumo, envasados en distintos materiales.

Consiste en la aplicación de distintos tratamientos químicos a todas las muestras (tres), con el fin de conocer cuál es el mejor para la extracción de 18 analitos de la matriz de las distintas muestras de zumo analizadas.

A continuación, se lleva a cabo la determinación cuantitativa mediante ICP-MS.

Adicionalmente, se ha hecho una pequeña revisión bibliográfica y estudio sobre la composición mineral de los alimentos y en particular de los zumos de fruta.

Se ha finalizado con un estudio basado en conclusiones sobre los resultados obtenidos.

SUMMARY

This end of degree project develops a work of laboratory investigation, to determine different mineral elements in samples of juice in different packaging materials.

It consists on the application of different chemical treatments to all the samples (three), in order to know which one is the best for the extraction of 18 matrix analytes of the different samples of juice analyzed.

Later, the quantitative determination is carried out by means of ICP-MS.

Previously, a brief bibliographic review and a study on the mineral composition of the food and especially of the juices of fruit have been done.

Finally a study based on conclusions on the obtained results is carried out.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Contaminación de alimentos en general

En un principio, si buscamos en el diccionario [<http://dle.rae.es>] la palabra contaminante, la define como: *adjetivo, que contamina*. De modo que para entender mejor el significado, miramos en el diccionario el verbo contaminar y se encuentra lo siguiente: *Alterar nocivamente la pureza o las condiciones normales de una cosa o un medio por agentes químicos o físicos*.

Por lo tanto aplicando esta definición a la alimentación podemos decir que un contaminante alimentario es *cualquier sustancia no añadida intencionadamente al alimento pero que aparece en él como consecuencia de la producción, fabricación, recolección, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento de dicho alimento o como resultado de una contaminación ambiental*.

La contaminación alimentaria se define como *la presencia de cualquier materia anormal en el alimento que comprometa su calidad para el ser humano*.

Existen distintos tipos de contaminación en los alimentos ya que depende de cuál sea su procedencia. Estos tipos se clasifican en tres, que son:

- **Contaminación biológica**

Es aquella que procede de seres vivos que pueden ser microscópicos o no microscópicos.

La contaminación biológica presenta una serie de peculiaridades y particularidades respecto a las demás como por ejemplo: Los microorganismos una vez que han contaminado el alimento tienen además la capacidad de crecer y reproducirse dentro de él, además también pueden ser una fuente peligrosa para la salud del consumidor cuando se trata de microorganismos patógenos, ya que no alteran de forma visible al alimento.

La contaminación biológica puede deberse a la presencia de: Hongos, virus, bacterias y parásitos.

1. **Hongos:**

Los hongos son seres vivos heterótrofos, carentes de clorofila, hojas y raíces, que se reproducen por esporas y vive parásito, en simbiosis o sobre materia orgánica en descomposición.

Existen unas 250.000 especies de hongos en la naturaleza, aunque tan sólo se conocen poco más de 150 especies que puedan producir patología en el ser humano. La micosis es una infección producida por un hongo en cualquier parte del organismo.

2. Bacterias:

Las bacterias son microorganismos unicelulares sin núcleo diferenciado, algunas de cuyas especies descomponen la materia orgánica, mientras que otras producen enfermedades.

Las bacterias son ubicuas y juegan un papel fundamental en la naturaleza y en el hombre, ya que la presencia de una flora bacteriana normal es indispensable, aunque asimismo hay bacterias (gérmenes) que resultan patógenas. Las bacterias patógenas son una de las principales causas de enfermedades humanas, destacando las intoxicaciones alimentarias, intoxicaciones provocadas por consumo de alimentos que pueden estar contaminados por una mala manipulación.

3. Virus:

Los virus son organismos de estructura muy sencilla, compuestos de proteínas y ácidos nucleicos, y capaz de reproducirse solo en el seno de células vivas específicas, utilizando su metabolismo.

Los virus que llegan a los alimentos, normalmente son de origen fecal y los contaminan a través de aguas contaminadas, por lo que el mayor problema se da en productos como moluscos, bivalvos, pescados, mariscos y vegetales. Una persona en contacto con alimentos que tenga falta de higiene también puede provocar contaminación.

4. Parásitos:

La definición de parásito nos dice que es un organismo animal o vegetal, que vive a costa de otro de distinta especie, alimentándose de él y depauperándolo sin llegar a matarlo.

Los parásitos suelen entrar en el organismo a través de la boca, por ejemplo a través del consumo de alimentos contaminados.

Los que infectan el intestino pueden permanecer allí o bien penetrar por la pared intestinal e infectar otros órganos.

- **Contaminación química.**

La contaminación química se da por la presencia de determinados productos químicos en los alimentos, que pueden resultar nocivos o tóxicos a corto, medio o largo plazo.

Dentro de este tipo de contaminación podemos encontrar:

1. Contaminantes tóxicos naturales:

Algunos pescados o vegetales, son capaces de producir toxinas que son dañinas para las personas.

Los efectos producidos por los tóxicos vegetales endógenos afectan a la nutrición, ya que inhiben o dificultan los procesos metabólicos que realiza el cuerpo para funcionar de manera correcta. Ya sea que se unan a alguna sustancia, o bien que inhiban la correcta absorción de otra, lo cierto es que son perjudiciales y, por tanto, su ingesta resulta indeseable. Otros dañan de manera directa algún órgano o función biológica, aunque las plantas que contienen tóxicos que pueden ocasionar daño grave se consideran venenosas y por ello no se consumen.

En cualquier caso, es importante identificar y reconocer los tóxicos naturales de los vegetales, así como las probables consecuencias de su ingesta y las opciones para eliminarlos antes de su consumo.

El pez globo por ejemplo, posee en sus vísceras la tetradotoxina, una potente neurotoxina que produce alteraciones nerviosas.

2. Contaminantes tóxicos ambientales:

Son contaminantes que encontramos en el medio ambiente, pero que pueden pasar a un organismo vivo por una mala manipulación. Cuando se habla de contaminantes tóxicos ambientales se suele imaginar gases y humos, pero en realidad éstos podemos encontrarlos en agua y tierra ya sea ésta de cultivo o no.

Una vez que se introduce un contaminante en el medio ambiente su concentración se ve afectada por diferentes factores, que concretamente son:

- ✓ **Dispersión:** Fenómeno que depende de los fenómenos geológicos o meteorológicos y en general, la dispersión se traduce en una dilución del contaminante.
- ✓ **Acumulación:** Como consecuencia de este fenómeno se produce un incremento de la concentración del contaminante. La acumulación puede darse de tres formas distintas:
 - **Deposición:** Acumulación en sedimentos. Cuanto menor sea la solubilidad del contaminante más facilidad de adsorción. Esto ocurre en los estuarios, donde llegan contaminantes industriales que se adsorben en sedimentos sólidos, como por ejemplo los mejillones.

- Bioconcentración: Acumulación en el organismo vivo. Cuanto menor sea la solubilidad en agua, mayor será la posibilidad de que se quede el contaminante esté en el organismo.
- Bioacumulación: Acumulación en las cadenas alimentarias.
- ✓ Degradación: Consiste en que un contaminante se metaboliza o se transforma en otro diferente, dando lugar a una disminución o dilución de la concentración de contaminante.

Para explicar mejor estos procesos por los cuales los contaminantes se introducen en el medio ambiente y que ocurre con ellos, se pueden estudiar y ver detenidamente los siguientes ejemplos:

Los contaminantes orgánicos neutros volátiles se van a dispersar con facilidad en la atmósfera, por tanto no tienen tendencia a acumularse, así mismo tienen poca tendencia a degradarse por lo que son bastante estables (Ejemplo: CFCs). Sin embargo los contaminantes orgánicos no volátiles no tienen tendencia a dispersarse, sino todo lo contrario, tienden a acumularse.

La degradación en general se produce con dificultad, aunque hay excepciones como el DDT. El DDT se degrada rápidamente y su degradación depende de la colocación de sus sustituyentes.

Cuando se habla de iones metálicos, nos referimos a elementos de la primera serie de transición: Pb, Fe, Co, Ni, Zn, Mn, Cr o también a los elementos de postransición: Cd, Hg, Al etc. Aunque de todos estos los más tóxicos son: Cd, Pb y Hg.

La dispersión depende de la solubilidad de dichos iones. En general son poco solubles, aunque su solubilidad depende del pH. A pH ácido aumenta la solubilidad. A pH básico, en vez de solubilizarse, se forman compuestos organometálicos.

La acumulación se debe a la deposición, ocurre a pH ligeramente básico ya que se generan los correspondientes hidróxidos, aunque también se produce por bioacumulación, como es el caso del Cd y Hg.

3. Contaminantes tóxicos agrícolas:

Las actividades agrícolas incluyen normalmente la utilización de plaguicidas y fertilizantes que refuerzan la producción de las cosechas que pueden alcanzar las aguas subterráneas y superficiales. Las principales características que presenta la contaminación de origen agrícola son su carácter difuso y la necesidad de que los contaminantes atraviesen la zona no saturada hasta llegar al acuífero.

La intoxicación por pesticidas es un problema importante en las naciones en vías de desarrollo, donde una gran mayoría de trabajadores agrícolas tienen una exposición a componentes químicos perjudiciales. Los nitratos se encuentran en fertilizantes y son un contaminante principal dentro del sector agrícola. Pueden alcanzar altas concentraciones en los recursos hidráulicos y causar una diversa gama de problemas para la salud.

Algunos desechos industriales, incluidos los metales pesados, se incorporan en los sistemas de drenaje de aguas de desecho, llegando así hasta el "CICLO DEL AGUA".

Los principales efectos secundarios que genera la contaminación agrícola son:

- ✓ Erosión del suelo.
- ✓ Salinización y anegamiento de suelos muy irrigados.
- ✓ Uso abundante e innecesario de plaguicidas y fertilizantes.
- ✓ Agotamiento de acuíferos.

- **Contaminación física.**

Desde un punto de vista general, la contaminación física consiste en la introducción de cualquier cuerpo extraño en el medio, por lo tanto si definimos contaminación física alimentaria podemos decir que es cualquier objeto presente en el mismo y no deba encontrarse allí, y sea susceptible a causar daño o enfermedad a quien consuma el alimento.

La presencia de los siguientes elementos provoca contaminación física en alimentos: Huesos, astillas, espinas, cristales, porcelana, trozos de madera, metales, materiales de envasar o empaquetar, relojes, anillos, pendientes...

- **Contaminación cruzada.**

Aunque estos tres tipos de contaminación son los más importantes y los que más se tienen en cuenta en los alimentos también se puede hablar de "contaminación cruzada", la cual se produce cuando se mezcla un alimento crudo con un alimento cocinado.

Según la bibliografía encontrada [Aramendáriz, J; 2012], de una forma más detallada se puede decir que la contaminación cruzada es *la transferencia de sustancias peligrosas de un alimento al otro por medio de vehículos como las manos, superficies de contacto de equipo contaminado, utensilios, o directamente de un alimento crudo o listo para consumir.*

Las principales causas por las que se produce este tipo de contaminación en los alimentos se enumeran a continuación: Prácticas inadecuadas de almacenamiento, contacto con los manipuladores de alimentos, alimentos o ingredientes contaminados, contacto con superficies contaminadas (equipo,

utensilios, paños de limpieza), uso de hielo contaminado, contaminación por los consumidores.

1.2. Estudio de análisis de metales en alimentos

1.2.1. Introducción

A la hora de realizar un estudio concreto para determinar metales en alimentos hay que tener en cuenta cuales serán los metales que vamos a analizar y de que alimento se trata.

Los metales que más se suelen analizar en alimentos son: Pb, Hg, Ni, Cu, Fe, Zn, Mn, Ni, Cd, Mo, Co, etc. Ocurre, que algunos de ellos son elementos esenciales para el organismo pero en cambio otros no lo son y en cantidades elevadas pueden ser tóxicos o incluso mortales para la salud.

Para entender mejor que es un "elemento esencial", su definición dice que es aquel que realiza una función en el organismo y ningún otro elemento es capaz de completar su función al 100%. Hacer una puntualización y es que un elemento esencial, en cantidades elevadas también puede ser muy perjudicial para la salud. Para que un elemento sea esencial debe de cumplir una serie de requisitos:

- ✓ Debe ser soluble a pH fisiológico.
- ✓ Normalmente son abundantes en la corteza terrestre, mares, océanos y aire.
- ✓ Facilidad para incorporarse en el interior de los seres vivos.

1.2.2. Clasificación

Los metales que encontramos en alimentos se pueden clasificar en varias categorías, en función del criterio al que hagamos referencia. Las pautas seguidas para hacer esta clasificación son las siguientes:

1) Concentración.

Por distintas razones, algunos metales se pueden encontrar en una mayor o menor concentración dentro de los alimentos, ya sea de forma natural o por causa de la contaminación. Los distintos intervalos de concentración que podemos encontrar para los metales son:

- *Macroelementos* que son los que el organismo necesita en mayor cantidad (g/Kg): Na, K, Ca, P, Mg, Cl y S.
- *Microelementos* (mg/kg): Fe, F, I, Mn, Co, Cu y Zn.
- *Oligoelementos o elementos traza* (µg/kg): Si, Ni, Cr, Li, Mo y Se.

- *Elementos ultramicrotaza (pg/kg): Cd, Hg, Pb, As, Sb, Sn.*

2) Función.

En cuanto a la función que realizan los metales dentro del organismo se sabe que algunos de ellos son esenciales para el funcionamiento y algunos de ellos son tóxicos. Por lo tanto son esenciales para la dieta, cumplen una función fisiológica, su deficiencia o exceso causan problemas en la salud y no son malos por definición, pero ocurre que estas cuatro características anteriores no son aplicables a todos los metales.

Teniendo en cuenta la función o papel que desempeñan los metales dentro del organismo la clasificación quedaría [Bermejo, P; 2010]:

- Elementos con funciones esenciales en el organismo: Fe, Cu, Co, Mo, Zn, V, Mn, Cr... Se encuentran unidos a enzimas o estructuras de los huesos.
- Elementos con una función esencial pero con mecanismo de acción no muy conocido: B, Br, Li...
- Elementos sin función esencial, es decir, tóxicos: Pb, Hg, Cd, As, Sb, Sn.

3) Toxicidad.

No todos los metales presentan el mismo riesgo de toxicidad para el organismo, pero eso sí, cualquier elemento en una concentración por encima de la requerida, incluso siendo esencial, puede llegar a ser tóxico y dañino. Pero también señalar que otros metales son dañinos por naturaleza dentro del cuerpo.

Dentro de esta categoría se pueden hacer más distinciones y dentro de estos elementos tóxicos, en la mayoría metales, podemos encontrar [Méndez, J; 2001]:

- Ligeramente tóxico: Al, B, Br, Bi, Cr, Mg, Zn.
- Moderadamente tóxico: Sb, Ar, I, Ni.
- Tóxico: B, Co, Cu, Pb, Mo, V.
- Altamente tóxicos: Cd, Hg, Se, Ba, Co, Cu, Pb.

Debido a la existencia de estos metales en los alimentos se ha aumentado el control de éstos, estableciéndose unos niveles máximos permitidos para su consumo según la legislación que siga cada país.

4) Composición química.

Que ocurre, que los metales en los alimentos se pueden presentar de distinta forma, adoptando cada uno una composición química específica [González, S. y col; 2003]. Por esa razón, éste es otro criterio de clasificación de los metales en alimentos quedando tal que:

- Trazas metálicas: Pb o Cd
- Especies inorgánicas: EL Fe puede entrar en el organismo como Fe (III) o como Fe (II) en forma de sal férrica, como por ejemplo el sulfato férrico (FeSO_4).
- Compuestos organometálicos: El Hg está en forma de metilmercurio, catión organometálicos de fórmula química $[\text{CH}_3\text{Hg}]^+$.

Un caso concreto es el del cromo, que en función del estado de oxidación en el que se encuentre puede tener una función esencial o tóxico [Faus, J. y col; 2003]. Este elemento puede estar en el organismo como Cr (III) y como Cr (VI). El Cr (III) es un elemento esencial que participa en los procesos de potenciación de la insulina. Forma una biomolécula llamada "factor de tolerancia de la glucosa", que aumenta la capacidad de las células para metabolizar glucosa. En cambio el Cr (VI) es muy tóxico, ya que se absorbe muy bien a través de las membranas celulares y tiende a reducirse a Cr (III) pero uniéndose al ADN teniendo un efecto cancerígeno.

1.2.3. *Estudio de elementos tóxicos en alimentos*

Existe una gran diversidad de metales presentes en los alimentos como se ha podido ver en la clasificación anterior. A continuación se describirán los rasgos o características de algunos elementos metálicos que más daño pueden causar por su presencia en los alimentos para tener mayor información sobre ellos como por ejemplo: el por qué de su presencia en los alimentos, propiedades físicas y químicas, niveles de toxicidad y riesgos para la salud.

Este pequeño estudio se va a llevar a cabo para cuatro metales: Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Mercurio (Hg) y Arsénico (As).

1) Cadmio (Cd).

El Cd es un elemento químico con número atómico 48. Es un metal pesado y muy tóxico.

En la siguiente tabla (*Tabla 1*) se recogen las propiedades químicas y físicas de este elemento.

CADMIO	
Propiedades Físicas	Propiedades Químicas
Estado: sólido. Densidad (g/ml): 8.65 Punto de fusión (°C): 320.9 Punto de ebullición (°C): 765	Configuración electrónica: [Kr]4d ¹⁰ 5s ² Masa atómica (g/mol): 112,40 Valencia: 2 Estado de oxidación: +2 Electronegatividad: 1.7

Tabla 1. Propiedades Físicas y Químicas del Cadmio.

Que ocurre, que el cadmio se encuentra presente en los alimentos por dos razones [Valle, P. y col; 2000]:

- Fuentes de origen natural.

El cadmio es un metal que forma parte de la corteza terrestre y además la actividad volcánica es una de las principales responsables de la presencia de este elemento en la atmósfera.

- Fuentes de origen antropogénico.

Las principales funciones que tiene el cadmio para el ser humano son para la fabricación en industrias de pinturas, pilas, aleaciones, pigmentos y para la obtención de fertilizantes, en forma de fosfatos. Todo esto conlleva a la contaminación de aguas, suelos y aires, pasando de aquí a la cadena alimenticia, ya que el cadmio tiene una gran capacidad para entrar a través de los vegetales, siendo esta la principal fuente de contaminación.

En la siguiente tabla (*Tabla 2*) se pueden ver las principales causas de presencia de Cd en alimentos. Las principales causas cuatro: Residuos de uso industriales, residuos de uso agrícola, suplementación mineral de los piensos y migración a partir de materiales de envasado. [Rubio, C; 2002].

