

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE METALES (Cu, Fe, Pb Y Zn)
EN VINO DE MESA POR ESPECTROSCOPIA
DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA

JUAN MANUEL OCHOA GONZÁLEZ

MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Natalia Elvira de la Torre Aceves

VOCAL: Profesor: Liliana Saldívar y Osorio

SECRETARIO: Profesor: Francisco Rojo Callejas

1er. SUPLENTE: Profesor: María Elena Castilla Madrigal

2° SUPLENTE: Profesor: María Guadalupe Espejel Maya

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, LABORATORIO 103 DE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN

ATÓMICA

ASESOR DEL TEMA:

(Liliana Saldívar y Osorio)

SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):

(María Elena Castilla Madrigal)

SUSTENTANTE (S):

(Juan Manuel Ochoa González)

INDICE	Página
CAPÍTULO I	
Introducción	4
CAPÍTULO II	
Antecedentes	5
La Organización internacional de la viña y el vino	9
El vino	10
Composición del vino	11
Clasificación del vino	12
Elaboración del vino	16
Metales	18
Absorción Atómica	22
Límite de Detección	37
Límite de Cuantificación	37
CAPÍTULO III	
Objetivo General	38
Objetivos Particulares	38
CAPÍTULO IV	
Metodología y Desarrollo Experimental	39
CAPÍTULO V	
Resultados	47
Análisis de Resultados	54
CAPÍTULO VI	
Resumen y Conclusiones	57
Bibliografía	58

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el consumo de vinos en México ha aumentado, por lo cual también su comercialización, producción e importación. Es importante que todos los vinos que se comercializan en México cumplan con ciertas normas, para garantizar su calidad y seguridad para consumo humano.

Este trabajo intenta desarrollar un método para cuantificar los metales en el vino y verificar los niveles de éstos en él.

Existen muchas operaciones en la industria de la producción del vino que pueden contaminarlo por lo cual es importante verificar el grado de contaminación. Para esto se utilizarán vinos que se comercializan en México.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES ^{1,2}

Todo parece indicar que es en Asia Menor y en Oriente próximo donde se tiene constancia de las primeras viñas plantadas por el hombre, existen datos de que ya en el tercer milenio antes de Cristo había granos fósiles de *Vitis vinífera* en esa zona del mediterráneo oriental.

El primer lugar donde se menciona por escrito la existencia del vino es en Egipto de los faraones, a orillas del Nilo. Ya en el primer milenio A.C. se conocen los vinos elaborados en las islas griegas y después se difundió su cultivo por la Grecia continental y posteriormente se extendió definitivamente por toda la cuenca mediterránea a través del Imperio Romano.

En América en la época precolombina, los indígenas utilizaban las vides salvajes para hacer una bebida a la que agregaban otras frutas y miel; hasta la fecha en algunos lugares se hace el vino de acachul con uvas y frutas silvestres.

Se considera a Juan de Grijalva ser el primer navegante español que tomó vino con señores aztecas enviados por Moctezuma en el antiguo Tenochtitlán, el día 24 de junio de 1517.

Cuando los jesuitas llegaron en el siglo XVIII a la península de Baja California, el cultivo de la uva acompañó sus misiones. Los misioneros transformaron los inhóspitos desiertos en zonas de cultivo y de viticultura. Así plantaron vid en la misión de Nuestra Señora de Loreto, luego en todas las misiones de California. Después las siguientes órdenes que llegaron a México continuaron sembrando y cultivando vides.

A partir de la Independencia y en la época Porfiriana predominaron las cepas de origen francés, el vino, especialmente el francés se puso muy de moda, éstos se volvieron sinónimo de prestigio.

En el año de 1895, el gobierno mexicano se preocupó de extender la plantación de las vides, pero este esfuerzo no pudo ser continuo por los cambios sociales del país. En realidad esta actividad se vió interrumpida por la Revolución y entonces los vinos mexicanos empezaron a producirse seriamente hasta después de 1920, pero no se logró que tuvieran buena calidad por varios factores:

- a) Falta de un mejor conocimiento de la viticultura.
- b) Se utilizaba equipo defectuoso.
- c) No había una adecuada selección de variedades de uva.

En 1948 fue creada la Asociación Nacional de Vitivinicultores, que afilió inicialmente a quince empresas y en el período comprendido entre los años 1950 y 1954 se incorporaron catorce compañías más.

La producción se triplicó entre 1970 y 1980 y este crecimiento siguió duplicándose cada tres años por ende también crecieron las superficies de las vides cultivadas, la capacidad de las instalaciones de vinificación, de conservación, de embotellado así como los esfuerzos de la comercialización y de la distribución.

En la década de los 70 el consumo anual per cápita de vino en la República Mexicana era de unos 150 ml, subió en los 80 a 250 ml para alcanzar en la actualidad 600 ml.²

Variedades de uvas

A continuación en las tablas 1 y 2, se mencionarán las variedades de uvas más utilizadas en los países de mayor tradición vitivinícola y por lo tanto las que son más aptas para producir vinos de calidad. Esta gran utilización además de su calidad se debe a su adaptación a muchos terrenos y climas diferentes y a su gran rendimiento.

Las diferentes cepas de uvas provienen de diferentes orígenes, países, regiones, lo que no quiere decir que sólo se cultiven allí, muchas de ellas (sobre todo las francesas) se encuentran en otros muchos otros lugares, convirtiéndolas en variedades universales.

Se pueden elaborar vinos a partir de un solo tipo de uva (vinos varietales) o a partir de mezcla de dos o más tipos de uvas (cepajes o mezclas).

Variedades de uva para elaborar vino tinto

Tabla 1 Variedades de uva utilizadas para elaborar vino tinto.¹

ESPAÑA	FRANCIA	PORTUGAL	ITALIA	GRECIA	AUSTRIA
Tempranillo	Cabernet-Sauvignon	Periquita Touriga Nacional	Sangiovesse	Agiorgitiko	Merlot
Garnacha Cariñena Mencía Monastrell Bobal	Cabernet Franc Pinot Noir Malbec Tannat Gamay	Tinta Cao Trincadeira Tinta Roriz Bastardo Touriga Nacional	Montepulcian Barbera Nebbiolo Zinfadel	Xynomauro Maurodaphne Mandilaria	Blaufrankisch Blauburgunder
Prieto Picudo Negramoll					

Variedades de uva para elaborar vino blanco

Tabla 2 Variedades de uva utilizadas para elaborar vino blanco.²

ESPAÑA	FRANCIA	PORTUGAL	ITALIA	GRECIA	AUSTRIA
Albariño	Chardonnay	Fernao Pires	Trebbiano	Assirtiko	Weisser Burgunder
Verdejo	Sauvignon Blanc	Arinto	Picolit	Vilana	Grüner Veltliner
Pedro Ximenex	Semillon	Alvarinho	Cortese	Robola	Zierfandler
Viura (Macabeo)	Muscadelle	Moscatel	Vernaccia	Savatiano	Bouvier Traube
Airen	Aligoté	Roupeiro		Rhoditis	
Moscatel	Riesling	Antao Vaz			
Godello	Gewurztraminer	Bical			
Palomino	Sylvaner	Vital			
Malvasía		Cerceal			

La variedad de cepa junto con el clima y el tipo de suelo son los tres factores determinantes en la calidad del fruto, incidiendo directamente sobre el sabor, color y aroma del vino resultante.

Los vinos de mayor calidad suelen provenir de suelos más bien pobres en materia orgánica, calizos y poco húmedos. Son los suelos cercanos a mares, océanos y grandes ríos los que suelen ser de mayor calidad para el viñedo y la buena maduración de la uva.

Al igual que el suelo, la variedad de climas es directamente proporcional a la gran variedad de vinos.

Tanto la temperatura, como las precipitaciones, la humedad ambiental y otras influencias del medio, la cercanía del océano, río o montañas, horas de exposición al sol, son todos factores que inciden en la calidad y cantidad de las uvas.

En la geografía vitícola de calidad suelen predominar los climas templados, con un número elevado de horas sol al año y precipitaciones normales o escasas pero bien repartidas.

LA OIV ³

La Organización Internacional de la Viña y el vino (O.I.V), que reemplaza a la Oficina Internacional de la Viña y el vino, fue creada por el Acuerdo del 3 de Abril de 2001.

La OIV se define en dicho acuerdo como un organismo intergubernamental de carácter científico y técnico, con una competencia reconocida en el campo de la viña, el vino, las bebidas a base de vino, las uvas de mesa, las uvas pasas y otros productos derivados de la vid y una de sus misiones es contribuir a la armonización internacional de las prácticas y normas existentes y, cuando sea necesario, a la elaboración de nuevas normas internacionales a fin de mejorar las condiciones de elaboración y comercialización de los productos vitivinícolas, tomando en cuenta los intereses de los consumidores.

Debido a esto la O.I.V. establece límites máximos permisibles para algunos elementos en el vino como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 3 Límite Máximo Permissible de elementos ³

ELEMENTO	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE
Arsénico	0.2 mg/L
Bromo	1 mg/L
Cadmio	0.01 mg/L
Cobre	1 mg/L
Flúor	1 mg/L
Plomo	0.15 mg/L
Sodio	80 mg/L
Zinc	5 mg/L

A pesar de que el Hierro no tiene un valor recomendado por OIV, lo más recomendado es 10 mg/mL, para evitar precipitaciones de compuestos de hierro.

Las uvas, el mosto y el vino contienen en mayor o menor grado trazas de metales pesados, estos metales son tóxicos para los sistemas biológicos debido a su capacidad para desactivar enzimas; en orden decreciente de concentración los vinos contienen hierro, cobre, zinc, magnesio, aluminio, plomo.

Estos metales se encuentran en el vino debido a la exposición a un ambiente muy contaminado, las uvas los acumulan, absorbiéndolos por la raíz o por contacto directo con los riegos en los viñedos, otra forma de contaminación es a través del proceso de vinificación de la uva, tal es el caso de la fermentación debido al contacto con el equipo metálico (Tanques de fermentación, tuberías, válvulas, etc.). También puede haber impurezas en los agentes químicos que se utilizan dentro del proceso, etc.

Tomando en cuenta esto se pensó en verificar el contenido de ciertos metales en el vino de diversas partes del mundo.

EL VINO ¹

En estricto sentido, se define como líquido alcohólico obtenido por la fermentación del jugo del fruto de la uva, *Vitis vinífera*, es decir, de los frutos frescos o ligeramente pasificadas, resultando una graduación alcohólica mínima de 9°GL que se tiene naturalmente. Existiendo algunas excepciones, como los vinos dulces naturales y el vino verde de Portugal (no menos de 8°GL).

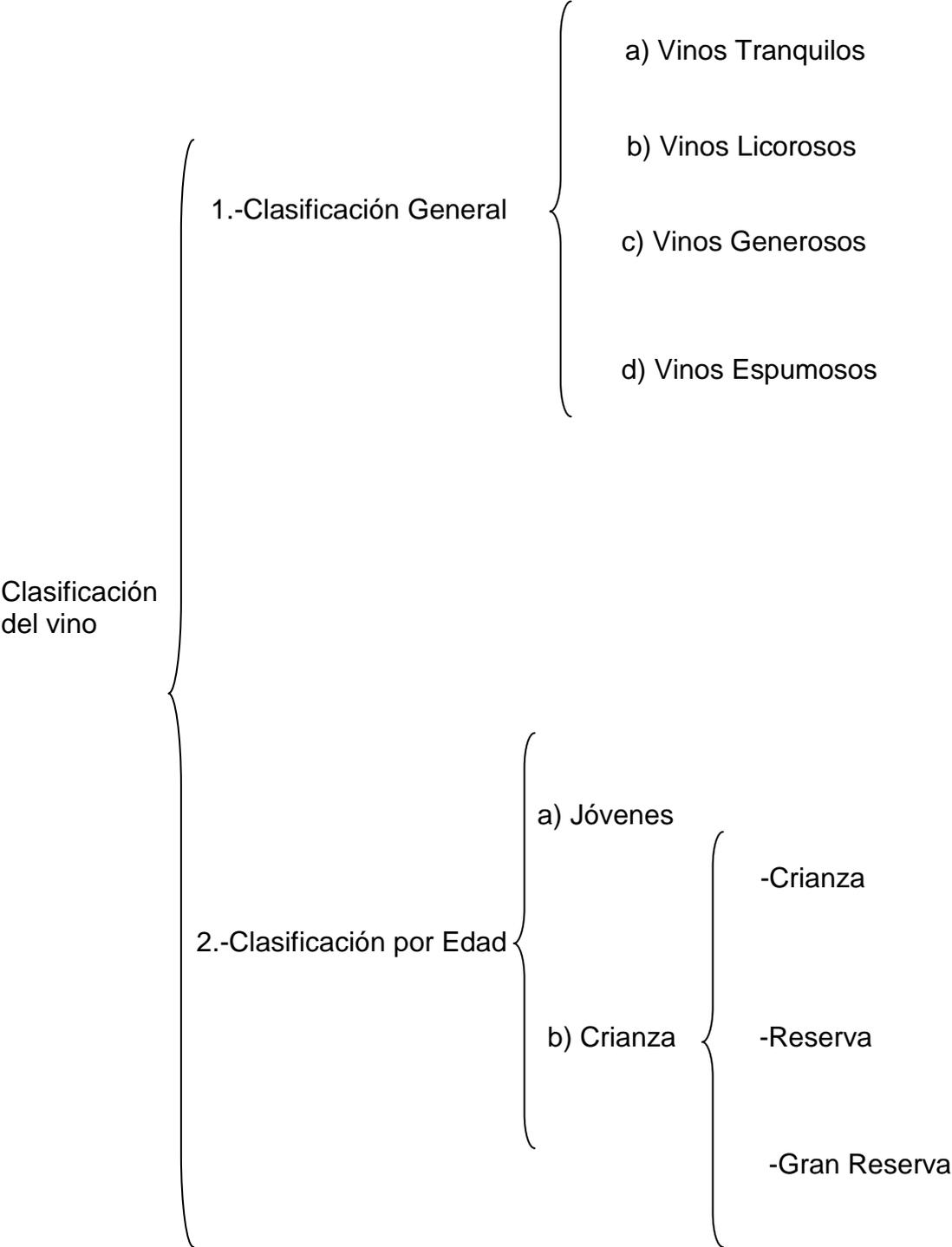
Composición del vino

El vino se compone esencialmente de agua y etanol, pero contiene más materia orgánica como se puede observar en la siguiente tabla tomada de la base de datos del departamento de agricultura de Estados Unidos:

Tabla 4 Composición del vino ⁴

Sustancia	g/L de vino
Potasio	1.5
Calcio	0.2
Magnesio	0.2
Sodio	0.25
Hierro	0.02
Fósforo	0.9
Manganeso	0.05
Tiamina	0.05
Riblofavina	0.3
Ácido Pantetoténico	1.2
Piridoxina	0.5
Antocianos	0.5
Flavones	0.05
Taninos	5

Clasificación del vino ^{1,2}



1.- Una Clasificación General: es la más usada y la más importante. Clasifica a los vinos según su forma de elaboración, abarcando todos los tipos posibles.

2.- Clasificación por Edad: basada en diferenciar los vinos por sus periodos de reposo en bodega antes de salir al mercado.

Clasificación General

a) Vinos tranquilos:

Esta clasificación viene del francés "Vin tranquille", que se refiere a los vinos que se obtienen directamente de la fermentación completa del jugo de la uva fresca, sin tener ningún tratamiento o proceso especial. Su contenido alcohólico oscila entre 9° (mínimo) y un máximo de 15.5°. Su proceso de elaboración guarda muchas características comunes. Y de acuerdo al tipo de uva que se utilice y al proceso podemos encontrar, vinos blancos, tintos y rosados;

Vino blanco: Es el obtenido a partir de cepas de uvas blancas o tintas a las que se les separa el hollejo y la pulpa para que no coloree el vino.

Vino tinto: Es el obtenido a partir de uvas tintas a las que en la fermentación se lleva en contacto con los hollejos.

Vino rosado: Es el obtenido a partir de uvas tintas a las que durante la fermentación se le retira los hollejos una vez alcanzado el color deseado. Anteriormente también se podía producir de la mezcla de vinos blancos y tintos.

b) Vinos licorosos: vinos de un alto contenido de azúcares, los cuales son resultado de un proceso especial donde se utilizan uvas totalmente maduras, pasadas o Botritizadas (podridas), clasificándose en:

Vinos dulces naturales o vendimias tardías: Son el resultado de la sobre maduración de las uvas, la vendimia se realiza al final del otoño después de un verano muy caluroso, o Las uvas están completamente maduras con un contenido muy alto de azúcares lo que provoca un vino alto en contenido alcohólico y gran cantidad de azúcares.

Vinos licorosos por Botritis: Son por el resultado de uvas botritizadas (podridas) donde se acelera la maduración y se obtienen resultados similares a los vinos dulces naturales, pero con distintos sabores, el vino más representativo es el Sauternes, francés, que es altamente cotizado y reconocido mundialmente, otro ejemplo es el vino de Paja de Jura, Francia.

c) Vinos Generosos o Cocidos. Son el resultado a partir de vinos tranquilos, blancos o tintos, que son llevados a una nueva fermentación en barricas de roble, bajo diferentes métodos como, el de solera o flor. Ejemplos de estos vinos son: el Porto, Jerez, Sherry, Amontillado, Manzanilla o Pedro Jiménez.

d) Vinos espumosos: Estos estarán diferenciados por su origen y el contenido de gas carbónico que tengan, obtenido de una segunda fermentación en botella (Método tradicional), en vino de aguja (España); Petillon (Francia) o Prosecco (Italia), en los cuales su contenido de gas carbónico es muy discreto, Vinos espumosos, existiendo la elite de estos que es el Champagne (Francia), posteriormente encontramos la Cava en España o el Asti en Italia

Clasificación por edad:

a) Vinos Jóvenes:

Son los que no han tenido ningún tipo de crianza en madera o esta crianza ha sido mínima. (La crianza es el añejamiento en madera, donde puede ser directamente en tanques de madera o en toneles de 225 L.) Son vinos que conservan mucho las características parietales (sabores primarios obtenidos de las variedades de uva de los cuales se obtienen), deben ser consumidos idealmente en los 12 a 24 meses después de la vendimia o su fabricación. Es frecuente encontrar a los tres tipos (blanco, rosado y tinto) como vinos jóvenes.

b) Vinos de Crianza:

Han pasado un mínimo de crianza entre madera y botella. Son vinos que desarrollan, además de las características varietales de las que proceden, otras características organolépticas debidas a este periodo de envejecimiento.

Su consumo ideal varía dependiendo de varios factores, pero por lo general es de más o bastante más largo plazo que los vinos jóvenes (normalmente entre 3 y 10 años, aunque algunos soportan hasta 20). Los vinos de crianza, en su mayoría, son tintos aunque también hay muchos blancos y es raro encontrar rosados.

Dentro de los vinos de crianza, según la reglamentación de las denominaciones de origen españolas, hay tres subtipos:

CRIANZA, RESERVA, y GRAN RESERVA. Cada Consejo Regulador de las diferentes denominaciones de origen (D.O.) establece unos periodos de tiempo determinados para cada categoría. Los periodos aproximados de la crianza se mueven en estos márgenes, por

ejemplo para los vinos de la denominación de origen de la Rioja son:

CRIANZA.- Mínimo de seis meses en madera y hasta dos años en botella.

RESERVA.- Mínimo de un año en madera y hasta tres años en botella.

GRAN RESERVA.- Mínimo de dos años en madera y hasta cinco en botella.

ELABORACIÓN DEL VINO ²

La elaboración del vino comienza con la vendimia que es la cosecha de la uva, posteriormente se prensa en un proceso que se llama estrujado, donde se obtiene el mosto que es el jugo de la uva el cual se macera y fermenta en contenedores de aluminio posteriormente se somete a:

- Clarificación
- Estabilización
- Filtración

Clarificación

Esto es que el vino esté totalmente limpio de sustancias extrañas, que no presente ningún tipo de turbidez.

Lo que ocurre es que aunque el vino ya haya terminado de fermentar, todavía conserva sustancias en suspensión como restos de levaduras, bacterias, desechos de células de la uva, coloides, etc. Debido a eso hay que tratar al vino para eliminar este tipo de sustancias y dejar al vino claro y limpio.

Para este proceso los productos utilizados son fundamentalmente:

- 1.- Clarificantes orgánicos (de naturaleza protéica): gelatina, caseína, albúmina, cola de pescado, etc.
- 2.- Clarificantes minerales: bentonita, tierras de diatomeas.
- 3.- Clarificantes vegetales: carbón activado
- 4.- Clarificantes sintéticos como los ferrocianuros.

Estabilización

No sólo es necesario que el vino esté limpio, sino que se mantenga así a través del tiempo, que no se vuelva a enturbiar el vino una vez clarificado. Para esto existen ciertos procedimientos físicos y químicos que previenen al vino de las posibles alteraciones debidas principalmente al calor, frío, aireación y contenido en proteínas (este último es uno de los factores que más incidencia tiene en los fenómenos de turbidez del vino, especialmente en los vinos blancos)

Filtración

Es en realidad una técnica perteneciente a la clarificación que suele utilizarse como proceso final tras la adicción de los clarificantes para conseguir así aumentar el rendimiento de los filtros, que no se saturarán con tanta facilidad.

La centrifugación es usada en bodegas que elaboran grandes volúmenes de vino, debido a su costo. Se basa en la separación de partículas utilizando la acción de la fuerza centrífuga. A pesar de todos estos tratamientos, siempre quedan algunas partículas muy pequeñas que son prácticamente imposibles de eliminar. Por otro lado en algunos vinos tintos de prolongada crianza en madera y botella es frecuente la formación de depósitos de materia colorante y en ciertos vinos casi inevitable.

Para corregir esto, antes de servir el vino se coloca la botella en posición vertical el tiempo suficiente para que los depósitos caigan al fondo de la botella y practicando un trasiego o "jarreo" del vino a otro recipiente se separan sin problemas estos sedimentos.

Todas estas operaciones, además del tipo de suelo, el ambiente y los fertilizantes utilizados hacen que cada vino tenga cierta cantidad de metales.

LOS METALES ⁴

Cobre

El cobre es un metal de transición que es estable en su estado metálico. En sus estados de oxidación I y II forma compuestos como cloruros, acetatos y óxidos. Cuando se encuentra disuelto en el agua da un sabor metálico desagradable y el umbral para detectar el sabor va de 2.4 a 2.6 mg/L además de que altera el color de la disolución en donde se encuentre. Debido a que el cobre se utiliza en varias tuberías y aleaciones de los fermentadores en donde se llevan a cabo ciertas operaciones en la fabricación de vino existe la posibilidad de que alguna cantidad de cobre pueda solubilizarse en el vino. Por otra parte algunas sales de cobre se utilizan como fertilizantes y en insecticidas, de tal manera que ésta sería otra fuente por la cuál el cobre ingresara al vino.

A pesar de que el cobre se absorbe en la parte superior del tracto gastrointestinal y el porcentaje de absorción es de alrededor del 70% no se ha reportado la toxicidad de los compuestos más comunes de cobre como son los cloruros y sulfatos.

El cobre en bajas concentraciones es un catalizador inorgánico importante en las actividades

metabólicas de los organismos, los vinos normalmente contienen entre 0.1 y 0.3 mg/L de cobre, el límite de la OIV es de 1mg/L y si se sobrepasa puede ser detectado por el gusto, en concentraciones más altas puede ser inhibidor de la actividad enzimática.

El cobre puede encontrarse en el vino debido a 3 razones principales, los fertilizantes químicos usados en el viñedo, la maquinaria usada en las operaciones vinícolas y las adiciones de sales de cobre para evitar la turbidez del vino como el sulfato de cobre que es adicionado al vino para remover el ácido sulfhídrico y mercaptanos presentes.

Hierro

El hierro a bajas concentraciones juega un papel importante en el metabolismo como activador enzimático, estabilizador y componente funcional de las proteínas, a concentraciones más altas altera los sistemas redox, favoreciendo la oxidación del vino, alterando el sabor y participando en la formación de complejos que lo precipitan y lo enturbian, por ejemplo el fosfato férrico que es un precipitado blanco y el tanato férrico que es un precipitado de color azul, el límite recomendado por la OIV es de 5 mg/mL.

El hierro es el segundo metal más abundante sobre la tierra, el hierro elemental es muy escaso en la naturaleza, generalmente éste se encuentra en sus estados de oxidación como Fe^{2+} y Fe^{3+} en compuestos como óxidos, carbonatos, hidróxidos y sulfuros. Como especie Fe^{2+} en concentraciones de 0.04 mg/mL puede ser detectado por el gusto en agua destilada, en agua con un total de sólidos disueltos de 500mg/mL el gusto detecta concentraciones de 0.12mg/mL, en agua potable concentraciones de hasta 3mg/mL son aceptables.

El hierro es un constituyente natural de las plantas y animales, se encuentra en el hígado,

riñón, vegetales verdes, pescado conteniendo de 20 a 120 mg/mL; las carnes rojas y huevos contienen de 10 a 20 mg/mL el arroz algunas frutas y vegetales contienen de 1 a 10 mg/mL, la mayor parte se absorbe en el duodeno y la parte superior del yeyuno. En el cuerpo humano el hierro se encuentra en una concentración de 34 a 42 mg/mL la mayor parte está presente en la hemoglobina, mioglobina hígado y músculos estriados.

En ratas de laboratorio la dosis letal al 50% es de 800 a 2000 mg/L los efectos del hierro son depresión, respiración rápida y entrecortada, coma, convulsiones, falla respiratoria y falla cardiaca. Algunas sales son mutagénicas como el gluconato de hierro II.