Principales causas de presencia de Cd en alimentos	
Residuos de uso industriales.	Electro recubrimiento de aceros Aleaciones de propiedades específicas. Soldaduras para material electrónico de bajo punto de fusión. Pigmentos (de uso en porcelana, vidrio, cerámica y plásticos). Catalizadores de polimerización de materiales plásticos. Semiconductores. Fotocélulas. Baterías de cadmio. Estabilizante de plásticos
Residuos de uso agrícola.	Fertilizantes. Plaguicidas y fungicidas. Riego con aguas residuales.
Suplementación mineral de los piensos.	
Migración a partir de materiales de envasado.	

Tabla 2. Principales causas de presencia de Cd en alimentos.

En cuanto a los efectos negativos para la salud se puede comentar que es tóxico para todos los sistemas y funciones humanas o animales. Tiende a ser almacenado en hígado, riñón y pulmones. El cadmio inhibe a las enzimas con grupos sulfhidrilo en el sitio activo. Entre sus efectos agudos se observan alteraciones generalizadas, con problemas respiratorios, bronquitis, neumonía, arterioesclerosis e hipertensión. La intoxicación crónica hace que el riñón sea el principal órgano afectado

2) Mercurio (Hg).

El Hg es un elemento químico con número atómico 80. Es un metal pesado plateado que a temperatura ambiente es un líquido inodoro. Es insoluble en agua y soluble en ácido nítrico.

En la siguiente tabla (*Tabla 3*) se recogen las propiedades químicas y físicas de este elemento.

Mercurio	
Propiedades Físicas	Propiedades Químicas
Estado: Líquido a T° ambiente Densidad (g/ml): 16.6 Punto de fusión (°C): -38.4 Punto de ebullición (°C): 357	Configuración electrónica: [Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² Masa atómica (g/mol): 200.59 Valencia: 1,2 Estado de oxidación: +2 Electronegatividad: 1.9

Tabla 3. Propiedades Físicas y Químicas del Mercurio.

Las principales causas por las que el mercurio llega a nuestros alimentos son:

- Fuentes de origen natural.

Los propios volcanes y minas naturales que encontramos en el planeta hacen que el mercurio pase a la atmósfera, en forma de metilmercurio, y que éste se dirija a los mares y ríos, hasta llegar a los seres vivos que viven en él. De tal forma que a partir de la cadena alimenticia pasa el metilmercurio de uno a otro hasta que llega a los seres humanos por la ingesta de pescado (de agua dulce o salada) y moluscos.

- Fuentes de origen antropogénico.

Las fuentes de origen antropogénico son principalmente las industrias, donde sus desechos llegan a mares y ríos, teniendo los mismos efectos que las fuentes de origen natural, pero en una mayor cantidad.

En la siguiente *Figura 1*. Se puede ver de una forma más esquematizada el origen del mercurio, ya sea natural o antropogénico, y como llega a nuestros alimentos por medio de la cadena alimenticia.

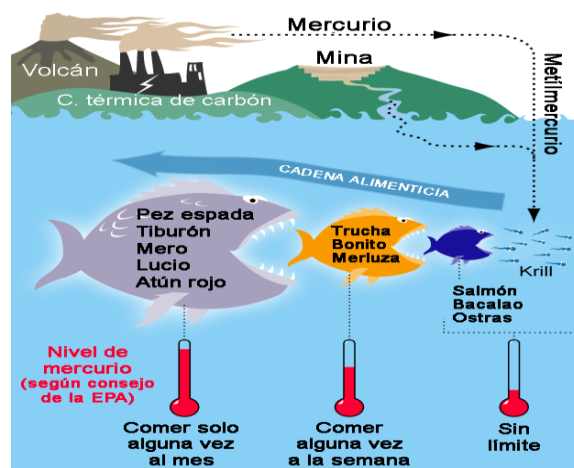


Figura 1. El mercurio. Su origen y su llegada a nuestros alimentos.

La importancia de determinar los niveles de mercurio en los alimentos que se ingieren por los humanos es muy grande, ya que el mercurio tiene un gran efecto secundario tras su ingesta. Ese efecto negativo es el de acumularse dañando al hígado, riñón e intestino delgado. En la *Tabla 4*, se describen los niveles tóxicos de concentración de mercurio y su acumulación en humanos tras su ingesta [Valle, P. y col; 2000]. Los niveles de mercurio a los que se hace referencia son para aquel mercurio acumulado en sangre, eritrocitos y cabello.

SANGRE ($\mu\text{g/Kg}$)	ERITROCITOS ($\mu\text{g/Kg}$)	CABELLO ($\mu\text{g/Kg}$)	EFEECTO
5.000	10.000	10.000	Normal.
50.000	100.000	-	Límite de seguridad.
500.000	1000.000	150.000	Aparición de síntomas.
1300.000	2400.000	500.000	Efectos fatales a la salud.

Tabla 4. Concentración de mercurio en el organismo y sus efectos en la salud.

3) Plomo (Pb).

El Pb es un elemento químico con número atómico 82. El plomo es un metal pesado y tiene la capacidad de formar muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos.

En la siguiente tabla (*Tabla 5*) se recogen las propiedades químicas y físicas de este elemento.

PLOMO	
Propiedades Físicas	Propiedades Químicas
Estado: sólido. Densidad (g/ml): 11.4 Punto de fusión (°C): 327.4 Punto de ebullición (°C): 1725	Configuración electrónica: $Xe]4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$ Masa atómica (g/mol): 207,19 Valencia: 2,4 Estado de oxidación: +2 Electronegatividad: 1.9

Tabla 5. Propiedades Físicas y Químicas del Plomo.

Las principales causas por las que el plomo llega a los alimentos son de tipo antropogénico. Desde la época del Imperio Romano se utilizaba este material junto con el cobre para recubrir las tuberías de las casas.

Hoy día, el origen del Pb se debe:

- ✓ Envases de que contienen Pb para conservar alimentos.
- ✓ Combustión de gasolinas.
- ✓ Fundiciones de plomo y de acero.
- ✓ Industrias de hierro y de acero para vidrio, cerámica, pinturas, soldaduras, acumuladores etc.
- ✓ Caza de animales, que es la mayor fuente de contaminación.

Por todos estos motivos el Pb se acumula en la cadena alimenticia a través de: medio ambiente, vegetales, soldaduras de latas, conducciones de las redes.

Para ver la importancia que presenta conocer los niveles de metales pesados que hay en los alimentos [Valle, P. y col; 2000] a continuación se muestra un tabla (*Tabla 6*), donde se hace un pequeño resumen de cada una de las concentraciones de Pb que se pueden ingerir y los efectos negativos que tiene para el organismo su consumo.

Concentración en sangre de Pb (µg/100 mL).	Ingesta diaria para llegar a esa concentración.	Efectos en la salud.
20	0.300	Normal, sin efectos evidentes
>40	1.000	Aumento del ácido d-amino levulínico en orina y sangre
>80	3.000	Disminución de la cuenta de eritrocitos, cólicos abdominales, anemia, retraso mental progresivo en niños
>120	10.000	Daño agudo al cerebro y sistema nervioso central

Tabla 6. Pb, concentración en sangre y efectos en la salud.

4) Arsénico (As).

El As es un elemento químico con número atómico 33. Pertenece al grupo de los metaloides, también llamados semimetales, se puede encontrar de diversas formas, aunque raramente se encuentra en estado sólido. Se conoce desde la antigüedad y se reconoce como muy tóxico

En la siguiente tabla (*Tabla 7*) se recogen las propiedades químicas y físicas de este elemento.

ARSÉNICO	
Propiedades Físicas	Propiedades Químicas
Estado: sólido. Densidad (g/ml): 5.72 Punto de fusión (°C): 817 Punto de ebullición (°C): 613	Configuración electrónica: [Ar]4s ² 3d ¹⁰ 4p ³ Masa atómica (g/mol): 74,922 Valencia: ±3,5 Estado de oxidación: +5 Electronegatividad: 2.1

Tabla 7. Propiedades Físicas y Químicas del Arsénico.

Las principales causas por las que el plomo llega a los alimentos son de tipo antropogénico. Éstas se numeran y describen a continuación:

- Aplicaciones industriales.
- Metalúrgias: aleaciones.
- Aplicaciones químicas: medicamentos y plaguicidas. Siendo ésta la principal fuente de contaminación.

Todo esto hace que el arsénico llegue al suelo, aguas, tejidos vegetales y animales.

En cuanto a los efectos nocivos que presenta para la salud cabe destacar que [Valle, P. y col; 2000], el arsénico es fácilmente absorbido por el tracto digestivo y distribuido en el cuerpo como un complejo de proteína (α -globulina)-arsénico. El arsénico es un tóxico protoplasmático que se une a los grupos sulfhidrilo, inhibiendo a varias enzimas, especialmente las del metabolismo celular y las de la respiración. Posee un efecto de dilatación y aumento de la permeabilidad capilar del intestino. Crónicamente causa pérdida de apetito, problemas gastrointestinales, conjuntivitis y cáncer

1.2.4. *Tratamiento de muestra*

Para realizar cualquier tipo de análisis es necesario llevar a cabo un tratamiento previo de la muestra. Por lo general, el tipo de muestras y el número de analitos que se determinan en cada una de ellas es muy amplio. No obstante, consideramos que el tipo de tratamiento depende más de la información a obtener que de la naturaleza de la muestra. [Cámara, C. y col; 2004]

Es importante resaltar que existen casos en los que si se quiere obtener diferente información sobre analitos en una misma muestra, implica tener que llevar a cabo un tratamiento de la muestra totalmente diferente. Tal sería el caso de la determinación del contenido total en ciertos metales (Hg, As, Se, Sb...) en las muestras o de la evaluación del contenido en las diferentes especies en que pueden encontrarse presente. Es obvio que el tratamiento a seguir en uno u otro caso es totalmente diferente.

En el caso de los alimentos, se van a encontrar matrices en distinto estado (sólido, líquido) y de diferente heterogeneidad, normalmente matrices serán de naturaleza orgánica y al determinarse metales el analito es de naturaleza inorgánica.

Siempre, antes de proceder a realizar algún procedimiento previo al análisis, es importante tener presente que la selección del tipo de tratamiento de muestra depende de la técnica analítica de medida que se vaya a utilizar, y que el llevar a cabo un tratamiento adecuado puede contribuir a mejorar la sensibilidad y selectividad de la técnica analítica.

Algunos aspectos que ayudan a justificar la necesidad de separar las partículas sólidas del resto del líquido se debe a que pueden producir interferencias en el método analítico seleccionado. Así por ejemplo, si se utilizan método espectrofotométricos o en el caso de del empleo de alguna técnica que conlleve el empleo de nebulizadores (absorción atómica, ICP, ICP-MS).

Para determinar analitos inorgánicos se deben considerar los siguientes aspectos:

- La eliminación de materia orgánica es imprescindible. En el caso de que existan interferentes, en ocasiones se requiere la adición de agentes enmascarantes, reductores, etc. Esto es importante en técnicas espectroscópicas moleculares.
- Separación física de interferentes o de analitos mediante procesos tales como extracción líquido-líquido o líquido-sólido.
- Cuando la concentración del analito sea inferior al límite de cuantificación de la técnica, el problema se puede subsanar aplicando distintos métodos de preconcentración.

Para tener una visión más clara de los tratamientos de muestras llevados a cabo en función del estado de la matriz y el analito, se desarrollan los siguientes apartados, donde para cada tipo de matriz se describen los tratamientos más adecuados.

1) Analitos inorgánicos en muestras gaseosas.

En el caso de tener una matriz gaseosa lo más frecuente es burbujear a través de filtros. Los filtros más ampliamente utilizados para la retención de la matriz gaseosa son los de membrana, constituidos por polímeros rígidos (éster de celulosa, teflón y policarbonato) con orificios bien definidos y de tamaño característico. [Cámara, C. y col; 2004]

Los problemas más significativos que se pueden encontrar son debidos a proceso de adsorción, particularmente de SO_2 , HNO_3 o NO_3 , interacción de partículas después de su recogida y volatilización de sales de amonio (NH_4NO_3 , NH_4Cl).

Estos filtros ofrecen la ventaja de tener un buen poder de separación de partículas de diferente tamaño y una elevada velocidad del proceso de filtración, debido a la alta densidad del poro [Cámara, C. y col; 2004].

2) Analitos inorgánicos en muestras sólidas.

En los casos en los que el analito se encuentre en una muestra sólida, el tratamiento previo que se debe llevar a cabo es diferente. Con las muestras sólidas en la mayor parte de los casos lo que se pretende es disolverlas y así tener al analito en disolución, para trabajar más fácilmente.

Se entiende por disolución de una muestra el proceso de transformación de la muestra sólida en fase líquida, pudiendo este proceso realizarse sin o con reacción química.

- Disolución sin reacción química.

Existen bastantes sustancias sólidas que su disolución no implica la existencia de una reacción química o proceso de descomposición. En este caso, para la disolución de compuestos inorgánicos, el agua o las disoluciones reguladoras son los disolventes más comunes. [Cámara, C. y col; 2004]

- Disolución con reacción química.

Dado el elevado número de sustancias que no son solubles en agua, se debe recurrir al empleo de ácidos tales como: ácidos diluidos (en frío o en caliente), ácidos concentrados (en frío o en caliente), y mezclas de los mismos entre sí o con otros componentes de características oxidantes, complejantes etc. [Cámara, C. y col; 2004]

A continuación, en la *Tabla 8*, se describen las características más relevantes de los ácidos más utilizados. Gracias a esta tabla se puede adquirir un criterio de selección en función de la naturaleza de la muestra, características de los analitos, etc. Por lo tanto las propiedades y aplicaciones se resumen a continuación. [Cámara, C. y col; 2004].

Ácido	Aplicación ácido sólo	Mezclas más comunes	Aplicaciones más comunes de mezclas
HCl	Nutricionales: Ca, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Zn. Medio ambiente: Cd, As, Te, Hg, Sb, Al, Si. Metalurgia.	HCl + HNO ₃	HCl+ HNO ₃ (3:1) Au, Os, Ir, Pt, Rh, en numerosas muestras
HNO ₃	Destruye materia orgánica. Metalurgia: Cu, Pb, Zn, Cd, Mo, Medio ambiente: Ge, Ag, Pb, Se. Regractarios: Be, U, V.	HNO ₃ + HClO ₄ HNO ₃ + H ₂ SO ₄ HNO ₃ + H ₂ O ₂ HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + HClO ₄	Alimentos, materiales biológicos, metales nobles (As, Pb, Cu, Zn, Ge)
HClO ₄	Cr, V, grafito, S, Sb, As, Se, aceros. Su uso sólo se recomienda en presencia de materia orgánica.	HClO ₄ + HNO ₃ HClO ₄ + H ₂ SO ₄ HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + HClO ₄	Muy útil para descomponer materia orgánica en presencia de otros ácidos y muestras biológicas.
H ₂ SO ₄	Muchos metales, aceros, óxidos, carbonatos, hidróxidos.	HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + HClO ₄ HNO ₃ + H ₂ SO ₄	Disolución de matrices orgánicas.

Tabla 8. Ácidos y mezclas utilizados en disolución con reacción química.

3) Analitos inorgánicos en muestras líquidas.

En caso de muestras líquidas, por lo general, es mucho más sencillo que el caso de muestras sólidas. Es un proceso que puede requerir la filtración, centrifugación (en el caso de que contenga partículas en suspensión) o mineralización, cuando contiene cantidades apreciables de materia orgánica. En otras ocasiones, cuando se desea una única información sobre el contenido global, se requiere disolver cuantitativamente la muestra en su conjunto para así obtener una única disolución.

Los métodos de tratamiento de muestra para la determinación de analitos inorgánicos en muestras líquidas [Cámara, C. y col; 2004]: se pueden resumir en:

- Filtración.

La filtración es un *proceso mediante el cual se separan partículas sólidas de un líquido utilizando un material poroso llamado filtro.*

Es evidente que la eficiencia del proceso de filtración va a depender del tipo de filtro utilizado, el aparato de filtración y el procedimiento utilizado. Los resultados van a verse afectados por el tipo de filtro utilizado y por el tamaño de poro.

Existen dos tipos de filtración, los cuales se explican en la *Tabla 9*, En esa tabla se recogen los dos tipos de filtración que se pueden realizar (filtración a vacío y filtración por gravedad), donde al mismo tiempo se recogen las ventajas y los inconvenientes que presentan cada una.

Tipos de Filtración			
Filtración a vacío		Filtración por gravedad	
Se realiza la separación del sólido y el líquido gracias a la aplicación de vacío a través de una bomba. Se utiliza cuando interesa el sólido.		Se realiza la separación del sólido y el líquido simplemente usando la fuerza de la gravedad. Se utiliza cuando interesa la disolución.	
Ventajas	Inconvenientes	Ventajas	Inconvenientes
Rapidez.	Precio algo más elevado. Mayor dificultad en el montaje.	Bajo coste. Fácil de montar.	Lentitud.

Tabla 9. Tipos de filtración (a vacío y por gravedad).

Además se deben tener en cuenta algunos requisitos o problemas en el proceso de filtrado como los que se detallan a continuación:

- ✓ Contaminación, la cual debe controlarse.
- ✓ Necesidad de filtrar muestras lo antes posible.
- ✓ Posibles pérdidas de material filtrable.

- Centrifugación.

La centrifugación también constituye otra forma de llevar a cabo la separación de fases en muestras líquidas. Es un método de separación gracias a la fuerza centrífuga, de tal forma que se consigue separar distintos componentes de una muestra en función de sus densidades.

Por lo general, las condiciones de centrifugación se deben seleccionar en función del tamaño de las partículas en suspensión.

El tiempo de centrifugación dependerá del tamaño y la cantidad de partículas sólidas suspendidas en el seno del líquido.

Existen diferentes tipos de centrífugas, pero estas se diferencian en función de los márgenes de aceleración a que someten a las muestras. Estos tipos son:

- ✓ Centrífugas: Desde pocos gramos hasta 3 gramos aproximadamente.
- ✓ Super-centrífugas: Rango de 20 gramos hasta 200 gramos.
- ✓ Ultracentrífugas: Rango de 150 gramos hasta 600 gramos.

A la hora de explicar los tipos de centrifugación que pueden sufrir las muestras líquidas, se puede hacer observando la *Figura 2*, que se muestra a continuación. En ella se recogen perfectamente los tres tipos de centrifugación y como es el estado final de la muestra en cada caso.



Figura 2. Clasificación Centrifugaciones.

- Flotación.