La dosis recomendada para los humanos es de 10 a 50 mg por día dependiendo del peso, edad, estatus psicológico. Después de que la concentración está entre 200 y 250 mg/mL una ingestión de 40 mg puede causar la muerte por hemorragia de la mucosa intestinal.

Sales de hierro como sulfato ferroso son añadidas al vino para estabilizarlo y clarificarlo también se añaden ferrocianuros para remover trazas de metales y compuestos sulfurados.

Plomo

La acumulación de plomo en los tejidos se origina en la cadena alimenticia debido a la presencia de éste en el aire y el agua. En EEUU el límite de plomo para el agua potable es de 0.005 mg/mL y para los vinos es de 0.3 mg/mL aunque en el estado de California el límite es de 0.15 mg/mL el contenido promedio en sus vinos es de entre 0.014 y 0.040 mg/mL.

La concentración de plomo sobre la tierra es de 13 mg/kg sus principales usos son para soldadura, aleaciones, cables, pigmentos, inhibidores de oxidación, barnices y estabilizadores plásticos. En México el consumo per capita diaria de un adulto es de 177

$\mu\text{g}/\text{día}$ en México, basado en un control fecal. La norma oficial mexicana indica que el límite máximo permisible de plomo en el agua potable es de $0.025 \text{ mg}/\text{L}$.^{5,6}

El plomo se absorbe en el tracto gastrointestinal en un 10% y su toxicidad es muy grande ya que a concentraciones de $11 \mu\text{g}/\text{dL}$ en la sangre se han detectado sus efectos neurotóxicos como son la pérdida de la memoria cambio de conducta, pérdida de memoria y distracción, también es responsable de atrofia testicular.

La presencia de plomo en los vinos aunque es escasa, puede ocurrir debido a la presencia del metal en el suelo, en el agua de riego, los fertilizantes o como contaminante del material de la maquinaria utilizada durante las operaciones vitivinícolas.

Zinc

El límite recomendado por la OIV para el zinc es de $5 \text{ mg}/\text{mL}$, el zinc en exceso sustituye la asimilación de calcio en los huesos provocando una descalcificación a largo plazo.

El zinc es un componente de las enzimas que transportan el dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones. Por su papel en la expulsión del dióxido de carbono, el zinc es una sustancia fundamental en la vida del ser humano. Insuficientes cantidades de zinc, o la incapacidad de absorberlo, provocan complicaciones médicas, especialmente en el feto o en los niños

El zinc pertenece a un grupo de minerales que se encuentran en cantidades muy reducidas en algunos alimentos. El ser humano necesita sólo una muy pequeña cantidad (por lo que se conoce como oligoelemento o elemento traza), pero su presencia es fundamental. Normalmente, el cuerpo de una persona adulta contiene sólo de 1 a 2 gramos y medio de zinc.

Por su parte, un exceso de zinc puede causar problemas gastrointestinales (náuseas, vómitos, hemorragias y dolor). En mujeres que tomaron altas cantidades de zinc durante los últimos meses de embarazo, se han observado casos de nacimientos prematuros o niños que nacen muertos o con severas deformaciones

ABSORCIÓN ATÓMICA ^{7,8}

La atomización en absorción atómica funciona de la siguiente manera: la solución de la muestra se nebuliza mediante un flujo de gas oxidante, mezclado con el gas combustible, y se transporta a una flama donde se produce la atomización. Una serie compleja de procesos tiene lugar en la flama. El primero es la desolvatación, en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido. Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico. La mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. También se producen otras moléculas y átomos en la flama como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y con las distintas especies que contiene la muestra, una fracción de las moléculas, átomos e iones también se excita por el calor de la flama, produciéndose así espectros de emisión moleculares, atómicos e iónicos. Llevándose a cabo muchos procesos complejos, durante la atomización es ésta la etapa más crítica en la espectroscopia de flama y la que limita la precisión de dicho método. Debido a esto, es importante comprender las características de las flamas y las variables que afectan a dichas características.

Tipos de flamas

En la tabla 5 se muestran los combustibles y oxidantes más comunes utilizados en espectroscopia de absorción atómica con flama y los intervalos aproximados de temperatura alcanzados con cada una de estas mezclas; en este trabajo se utilizó únicamente la flama de aire acetileno. Hay que destacar que cuando se utiliza el aire como oxidante se obtienen temperaturas de 1.700 a 2.400 °C con varios combustibles. En estas temperaturas sólo las muestras que se descomponen fácilmente se atomizan. Para la mayoría de las muestras refractarias, se debe emplear oxígeno u óxido nitroso como oxidante. Estos oxidantes producen temperaturas de 2.500 a 3.100 °C.

Las velocidades de combustión indicadas en la última columna de la tabla 5 son de considerable importancia, porque la flama sólo es estable en ciertos intervalos de flujo. Si el caudal no sobrepasa la velocidad de combustión, la flama se propaga hacia el interior del quemador, dando un fogonazo. Cuando el caudal aumenta, la flama sube hasta alcanzar un punto por encima del quemador donde el caudal y la velocidad de combustión son iguales. En esta región es donde la flama es estable por que a caudales más elevados la flama sube alcanzando un punto donde se aparta del quemador y se apaga. Debido a estas razones es sumamente importante regular los caudales de los gases con los que se trabaja, los cuales son específicos para cada uno.

Tabla 5 Caudales de operación ⁵

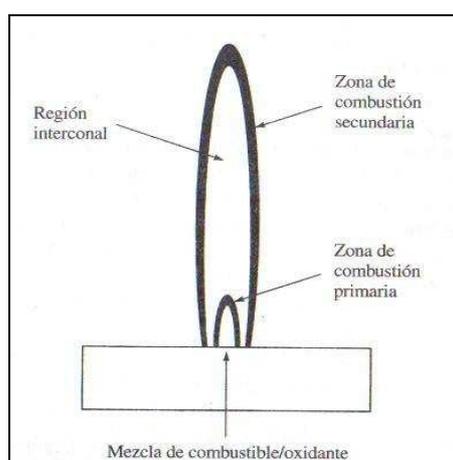
Combustible	Oxidante	Temperatura(°C)	Velocidad de combustión (cm s ⁻¹)
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso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

Estructura de la flama

Como se muestra en la figura 1, las regiones más importantes de la flama son la zona de combustión primaria, la región interconal y la zona de combustión secundaria. El aspecto y el tamaño relativo de estas regiones varía considerablemente con la relación combustible-oxidante, así como con el tipo de combustible y de oxidante. La zona de combustión primaria en una flama de hidrocarburos se reconoce por su coloración azul que proviene de los espectros de bandas de C_2 , CH y otros radicales, en esta zona no se alcanza el equilibrio térmico, razón por la cual esta zona casi no se utiliza para leer en espectroscopia de absorción atómica con flama.

La región interconal, que es relativamente estrecha en flamas de hidrocarburo estequiométricas puede alcanzar varios centímetros de altura con fuentes ricas en combustible de acetileno/oxígeno o acetileno/óxido nitroso. La zona es frecuentemente rica en átomos libres y es la parte de la flama más frecuentemente utilizada en espectroscopia. En la zona de combustión secundaria, los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables que se dispersan por los alrededores

Figura 1 Zona de combustión¹



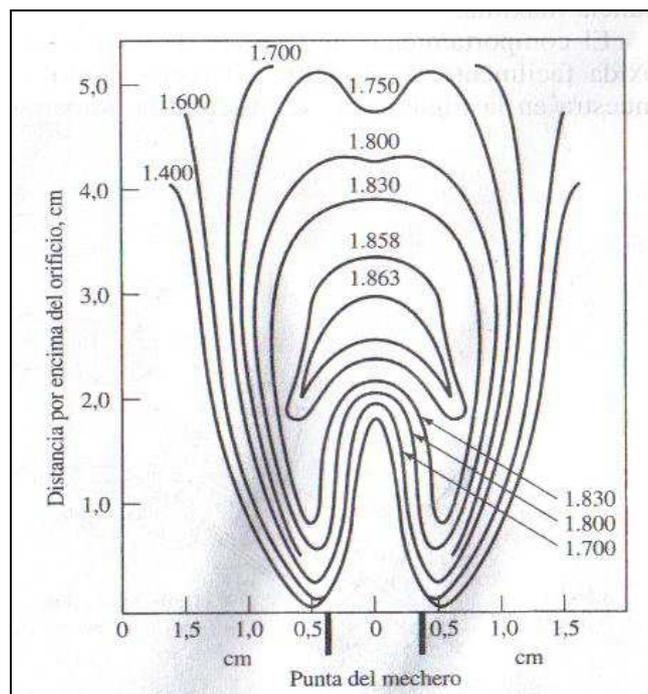
El perfil de la flama proporciona información útil respecto a los procesos que tienen lugar en las distintas partes de la flama; es una representación de contornos que muestra las regiones de la

flama donde una variable de interés tiene valores similares. Algunas de estas variables son la temperatura, la composición química, la absorbancia y la intensidad radiante o fluorescente.

Perfiles de temperatura

En la figura 2 se muestra el perfil de temperatura de una flama característica para espectroscopia atómica. La temperatura máxima se localiza aproximadamente 1 cm por encima de la zona de combustión primaria de la flama. Es importante que las lecturas se hagan siempre a la misma altura de la flama para obtener lecturas constantes.

Figura 2 Perfil de temperatura de una flama característica para espectroscopia atómica ²



Perfiles de absorbancia de la flama. La Figura 3 muestra los perfiles de absorción característicos para tres elementos. El magnesio presenta un máximo de absorbancia aproximadamente a la mitad de la flama debido a dos efectos opuestos, el aumento inicial de la absorbancia a medida que la distancia a la base de la flama aumenta, se debe, al gran número de átomos de

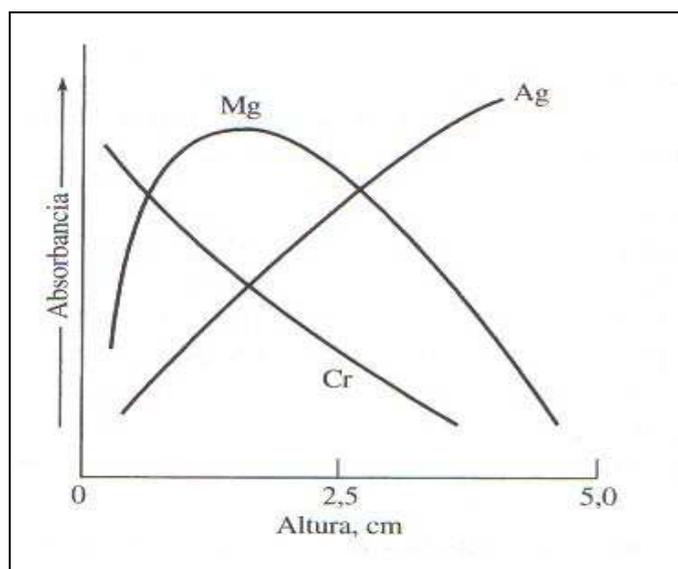
magnesio producidos por el mayor tiempo de exposición al calor de la flama. Sin embargo, al acercarse a la zona secundaria de combustión comienza una apreciable oxidación del magnesio. Este proceso origina el consiguiente descenso de la absorbancia, ya que las partículas de óxido formadas no absorben a la longitud de onda empleada. Por ello, para obtener la máxima sensibilidad analítica, la flama debe ajustarse con respecto al haz hasta obtener una absorbancia máxima esto aplica para todos los elementos. Para asegurarse de que se esta leyendo a la máxima absorbancia se utiliza la siguiente fórmula:

Ecuación 1

$$A = \frac{[C] \times 0.0044}{[CC]}$$

Donde A es la absorbancia que debemos estar leyendo y es un parámetro adimensional, C es la concentración de la muestra o estándar y CC es la concentración característica la cuál es específica para cada elemento y generalmente es proporcionada por el fabricante del equipo.