Otro método, quizá menos conocido para la separación del material sólido de un líquido se basa en el burbujeo de un gas a través del mismo. Este gas puede ser por ejemplo aire. Las partículas sólidas tienden a desplazarse a la superficie junto con las burbujas del gas. Este proceso recibe el nombre de *flotación*.

Después de realizar uno de estos tratamientos previos se debe proceder a la separación y aislamiento. Este proceso puede hacerse mediante la adición de agentes tensioactivos o sustancias coprecipitantes como son por ejemplo el $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Este precipitado de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ puede atrapar muchos otros metales y actuar como portador de los iones metálicos en baja concentración.

- Digestión por microondas.

El empleo de las microondas en la disolución de muestras ha alcanzado actualmente una popularidad que se podría considerar que está desplazando al uso de reactores convencionales a presión. Es importante saber que este paso previo al análisis está implementado tanto para la determinación de analitos inorgánicos como orgánicos y se está llevando a cabo en sistemas abiertos y en sistemas cerrados.

La digestión por microondas consiste en un tratamiento de muestra, donde a la muestra se le añaden una mezcla determinada de ácidos para su dilución, y a ésta mezcla se la coloca en una serie de condiciones de presión y temperatura.

A continuación en la *Figura 3*, se muestra un horno de digestión por microondas. En un esquema general de un sistema de microondas contiene las siguientes partes: Disipador, conductor terminal, guía de microondas, agitador, vasija de muestra y magnetón.



Figura 3. Horno de digestión por microondas.

Con la digestión por microondas conseguimos temperaturas muy altas sin necesidad de tener presiones muy elevadas, lo que favorece la eficiencia del proceso de disolución. Hay que destacar que en este proceso la energía se transmite del ácido al vaso, al contrario que con otro tipo de calentamiento convencional.

El principal inconveniente que presentan es la limitación del tamaño de la muestra, ya que debe de ser inferior a 2 gramos.

Se podría asegurar que constituye el método estándar de tratamiento de muestras para el análisis de ultra trazas junto con técnicas de detección como ICP-OES o ICP-MS. [Cámara, C. y col; 2004]

1.2.5. Técnicas analíticas

Existen un número bastante elevado de técnicas analíticas para determinar una propiedad particular del alimento. Por eso es necesario seleccionar la más apropiada para la aplicación específica. La técnica seleccionada dependerá de la propiedad que sea medida, del tipo de alimento a analizar y la razón de llevar a cabo el análisis.

Desde un punto de vista muy global, las técnicas analíticas se pueden clasificar en:

- Cualitativos: Aquellos que de la medida de una propiedad se puede indicar la presencia de un analito en una matriz.
- Cuantitativos: la magnitud de la propiedad medida es proporcional a la concentración del analito en la matriz.

De una forma más concreta, las distintas técnicas analíticas también se pueden clasificar en función de la propiedad utilizada. En la *Tabla 10*, se pueden ver las distintas técnicas analíticas y la propiedad que mide cada una para realizar el análisis.

Propiedad utilizada	Técnica analítica
Emisión de radiación	Espectroscopia de emisión Luminiscencia: Fluorescencia, Fosforescencia,
Absorción de radiación	Espectroscopia de Absorción Espectrofotometría, fotometría Resonancia magnética nuclear Resonancia de espín electrónico
Difracción de la radiación	Difracción de Rayos X Difracción de electrones
Rotación de la radiación	Polarimetría Dicroísmo circular
Corriente eléctrica	Voltametría
Relación masa/carga	Espectrometría de Masas
Radioactividad	Activación neutrónica dilución isotópica

Tabla 10. Clasificación técnicas analíticas.

A la hora de tomar una técnica u otra es necesario tener muy claro los analitos a determinar en este trabajo, metales en los alimentos que se encuentran en concentraciones muy bajas, es decir, se deben usar técnicas que sean lo suficientemente sensibles al análisis de trazas.

Por lo que se necesitan técnicas que sean capaces de detectar concentraciones a nivel de traza, ya que estos metales se encuentran a esa concentración. Dentro de la gran variedad de técnicas que se pueden utilizar para esta determinación destacamos las siguientes encontradas en bibliografía, para esta Memoria Fin de Grado.

- Espectrofotometría de absorción molecular UV-visible.

Esta técnica ha jugado durante años un papel primordial en el análisis de trazas de analitos inorgánicos, pero hoy en día ha perdido protagonismo, en especial en el análisis de metales, al ser desplazada en la mayoría de sus aplicaciones por los métodos atómicos de análisis y la espectrometría de masas. [Cámara, C. y col; 2012]

Su fundamento se centra en la Ley de Lambert-Beer, conocida como ley de absorción que se expresa según la siguiente ecuación:

$$A = \log \frac{P_o}{P} = \epsilon bc$$

La mayoría de los compuestos inorgánicos a niveles de trazas no absorben radiación, o lo hacen en tan pequeña extensión que no serían medibles. Por ello lo habitual es provocar su transformación en otro compuesto que si absorba radiación, a través de una reacción química.

La sensibilidad de esta técnica, aun siendo buena, puede resultar insuficiente, en especial en el caso de ultratrazas. En la *Tabla 11*, se muestran los límites de determinación aproximados para algunos analitos inorgánicos comunes en la espectrofotometría de absorción molecular. [Cámara, C. y col; 2012].

Analito	Reactivo	L _D (µg/mL)
Co(III)	EDTA	2.000
Mn(III)	Oxidación a Mn(VII)	0.250
Fe(II)	o-fenantrolina	0.050
Cu(III)	Dietilditiocarbamato	0.040
Cr(VI)	Difenilcarbácida	0.015
Nitrito	Ácido sulfanílico + naftilanima	0.015
Pb(II)	Difeniltiocarbazona	0.030

Tabla 11. Analitos y L_D en espectrofotometría de absorción molecular.

Su mayor inconveniente deriva precisamente de una de sus ventajas, su gran versatilidad y adaptación para la determinación de especies muy diversas, que al poder utilizarse para la determinación de muchos compuestos, existen interferencias, por lo que la selectividad ha de calificarse como baja o moderada.

- Espectroscopía de emisión atómica.

Espectrofotometría de emisión atómica es *un tipo de espectroscopia de fotones basada en la emisión de radiación producida por transiciones electrónicas en átomos en estados energéticos excitados*. [Ríos, M; 2014]

Esta técnica se utiliza sobre todo para determinar metales con un bajo potencial de ionización como por ejemplo los alcalinos y alcalinotérreos.

Las principales técnicas que posee actualmente importantes aplicaciones analíticas son: Fotometría de llama (FL), la fluorescencia atómica (FA), las espectrometrías de arco y chispa, y la espectrometría con plasma de acoplamiento inductivo (ICP). [Ríos, M; 2014]. Pero las que más destacan son (FL) y (ICP).

1) Fotometría de llama (FL).

La fotometría de llama (FL) a técnica espectroscópica de emisión que utiliza la llama como fuente de excitación de los átomos que se encuentran en ella. [Ríos, M; 2014]

Sin duda la llama es el componente más importante, que en ella se produce la emisión atómica que caracteriza la técnica. La llama produce la desolvatación y vaporización de la muestra líquida y la disociación molecular y atomización de los elementos. Las llamas utilizadas son mezclas de: propano-aire, butano-aire y gas natural-aire.

En la *Figura 4*, se muestran las distintas partes de un fotómetro de llama.

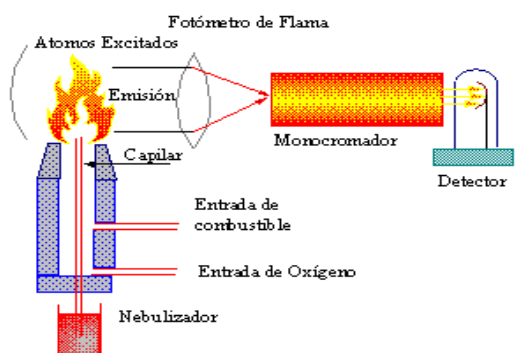


Figura 4. Partes Fotometría de llama. [<http://arturobola.tripod.com/sodio.htm>]

En cuanto al campo de aplicación de la Fotometría de llama, prácticamente se basa en el análisis de elementos alcalinos y alcalinotérreos de una gran variedad de muestras como: aguas naturales (de mar, de bebida, mineromedicinales etc), aguas industriales, líquidos de alimentación (vinos, cerveza, zumos de frutas) y fluidos biológicos. [Ríos, M; 2014].

2) Espectroscopia de emisión atómica con plasma (ICP).

La espectroscopia de emisión atómica en plasma se basa en la atomización de la muestra, la ionización parcial de los átomos de los elementos a analizar y la excitación de los átomos y de los iones en un plasma, para obtener la emisión característica de los átomos presentes. [Ríos, M; 2014]

El plasma actúa como un almacén de energía que es transferida a los analitos.

El ICP proporciona unos resultados con mucha calidad debido a la gran estabilidad, bajo ruido, poca radiación de fondo y en la ausencia de interferencias de las fuentes, cuando se opera en las condiciones experimentales apropiadas. Esta técnica se emplea en muchos análisis, ya que un gran número de elementos pueden ser determinados rápidamente a niveles traza (ppm, ppb), y porque una amplia variedad de tipos de muestras pueden ser analizados utilizando esta técnica.

En esta *Tabla 12*, se resumen brevemente las ventajas y los inconvenientes que presenta la técnica de ICP.

Espectroscopía de emisión atómica (ICP)	
Ventajas	Inconvenientes
Menor interferencia entre elementos. Se obtienen buenos espectros. Determina bajas concentraciones. Determina elementos no metálicos. Tiempo de análisis bajo. Buena selectividad. Alta sensibilidad. Gran intervalo de linealidad.	Equipo más caro. Mayor coste que fotometría de llama. Menor precisión que fotometría de llama.

Tabla 12. Ventajas e inconvenientes ICP.

La principal aplicación de la técnica ICP es en el análisis elemental cualitativo y cuantitativo de muestras líquidas, por lo que cuando se analizan muestras sólidas, previamente hay que aplicar procedimientos de mineralización o extracción adecuados.

Debido a los bajo niveles de detección que proporciona se ha aplicado con éxito al análisis de elementos traza en aguas, alimentos, bebidas, fluidos biológicos, muestras clínicas, medioambientales, aleaciones, muestras geológicas etc. [Ríos, M; 2014].

- Espectrofotometría de absorción atómica.

Espectrofotometría de absorción atómica es *un tipo de espectroscopia de fotones basada en la absorción de radiación para producir transiciones electrónicas en átomos.*

La clasificación de las técnicas derivadas del fenómeno de absorción atómica depende básicamente de la forma en que la muestra se trata térmicamente para convertir los componentes de la misma en átomos o iones gaseosos. En este caso encontramos dos formas de hacerlo: por calentamiento con una llama o por calentamiento electrotérmico. [Ríos, M; 2014].

1) Espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS)

Espectroscopía de absorción atómica con llama (FAAS) es *un tipo de espectrofotometría de absorción atómica que utiliza la llama como medio para excitar los átomos.* [Ríos, M; 2014].

La llama seleccionada debe favorecer la atomización del analito y destruir los compuestos refractarios que pudieran reaccionar o atrapar físicamente al analito.

En la *Tabla 13*, se muestra un pequeño resumen de los tipos de llamas que se pueden utilizar, comentándose diferentes características de las mismas, desde su temperatura hasta la velocidad de combustión [Ríos, M; 2014].

Oxidante	Combustible	Temperatura (°C)	Velocidad de combustión (cm/s)
Aire	Propano	1700	42
Aire	Hidrógeno	2000	320
Aire	Acetileno	2200	160
Óxido nitroso	Acetileno	2800	285

Tabla 13. Propiedades de distintos tipos de llama.

2) Espectrofotometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (GFAAS).

Espectrofotometría de absorción atómica con atomización electrotérmica *es un tipo de espectrofotometría de absorción que utiliza la energía térmica para excitar los átomos.* [Ríos, M; 2014].

Los dispositivos empleados para este tipo de atomización son hornos o cámaras de grafito.

En la *Figura 5*, se observa un espectrofotómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica real.



Figura 5. Equipo Espectrofotometría de absorción atómica con atomización electrotérmica.

La espectrometría de absorción atómica se emplea para la determinación de la concentración de metales como: aluminio, arsénico, bario, cadmio, calcio, cobre, cromo, hierro, litio, magnesio, manganeso, mercurio, níquel, plata, platino, plomo, selenio etc.

A continuación se nombran tres análisis reales en alimentos donde se determinan la concentración de metales con espectroscopia de absorción atómica con llama o con cámara de grafito [Ríos, M; 2014].

- ✓ Determinación de estaño en mejillones enlatados por FAAS.
- ✓ Determinación de metales pesado en aguas por GFAAS.
- ✓ Determinación de selenio en ostras por GFAAS.

Las ventajas e inconvenientes que presenta esta técnica a la hora de llevar a cabo un análisis se pueden ver en la *Tabla 14*, comentando: sensibilidad, L_D , estándares, determinación de elementos etc.

Espectrometría de absorción atómica	
Ventajas	Inconvenientes
Muy sensible. Límite de detección muy bajo. Rapidez en el análisis. Facilidad en el análisis. Determina bajas concentraciones.	Fuente de luz. Método destructivo de análisis. No determina simultáneamente varios elementos. Se necesitan estándares para comparar con la muestra.

Tabla 14. Ventajas e inconvenientes Espectrometría de absorción atómica.

Por lo tanto con ambas técnicas se determinan elementos metálicos en distintos tipos de muestras, siguiendo previamente un tratamiento previo. En concreto, los elementos que podemos determinar en alimentos se resumen en la *Tabla 15*. De ahí se puede ver que con esta técnica podemos determinar una gran variedad de elementos de la tabla periódica como: alcalinos, alcalinotérreos, metales de transición etc, siendo casa uno de ellos perjudicial o saludable para el organismo.

Elementos	
Nutrientes	Tóxicos
Macro minerales (Na, K, Mg, Ca, P)	As, Sb, Al, B, Bi, Au, Ag, Ra, U, Li, Pt, Pb
Micro minerales (Fe, Cu, Zn, Mn)	
Micro elementos (Co, Sc, V, Cr, Ni, Sn)	

Tabla 15. Metales determinados por Espectrometría de absorción atómica en alimentos.

- Espectrometría de Masas con Plasma acoplado Inductivamente (ICP-MS).

Se puede decir que hibridación instrumental es *una combinación de dos técnicas analíticas independientes a través de una fase adecuada, generando información única e integral de la composición de la muestra más completa que la información dada por cada técnica por separado* [Skoog, D. y col; 2008].

Es una técnica que se basa en el acoplamiento de un método para generar iones (plasma) y un método para separar y detectar dicho iones (espectrómetro de masas). El ICP-MS es altamente sensible y capaz de determinar de forma cuantitativa casi todo los elementos de la tabla periódica que tengan un potencial de ionización menos al potencial del Ar a concentraciones muy bajas.

Algunas de las ventajas e inconvenientes que presenta esta técnica son: alta velocidad en el análisis, escaso tratamiento de muestras, interferencias en la medida del isótopo y dentro del mismo plasma etc. De una forma más clara y resumida se pueden ver las ventajas e inconvenientes que presenta el ICP-MS en la *Tabla 16*.

ICP-MS	
Ventajas	Inconvenientes
Determina más elementos que la espectrometría de emisión. Determina metales simultáneamente. Alta velocidad de análisis. Escaso tratamiento de muestra. Bajo límite de detección	Interferencias en la medida del isótopo. Interferencias dentro del mismo plasma.

Tabla 16. Ventajas e inconvenientes ICP-MS.

El ICP-MS a pesar de ser una técnica analítica joven, ofrece un abanico de aplicaciones muy extenso.

Desde el punto de vista ambiental, muchos contaminantes inorgánicos (metales) ejercen su toxicidad a niveles de concentración inferiores a los límites de cuantificación que de dichas técnicas clásicas de espectrometría atómica proporcionan. En tales casos, la determinación de metales trazas (Cu, Pb, Hg, Zn, As, Be, Cd, Cr, Al, Sb, V, Ag...) en aguas naturales y de vertido se realiza con ICP-MS. Por otro lado, desde el punto de vista clínico, en las muestras biológicas se determinan bioelementos trazas en sangre, orina, pelo, dientes etc [Ríos, M; 2014].

Por lo que debido a las características que presenta el ICP-MS, es una técnica muy utilizada en el análisis de metales en alimentos y con el que se realizará el análisis en este trabajo.

1.3. Zumos y/o bebidas de fruta

Por zumo o bebida de fruta se entiende *líquido de las hierbas, flores, frutas u otras cosas semejantes, que se saca exprimiéndolas o majándolas*.

Dentro del mercado que tenemos en la actualidad, en los supermercados y grandes almacenes podemos encontrar una gran variedad de zumos o bebidas de fruta a nuestra disposición para consumirlos.

1.3.1. Naturaleza y envasado de zumos

1) Composición

Como regla general, el zumo de fruta recién preparado corresponde a la composición de la fruta de la que procede sólo si se exprime completamente. Sin embargo, a escala de fabricación, las frutas rara vez se exprimen totalmente y además se someten a tratamientos de calor y/o de concentración,

con lo que habrá una desviación respecto la composición original. Se puede estudiar la composición gracias a la siguiente tabla (*Tabla 17*), donde se recogen la concentración de nutrientes que deben tener diferentes zumos de frutas [Vitoria, I; 2007].

Nutrientes	Gramos por cada 100 gramos de fruta			
	Naranja	Pomelo	Manzana	Piña
Tipo de zumo				
Agua %	88.400	90.100	88.000	85.500
Kcal (g)	40.800	34.08	45.430	47.800
Proteínas (g)	0.600	0.400	0.070	0.400
Grasa (g)	0.100	0.150	0.100	0.080
Glucosa (g)	3.180	3.600	3.100	3.340
Carbohidratos (g)	10.000	7.300	11.800	12.080
Ácido ascórbico (mg)	40.000	31.000	1.400	10.000
Sodio (mg)	1.000	2.000	2.120	1.000
Potasio (mg)	166.000	120.000	116.000	140.000
Calcio (mg)	15.500	9.300	6.900	12.000
Hierro (mg)	0.200	0.200	0.260	0.700

Tabla 17. Composición de zumos de fruta natural.

La bebida refrescante (BR) o refresco *se puede definir en sentido estricto como una bebida preparada con agua potable y cuyos ingredientes son productos autorizados por la legislación, adicionada o no con anhídrido carbónico.*

En cuanto a la composición y/o ingredientes de estos zumos de frutas con gas, se puede resumir en la siguiente tabla (*Tabla 18*). En ella se puede observar los nutrientes que presentan este tipo de bebidas y en qué niveles se encuentran cada uno [Vitoria, I; 2007].