Figura 3 Perfiles de absorción característicos para Mg, Ag y Cr ³

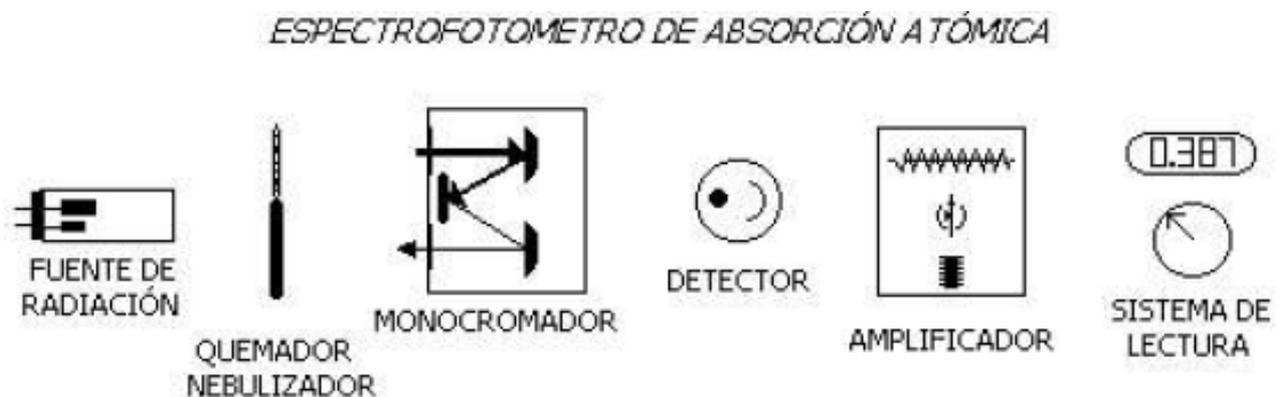


El comportamiento de la plata, la cual no se oxida fácilmente, es bastante diferente; como se muestra en la figura 3, se observa un aumento continuo del número de átomos y, por tanto, de la absorbancia desde la base hasta la periferia de la flama. Por el contrario, el cromo, que forma óxidos muy estables, muestra una disminución continua de la absorbancia desde una zona próxima al extremo del quemador; lo que sugiere que la formación de óxidos predomina desde el principio. Sin duda para el análisis de cada uno de estos elementos se debe utilizar una zona distinta de la flama.

Los instrumentos más sofisticados utilizados en espectroscopia de flama están equipados con monocromadores que separan la radiación de una región relativamente pequeña del espectro electromagnético, con lo cual se puede seleccionar la longitud de onda a la cual se va a medir.

Un monocromador es un instrumento que puede aislar longitudes de onda a partir de un espectro amplio de radiación, entre más eficiente sea la separación de la longitud de onda mayor será la selectividad del equipo ya que será capaz de aislar la banda del elemento que se está tratando de cuantificar.

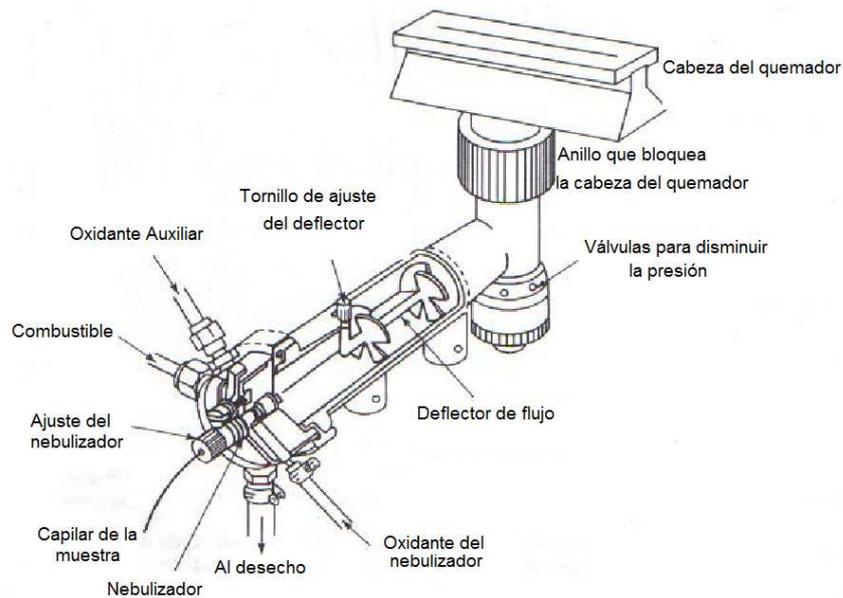
Figura 4 Monocromador en equipo de absorción atómica⁴



Atomizadores de flama

Los atomizadores de flama se emplean en espectroscopia de emisión, absorción y fluorescencia atómica.

Figura 5 Quemador de equipo de absorción atómica⁵



Los quemadores de flujo laminar proporcionan una flama relativamente estable y larga. Estas propiedades tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad. La cámara de premezcla en este tipo de quemador contiene una mezcla potencialmente explosiva, que se puede prender por el retroceso de la flama, si su caudal es demasiado bajo. Obsérvese que, por esta razón, el quemador de flujo laminar mostrado en la Figura 5 está equipado con unas válvulas para disminuir la presión. En equipos más modernos el flujo de combustible es detenido si la presión cae por debajo de límite de seguridad.

En la espectroscopia de flama, los caudales de oxidante y de combustible constituyen variables importantes que requieren un control preciso. Es deseable poder variar cada uno de ellos en un

intervalo amplio para poder encontrar experimentalmente las condiciones óptimas para la atomización. Por lo general, el combustible y el oxidante se combinan aproximadamente en una proporción estequiométrica. Sin embargo, en la determinación de metales que forman óxidos estables es más conveniente el empleo de una flama que contenga un exceso de combustible. Los flujos se controlan, por lo general, por medio de reguladores de presión de doble diafragma seguidos de válvulas de aguja situadas en el instrumento. El sistema de medida de caudal más empleado es el rotámetro, que consiste en un tubo cónico, graduado y transparente montado vertical-mente con su extremo más estrecho hacia abajo. El flujo de gas levanta un flotador liviano, cónico o esférico, cuya posición vertical está determinada por el caudal de gas.

En términos de reproducibilidad, la atomización con flama resulta ser superior a todos los demás métodos que se han desarrollado hasta ahora para la introducción de muestras líquidas. Sin embargo, en términos de menor eficacia en la introducción de la muestra y, por ello, de sensibilidad, otros métodos de atomización son claramente mejores esto es por dos razones: en primer lugar, una gran porción de la muestra se pierde en los desechos, en segundo lugar, el tiempo de residencia de los átomos individuales en el camino óptico que es breve, alrededor de 10^{-4} segundos. En este trabajo se escogió esta técnica debido a la rapidez con la que se pueden determinar los metales en la muestra cuando ésta se encuentra ya digerida, además de la buena linealidad del método.

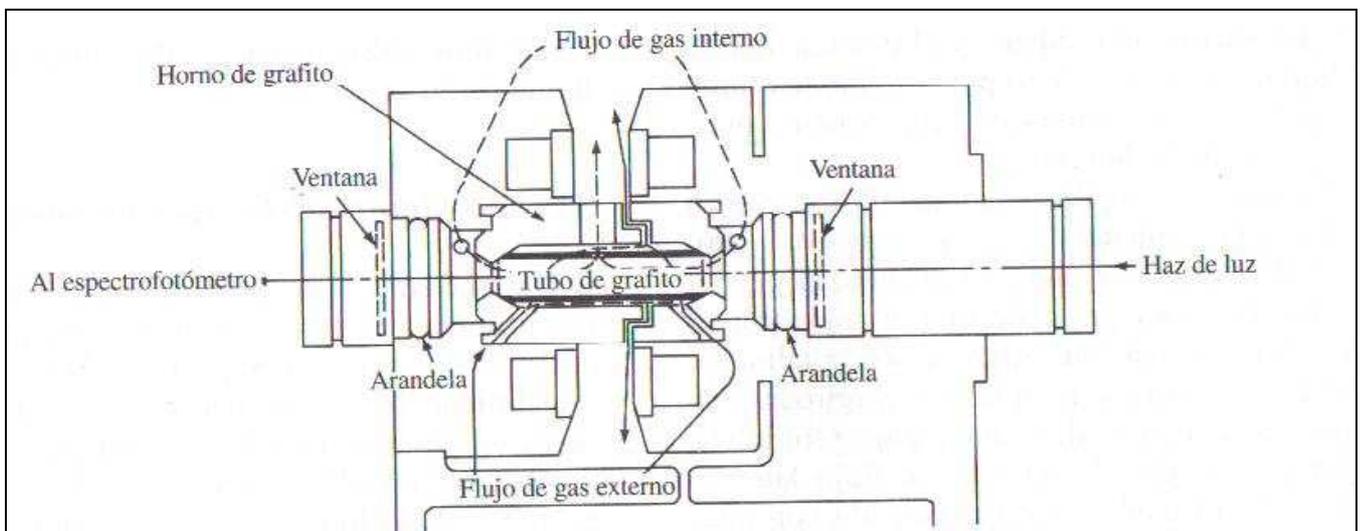
Atomización electrotérmica

Los atomizadores electrotérmicos también conocidos como horno de grafito, que aparecieron por primera vez en el comercio aproximadamente en 1970, proporcionan generalmente una mayor sensibilidad debido a que toda la muestra se atomiza en un período muy corto y el tiempo

promedio de permanencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más. Los atomizadores electrotérmicos se utilizan para las medidas de absorción atómica y de fluorescencia atómica.

En los atomizadores electrotérmicos, unos pocos microlitros de muestra se evaporan primero a baja temperatura y luego se calcinan a una temperatura algo más alta en un tubo de grafito, similar al de la Figura 6, o cubeta de grafito calentado eléctricamente, tras la calcinación, la corriente se incrementa rápidamente a varios cientos de amperios, lo que eleva la temperatura a unos 2.000 o 3.000 °C; la atomización de la muestra se produce en un período de tiempo de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones, se mide la absorción de las partículas atomizadas en la zona situada inmediatamente por encima de la superficie calentada.

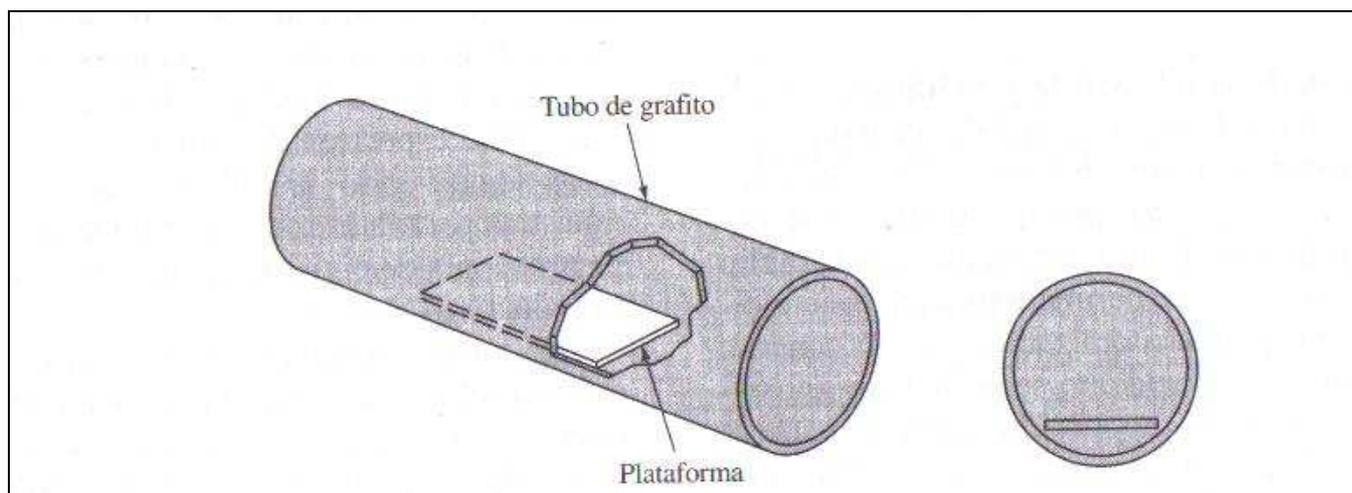
Figura 6 Sección transversal de un atomizador electrotérmico comercial ⁶



En el sistema que se muestra en la Figura 6, la atomización tiene lugar en un tubo cilíndrico de grafito abierto por ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la

muestra mediante una micropipeta. El tubo es de unos 3 cm de largo y tiene un diámetro interno de algo menos de 1 cm. El tubo intercambiable de grafito se ajusta perfectamente a un par de contactos eléctricos de grafito cilíndricos que se ubican en los dos extremos del tubo, estos contactos se mantienen dentro de una caja metálica refrigerada por agua. Existen dos corrientes de gas inerte; la corriente externa previene la entrada de aire exterior y la consiguiente incineración del tubo, la corriente interna fluye por entre los dos extremos del tubo y sale por el orificio central del compartimiento de muestra. Esta corriente no sólo elimina el aire sino que sirve también para desalojar los vapores generados a partir de la matriz de la muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento.

Figura 7 Plataforma de L'vov ⁷



La denominada plataforma de L'vov se utiliza con frecuencia en los hornos de grafito, como se muestra en la Figura 7. La plataforma también es de grafito y se encuentra debajo del orificio de entrada de la muestra, ésta se evapora y se calcina sobre la plataforma.

Sin embargo, cuando la temperatura del tubo se eleva rápidamente, la atomización se retrasa, ya que la muestra no está el tiempo suficiente en contacto directo con la pared del horno. Por tanto, la atomización tiene lugar en un medio en el que no se produce un cambio tan rápido de temperatura, de este modo se obtienen picos más reproducibles.

A la longitud de onda a la que tiene lugar la absorción, la señal del detector aumenta al máximo algunos segundos después de la ignición y cae rápidamente a cero cuando los productos de la atomización salen del horno de grafito. El cambio es lo suficientemente rápido con frecuencia menor a un segundo como para necesitar un sistema de adquisición de datos de alta velocidad. Los análisis cuantitativos se basan por lo general en la medida del área bajo la curva, aunque también se ha utilizado la altura del pico. Los atomizadores electrotérmicos ofrecen la ventaja de su elevada sensibilidad para pequeños volúmenes de muestra. En general, se utilizan volúmenes de muestra entre 3 y 20 microlitros; en estas condiciones, los límites de detección absolutos se encuentran normalmente en el intervalo de 10^{-10} a 10^{-13} g de analito.

La precisión relativa de los métodos sin flama se encuentra generalmente entre el 5 y 10 % en comparación con el 1% o menos que se puede esperar en la atomización con flama o plasma.

Además, los métodos de horno son lentos requiriendo habitualmente varios minutos, debido a los pasos de calentamiento que deben seguirse.

La absorción atómica es potencialmente muy específica, ya que las líneas de absorción atómica son considerablemente estrechas (de 0.002 a 0,005 nm) y las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento. Para que se cumpla la ley de Beer expresada según

la Ecuación 2, es necesario que la anchura de banda de la fuente sea estrecha respecto a la anchura de un pico de absorción. Sin embargo, incluso los monocromadores de buena calidad tienen anchuras de banda efectivas que son significativamente mayores que la anchura de las líneas de absorción atómica. En consecuencia, al hacer medidas de absorbancia atómica utilizando un espectrofotómetro normal equipado con una fuente de radiación continua, inevitablemente se obtienen curvas de calibración no lineales. Además, las pendientes de las curvas de calibrado obtenidas con dicho equipo son pequeñas, porque sólo una pequeña fracción de la radiación procedente de la rendija del monocromador es absorbida por la muestra; consecuentemente se obtienen sensibilidades bajas.

Ecuación 2

$$A = \epsilon l C$$

Donde A es la absorbancia de la muestra, C es la concentración, ϵ es la constante para el analito en las condiciones de trabajo y l en este caso es el largo de la flama.

Para excitar al analito es necesario usar energía de la longitud de onda a la cual absorbe energía el mismo. Por ejemplo, si se elige la línea del sodio de 589,6 nm para el análisis de absorción de este elemento, se utiliza la radiación correspondiente a un pico de emisión del sodio a esta misma longitud de onda. En consecuencia se requiere una lámpara para cada analito.

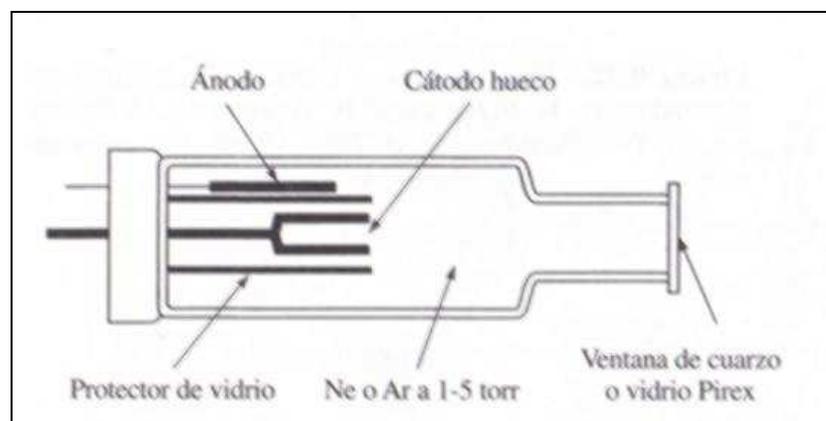
Lámparas de cátodo hueco

La fuente más común para las medidas de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, como la que se muestra en la Figura 8. Este tipo de lámpara consiste en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico cerrados herméticamente en un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una

presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido con el metal cuyo espectro se desea obtener, o bien, sirve de soporte para una capa de dicho metal.

Cuando se aplica un potencial del orden de 300 V entre los electrodos se produce la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente de aproximadamente 5 a 15 mA al tiempo que los iones y electrones migran hacia los electrodos. Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética como para arrancar algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica; a este proceso se le denomina chisporroteo. Una parte de los átomos metálicos desprendidos se encuentran en estado excitado y, de este modo, al volver al estado fundamental emiten su radiación característica. Al final, los átomos metálicos se vuelven a depositar difundiendo de nuevo hacia la superficie del cátodo o hacia las paredes de vidrio del tubo.

Figura 8 Lámpara de cátodo hueco⁸



La configuración cilíndrica del cátodo tiende a concentrar la radiación en una región limitada del tubo metálico; este diseño aumenta también la probabilidad de que la redeposición sea en el cátodo más que sobre las paredes de vidrio.

La eficacia de la lámpara de cátodo hueco depende de su geometría y del potencial aplicado, los potenciales elevados y. por consiguiente, las corrientes elevadas originan intensidades de radiación mayores, esta ventaja se neutraliza en parte por un aumento del ensanchamiento por efecto Doppler de las líneas de emisión de la lámpara. Además, las corrientes mayores provocan un aumento del número de átomos no excitados en la nube, éstos, a su vez son capaces de absorber la radiación emitida por los átomos excitados. Esta autoabsorción reduce la intensidad, sobre todo en el centro de la banda de emisión.

En la actualidad existe una gran variedad de lámparas de cátodo hueco. En algunos casos los cátodos están constituidos por una mezcla de varios metales; lo que permite un análisis multielemental.

LÍMITE DE DETECCIÓN⁹

El límite de detección (LOD) se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada por un equipo. Intuitivamente, el LOD sería la concentración mínima obtenida a partir de la medida de una muestra (que contiene el analito) que seríamos capaces de discriminar de la concentración obtenida a partir de la medida de un blanco, es decir, de una muestra sin analito presente.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN⁹

El límite de cuantificación (LOC) se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser cuantificada con exactitud por un método analítico determinado.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar cuantitativamente la cantidad de Cobre, Hierro, Plomo y Zinc de algunos Vinos nacionales y extranjeros vendidos en México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer el principio de la absorción atómica y aprender a utilizar los equipos de absorción atómica utilizando las técnicas de flama y horno
- Desarrollar un método de preparación de muestras para determinar metales en vinos
- Desarrollar un método de análisis para cada uno de los 4 metales que se van a determinar.

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

Muestras

Se seleccionaron muestras de distintos países, años y tipos de vinos, en la siguiente tabla se describen las muestras que se analizaron:

Tabla 6 Vinos analizados ⁶

NOMBRE	TIPO	AÑO	PAIS DE ORIGEN
BEAUJOLAIS	VINO TINTO	2003	FRANCIA
CALIFORNIA	VINO TINTO	2003	MEXICO
CARLO ROSSÍ	VINO BLANCO	2001	EUA
CASTILLO DE LANDA	VINO TINTO	2000	ESPAÑA
CONCHA Y TORO	VINO TINTO	2002	CHILE
DOMEQ	VINO TINTO	2003	MEXICO
DON ANGEL	VINO TINTO	2001	CHILE
DON SIMON	VINO TINTO	2000	ESPAÑA
ERNEST & JULIO GALLO	VINO TINTO	2001	EUA
GATO BLANCO	VINO BLANCO	2002	CHILE
HENKELL	VINO BLANCO	1999	ALEMANIA
KARL MEISTER	VINO BLANCO	2001	ALEMANIA
OPPENHEIMER KRÖTENBRUNNEN	VINO BLANCO	2002	ALEMANIA
PATERNINA	VINO TINTO	1999	ESPAÑA
SANTA EMILIANA	VINO BLANCO	1997	CHILE

Figura 9 Algunas muestras analizadas ⁹



Preparación de la muestra

Debido a la composición del vino como se describe en la tabla 2 en la página 7 es necesario destruir la materia orgánica para que no interfiera con la absorbancia de la muestra, para esto se le adicionó un volumen igual al de la muestra de ácido nítrico, el volumen de muestra fue de 5mL, éstos se mezclaron con 5mL de ácido nítrico para ser digeridos en un horno de microondas, después de esto la muestra se leyó directamente lo más pronto posible para lo cuál se utilizaron 2 equipos diferentes ambos de la marca Perkin Elmer.

Los metales Hierro y Zinc fueron leídos por la técnica de flama ya que la concentración a la que la gráfica de la concentración vs la absorbancia es lineal coincide perfectamente con los límites de la OIV y para los metales lo son el plomo y el cobre que se encuentran en el vino a baja concentración fue necesario utilizar la técnica de horno de grafito la cual permite detectar concentraciones de hasta microgramos por litro ($\mu\text{g/L}$).

Programa de digestión de la muestra

La muestra fue digerida en un horno de microondas marca CEM con una potencia nominal de 600 W, el programa de digestión se creó conforme lo recomienda el proveedor y este fue de la siguiente manera:

Tabla 7 Programa del horno de microondas ⁷

Tiempo (min)	Presión (PSI)	Potencia (%)
0	20	80
15	40	80
30	85	80
45	130	80
60	150	80

Gráfica 1 Programa del horno de microondas ¹

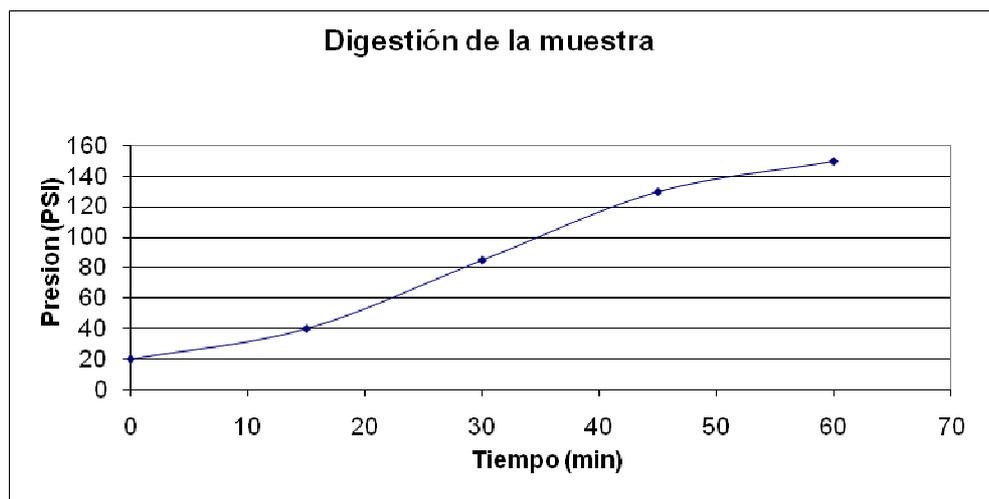
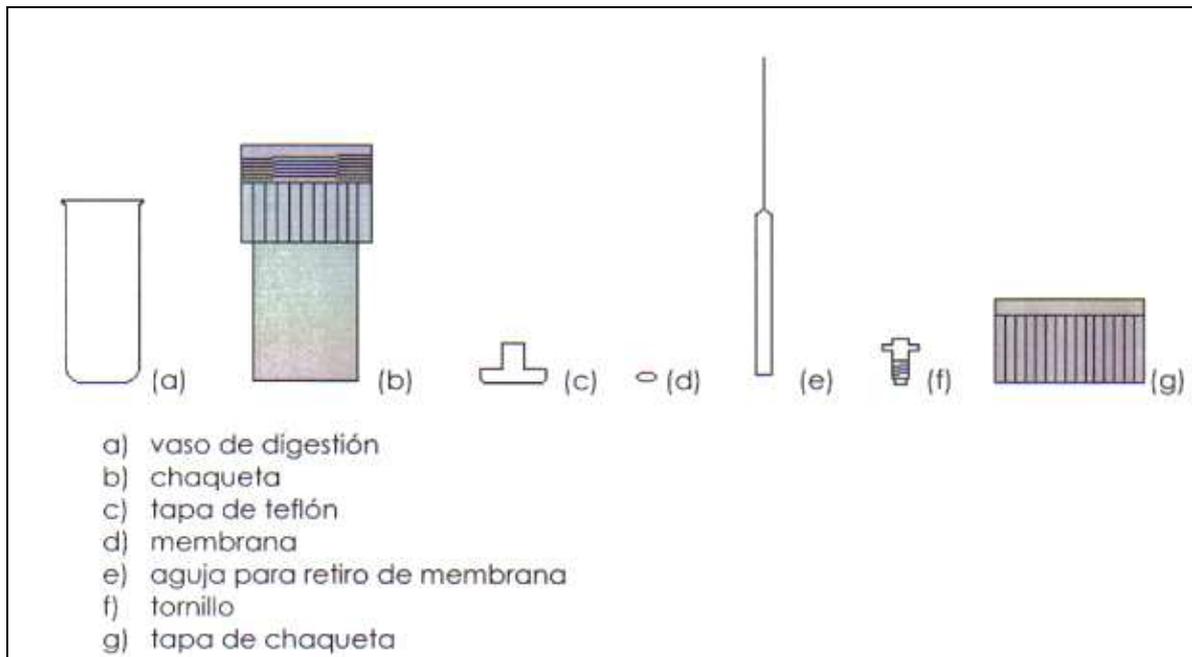


Figura 10 Equipo para digestión ¹⁰



La mezcla muestra-ácido nítrico 1:1 se introduce en el vaso de digestión (a), se cubre con una tapa de teflón (c) y se introduce en la chaqueta (b), se le coloca una membrana (d), el tornillo (f) y finalmente se cierra con la tapa de la chaqueta (g).