Bebidas de fruta con gas	
Nutriente	Concentración
Agua	4-5 mg/L
Hidratos de Carbono	Más de 10g/100ml
Sodio	Bebida no isotónica: 5-7 mEq/L
	Bebida isotónica: 15-20 mEq/L
Potasio	Bebida no isotónica: ***
	Bebida isotónica: 5 mEq/L
Fósforo	15-20 mg/Dl
Flúor	0.02-1.28 mg/Dl

Tabla 18. Composición de bebidas de fruta con gas.

2) Tipos

Desde un punto de vista general se puede hacer la siguiente clasificación para los distintos tipos de bebidas de frutas que hay en función de la cantidad de zumo natural que presenten:

- Zumo 100% natural: Como su descripción indica, quiere decir que está elaborado directamente con el propio jugo de la fruta, tras hacer pasar a ésta por un proceso para exprimir su jugo o a través de una licuadora.

Puede que este tipo de zumo lo podamos encontrar en el mercado, aunque también se puede hacer en casa comprando la fruta de la cual se quiere hacer el zumo, como por ejemplo: zumo de naranja, zumo de uva, zumo de limón, zumo de piña etc [Vitoria, I; 2007].

- Zumo a base de concentrado de frutas: En este caso no es un zumo o un jugo de frutas que se obtenga directamente del alimento, sino que se obtiene al mezclar una serie de productos que no son naturales, de ahí que se diga que es a base de concentrado de frutas.

En este caso la bebida se realiza con extracto de una fruta determinada, o liofilizada y gran parte de agua y otra serie de aditivos y colorantes para dar un determinado color a la bebida.

- Zumo con un % natural y un % de zumo concentrado: En estos casos el % de zumo natural suele ser mucho más bajo que el % de zumo concentrado.
- Zumo con gas: Las bebidas refrescantes más importantes son aquellas elaboradas a partir de extractos (colas, naranja, lima-limón, fresa etc), las gaseosas y las bebidas refrescantes aromatizadas [Vitoria, I; 2007].

3) Envases

Se denomina envase al contenedor que está en contacto directo con el producto mismo. Su función es guardar, proteger, conservar e identificar el producto; también facilita su manejo y comercialización [Mathon, Y; 2012].

Los principales materiales que se utilizan para la confección de envases y son:

- Vidrio: Los envases de vidrio, según su capacidad, aplicación y forma, se clasifican en botellas, frascos, potes y ampollas. Ofrecen una versatilidad de diseños en forma, tamaño y color. Los más utilizados son: transparente, ámbar, verde y ópalo.

- Metal: Un envase metálico, en términos generales, se define *como un recipiente rígido para contener tanto productos líquidos como sólidos, y que además tiene la capacidad de ser cerrado herméticamente*.

Los envases de metal para envasar alimentos o artículos de uso doméstico son principalmente los envases de hojalata y aluminio, como por ejemplo: latas, botellas

- Papel/cartón: El papel y el cartón ocupan un lugar privilegiado en los intentos por volver a los materiales tradicionales reciclables, en favor de la ecología.
- Plástico: Los envases de plástico son de lo más seleccionados por los emprendedores por ser, principalmente, económicos, funcionales y livianos.

Los envases de plástico que actualmente se comercializan pueden ser de tipo rígido (botellas, frascos o estuches. Pero sin duda el tipo de envase de plástico más utilizado es el polietilentereftalato (PET).

Las propiedades del PET son principalmente: transparencia, resistencia al impacto y al agrietamiento, rigidez, poca permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno. Es un material duro, resistente a los golpes; se usa para envasar una amplia variedad de alimentos y bebidas como jugos, aceites comestibles y salsas [Mathon, Y; 2012].

1.3.2. Metales presentes en bebidas de fruta y causas

Sin duda el principal responsable de la presencia de metales pesados en los alimentos es el hombre, debido al aumento de la actividad industrial en los últimos tiempos.

Concretamente, en el caso de la fruta o de los zumos de frutas, en las últimas décadas se ha detectado un aumento en los niveles de metales, sobre todo el plomo. El plomo llega a ellos debido a la contaminación de las tierras de cultivo, donde este metal puede permanecer durante años.

Hay dos razones que pueden explicar situaciones de fácil contaminación de determinados alimentos con plomo.

- 1) La primera, por vía ambiental, en absoluto desdeñable, se habría de tener en cuenta en las zonas industriales y en las de tráfico rodado muy intenso, tales como zonas agrícolas adyacentes y vecinas a las grandes rutas de las autopistas (viñedos, frutales, etc.).
- 2) La segunda derivada de la fácil solubilización del plomo en ácidos débiles inorgánicos y orgánicos.

Pero además de la contaminación, hay otra razón que provoca la presencia de metales en las bebidas de fruta. Esta razón es la migración de metales del envase al zumo. Un ejemplo conocido y además demostrado es la migración de Sb desde el plástico al agua. Lo que ocurre en este caso es que solo está legislado para el agua, en el caso de bebidas de fruta no.

Eso sí, hay que tener en cuenta que algunos metales están presentes en los zumos de forma natural ya que son elementos esenciales para el ser humano como por ejemplo: Fe, Cu, Zn, Co etc aunque algunos estén en cantidades más elevadas que otros.

El antimonio no tiene ninguna función biológica conocida y los efectos de la exposición humana a largo plazo son desconocidos. El trióxido de antimonio, un presunto carcinógeno, se utiliza como catalizador en la producción de tereftalato de polietileno (PET) que se utiliza para empaquetar productos alimenticios.

1.4. Legislación para metales en alimentos

1. Legislación Nacional.

En un principio, en el 2006, se impuso el Reglamento 1881/2006, de 19 de Diciembre de 2006, de la Comisión, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/metales_pesados.shtml]

A partir de este documento, se han ido realizando una serie de modificaciones en cuanto a los niveles de metales y otros contaminantes en los productos alimenticios para la sociedad española. Estos cambios y su evolución llegan hasta el año 2015, donde se pueden ver a continuación.

- Reglamento 629/2008 de la Comisión, de 2 de julio de 2008, que modifica el Reglamento 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- Reglamento 420/2011 de la Comisión, de 29 de abril de 2011, que modifica el Reglamento 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- Reglamento 488/2014 de la Comisión, de 12 de mayo de 2014, que modifica el Reglamento 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de cadmio en los productos alimenticios
- Reglamento (UE) 2015/1005 de la Comisión, de 25 de junio de 2015, que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de plomo en determinados productos alimenticios.

- Reglamento (UE) 2015/1006 de la Comisión, de 25 de junio de 2015, por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 en cuanto al contenido máximo de arsénico inorgánico en los productos alimenticios.

Los niveles establecidos para cada metal de una forma más específica se adjunta en el ANEXO.

En la *Tabla 19*, se recogen los intervalos establecidos para los metales (Pb, Hg, Cd y As), que son los metales más tóxicos que encontramos en los alimentos, según la legislación establecida y las modificaciones aplicadas. Donde vemos que el mayor intervalo lo tienen el Pb y el Cd, siendo estos a los que se les permite estar en unas mayores concentraciones en los alimentos.

Elemento	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Plomo	Pb	0.010	3.000
Arsénico	As	0.100	0.300
Cadmio	Cd	0.005	3.000
Mercurio	Hg	0.100	1.000

Tabla 19. Concentración de metales tóxicos en la Legislación Nacional.

2. Legislación Unión Europea.

La última revisión realizada [Alonso, A; 2014] en la legislación de metales pesados en alimentos es la del año 2014.

Los niveles establecidos para cada metal de una forma más específica se adjunta en el ANEXO [Alonso, A; 2014], donde además aquí se pueden encontrar que concentración de metal está permitida y que concentración específica debe tener cada alimento.

En la *Tabla 20*, se encuentran resumidas las concentraciones máximas y mínimas permitidas para cada uno de estos metales (Pb, Cd, Hg, Sn), según la legislación de la Unión Europea. Gracias a esta tabla a modo de resumen se puede ver de una forma global los valores permitidos para cada metal en los alimentos.

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Plomo	Pb	0.020	3.000
Cadmio	Cd	0.005	3.000
Mercurio	Hg	0.010	1.000
Estaño	Sn	50	200

Tabla 20. Concentración de metales tóxicos en la Legislación Europea.

En cuanto a metales pesados en envases hay que destacar:

La Directiva 96/42 indica que la suma de los niveles de concentración de plomo, cadmio, mercurio y cromo hexavalente presente en los envases o sus componentes no será superior a: 100 ppm en peso

- Directiva 94/62/CE (DOL 365, 31-12-94) relativa a los envases y residuos de envases.
- Decisión 1999/177/CE (DOL 56, 04-03-99) condiciones de no aplicación a cajas de plástico y paletas de plástico.
- Decisión 2001/171/CE (DOL 62, 02-03-01) condiciones de no aplicación a los envases de vidrio.
- Decisión 2006/340/CE (DOL 125, 12-05-06) que modifica la Decisión 2001/171/CE.

Países que tienen la misma legislación que la UE: Alemania, Austria, Bélgica, Bulgaria, Chipre, Croacia, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Estonia, Finlandia, Francia, Grecia, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Países Bajos, Polonia, Portugal, Reino Unido, República Checa, Rumania y Suecia.

La Legislación aplicable es la siguiente:

- Reglamento (CE) nº 1881/2006 de 19 de diciembre de 2006 (DOL 364 de 20.12.2006)
- Reglamento (CE) nº 333/2007 de 28 de marzo de 2007 (DOL 88 de 29.3.2007) sobre métodos de muestreo y análisis.
- Reglamento (CE) nº 629/2008 de 2 de Julio de 2008 (DOL 173 de 3-7-08) • Reglamento (CE) 420/2011 de 29 de abril de 2011 (DOL 111 de 30-04-11) Mod. R (CE) 1881/2006.
- Reglamento (UE) 488/2014 de 12 de mayo de 2014 DOL 138 de 13-05-2014).

3. Legislación en otros países.

En este apartado se exponen los valores máximos y mínimos permitidos para cada metal. Los datos se pueden ver en las *Tablas 21-29*. Los datos que presentan cada uno de estos países están tomados en función de la última revisión realizada [Alonso, A; 2014] en la legislación de metales pesados en alimentos es la del año 2014.

AUSTRALIA Y NUEVA ZELANDA

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Arsénico	Ar	1.000	2.000
Cadmio	Cd	0.050	2.5
Estaño	Sn	250.000	250.000
Mercurio	Hg	0.500	1.000
Plomo	Pb	0.020	2.000

Tabla 21. Concentración metales tóxicos en Australia y Nueva Zelanda.

BRASIL

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Antimonio	Sb	0.200	2.000
Arsénico	As	0.100	1.000
Cadmio	Cd	0.200	1.000
Cobre	Cu	0.100	3.000
Cromo	Cr	0.100	0.100
Estaño	Sn	150.000	250.000
Mercurio	Hg	0.010	1.000
Níquel	Ni	0.100	5.000
Plomo	Pb	0.050	2.000
Selenio	Se	0.050	0.300
Zinc	Zn	5.000	25.000

Tabla 22. Concentración metales tóxicos en Brasil.

CANADÁ

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Arsénico	As	0.100	3.500
Plomo	Pb	0.080	10.00
Estaño	Sn	250.000	250.000

Tabla 23. Concentración metales tóxicos en Canadá.

FINLANDIA

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Cobre	Cu	0.400	10.000
Plomo	Pb	0.020	3.000
Cadmio	Cd	0.005	3.000
Mercurio	Hg	0.010	1.000
Estaño	Sn	50.000	200.000

Tabla 24. Concentración metales tóxicos en Finlandia.

JAPÓN

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Mercurio	Hg	0.300	0.400
Plomo	Pb	1.000	5.000

Tabla 25. Concentración metales tóxicos en Japón.

RUSIA

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Arsénico	As	0.200	0.500
Cadmio	Cd	0.030	0.100
Mercurio	Hg	0.020	0.050
Plomo	Pb	0.400	0.500

Tabla 26. Concentración metales tóxicos en Rusia.

SUDÁFRICA

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Antimonio	Sb	0.005	0.150
Arsénico	As	0.010	1.000
Cadmio	Cd	0.003	3.000
Cobre	Cu	0.100	30.000
Estaño	Sn	50.000	250.000
Mercurio	Hg	0.001	2.000
Plomo	Pb	0.010	2.000
Zinc	Zn	5.000	10.000

Tabla 27. Concentración metales tóxicos en Sudáfrica.

SUIZA

Metal	Símbolo	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Aluminio	Al	2.000	15.000
Arsénico	As	0.050	0.200
Boro	B	80.000	80.000
Cadmio	Cd	0.005	2.000
Cobalto	Co	0.200	0.200
Cobre	Cu	0.100	25.000
Estaño	Sn	0.100	150.000
Hierro	Fe	0.300	25.000
Manganeso	Mn	0.050	0.050
Mercurio	Hg	0.001	1.000
Níquel	Ni	0.100	0.200
Plata	Pt	0.100	0.100
Plomo	Pb	0.010	2.000
Talio	Tl	0.100	0.100
Zinc	Zn	5.000	25.000

Tabla 28. Concentración metales tóxicos en Suiza.

ESTADOS UNIDOS

Metal	Símbolo	Valor mínimo	Valor máximo
Cadmio	Cd	0.250 µg/ml	0.500 µg/ml
Mercurio	Hg	1.000 mg/Kg	1.000 mg/Kg
Plomo	Pb	0.500 µg/ml	7.000 µg/ml

Tabla 29. Concentración metales tóxicos en Estados Unidos.

Para tener una visión más global de todos los valores establecidos, a continuación se describe la *Tabla 30*, que ayuda a comparar los distintos rangos que presentan los metales más comunes. Los metales que se compran a continuación, son aquellos que se consideran más perjudiciales para la salud y que se encuentran en los alimentos hoy en día.

Elemento	Región	Valor mínimo (mg/Kg)	Valor máximo (mg/Kg)
Pb	Unión Europea	0.020	3.000
	Australia y Nueva Zelanda	0.020	2.000
	Brasil	0.050	2.000
	Canadá	0.080	10.000
	Finlandia	0.020	3.000
	Japón	1.000	5.000
	Rusia	0.400	0.500
	Sudáfrica	0.010	2.000
	Suiza	0.010	2.000
	Estados Unidos	0.500	7.000
Sn	Unión Europea	50.000	200.000
	Australia y Nueva Zelanda	250.000	250.000
	Brasil	150.000	250.000
	Canadá	250.000	250.000
	Sudáfrica	50.000	250.000
	Finlandia	50.000	250.000
	Suiza	0.100	150.000
Hg	Unión Europea	0.010	1.000
	Australia y Nueva Zelanda	0.500	1.000
	Brasil	0.010	1.000
	Finlandia	0.010	1.000
	Japón	0.300	0.400
	Rusia	0.020	0.050
	Sudáfrica	0.001	1.000
	Suiza	0.001	1.000
	Estados Unidos	1.000	1.000
Cd	Unión Europea	0.005	3.000
	Australia y Nueva Zelanda	0.050	2.500
	Brasil	0.200	1.000
	Finlandia	0.005	3.000
	Rusia	0.030	0.100
	Sudáfrica	0.003	3.000
	Suiza	0.005	2.000
	Estados Unidos	0.250	0.500
As	Australia y Nueva Zelanda	1.000	2.000
	Brasil	0.010	1.000
	Canadá	0.100	3.500
	Rusia	0.200	0.500
	Sudáfrica	0.010	1.000
	Suiza	0.050	0.200

Tabla 30. Comparación de la concentración de los metales tóxicos en distintos países.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reactivos y materiales

Los reactivos utilizados son los que se numeran a continuación:

- Ácido nítrico (65%), Merck, Darmstadt, Alemania.
- Peróxido de hidrógeno (30%), Merck, Darmstadt, Alemania.
- Disolución estándar multipatrón-2A Agilent, Palo Alto, CA) que tiene (Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se, Ti, V, Zn; y Cs, Ga, Li, Rb, Sr, U.).
- Disolución estándar de Sb, Panreac, Barcelona, España.

El material con el que se ha trabajado ha sido de dos tipos diferentes, por un lado se ha utilizado material de vidrio y por otro lado material de plástico, los cuales se van a señalar a continuación.

- ✓ Material de vidrio.
 - Vaso de precipitado 500 y 200 mL.
 - Varilla de vidrio.
 - Pipeta aforada 1, 4 y 5 mL..
 - Embudo.
 - Probeta 30 y 5 mL.
- ✓ Material de plástico.
 - Duquesas de 40 mL.
 - Pipetas Pasteur.
 - Tubos digestor microondas XPRESS.
 - Parafina.

Los aparatos utilizados para llevar a cabo ese estudio son los que se muestran en la siguiente lista:

- Balanza analítica de precisión ME T. Mettler-Toledo International Inc. CH-8606 Greifensee, Switzerland.
- Centrífuga de mesa, Modelo Allegra X-22R (Beckman Coulter)
- Agitador magnético. Agimatic-N" con calefacción REGULACIÓN ELECTRÓNICA DE LA VELOCIDAD Y ENERGÍA DEL CALEFACTOR. HASTA 350 °C. Selecta.
- Exprimidor.

2.2. Equipos e instrumentación

2.2.1. Equipos

Sistema de digestión por microondas

Consiste en un sistema de reacción acelerada de microondas de CEM, modelo MARS XPRESS, con una potencia regulable entre 0 y 1.600 Vatios, a una frecuencia de 2.455 MHz. Utiliza la energía de microondas para someter a la muestra a una digestión controlada.

En la figura mostrada a continuación, *Figura 6*, se puede ver el digestor por microondas utilizado para el tratamiento de las muestras.

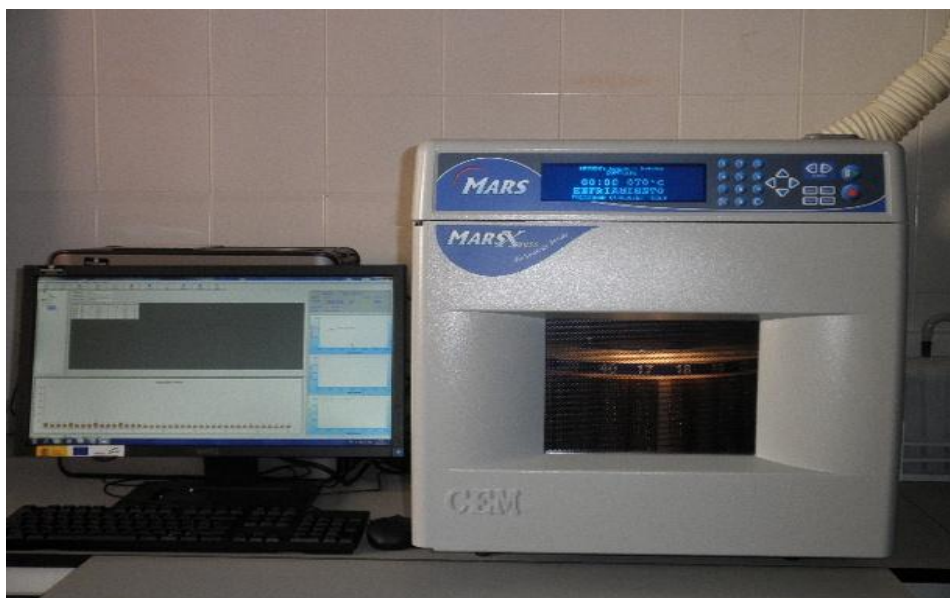


Figura 6. Digestor por microondas, modelo MARS XPRESS.