Material Utilizado

- Pipetas Volumétricas de 1 y 5mL
- Micropipetas con puntas (0.1mL a 1 mL)
- Matraces Volumétricos (10 y 100 mL)
- Vasos de Precipitados
- Piseta
- Guantes
- Viales
- Frascos
- Propipeta

Reactivos Utilizados

- Agua desionizada
- Ácido Nítrico JT Baker
- Estándar de Cobre 1000 mg/L Perkin Elmer
- Estándar de Hierro 1000 mg/L Perkin Elmer
- Estándar de Plomo 1000 mg/L Perkin Elmer
- Estándar de Zinc 1000 mg/L Perkin Elmer

Equipo Utilizado

- Horno de Microondas marca CEM 2000
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Flama marca Perkin Elmer Modelo 2380
- Espectrofotómetro con horno de grafito marca Perkin Elemer Modelo 3100
- Lámpara de cátodo hueco de Cobre
- Lámpara de cátodo hueco de Hierro
- Lámpara de cátodo hueco de Plomo
- Lámpara de cátodo hueco de Zinc

Figura 11 Equipo de Absorción Atómica Perkin Elmer Modelo 2380 ¹¹



Figura 12 Equipo de Absorción Atómica Perkin Elmer Modelo 3100 ¹²



Cobre

Para leer este metal debido al límite máximo permitido por la OIV (1mg/mL) se decidió leerlo en horno de grafito para lo cual se preparó un estándar de 0.5 mg/mL a partir de estándar concentrado de Cobre de 1000 mg/mL, tomando una alícuota de 0.1mL en 100 mL y después otra de 5mL en 10mL.

A partir del estándar de 0.5 mg/mL el automuestreador del equipo de A.A. construyó una curva de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg/mL que se leyó junto con las muestras.

Para leer la muestra, primero se debe vaporizar y atomizar dentro del horno de grafito para lo cual se utilizó el siguiente programa de temperatura:

Tabla 8 Programa de temperatura del horno de grafito ⁸

Etapa	Temperatura (C°)	Tiempo (s)
Inicial	20	0
Secado	120	50
Calcinado	600	80
Atomizado	1000	95
Limpieza	2300	100
Final	2600	105

Gráfica 2 Programa de temperatura del horno de grafito ²



La lectura se llevó a cabo a una longitud de onda de 324.8nm

Hierro

El límite máximo de concentración recomendado para el hierro es de 10 mg/mL por lo cuál para leer el hierro se utilizó un equipo de flama, y se construyó una curva de 1, 3, 5, 7 y 10 mg/mL, a partir del estándar concentrado de hierro de 1000 mg/mL se tomó una alícuota de

1 mL y se aforó a 10 mL, de este último se tomaron alícuotas por triplicado de 0.1, 0.3, 0.2, 0.7 y 1 mL y se aforaron a 10 mL, posteriormente se leyó esta curva en el quipo de A.A. en la flama junto con las muestras. Las lecturas se llevaron a cabo a una longitud de onda de 248.3 nm.

Plomo

Para leer este metal el límite máximo permitido por la OIV es de 0.3 mg/mL se optó por leerlo en horno de grafito para lo cual se preparó un estándar de 0.05 mg/mL a partir de estándar concentrado de Plomo de 1000 mg/mL, tomando una alícuota de 0.1 mL en 100 mL y después otra de 5 mL en 100 mL.

A partir del estándar de 0.05 mg/mL el automuestreador del equipo de A.A. construyó una curva de 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 y 0.05 mg/mL que se leyó junto con las muestras.

Para leer la muestra, primero se debe vaporizar y atomizar dentro del horno de grafito para lo cual se utilizó el mismo programa de temperatura descrito en la tabla 8 y gráfico 2.

La lectura se llevó a cabo a una longitud de onda de 283.3 nm

Zinc

El límite para el Zinc según la OIV es 5 mg/mL, a pesar de eso el promedio reportado es de 0.9 mg/mL por lo cual se decidió hacer una curva de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/mL, para esto se tomó una alícuota de 1 mL del estándar de 1000 mg/mL en 100 mL y posteriormente se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, y 1 mL y se aforaron a 10 mL.

Esta curva se leyó junto con las muestras en el quipo de A.A. en la flama a una longitud de onda de 213.9 nm.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

Se determinaron los 4 metales en distintas muestras, las muestras fueron leídas por triplicado y se leyeron 3 curvas cada vez, utilizando la de menor límite de detección para calcular las muestras.

CURVAS DE CALIBRACIÓN

Tabla 9 Curvas de Calibración de Cobre⁹

Curvas Cobre			
Unidad de concentración: $\mu\text{g/L}$			
Conc.	A1	A2	A3
10	0.062	0.101	0.081
25	0.320	0.326	0.323
50	0.727	0.717	0.722
75	1.062	1.070	1.066
100	1.379	1.401	1.390
Analista	J Ochoa G	J Ochoa G	J Ochoa G
LDD	8.066	4.189	6.096
LDC	26.887	13.963	20.321
Límite de detección LDD y límite de cuantificación LDC			
	Prom	sdev	
LDD	6.117	1.939	
LDC	20.390	6.462	

Tabla 10 Curvas de Calibración de Hierro ¹⁰

Curvas Hierro			
Unidad de concentración: mg/L			
Conc.	A1	A2	A3
1	0.063	0.063	0.063
3	0.102	0.103	0.103
5	0.143	0.143	0.143
7	0.205	0.208	0.206
10	0.288	0.290	0.289
Analista	J Ochoa G	J Ochoa G	J Ochoa G
LDD	1.140	1.168	1.150
LDC	3.800	3.893	3.835
Límite de detección LDD y límite de cuantificación LDC			
	Prom	sdev	
LDD	1.153	0.014	
LDC	3.843	0.047	

Tabla 11 Curvas de Calibración de Plomo ¹¹

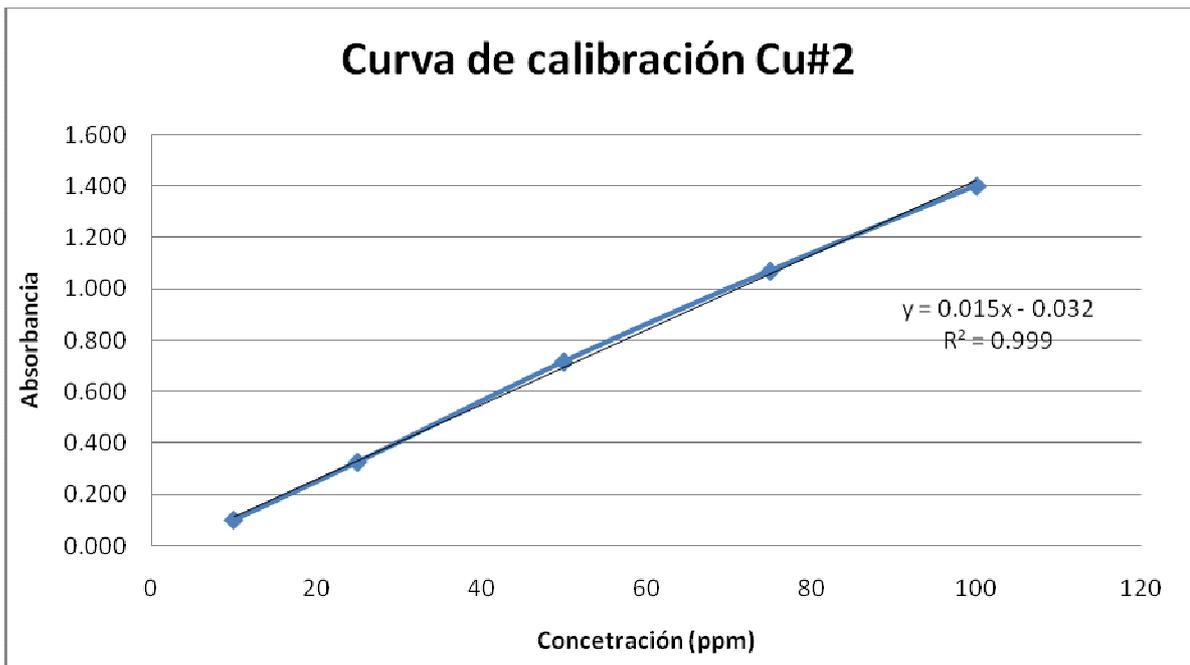
Curvas Pb			
Unidad de concentración: µg/L			
Conc.	A1	A2	A3
7	0.058	0.060	0.059
14	0.095	0.105	0.100
21	0.136	0.140	0.138
28	0.182	0.176	0.179
35	0.217	0.212	0.215
Analista	J Ochoa G	J Ochoa G	J Ochoa G
LDD	1.547	1.849	0.803
LDC	5.156	6.163	2.675
Límite de detección LDD y límite de cuantificación LDC			
	Prom	sdev	

LDD	1.399	0.538	
LDC	4.665	1.795	

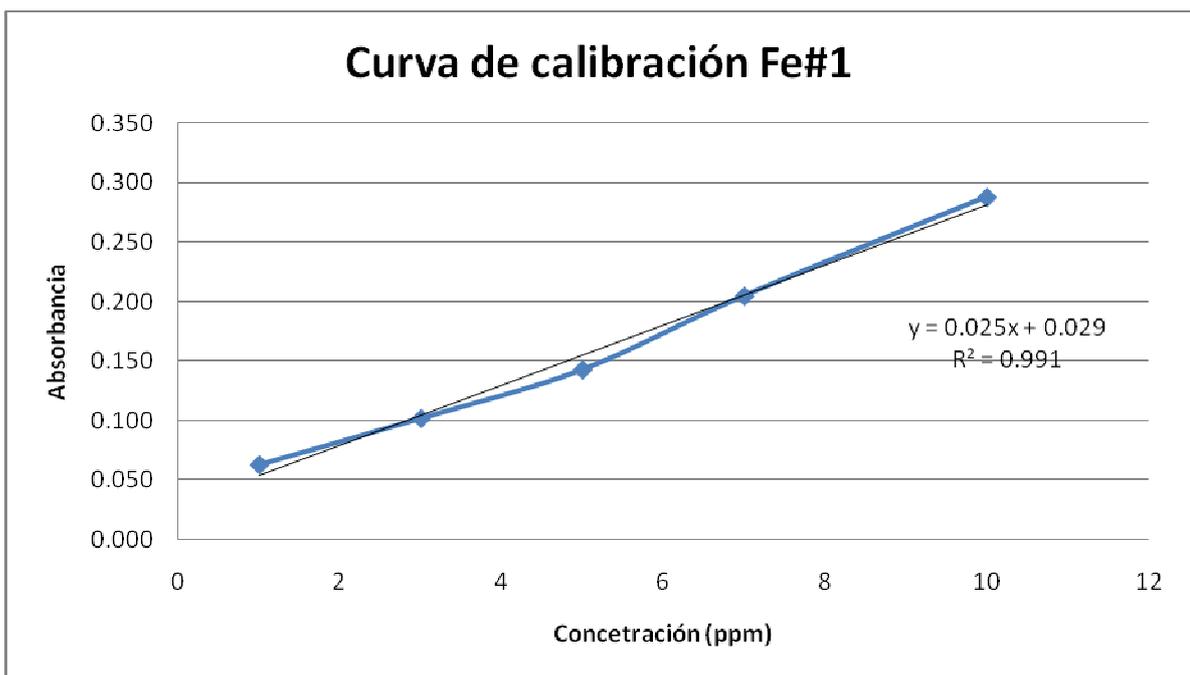
Tabla 12 Curvas de Calibración de Zinc ¹²

Curvas Zn			
Unidad de concentración: mg/L			
Conc.	A1	A2	A3
0.2	0.116	0.115	0.114
0.4	0.230	0.230	0.233
0.6	0.317	0.315	0.314
0.8	0.421	0.417	0.401
1	0.498	0.496	0.494
Analista	J Ochoa G	J Ochoa G	J Ochoa G
LDD	0.067	0.066	0.072
LDC	0.224	0.221	0.240
Límite de detección LDD y límite de cuantificación LDC			
	Prom	sdev	
LDD	0.068	0.003	
LDC	0.228	0.010	

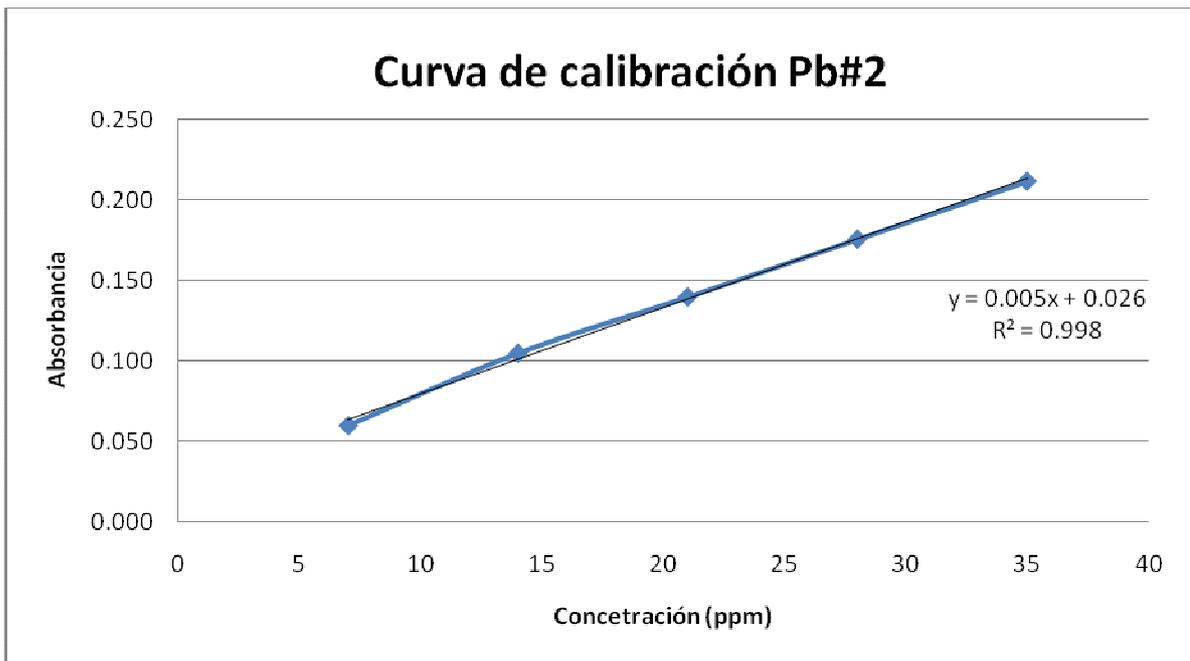
Gráfica 3 Curva de calibración de Cobre ³



Gráfica 4 Curva de calibración de Hierro ⁴



Gráfica 5 Curva de calibración de Plomo ⁵



Gráfica 6 Curva de calibración de Zinc⁶

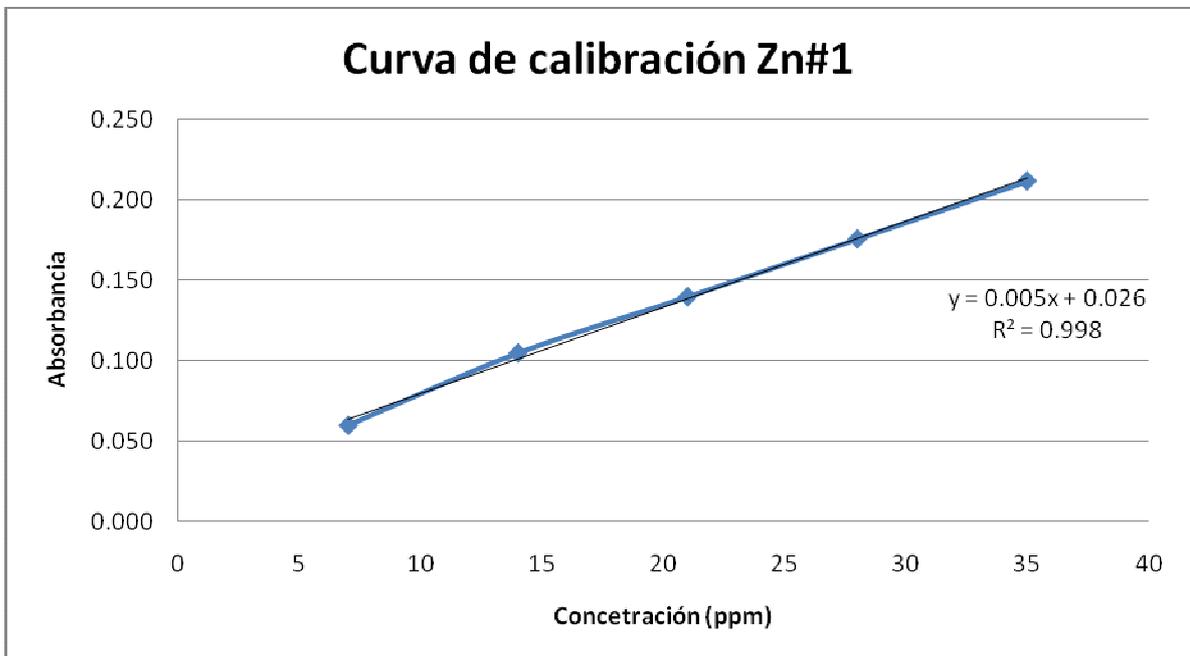


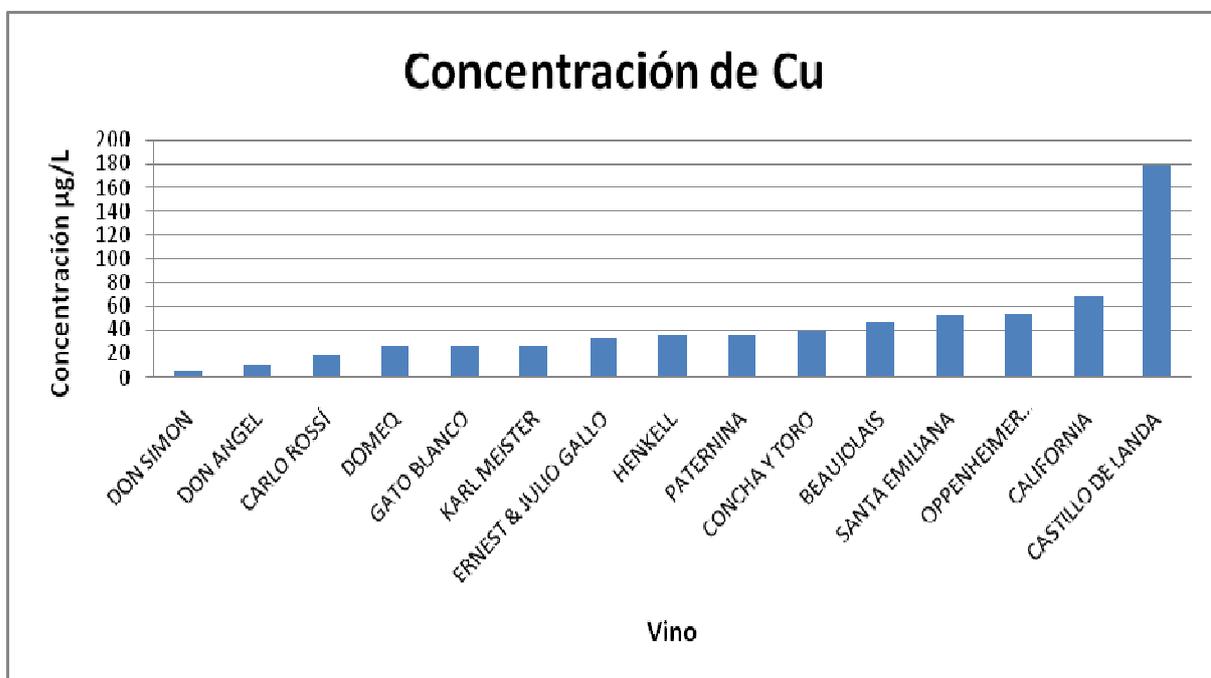
Tabla 13 Concentración de metales en vinos¹³

NOMBRE	Cu µg/L	Fe mg/L	Pb µg/L	Zn mg/L
OIV (Límite)	1000	10	150	5
BEAUJOLAIS	47	1.90*	21	0.16*
CALIFORNIA	69	1.71*	9	0.57
CARLO ROSSÍ	19*	N.D.	40	0.47
CASTILLO DE LANDA	178	1.37*	13	0.20*
CONCHA Y TORO	39	N.D.	5	N.D.
DOMEQ	27	2.83*	4*	0.42
DON ANGEL	11*	3.78*	13	0.43
DON SIMON	N.D.	3.60*	11	0.20*
ERNEST & JULIO GALLO	33	N.D.	9	0.83
GATO BLANCO	27	N.D.	5	N.D.
HENKELL	36	1.92*	4*	0.45
KARL MEISTER	28	2.03*	33	1.27
OPPENHEIMER KRÖTENBRUNNEN	54	2.13*	8	1.16
PATERNINA	37	1.84*	10	0.10*
SANTA EMILIANA	53	N.D.	9	0.38

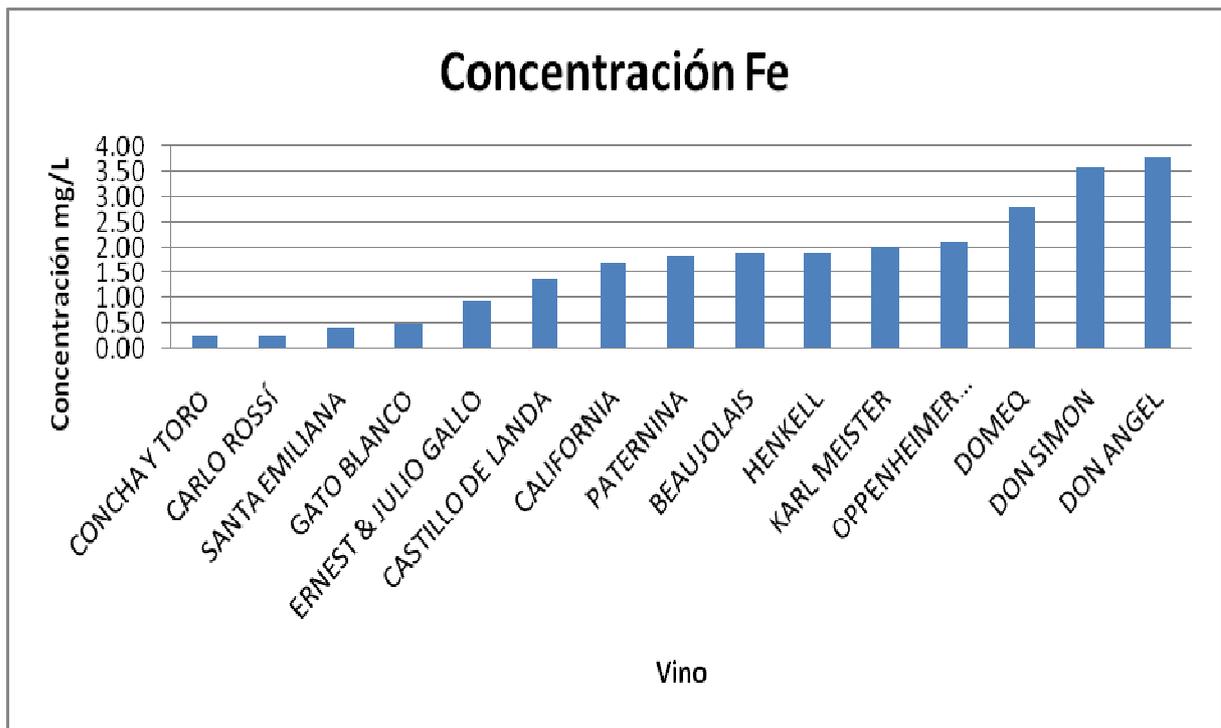
*Por Debajo del Límite de Cuantificación