El equipo de digestión por microondas consta de las siguientes características:

- Sistema de control de temperatura por infrarrojo mediante dos sensores situados en la parte inferior de la cavidad interior. La temperatura alcanzada en cada vaso es controlada por un sistema giratorio en continuo movimiento.

- Sistema de agitación de muestras. Gracias a la generación de un campo magnético rotatorio en la parte inferior del equipo y colocando agitadores magnéticos en el interior de los vasos, se asegura la homogeneización total de las muestras.
- Carrusel de 40 posiciones. Los vasos utilizados son XPRESS, que alcanzan una temperatura máxima de 200°C y una presión de 500 psi. En la siguiente figura, (*Figura 7*), mostrada a continuación se muestra el carrusel utilizado en el digestor por microondas.



Figura 7. Carrusel utilizado en el digestor por microondas.

- Sistema de seguridad ReactiGuard. La función de este sistema de seguridad es detener el digestor si se detecta algún error en alguno de los vasos XPRESS durante el tratamiento de las muestras.
- Sistema de extracción. Elimina los gases acumulados durante el tratamiento de las muestras.
- El software utilizado es *Synergy*.

2.2.2. Instrumentación

Espectrometría de Masas con Plasma acoplado Inductivamente (ICP-MS).

ICP-MS, modelo Agilent 7500A ICP-MS, como se puede ver la *Figura 8*



Figura 8. Espectrómetro de Masas con Plasma acoplado Inductivamente.

Permite el análisis químico cuantitativo y cualitativo de la mayor parte los de elementos de la tabla periódica, en un amplio rango de concentraciones, desde ppt hasta cientos de ppm en soluciones acuosas.

Los componentes principales de este ICP-MS, son los que se detallan en la lista de a continuación:

- Muestreador con 96 posiciones.
- Bomba peristáltica para la introducción de las muestras.
- Nebulizador Babington.
- Cámara de nebulización de cuarzo refrigerada por sistema Peltier.
- Atomizador.
- Antorcha de plasma de argón, a través de los conos de la interfase de níquel.
- Programa informático, ChemStation ICP-MS Top.

2.3. Muestras

2.3.1. Tipos de muestras

Para llevar a cabo el estudio o la determinación de ciertos metales presentes en bebidas de fruta o zumos se han seleccionado 9 tipos de muestras diferentes. De cada tipo en concreto hay dos muestras. De cada envase de zumo de limón y de naranja se realizó una réplica. De tal forma que como objeto de estudio se obtuvieron finalmente 18 muestras.

Las 18 muestras se adquirieron en un centro comercial.

A la hora de seleccionar las muestras de estudio se han tomado diferentes tipos donde las variables tenidas en cuenta, para tener una mayor diversidad en el muestreo, son las que se muestran en la *Tabla 31*.

Variable	Tipos
Naturaleza	- Zumo realizado industrialmente. - Zumo recién exprimido
Envase	- Plástico. - Cartón o tetrabrick. - Lata de metal. - Vidrio. - Fruta directamente exprimida
Zumo carbonatado	- Si. - No.
Sabores	- Limón. - Naranja.

Tabla 31. Descripción tipo de muestras.

Tomando tanta variedad de envases, se puede ver si llega a influir la presencia o el aumento de concentración de ciertos metales en los alimentos, en este caso en bebidas o zumo de frutas.

A continuación, en la *Figura 9*, se muestran cuales son las muestras sometidas al estudio, observándose los distintos envases seleccionados, además del tipo de bebida etc.



Figura 9. Muestras bebidas de fruta de limón y naranja.

2.3.2. Codificación

Para tener identificadas las muestras, se codificaron siguiendo unas pautas y unos criterios para tenerlas controladas, los cuáles son los siguientes:

- 1) Muestra: Se simboliza con una "M" mayúscula.
- 2) Número de réplica: Se identificará con un número concreto. El número de réplica irá desde el 1 al 18. De 1 al 8 serán las muestras de limón y del 9 al 18 serán las muestras de naranja.
- 3) Tipo de zumo de fruta: Para la determinación de la concentración de metales pesados en las muestras, se han tomado dos tipos de zumos (naranja y limón). Por lo que las muestras de limón se identificarán con "L" y las muestras de naranja se identificarán con "N".
- 4) Material del envase: Para identificar el material del envase de cada muestra de zumo, se adjudicaron las siguientes abreviaturas representadas en la siguiente tabla (*Tabla 32*).

Material	Abreviatura
Vidrio	V
Plástico	P
Lata de metal	L
Piel natural	N
Tetrabrick o cartón	T

Tabla 32. Identificación del material del envase en las muestras.

5) Tratamiento de muestra: Los tratamientos previos que se van a llegar a cabo son tres, de los cuales a continuación se va realizar una pequeña explicación y se aclarará cual será la codificación pertinente en cada caso.

- ✓ P1: Digestión por microondas
- ✓ P2: Dilución con HNO₃ al 2% y centrifugación.
- ✓ P4: Centrifugación directa.

Teniendo en cuenta las variables anteriores las muestras para los tratamientos P1 y P4 quedan con la codificación que se muestra en la *Tabla 33*.

Codificación P1	Codificación 4
P1M1LV	P4M1LV
P1M2LV	P4M2LV
P1M3LP	P4M3LP
P1M4LP	P4M4LP
P1M5LL	P4M5LL
P1M6LL	P4M6LL
P1M7LN	P4M7LN
P1M8LN	P4M8LN
P1M9NV	P4M9NV
P1M10NV	P4M10NV
P1M11NP	P4M11NP
P1M12NP	P4M12NP
P1M13NL	P4M13NL
P1M14NL	P4M14NL
P1M15NT	P4M15NT
P1M16NT	P4M16NT
P1M17NN	P4M17NN
P1M18NN	P4M18NN

Tabla 33. Codificación muestras P1 y P4.

En el caso del tratamiento P2 se debe hacer una aclaración, ya que las muestras no siguen la codificación señalada anteriormente. En P2, al hacer cuatro diluciones, sólo se han sometido al tratamiento solamente una muestra y se han realizado las correspondientes diluciones, de modo que, la codificación realizada es la que se muestra en la *Tabla 34*.

Muestra	Dilución	Codificación
M11NP	1:1	1
		2
M12NP		3
		4
Muestra	Dilución	Codificación
M11NP	1:5	5
		6
M12NP		7
		8
Muestra	Dilución	Codificación
M11NP	1:10	9
		10
M12NP		11
		12
Muestra	Dilución	Codificación
M11NP	1:20	13
		14
M12NP		15
		16

Tabla 34. Codificación muestras P2.

2.3.3. Tratamiento de muestras

Son tres tratamientos de muestras los que se han seleccionado para llevar a cabo este procedimiento [Juranovic, I. y col; 2011] y [Szymczycha-Madeja, A. y col; 2013]. Estos tres tratamientos son los que se describen a continuación.

✓ P1: Digestión por microondas.

Se toman 5 mL de muestra y 3 mL de HNO₃ concentrado y se trata por digestión por microondas.

✓ P2: Dilución con HNO₃ al 2% y una posterior centrifugación.

Se lleva a cabo una simple dilución con un ácido y después se procede a una centrifugación.

✓ P4: Centrifugación directa.

De la muestra se toman 8mL, que posteriormente se centrifugan con unas variables determinadas.

Indicar que algunas muestras han tenido que ser desgasificadas antes de someterlas a estos tratamientos, por contener gases disueltos. Estos pueden afectar tanto a la hora de llevar a cabo el tratamiento de muestra como a la hora del análisis en el ICP-MS.

Por esta razón las siguientes muestras estuvieron en agitación durante 45 minutos para desgasificarlas y ya poder trabajar con ellas.

En la siguiente figura (*Figura 10*), se puede ver como se realizó la desgasificación de las muestras M1LV y M2LV.

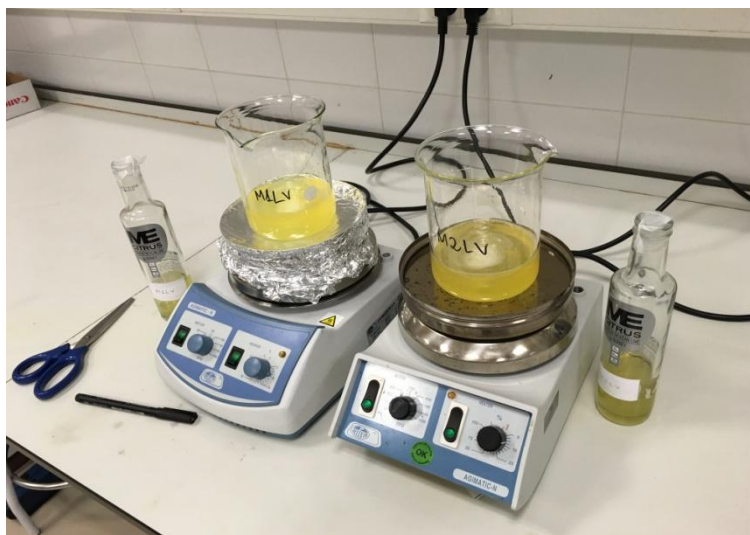


Figura 10. Desgasificación muestras M1LV y M2LV.

A continuación se procederá a explicar de una forma más detallada cuales son los tratamientos de muestra sometidos a estudio.

1) Digestión por microondas.

El procedimiento se basa en añadir en los tubos especiales del digestor 5 mL de muestra de zumo de frutas y 3mL de HNO_3 concentrado (al 65%). Finalmente, la disolución final contenía un volumen de 8mL.

Esta disolución se realizó en una campana extractora de gases, debido a la toxicidad que presenta el HNO_3 .

Al añadir los 3mL HNO_3 de a la muestra de zumo de frutas, éste perdía su tonalidad y quedaba transparente o verdoso. Este cambio de color tras la adición del HNO_3 se puede observar en la *Figura 11*, que muestra el antes y el después de añadir el ácido.

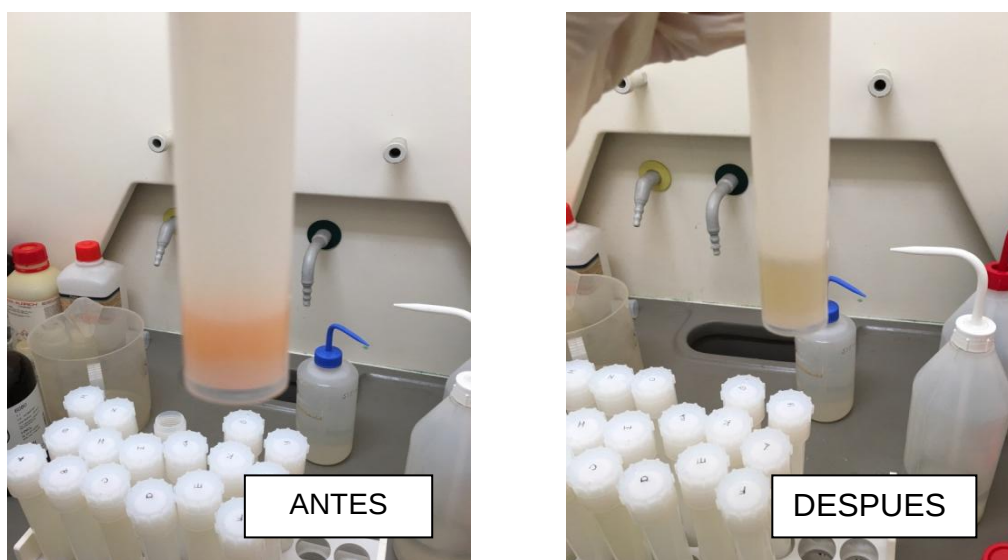


Figura 11. Estado de las muestras de zumo antes y después de añadir HNO_3 .

Una vez preparadas todas las disoluciones se deben llevar al digestor.

Previamente se han seleccionado los parámetros de temperatura, potencia y tiempo para llevar a cabo el proceso. Se realizó una rampa de temperatura, para que ésta fuese subiendo en el digestor de forma progresiva.

Se debe hacer una pequeña anotación. El digestor utilizado sólo presenta estos valores de potencia para seleccionar: (400/800/1600) W. De modo que para elegir la potencia impuesta en el método seguido [Juranovic, I. y col; 2011], se tuvieron que hacer unos cambios en la configuración del digestor. Simplemente se aplicaron a las potencias impuestas en el digestor, un % adecuado para obtener la potencia que se busca. [Juranovic, I. y col; 2011]

En la *Tabla 35*, se indican los parámetros seleccionados en el digestor a la hora de hacer el tratamiento de muestras por microondas.

Temperatura (°C)	Tiempo rampa (min)	Tiempo (min)	Potencia digestor (W)	%	Potencia seleccionada (W)
85	5	3	800	88	704
125	5	5	800	63	504
160	5	4.30	1600	64	1024
160	5	17.30	1600	64	1024
0	5	0	0		

Tabla 35. Parámetros seleccionados en el digestor por microondas.

Tras terminar el tratamiento en el digestor se obtienen tres gráficas donde se representa en cada una :

- ✓ Gráfica 1: Temperatura frente al tiempo. Aquí se ve perfectamente como poco a poco va subiendo la temperatura progresivamente, observándose la rampa seleccionada de temperatura.
- ✓ Gráfica 2: Presión frente al tiempo. Esta gráfica no presenta datos ya que no hemos impuesto ningún parámetro de presión en el proceso de digestión de las muestras.
- ✓ Gráfica 3: Potencia frente al tiempo.

El volumen obtenido de muestra tras el tratamiento se llevó a 20mL. Esta dilución se hizo añadiendo agua y midiendo en gramos la cantidad de agua que se va añadiendo. Esta dilución, se llevó a cabo con agua destilada o miliQ. Quedando así las muestras listas para su análisis en el ICP-MS.

2) Dilución con HNO₃ al 2% y centrifugación.

Consiste en un tratamiento donde se lleva a cabo una dilución con HNO₃ y una posterior centrifugación [Szymczycha-Madeja, A. y col; 2013].

Con este tratamiento se pretende estudiar con cuál de las cuatro diluciones realizadas con HNO₃ al 2% se extrae una mayor concentración de metales y por tanto ver cual resulta más efectiva.

En la *Tabla 36*, se describe con detalle cómo se han llevado a cabo las diluciones en el tratamiento P2, cuales son las muestras implicadas y su correspondiente codificación.

Dilución	Muestra	mL HNO ₃ al 2% y mL de muestra
1:1	1	4ml de muestra y 4ml de HNO ₃ al 2%.
	2	
	3	
	4	
1:5	5	1ml de muestra y 5ml de HNO ₃ al 2%.
	6	
	7	
	8	
1:10	9	0.5ml de muestra y 5ml de HNO ₃ al 2%.
	10	
	11	
	12	
1:20	13	0.25ml de muestra y 5ml de HNO ₃ al 2%.
	14	
	15	
	16	

Tabla 36. Diluciones tratamiento P2.

Seguidamente, tras la realización de las diluciones correspondientes, se procedió a su centrifugación. Para llevarla a cabo, las variables seleccionadas en la centrifuga son [Szymczycha-Madeja, A. y col; 2013]:

- rpm: 12000
- Tiempo: 10 minutos
- Temperatura: 18 grados centígrados.

En general todas las muestras se centrifugaron correctamente, pero las muestras con dilución 1:1 no. Por lo que se sometieron las muestras 1,2 ,3 y 4 dos veces al proceso de centrifugación con los mismos parámetros seleccionados que la primera vez.

Una vez llevada a cabo la centrifugación, las muestras están listas para ser analizadas en el ICP-MS.

3) Centrifugación directa.

Este tratamiento es el más sencillo de todos, ya que consiste simplemente en una centrifugación directa [Szymczycha-Madeja, A. y col; 2013].

Se tomaron 8 mL de muestra y se sometieron a una centrifugación con las siguientes características [Szymczycha-Madeja, A. y col; 2013]:

- rpm: 12000.
- Tiempo: 10 minutos.
- Temperatura: 18 grados centígrados.

Una vez realizada la centrifugación las muestras ya estaban listas para ser analizadas en el ICP-MS.

2.4. Análisis químico

El análisis químico ha sido llevado a cabo mediante el ICP-MS y con él se ha conseguido determinar la concentración de ciertos elementos en las muestras de zumo, tratadas previamente con los tratamientos P1, P2 y P4.

Los elementos de los cuales se ha determinado su concentración son los siguientes: : ^{23}Na , ^{24}Mg , ^{27}Al , ^{39}K , ^{43}Ca , ^{53}Cr , ^{55}Mn , ^{57}Fe , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{88}Sr , ^{107}Ag , ^{111}Cd , ^{121}Sb , ^{137}Ba , ^{208}Pb .

Las disoluciones de trabajo han sido preparadas por dilución de la disolución multipatrón en agua purificada con un Sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) y conservadas en frigorífico (5 °C).

Los resultados obtenidos por el análisis realizado con el ICP-MS nos dan la concentración en mg/L. Después se realizaron los correspondientes cálculos para obtener la concentración real de los elementos en las muestras de zumo, que se muestran el apartado siguiente.

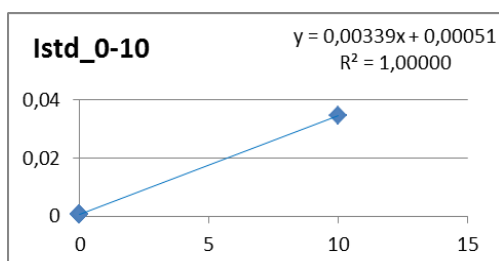
3. RESULTADOS

3.1. Parámetros analíticos del método

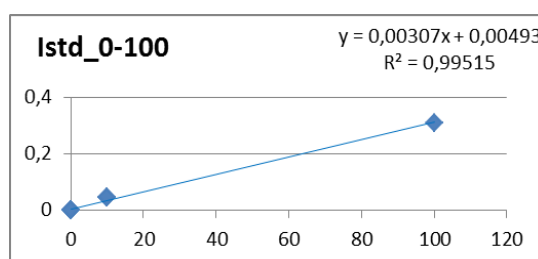
3.1.1. Rango dinámico lineal

El rango dinámico lineal consiste en *el intervalo de concentración del analito en el que la señal analítica registrada es proporcional a la concentración*.

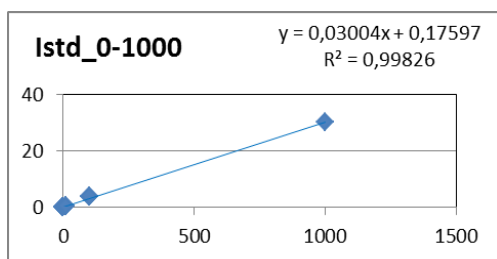
Para ello, ha sido necesario disponer de las disoluciones de trabajo preparadas por dilución, a partir de la disolución multipatrón en agua purificada con un Sistema Milli-Q, para los distintos intervalos lineales de concentración, 1 a 10000 µg/L (Ca, Mg, K y Na), 1 a 1000 µg/L (Al, Fe, Sr y Ni), 1 a 100 µg/L (Cr, Ba, Cu, Mn Pb y Zn) y 0.5 a 10 µg/L, (Cd, Co, Ag y Sb). Los valores de los coeficientes de regresión han estado comprendidos entre 0.9881 y 0.9971, a modo de ejemplo en la *Figura 12*, se muestra una recta de calibrado para un elemento correspondiente a cada intervalo lineal.



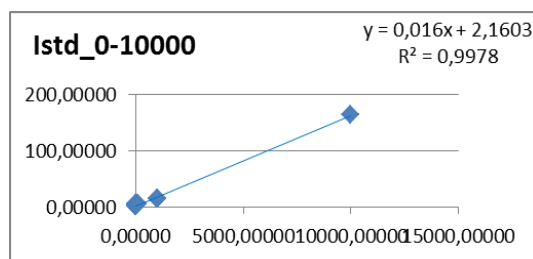
a. Cd



b. Cr



c. Sr



d. Na

Figura 12. Coeficientes de regresión (Cd, Cr, Na y Sr).

3.1.2. Límite de detección y cuantificación

El límite de detección es *la menor cantidad de analito que puede diferenciarse del blanco* [Skoog, D. y col; 2008].

Un criterio muy utilizado para que la concentración mínima detectable sea distinguible con certeza del ruido de fondo es que la señal igual a tres veces la desviación estándar de la señal de los blancos:

$$(S_A)_{LD} = S_B + 3\sigma_B$$

El límite de cuantificación es la menor cantidad de analito que puede cuantificarse con suficiente fiabilidad. Suele definirse en función del L_D , siendo siempre mayor, por ejemplo tres veces el límite de detección. [Skoog, D. y col; 2008].

Los valores de los límites de detección y cuantificación para los analitos en estudio, han estado comprendidos entre 0.08-1500 $\mu\text{g/L}$ y 0.26-8400 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

3.1.3. Precisión

Una propiedad analítica básica es la precisión, que se define como *grado de concordancia entre una serie de resultados obtenidos al aplicar repetitiva e independientemente el mismo método analítico a alícuotas de la misma muestra*. [Skoog, D. y col; 2008].

La evaluación de la precisión se realiza mediante parámetros estadísticos que miden la dispersión de los resultados. Estos parámetros estadísticos son los siguientes:

- Desviación estándar.

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

- Varianza.

$$v = \sigma_{n-1}^2$$

- Desviación estándar relativa en % (o CV coeficiente de variación).

$$CV = \frac{\sigma_{n-1}}{\bar{x}} * 100$$

En este Trabajo Fin de Grado, la precisión se ha expresado como coeficiente variacional y se ha calculado para distintos niveles de concentración en función del intervalo lineal de la recta de calibrado, que se muestran en la *Tabla 37*.

3.1.4. Exactitud

La exactitud se define como *el grado de concordancia entre una media y el valor real (o aceptado como verdadero)*. [Skoog, D. y col; 2008].

Para poder evaluar la exactitud de un método es necesario determinar la precisión y la veracidad, *grado de coincidencia entre el valor medio obtenido de una serie muy numerosa de réplicas y un valor aceptado como referencia*, ya que depende de ambos.

La exactitud se ha obtenido teniendo en cuenta el método de recuperación para distintas concentraciones de los analitos que se muestran en la *Tabla 37*, así como los valores medios de recuperación para todos los intervalos.

Intervalo lineal (µg/L)	Niveles de concentración (µg/L)	CV %	% Recuperación
1- 10000	5000 100	1.40- 2.78	99.60 - 108
1 - 1000	500 100		
1- 100	50 10		
0.5 - 10	5 0.5	< 5.03	

Tabla 37. Exactitud y precisión del método

3.2. Discusión del análisis químico

Una vez realizado el análisis mediante ICP-MS de todas las muestras de zumo, la discusión de los resultados obtenidos se va a plantear bajo distintos aspectos, dado el número tan elevado de analitos (18), los tres tratamientos químicos para las muestras (P1, P2 y P4), así como la variedad de zumos (limón, naranja y natural) y los distintos materiales de los envases.

Antes de iniciar el estudio de discusión, hay que indicar que los valores netos de las concentraciones encontradas, dependerán de distintas variables como, materia prima, proceso de elaboración, almacenamiento... , por lo que solo se comparan las cantidades encontradas para los elementos en los zumos que se han tratado de distinta manera.

En primer lugar en las siguientes *Tablas 38-42*, se muestran los resultados para todos los elementos minerales analizados, por zumo y tratamiento de muestras, ordenados en orden creciente de su masa atómica y expresados como el valor medio de las tres réplicas y su desviación típica.

Masa atómica y Elemento	MUESTRAS LIMON			
	P1LV	P1LP	P1LL	P1LN
23Na(mg/L)	7.519±1.136	46.109±23.077	130.932±6.680	35.417±30.071
24Mg(mg/L)	1.763±0.935	5.902±3.047	5.771±2.895	81.917±41.812
27Al(µg/L)	11.519±6.542	20.529±1.144	95.827±10.071	51.218±12.102
32K(mg/L)	2.190±0.414	177.064±3.140	174.926±9.798	ND
43Ca(mg/L)	2.245±0.463	4.336±0.069	2.871±0.187	64.931±2.747
53Cr(µg/L)	1.061±0.327	1.248±0.003	1.980±0.199	6.308±0.046
55Mn (µg/L)	10.841±1.987	6.794±0.058	14.845±2.249	82.042±14.023
57Fe(mg/L)	0.010±0.005	0.016±8.527E-4	1.697±1.407	1.689±1.287
59Co(µg/L)	0.814±0.359	0.691±0.136	0.858±0.150	3.368±1.471
60Ni(mg/L)	0.068±0.065	0.024±0.008	7.070E-3±1.900E-3	0.781±0.739
63Cu(µg/L)	3.534±0.046	2.818±0.069	4.027±0.085	42.221±2.764
66Zn(µg/L)	1.026±0.027	1.621±0.311	1.403±0.033	22.466±0.897
88Sr(mg/L)	0.038±5.022E-3	0.055±1.619E-3	0.082±4.083E-3	0.739±0.122
107Ag(µg/L)	1.094±0.397	0.646±0.279	0.653±0.180	1.116±0.476
111Cd(µg/L)	0.106±0.003	0.093±0.028	0.086±0.075	1.614±1.451
121Sb(µg/L)	0.271±0.012	0.936±0.005	0.488±0.094	1.471±0.588
137Ba(µg/L)	22.343±2.744	15.619±0.207	10.029±0.779	23.860±3.979
208Pb(µg/L)	2.934±1.867	1.476±0.447	0.718±0.023	3.210±0.908

Tabla 38. Resultados obtenidos para muestras de limón en P1.

ND: No detectado.

Masa atómica y Elemento	MUESTRAS NARANJA				
	P1NV	P1NP	P1NL	P1NT	P1NN
23Na(mg/L)	7.033±0.024	560.918±24.979	6.017±0.234	24.939±1.791	3.971±0.200
24Mg(mg/L)	1.507±0.763	13.153±6.596	8.803±4.409	29.803±15.012	100.029±50.072
27Al(μg/L)	8.281±0.601	95.199±30.698	12.227±0.302	1053.219±1030.7501	10.259±2.507
32K(mg/L)	1.819±0.023	263.424±11.762	260.480±8.981	1.018E3±70.119	1.084E3±1.088E3
43Ca(mg/L)	2.021±0.083	13.529±9.729	3.750±0.049	34.740±2.166	90.152±0.959
53Cr(μg/L)	1.237±0.160	2.584±0.217	0.948±0.052	2.555±0.082	2.406±0.510
55Mn (μg/L)	4.951±0.860	15.591±0.580	17.204±0.417	85.834±4.079	75.746±7.146
57Fe(mg/L)	0.017±0.003	0.142±0.003	0.019±7.560E-4	0.236±0.009	0.565±0.097
59Co(μg/L)	0.981±0.602	2.146±1.049	0.829±0.083	1.554±0.129	1.043±0.205
60Ni(mg/L)	0.015±5.502E-3	0.175±0.171	4.810E-3±2.474E-3	0.018±0.013	0.015±0.005
63Cu(μg/L)	3.180±0.159	7.698±0.650	7.923±1.029	12.315±0.0225	31.394±9.787
66Zn(μg/L)	1.172±0.022	1.679±0.017	2.082±0.453	5.439±.0015	10.139±1.594
88Sr(mg/L)	0.028±3.371E-3	0.074±3.573E-3	0.025±1.796E-4	0.099±3.002E-3	0.495±0.120
107Ag(μg/L)	0.305±0.014	0.413±0.029	0.312±0.009	0.561±0.046	0.501±0.030
111Cd(μg/L)	0.055±0.036	0.030±0.010	0.067±0.020	0.989±0.034	0.227±0.002
121Sb(μg/L)	0.292±0.008	0.605±0.010	0.637±0.021	2.708±0.020	0.472±0.062
137Ba(μg/L)	15.915±1.220	13.776±1.245	15.356±0.405	47.888±0.311	18.989±1.128
208Pb(μg/L)	2.252±0.905	1.136±0.266	108.096±102.438	0.869±0.081	1.686±0.299

Tabla 39. Resultados obtenidos para muestras de naranja en P1.

En cuanto a los resultados de las *Tablas 38-39*, para el tratamiento P1, los elementos que presentan mayor concentración son los macronutrientes, Na, K y Mg, y de los oligoelementos o micronutrientes, Fe y Ni, que se destacan en las mismas.

En segundo lugar, la comparación para el tratamiento P4 de las *Tablas 40-41*, arroja las mismas conclusiones siendo la del Ni, la mayor de todos independientemente del tipo de zumo considerado.

Masa atómica y Elemento	MUESTRAS LIMON			
	P4LV	P4LP	P4LL	P4LN
23Na(mg/L)	10.827 ± 0.702	50.343±1.810	138.633±1.153	46.608±39.199
24Mg(mg/L)	2.188±1.099	6.517±3.362	6.069±3.037	95.679±47.958
27Al(μg/L)	12.887±1.170	21.818±0.989	97.461±3.766	54.253±17.581
32K(mg/L)	11.499±0.534	189.356±1.353	179.798±4.113	ND
43Ca(mg/L)	7.587±0.780	10.321±0.063	6.976±0.207	90.617±16.797
53Cr(μg/L)	12.490±0.748	10.161±0.022	10.196±0.034	12.306±0.964
55Mn (μg/L)	14.559±0.744	6.644±0.019	14.242±1.644	101.608±29.553
57Fe(mg/L)	0.022±0.012	0.010±4.809E-4	1.596±1.126	1.991±1.330
59Co(μg/L)	0.119±0.001	0.237±0.028	0.412±0.106	3.201±1.388
60Ni(mg/L)	5.481E-4±2.729E-5	5.978E-4±9.689E-5	5.555E-4±1.080E-5	6.424E-3±1.706E-3
63Cu(μg/L)	2.351±0.263	1.668±0.095	2.967±0.755	43.558±0.358
66Zn(μg/L)	1.709±0.005	1.581±0.076	1.663±0.429	28.261±0.038
88Sr(mg/L)	0.049±3.619E-3	0.058±5.342E-4	0.091±8.043E-5	0.948±0.064
107Ag(μg/L)	0.027±0.019	3.327E-3±2.939E-4	0.168±0.163	0.204±0.089
111Cd(μg/L)	0.047±2.149E-3	0.059±7.263E-3	0.253±0.192	2.165±1.791
121Sb(μg/L)	0.509±0.348	0.983±3.838E-3	0.392±0.011	1.674±0.695
137Ba(μg/L)	27.381±0.401	16.203±1.220	9.065±0.011	26.042±7.359
208Pb(μg/L)	2.525±0.637	1.518±0.301	1.867±0.117	8.199±3.570

Tabla 40. Resultados obtenidos para muestras de limón en P4.

ND: No detectado.

Masa atómica y Elemento	MUESTRAS NARANJA				
	P4NV	P4NP	P4NL	P4NT	P4NN
23Na(mg/L)	8.153±1.163	ND	6.971±0.399	22.660±0.338	3.137±0.032
24Mg(mg/L)	1.532±0.808	11.255±5.428	10.059±5.428	27.002±13.505	89.175±44.594
27Al(μg/L)	8.434±2.052	13.144±1.764	8.545±0.610	11.609±0.319	2.112±0.516
32K(mg/L)	7.240±1.324	232.033±18.237	286.911±13.179	ND	ND
43Ca(mg/L)	5.213±0.765	22.005±2.052	9.958±0.552	33.151±0.765	74.246±4.621
53Cr(μg/L)	12.373±0.641	10.930±0.487	19.668±1.433	15.977±0.965	14.242±0.541
55Mn (μg/L)	5,254±1,795	13,354±0,730	18,558±0,856	80,021±0,076	58,842±3,735
57Fe(mg/L)	0.022±0.017	0.101±0.007	0.053±9.032E-4	0.236±0.009	0.565±0.097
59Co(μg/L)	0.126±0.021	0.285±0.022	0.375±0.109	0.572±0.019	1.043±0.205
60Ni(mg/L)	2.565E-3±2.153E-3	1.704E-3±5.835E-4	1.410E-3±2.258E-4	1.159E-3±3.071E-5	3.161E-3±3.165E-4
63Cu(μg/L)	2.189±0.302	10.496±1.255	6.982±0.044	8.630±0.306	23.381±5.855
66Zn(μg/L)	1.583±0.028	2.413±1.065	2.999±0.174	5.306±0.001	9.231±0.621
88Sr(mg/L)	0.031±5.960E-3	0.082±8.266E-3	0.028±2.023E-3	0.101±7.594E-4	0.315±0.022
107Ag(μg/L)	7.038E-3±5.677E-3	6.711E-3±4.56E-4	0.149±0.079	5.833E-3±6.314E-3	0.117±0.097
111Cd(μg/L)	0.045±0.025	0.095±0.036	0.224±0.099	0.872±0.009	0.239±0.180
121Sb(μg/L)	0.144±0.065	0.463±5.043E-4	0.516±0.017	2.732±0.013	0.210±0.071
137Ba(μg/L)	16.275±2.689	13.837±1.392	14.588±0.699	45.711±0.732	8.775±0.809
208Pb(μg/L)	1.805±0.286	1.124±0.494	156.042±149.882	0.268±0.017	0.542±0.232

Tabla 41. Resultados obtenidos para muestras de naranja en P4.

ND: No detectado.

Por último para el tratamiento P2, aunque se han realizado distintas diluciones para el ácido nítrico, a vista de los resultados obtenidos, se optó por trabajar con la dilución 1:1, que presentaba valores más elevados de extracción.

En este caso, se ha considerado la muestra envasada en PET, y se puede comprobar cómo los resultados de los elementos de mayor concentración coinciden.

P2. Dilución 1:1 (Muestra P2NP)	
Masa atómica y Elemento	Concentración
23Na(mg/L)	448.372 ± 50.714
24Mg(mg/L)	11.196 ± 0.876
27Al(µg/L)	17.511 ± 3.903
32K(mg/L)	235.511 ± 13.002
43Ca(mg/L)	22.013 ± 1.586
53Cr(µg/L)	8.762 ± 0.506
55Mn (µg/L)	14.008 ± 0.610
57Fe(mg/L)	0.081 ± 7.277E-3
59Co(µg/L)	0.426 ± 0.078
60Ni(mg/L)	1.657E-3 ± 3.898E-4
63Cu(µg/L)	7.383 ± 0.934
66Zn(µg/L)	5.700 ± 1.274
88Sr(mg/L)	0.078 ± 5.063E-3
107Ag(µg/L)	0.043 ± 0.014
111Cd(µg/L)	0.298 ± 0.039
121Sb(µg/L)	0.441 ± 0.032
137Ba(µg/L)	14.505 ± 0.896
208Pb(µg/L)	4.336 ± 0.816

Tabla 42. Resultados obtenidos para la muestra P2NP por dilución 1:1.

Con esto, podemos concluir este apartado de discusión, que todos los tratamientos aplicados independientemente de la naturaleza de los zumos y distintos envases, repiten los elementos de mayor concentración presentes en las muestras

En la *Tablas 43-44*, se muestran como resumen, los intervalos de concentración de todos los analitos, considerando el total de zumos analizados, así todos los tratamientos aplicados.

TRATAMIENTO DIGESTIÓN POR MICROONDAS		
	Muestras limón	Muestras naranja
Masa atómica y Elemento	Intervalo de concentración	Intervalo de concentración
23Na(mg/L)	[130.932 – 7.519]	[560.918 – 3.971]
24Mg(mg/L)	[81.917 – 1.763]	[100.029 – 1.507]
27Al(μg/L)	[95.827– 11.519]	[1053.219 – 8.281]
32K(mg/L)	[177.064 – 0]	[1.084E3 – 1.819]
43Ca(mg/L)	[64.931 – 2.245]	[90.152 – 2.021]
53Cr(μg/L)	[6.308 –1.061]	[2.584 – 0.948]
55Mn (μg/L)	[82.042 – 6.794]	[85.834 – 4.951]
57Fe(mg/L)	[1.697 – 0.010]	[0.565 – 0.017]
59Co(μg/L)	[3.368 – 0.691]	[2.146 – 0.829]
60Ni(mg/L)	[0.781 – 7.070E-3]	[0.175 – 4.810E-3]
63Cu(μg/L)	[42.221 – 2.818]	[31.394 – 3.180]
66Zn(μg/L)	[22.466 – 1.026]	[10.139 – 1.172]
88Sr(mg/L)	[0.739 – 0.038]	[(0.495 – 0.025]
107Ag(μg/L)	[1.116 – 0.646]	[0.561 – 0.305]
111Cd(μg/L)	[1.614 – 0.086]	[0.989 – 0.030]
121Sb(μg/L)	[1.471 – 0.271]	[2.708 – 0.292]
137Ba(μg/L)	[23.860 – 10.029]	[47.888 – 13.776]
208Pb(μg/L)	[3.210 – 0.718]	[108.096 – 0.869]

Tabla 43. Intervalos de concentración de los analitos en P1.

TRATAMIENTO CENTRIFUGACIÓN DIRECTA		
	Muestras limón	Muestras naranja
Masa atómica y Elemento	Intervalo de concentración	Intervalo de concentración
23Na(mg/L)	[138.633 – 10.827]	[22.660 – 0]
24Mg(mg/L)	[95.679 – 2.188]	[89.175 – 1.532]
27Al(μg/L)	[97.461 – 12.887]	[13.144 – 2.112]
32K(mg/L)	[189.356 - 0]	[286.911 – 0]
43Ca(mg/L)	[90.617 – 6.976]	[74.246 – 5,213]
53Cr(μg/L)	[12.490 – 10.161]	[19.668 – 10.930]
55Mn (μg/L)	[101.608 – 6.644]	[80.021 – 5.254]
57Fe(mg/L)	[1.991 – 0.010]	[0.565 – 0.022]
59Co(μg/L)	[3.201 – 0.119]	[1.043 – 0.126]
60Ni(mg/L)	[6.424E-3 – 5.481E-4]	[3.161E-3 – 1.159E-3]
63Cu(μg/L)	[43.558 – 1.668]	[23.381 – 2.189]
66Zn(μg/L)	[28.261 – 1.581]	[9,231 – 1.583]
88Sr(mg/L)	[0.948 – 0.049]	[0.315 – 0.028]
107Ag(μg/L)	[0.204 – 3.327E-3]	[0.149 – 5.833E-3]
111Cd(μg/L)	[2.165 – 0.047]	[0.872 – 0.045]
121Sb(μg/L)	[1.674 – 0.392]	[2.732 – 0.144]
137Ba(μg/L)	[27.381 – 9.065]	[45.711 – 8.775]
208Pb(μg/L)	[8.199 – 1.867]	[156.042 – 0.268]

Tabla 44. Intervalos de concentración de los analitos en P4.

A continuación se pasa a la discusión de un estudio más detallado, teniendo en cuenta la siguiente clasificación para los elementos estudiados.

- ✓ Nutrientes mayoritarios: Na, Mg, K, Ca y Ba.
- ✓ Micronutrientes: Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, y Al.
- ✓ Tóxicos: Ag, Cd, Pb y Sb.

También hay que indicar que este estudio, solo se ha realizado para el tratamiento P1, llevado a cabo en el digestor de microondas, por ser el método que actualmente más se emplea para digestiones de muestras de alimentos, por la ventajas que ofrece, (sencillez, rapidez, alto número de muestras.....).

3.2.1. Estudio comparativo de elementos mayoritarios

En este primer apartado se va a comentar la comparación de los elementos que son nutrientes mayoritarios, Na, K y Ca, en las muestras que están envasadas en vidrio y lata con el zumo natural, para observar la influencia que estos materiales tienen en la concentración de estos analitos de alto valor nutricional.

En la *Figura 13*, se puede encontrar la comparación descrita anteriormente para las muestras de limón y naranja. De esta forma podemos ver la concentración que presentan estos elementos mayoritarios en cada tipo de zumo y según su envase.

Observando las gráficas, se puede comentar en primer lugar que en el de naranja solo en el zumo de envase metálico y natural hay presencia de elementos, presentado el natural, concentraciones más elevadas, sin embargo en el de vidrio, no se detectan concentraciones apreciables. En contraposición, en el zumo de limón si hay presencia de estos elementos, pero al igual que antes, en el zumo envasado en vidrio las concentraciones son muy inferiores al envase metálico, que es mayor incluso al zumo natural. Esto se puede justificar con el hecho ya conocido, de la mejor protección que los envases metálicos suponen al alimento

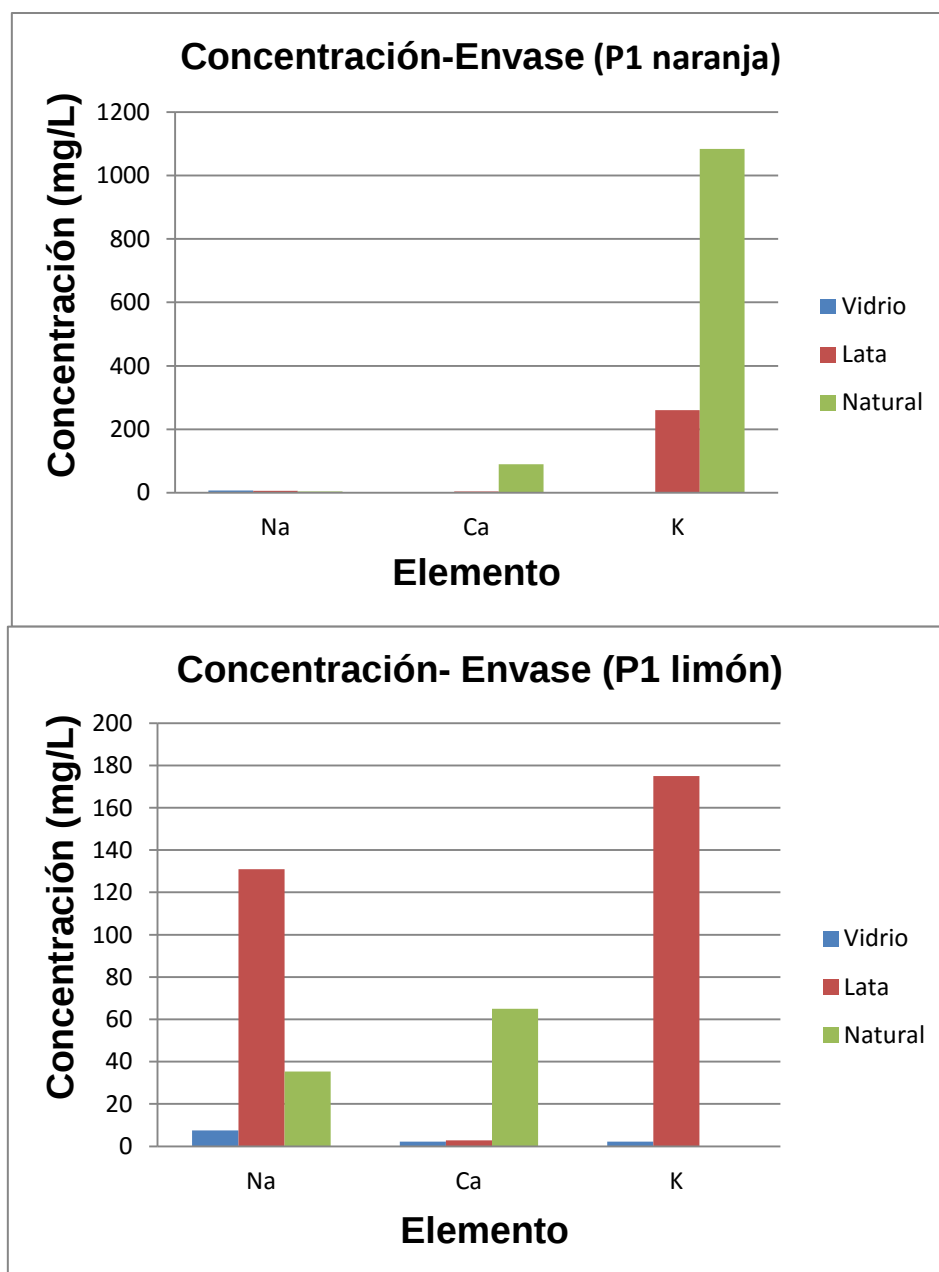


Figura 13. Concentración elementos mayoritarios en distintos zumos y envases.

3.2.2. Estudio de micronutrientes con carácter metálico

Dado que entre las muestras de zumo, hay envases metálicos, tanto para las muestras de limón como de naranja, es interesante la comparación entre la concentración de algunos de estos elementos y las del zumo natural.

Así se podría ver si existe una variación llamativa entre los resultados como consecuencia de alguna posible migración desde el envase al zumo de fruta.

Para ello se van a seleccionar los siguientes elementos: Al, Co, Cu, Cr, y Mn, que pueden estar presentes en la composición de los envases metálicos.

En la siguiente Figura 14, se ha representado la concentración de cada uno de estos elementos, en función de si el envase es de lata o es natural. Se ha llevado a cabo tanto para las muestras de limón como de naranja. Las muestras seleccionadas son aquellas sometidas al tratamiento de digestión por microondas (P1).

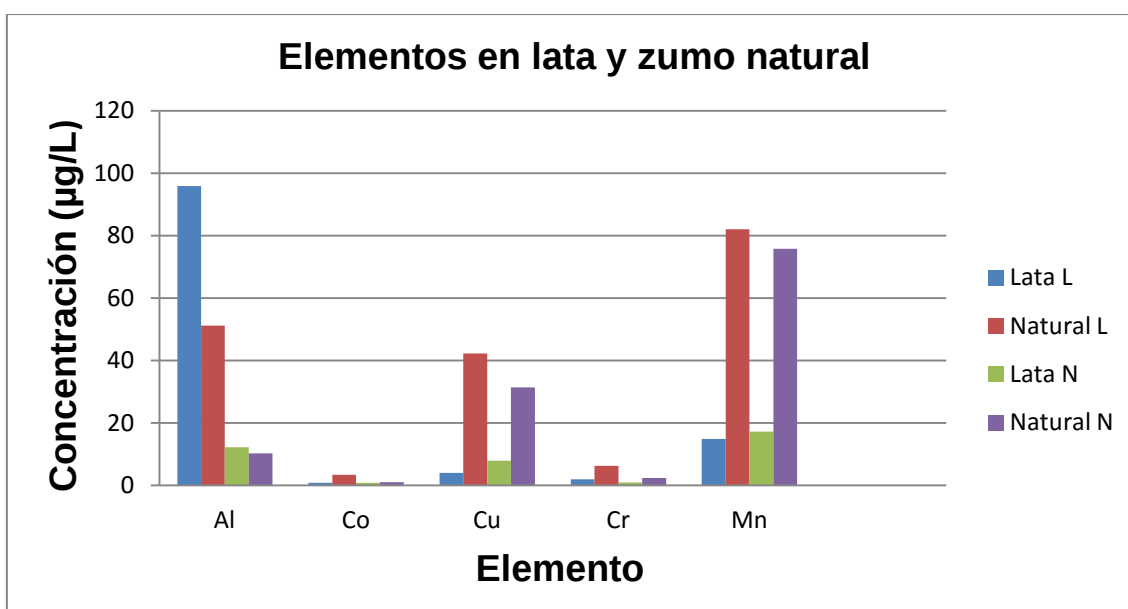


Figura 14. Variación de la concentración en función del envase (Lata o Natural) para P1.

Observando la Figura 14, se puede comprobar que en todos los casos, salvo para el aluminio, las concentraciones de estos micronutrientes en los zumos naturales es superior a lo envasados en lata. Se puede intentar una explicación, a través del fenómeno de migración del envase metálico al zumo, en base, al período, condiciones y tiempo de almacenamiento, que haya dado lugar a esas concentraciones más elevadas, sobre los otros elementos.

3.2.3. Influencia del tratamiento de muestra y naturaleza del envase

En este último apartado se va a plantear un estudio para los siguientes alimentos: Cd, Sb y Pb, por su destacado carácter tóxico y se van a realizar distintos estudios de comparación entre los resultados obtenidos, que son los que se muestran a continuación:

- Concentración de los elementos y el tratamiento de muestra.
 - Aplicación del mismo tratamiento para distintos envases.
 - Relación entre el tratamiento de la muestra y la naturaleza del envase.
-
- Concentración de los elementos y el tratamiento de muestra.

Para este estudio de concentración de los elementos y tratamiento de muestra, se eligen las muestras envasadas en PET, ya que son las más comercializadas. De esta forma se comprueba el efecto que los tres tratamientos tienen sobre la extracción de los analitos de las diferentes matrices de zumos analizadas.

La *Figura 15*, muestran los resultados obtenidos tras la realización de la comparación.

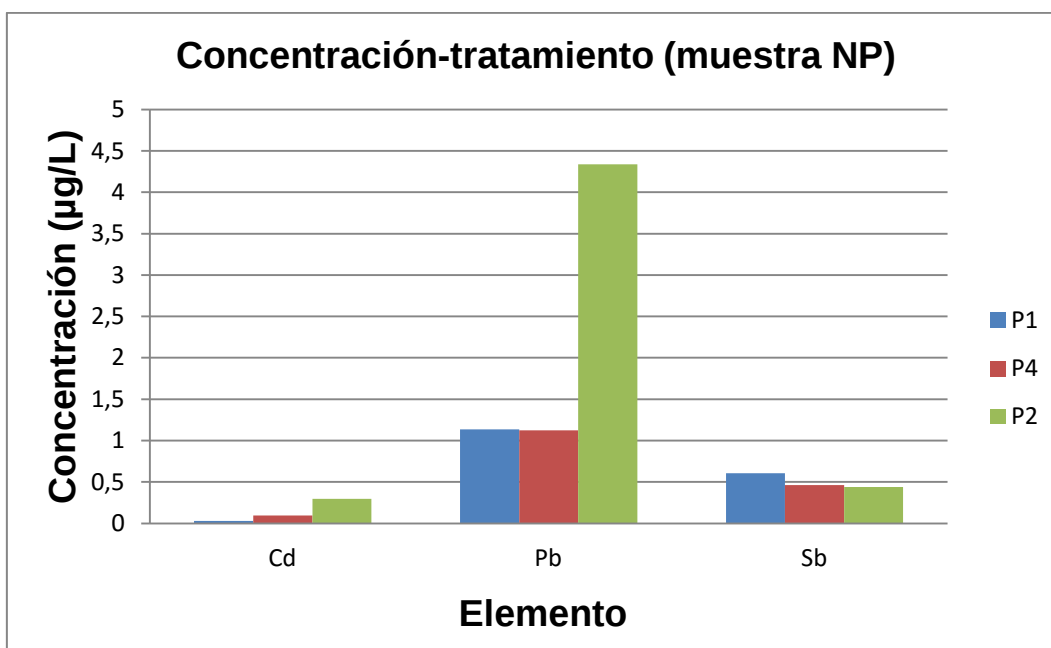


Figura 15. Comparación concentración de metales y tratamientos.

En la *Figura 15*, se puede observar como la extracción afecta a los niveles de concentración encontrados, contemplando que siempre el plomo es el que presenta mayor concentración, seguido del antimonio, cuyos valores varían menos entre ellos y por último el cadmio que son menores y con algo más de diferencia entre ellos. Si bien, hay que destacar que el plomo mediante el tratamiento P2, presenta resultados cuatro veces superiores a P1 y P4.

b. Aplicación del mismo tratamiento para distintos envases.

En segundo lugar, se ha querido contrastar, en el caso de un mismo tratamiento, si se producen variaciones en la concentración de los metales Cd, Sb y Sr en función del envase que almacene la muestra. Dicha comparación se ha llevado a cabo observando también los valores obtenidos del zumo natural.

En la siguiente figura, *Figura 16*, se observan los resultados obtenidos para el tratamiento P1 (Digestión por microondas) y para el P4 (Centrifugación directa). Los envases comparados son el plástico, la lata y la propia fruta natural.

Tanto para el tratamiento P4 como P1, el zumo de limón da resultados más altos que el de naranja, siendo preocupante que el zumo de limón natural para P4, presente valores más altos que en los envasados, no ocurriendo así en P1, que son resultados más razonables.

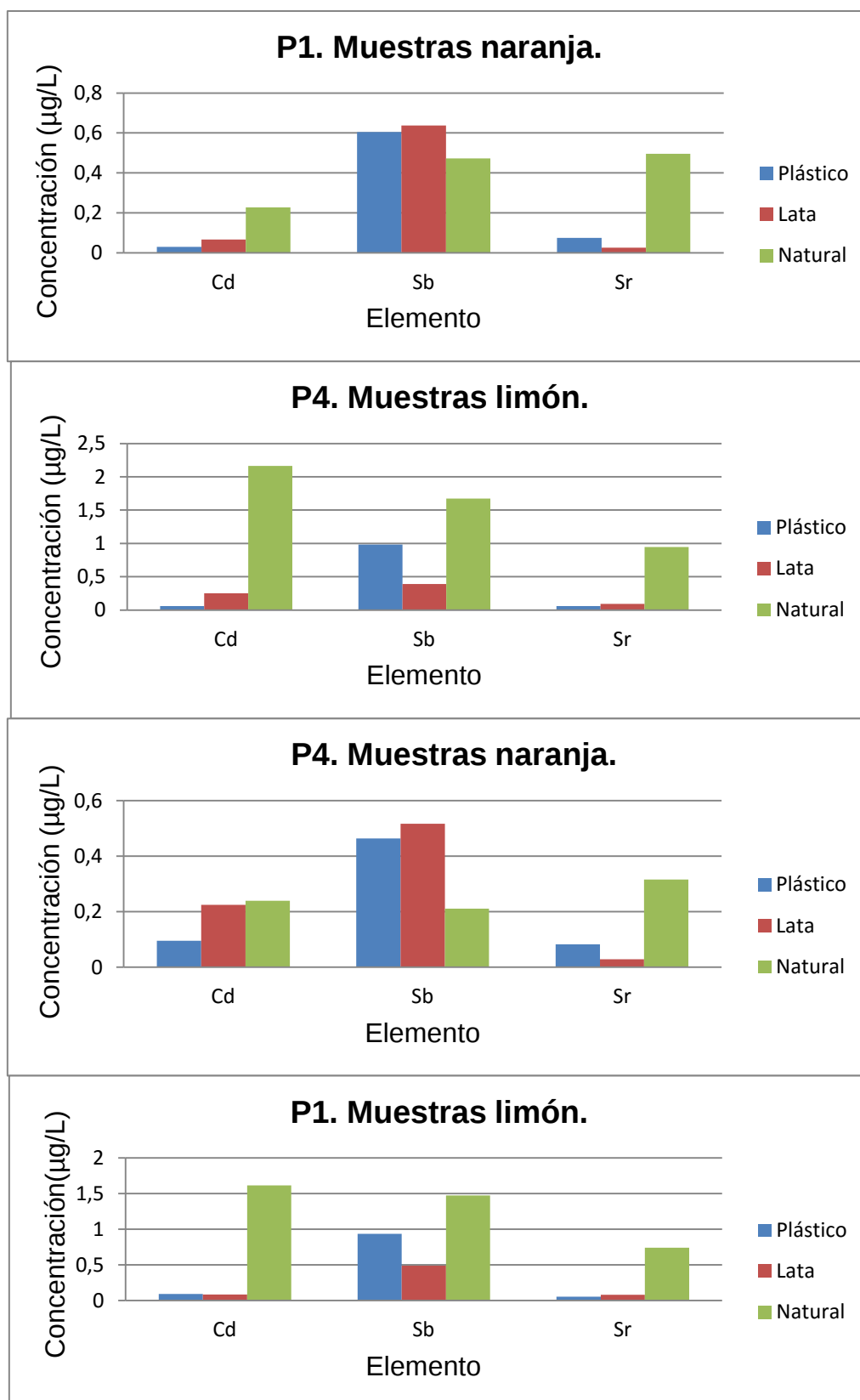


Figura 16. Concentración elementos en función del envase en P1 y P4.

c. Relación entre el tratamiento de la muestra y la naturaleza del envase.

En tercer y último lugar, se pretende ver, fijando el tipo de envase, con que tratamiento se extrae mayor concentración de los elementos. En este caso se realiza la comparación de los tratamientos P1 y P4 y los elementos Cd, Cr, Sb y Pb. Los envases con los que se lleva a cabo dicha comparación son, Lata, plástico (PET) y natural.

✓ Muestras de limón: Lata, plástico (PET) y natural.

En la *Figura 17*, se puede ver la concentración obtenida de los metales según el tratamiento y en función del envase en el que se encuentra la muestra.

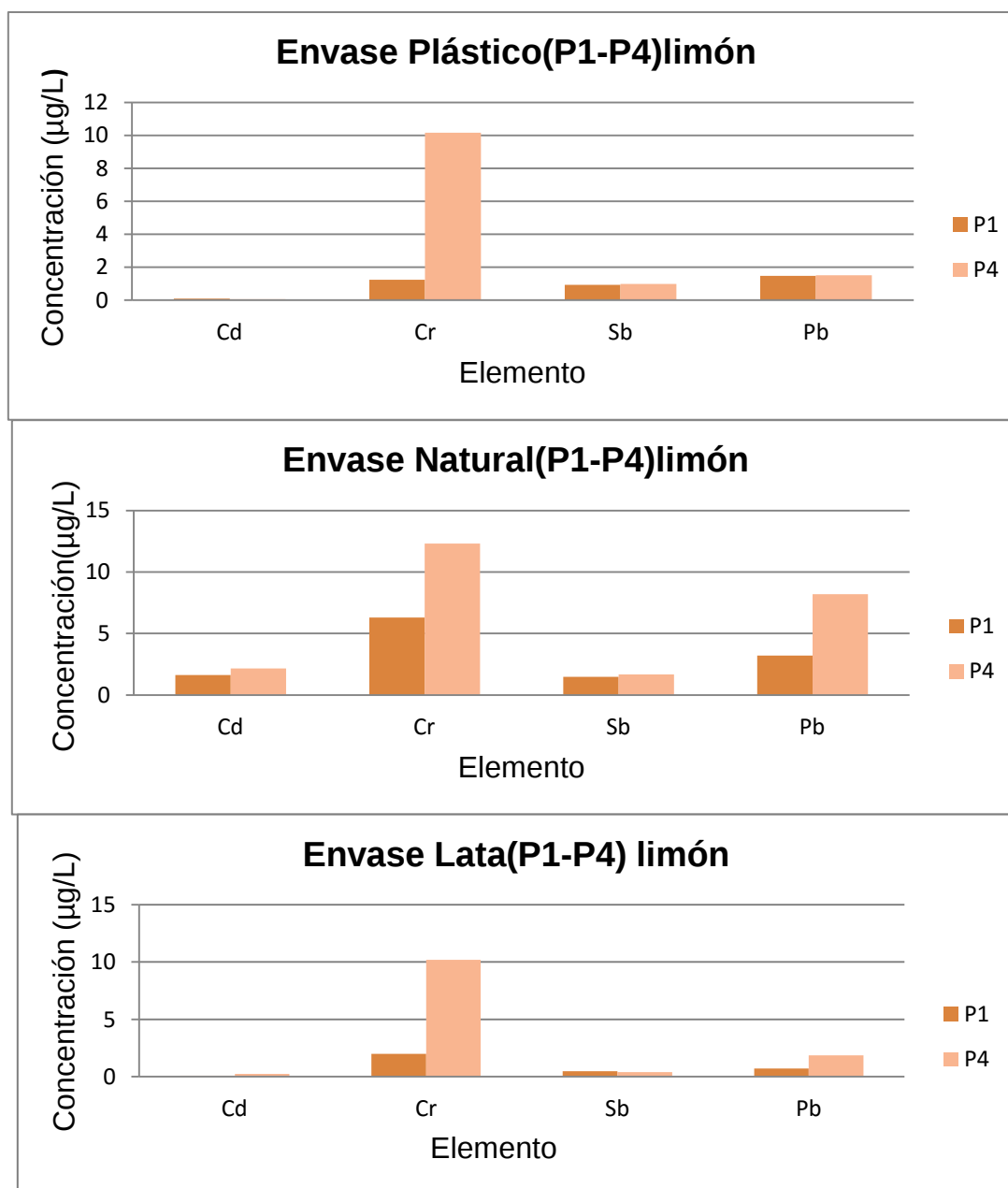


Figura 17. Comparación envases y concentración (LIMON).

✓ Muestras de naranja: Lata, plástico (PET), tetrabrick y natural.

En la *Figura 18*, al igual que en el caso de las muestras de limón, se puede observar la concentración obtenida de los metales según el tratamiento realizado y en función del envase.

En primer lugar para el zumo de limón con el natural, observando los resultados de los gráficos, para los envases de PET y metálico, el tratamiento

que más afecta es el P4 y al Cr y Pb, siendo cinco y diez veces superior la concentración, en comparación con P1, respectivamente.

En cuanto a la naturaleza de los zumos la extracción, en ambos tratamientos es más eficaz para el natural, con valores visiblemente más altos para el conjunto de todos los elementos, siendo los más elevados, en el caso del Cr y Pb.

Para el estudio del zumo natural y naranja en los tres tipos de envases, destacan la concentración de Cr para P4, llegando a ser hasta 10 veces superior en el envase metálico, resultados que parecen coherentes para este material de envasado en el que este elemento puede formar parte de su composición.

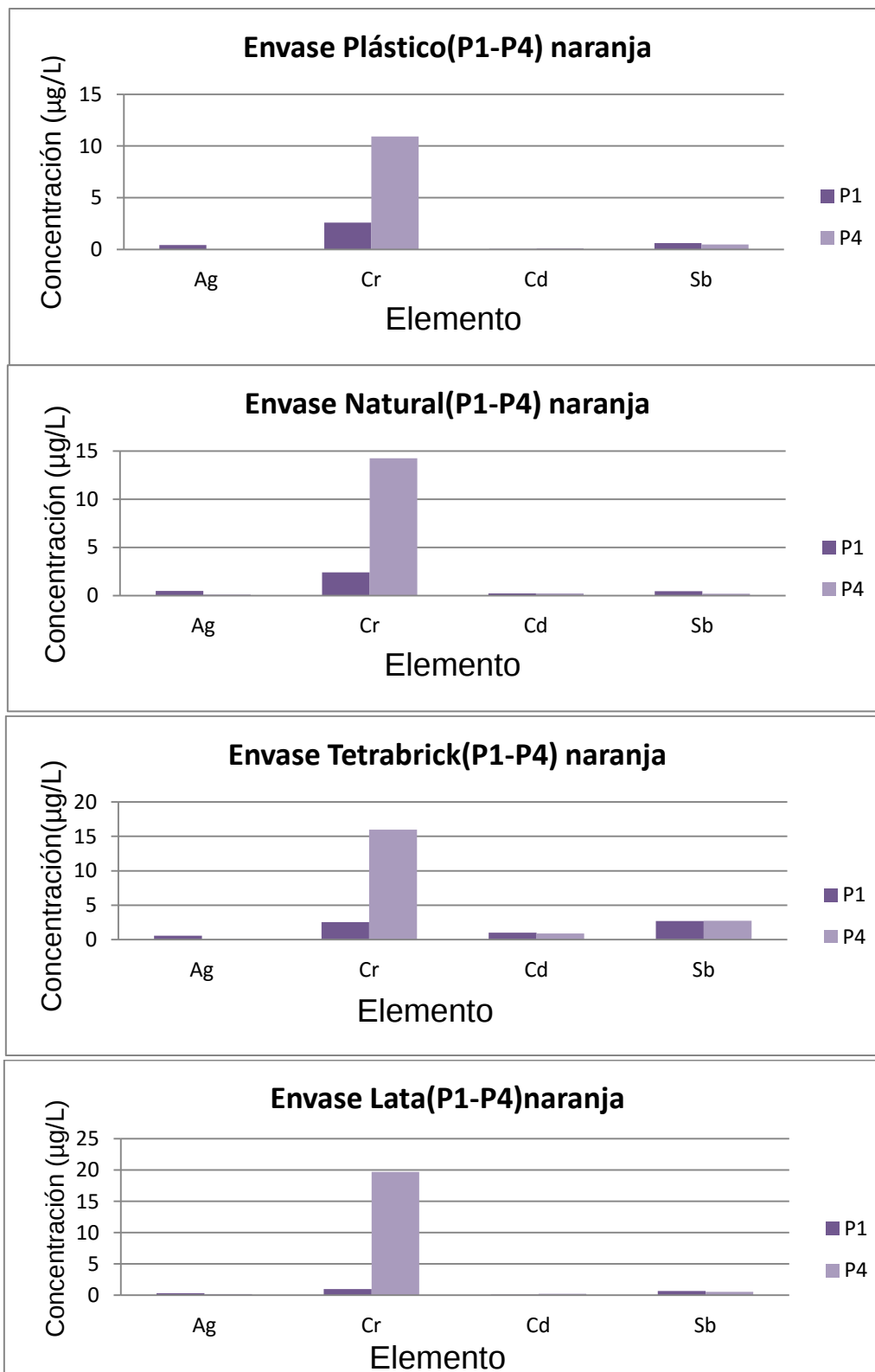


Figura 18. Comparación concentración en función de la muestra, tratamientos y envase.

4. CONCLUSIONES

En esta Memoria se va a concluir considerando distintos aspectos de la misma, en primer lugar comprobando que el trabajo desarrollado para la ejecución completa, desde sus inicios hasta su redacción y preparación de la defensa de la misma, han servido para adquirir destreza, habilidades y experiencia ante la resolución de un problema analítico.

No menos importante, son las conclusiones obtenidas sobre los resultados de la investigación científica realizada, los cuales muestran un gran interés para continuar trabajando en esta línea con más profundidad y tiempo.

En este aspecto se pueden considerar las siguientes conclusiones:

- Entre los tratamientos aplicados a las muestras, si bien existen diferencias entre los resultados de las cantidades extraídas, no resultan por general significativas.
- En el caso de los elementos nutrientes que se han comparado, para distintos envases, solo para los envases de vidrio, muestran concentraciones inferiores a los de metal, lo que podría indicar, diferencias en la protección del zumo.
- De todos los oligoelementos comparados, el aluminio presenta en los zumos en envases metálicos, niveles más altos, lo que se podría interpretar como una migración del envase al alimento.
- Para los elementos tóxicos estudiados los distintos tratamientos, solo muestran diferencias significativas para el plomo según el P2, siendo éste por tanto, el más eficaz.
- De la comparación de los distintos envases, (tres y el zumo natural) para los tratamientos P1 y P4 con los elementos tóxicos, el tratamiento P4, presenta resultados que para el caso del cromo en particular, pueden llegar a ser hasta diez veces mayores.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alonso Díaz Alberto (2014). Metales pesados. Revisión Agosto 2014.
- Aramendáriz Sanz José Luis (2012). Seguridad e higiene en la manipulación de los alimentos. Edit. Paraninfo.
- Bermejo Barrena Pilar (2010). Problemas derivados de la presencia de metales en alimentos.
- Cámara Carmen, Fernández Pilar, Martín-Esteban Antonio, Pérez-Conde Concepción, Vidal Miquel (2004). Toma y tratamiento de muestras. Edit. Síntesis.
- Cámara Carmen, Pérez-Conde Concepción (2012). Análisis químico de trazas. Edit. Síntesis.
- Faus Juan, Vallet Regí María, García-España Enrique, Moratal José (2003). Química Bioinorgánica. Edit. Síntesis.
- González Garcia Salvador, Niclós Gutiérrez Juan (2003). Química Bioinorgánica. Edit Reverté.
- Juranovic Cindric Iva, Zeiner Michaela, Kröppl Michaela, Stingeder Gerhard (2011). Comparison of simple preparation methods for the ICP-AES determination of minor and major elements in clarified Apple juices. Microchemical Journal.
- Mathon Yamila (2012). Apoyo al trabajo popular, envases y embalajes. Instituto Nacional de Tecnología Industrial.
- Méndez Batan Jesús (2001). Metales pesados en alimentación animal.
- Ríos Castro Ángel, Moreno Bondi María Cruz, Simonet Suau Bartolomé M. (2014). Técnicas espectroscópicas en química analítica. Volumen II. Espectrometría atómica, de iones y electrones. Edit. Síntesis.
- Rubio Armendáriz Carmen (2006). Ingesta dietética de contaminantes metálicos (Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Zn y Mn) en la Comunidad Autónoma Canaria. Evaluación toxicológica.

- Skoog Douglas A., Holler F. James, Nieman Timothy A. (2000). Principios de análisis instrumental. Edit Reverté.
- Szymczycha-Madeja Anna, Welna Maja (2013). Evaluation of a simple and fast method for the multi-elemental analysis in commercial fruit juice samples using atomic emission spectrometry, Food Chemistry.
- Valle Vega Pedro, Lucas Florentino Bernardo (2000). Toxicología de alimentos.
- Vitoria Miñana Isidro (2007). Zumos de frutas y bebidas de refresco en la infancia. Sección de Nutrición Infantil.
- [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/metales_pesados.shtml]
- [http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo9/]
- [<http://arturobola.tripod.com/sodio.htm>]
- [<http://dle.rae.es/?id=AU1m1dd>]

ANEXO TABLAS

Tabla 1. Propiedades Físicas y Químicas del Cadmio.

Tabla 2. Principales causas de presencia de Cd en alimentos.

Tabla 3. Propiedades Físicas y Químicas del Mercurio.

Tabla 4. Concentración de mercurio en el organismo y sus efectos en la salud.

Tabla 5. Propiedades Físicas y Químicas del Plomo.

Tabla 6. Pb, concentración en sangre y efectos en la salud.

Tabla 7. Propiedades Físicas y Químicas del Arsénico.

Tabla 8. Ácidos y mezclas utilizados en disolución con reacción química.

Tabla 9. Tipos de filtración (a vacío y por gravedad).

Tabla 10. Clasificación técnicas analíticas.

Tabla 11. Analitos y L_D en espectrofotometría de absorción molecular.

Tabla 12. Ventajas e inconvenientes ICP.

Tabla 13. Propiedades de distintos tipos de llama.

Tabla 14. Ventajas e inconvenientes Espectrometría de absorción atómica.

Tabla 15. Metales determinados por Espectrometría de absorción atómica en alimentos.

Tabla 16. Ventajas e inconvenientes ICP-MS.

Tabla 17. Composición de zumos de fruta natural.

Tabla 18. Composición de bebidas de fruta con gas.

Tabla 19. Concentración de metales tóxicos en la Legislación Nacional

Tabla 20. Concentración de metales tóxicos en la Legislación Europea.

Tabla 21. Concentración metales tóxicos en Australia y Nueva Zelanda.

Tabla 22. Concentración metales tóxicos en Brasil.

Tabla 23. Concentración metales tóxicos en Canadá.

Tabla 24. Concentración metales tóxicos en Finlandia.

Tabla 25. Concentración metales tóxicos en Japón.

Tabla 26. Concentración metales tóxicos en Rusia.

Tabla 27. Concentración metales tóxicos en Sudáfrica.

Tabla 28. Concentración metales tóxicos en Suiza.

Tabla 29. Concentración metales tóxicos en Estados Unidos.

Tabla 30. Comparación de la concentración de los metales tóxicos en distintos países.

Tabla 31. Descripción tipo de muestras.

Tabla 32. Identificación del material del envase en las muestras.

Tabla 33. Codificación muestras P1 y P4.

Tabla 34. Codificación muestras P2.

Tabla 35. Parámetros seleccionados en el digestor por microondas.

Tabla 36. Diluciones tratamiento P2.

Tabla 37. Exactitud y precisión del método

Tabla 38. Resultados obtenidos para muestras de limón en P1.

Tabla 39. Resultados obtenidos para muestras de naranja en P1.

Tabla 40. Resultados obtenidos para muestras de limón en P4.

Tabla 41. Resultados obtenidos para muestras de naranja en P4.

Tabla 42. Resultados obtenidos para la muestra P2NP por dilución 1:1.

Tabla 43. Intervalos de concentración de los analitos en P1.

Tabla 44. Intervalos de concentración de los analitos en P4.

ANEXO FIGURAS

Figura 1. El mercurio. Su origen y su llegada a nuestros alimentos.

Figura 2. Clasificación Centrifugaciones.

Figura 3. Horno de digestión por microondas.

Figura 4. Partes Fotometría de llama.

Figura 5. Equipo Espectrofotometría de absorción atómica con atomización electrotérmica.

Figura 6. Digestor por microondas, modelo MARS XPRESS.

Figura 7. Carrusel utilizado en el digestor por microondas.

Figura 8. Espectrómetro de Masas con Plasma acoplado Inductivamente.

Figura 9. Muestras bebidas de fruta de limón y naranja.

Figura 10. Desgasificación muestras M1LV y M2LV.

Figura 11. Estado de las muestras de zumo antes y después de añadir HNO_3 .

Figura 12. Coeficientes de regresión (Cd, Cr, Na y Sr).

Figura 13. Concentración elementos mayoritarios en distintos zumos y envases.

Figura 14. Variación de la concentración en función del envase (Lata o Natural) para P1.

Figura 15. Comparación concentración de metales y tratamientos.

Figura 16. Concentración elementos en función del envase en P1 y P4.

Figura 17. Comparación envases y concentración (LIMON).

Figura 18. Comparación concentración en función de la muestra, tratamientos y envase.