N.D. No Detectable

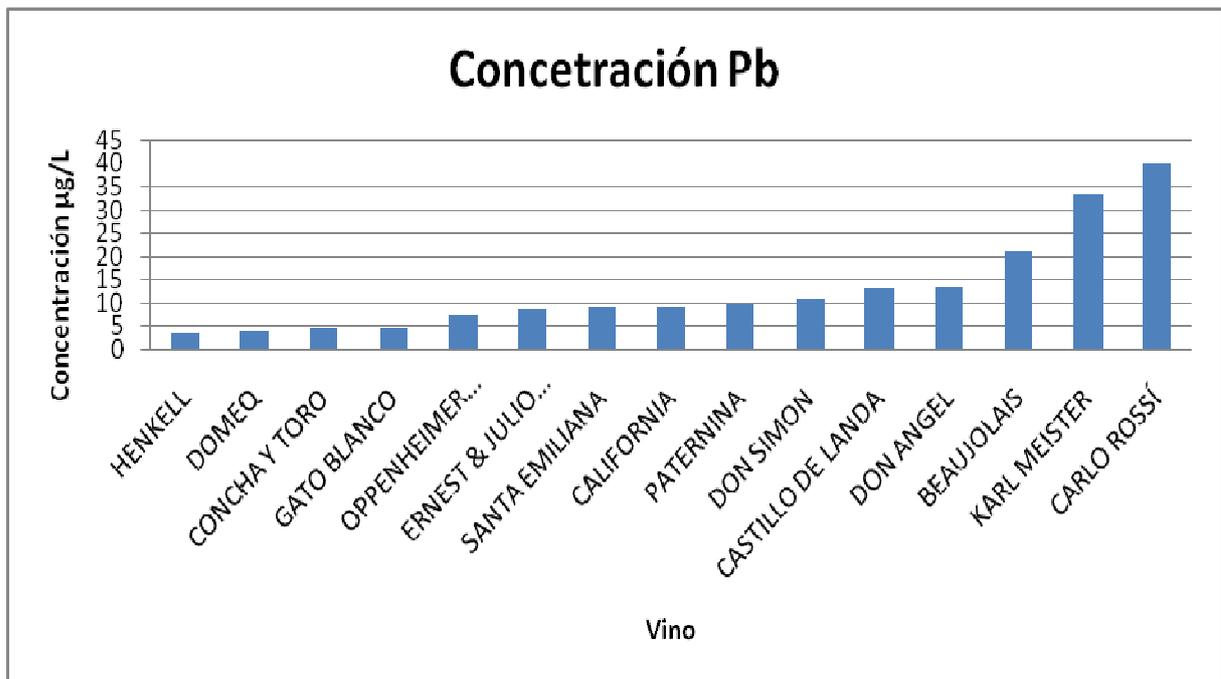
Gráfica 7 Comparativa de concentración de Cobre ⁷



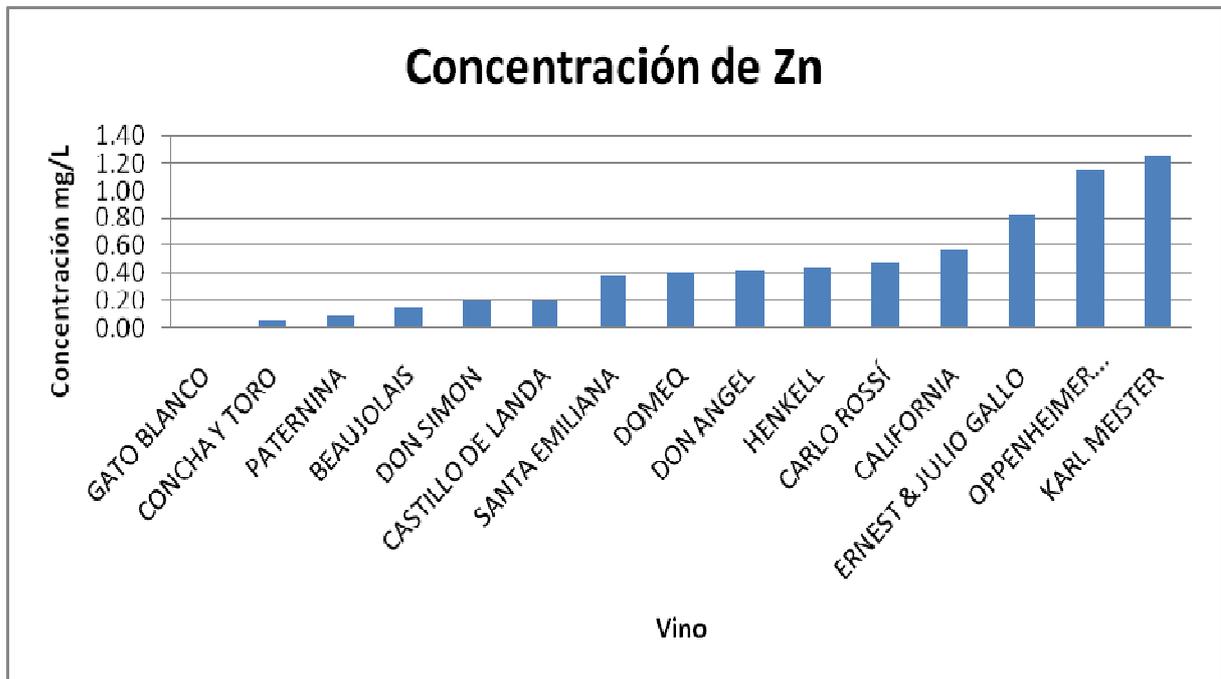
Gráfica 8 Comparativa de concentración de Hierro ⁸



Gráfica 9 Comparativa de concentración de Plomo⁹



Gráfica 10 Comparativa de concentración de Zinc ¹⁰



ANÁLISIS DE RESULTADOS

Cobre

La concentración más alta y por mucho, de cobre encontrada en las muestras corresponde al vino Castillo de Landa (gráfica 7), que es un vino de la zona Ribera del Duero (Soria, España), el color es de un tono rubí y el aroma que presenta es intenso el sabor resulta amplio robusto y aterciopelado, a pesar de ser el vino con la mayor concentración de cobre no se percibe ningún sabor extraño, no astringente ni sabor dulce que indicaría que la fermentación alcohólica no se llevó a cabo completamente por la inhibición enzimática del cobre, por lo cual se puede inferir que la concentración cercana a las 200µg/L (tabla 13) no interfiere con la fermentación del mosto ya que el valor de referencia del OIV es de 1000µg/L. La

concentración tan alta en vino Castillo de Landa se puede deber a que para quitar algunos compuestos de azufre de mal olor, se utiliza sulfato de cobre; la concentración tan baja y la biodisponibilidad reportada para el cobre en vinos (aproximadamente 50%), hacen que el cobre no represente ningún peligro para la salud.¹⁰

Hierro

Debido a que la presencia del hierro sólo puede deberse a 2 factores, el suelo o la operación vinícola y los vinos con mayor concentración son: Don Simón y Don Ángel (gráfica 8) que son producidos en continentes diferentes (tabla 6), la presencia del hierro podría deberse a que la maquinaria de acero utilizada esté mal recubierta o gastada.

La presencia del hierro en estos vinos si afecta la calidad del vino ya que ambos tienen una marcada acidez, sabor ligero pero muy metálico.

Por otra parte la toxicidad del hierro es baja pero, como se mencionó, afecta demasiado el sabor del vino por lo cual es importante controlar su presencia en el mosto y en el vino.

Plomo

El vino Carlo Rossí y el vino Karl Meister (gráfica 9) demostraron tener las concentraciones de plomo más altas de todas las muestras, debido a esto se puede deducir que el suelo y el ambiente no son los causantes de la concentración elevada de plomo, ya que el primero es producido en Estados Unidos de Norteamérica y el segundo en Alemania (tabla 6). Puedo inferir que se puede deber a las operaciones vinícolas, ya que son vinos altamente industrializados de tal manera que la adición de algunos compuestos químicos, el uso de tanques de almacenamiento y tuberías en el proceso pueden favorecer la presencia de este metal. A pesar de que la biodisponibilidad de los metales es mayor en los vinos blancos que en los tintos, la biodisponibilidad del plomo es pequeña alrededor de 20% por eso no representa un riesgo para la salud, los límites de la OIV cambian cada año y la cantidad de

plomo permisible es menor cada vez, por lo que estos vinos en algunos años podrían salir de la norma. El sabor de los vinos difícilmente puede verse afectado por estas concentraciones y la pequeña modificación que pudiesen hacerle al vino se vería enmascarada por la acidez del mismo. Las concentraciones de los demás vinos son más bajas y a pesar de que no representan un riesgo para la salud es importante mantener controles para la concentración de plomo en el vino.^{10, 11,12}

Zinc

Es el único metal que parece tener relación con el país de origen de los vinos ya que, los que tienen la concentración más alta Oppenheimer y Karl Meister (gráfica 10), ambos son alemanes (tabla 6). Una posible fuente es la adición que se hace de sulfato de Zinc para la clarificación del vino. La pequeña cantidad de Zinc no representa ningún peligro para la salud del consumidor y el cambio de sabor es prácticamente imperceptible, se ha comprobado que los vinos blancos contienen proteínas con sitios quelatantes en mayor cantidad que lo vinos tintos esto puede explicar por qué los dos con la mayor cantidad de Zinc son vinos blancos.

La mayoría de estos vinos son mezclas de varias cepas de varias regiones de varios países por lo cual la concentración de los metales se debe a las operaciones industriales a las que han sido sometidos. Obviamente hay que tomar en cuenta que el número de muestras es pequeño.¹⁰

CAPÍTULO VI

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se analizaron 15 vinos, elaborados en 6 países diferentes, entre el año de 1997 y 2003 de los cuales 6 vinos eran blancos y 9 tintos; a estos vinos se les determinó la concentración de 4 metales (Cobre, Hierro, Plomo y Zinc). Ningún vino presentó valores por encima del límite de la OIV

La concentración más alta detectada para el cobre fue en el vino tinto Castillo de Landa y la más baja para el vino tinto Don Simón.

En el caso del hierro, las concentraciones más altas encontradas fueron en los vinos tintos Don Ángel y Don Simón y la más baja para el vino tinto Concha y Toro. Todos los vinos estuvieron por debajo del límite de cuantificación y algunos por debajo de límite de detección.

La concentración más alta de plomo observada fue para el vino blanco Carlo Rossí elaborado en EUA, en todos los vinos fue detectado el metal.

La mayor concentración de Zn, fue detectada en los vinos blancos Karl Meister y Oppenheimer y dos muestras estuvieron por debajo del límite de detección.

Los objetivos planteados en este trabajo se lograron:

- Determinar cuantitativamente la cantidad de Cobre, Hierro, Plomo y Zinc de algunos Vinos nacionales y extranjeros vendidos en México.
- Conocer el principio de la absorción atómica y aprender a utilizar los equipos de absorción atómica utilizando las técnicas de flama y horno
- Desarrollar un método de preparación de muestras para determinar metales en vinos
- Desarrollar un método de análisis para cada uno de los 4 metales que se determinaron.

Es importante señalar que en la normatividad mexicana no se regula el contenido de los metales del estudio ni de ningún otro.

En la actualidad en las operaciones vinícolas se utilizan muchos compuestos químicos para el tratamiento del vino, es importante regular el uso de estos en países como el nuestro ya que podrían quedar remanentes de estos compuestos y afectar la calidad del vino o aún peor la salud del consumidor, también la maquinaria, tubería y tanques de almacenamiento que se utilizan son fabricados con materiales que pueden ser solubilizados en el vino. Este control debe establecerse con mayor urgencia para en caso del hierro, ya que como observamos en la parte de resultados la alta concentración afecta severamente la calidad del vino.

En países con una mayor cultura del vino como los que pertenecen a la Comunidad Europea, el uso de los reactivos para los procesos de producción de vino son estrictamente regulados, pero deberían de existir normas que regulen los recubrimientos de toda la tubería y maquinaria utilizada en la elaboración y almacenamiento. En México no existe control de los reactivos ni de tuberías por lo que en el próximo proyecto de norma deberían incluirse límites máximos permisibles para los elementos más tóxicos y especificaciones estrictas para los reactivos utilizados en la industria vitivinícola.

La importancia de este trabajo radica en dar inicio a la investigación en México de límites de detección, validación y proyectos de normas por lo que en trabajos futuros podría tratarse, la validación de los métodos, la inclusión de más metales y considerarse el uso de otras técnicas como ICP o métodos electrométricos. El contenido de metales en vinos no es nuevo en el mundo ya que incluso en algunos trabajos se ha propuesto utilizar el patrón de contenido de metales para la identificación de vinos y validar su origen, cepa, año etc.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA

1. André Dominé, Madrid (2000), *El vino*, Könnemann Verlagsgesellschaft, 1ª Ed., págs.8-110
2. Claude Flanzy, España (2002), *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*, 2ª Ed., pág 220.
3. Código Internacional de Prácticas enológicas, Francia 2005, 4ª Ed. OIV
4. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol. 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva, 1996.
5. Norma Mexicana NMX-V-012-2005, BEBIDAS ALCOHOLICAS-VINO-ESPECIFICACIONES
6. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994
7. Galen W. Ewing, Singapur (1993), *Instrumental Methods of Chemical Analysis*, McGraw-Hill, 5ª Ed, págs. 109-122
8. Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed, págs. 203-244.
9. J. Hidalgo T, España (2003), *Tratado de Enología*, Mund-Prensas, 1ª Ed., págs. 1195-1225
10. J. N. Miller, España (2002), *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4ª Ed. págs. 125-127

11. J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 5740-5749

12. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 3012-3023

TABLAS

Tabla 1 O.I.V. Francia (1993) Description des cepages du monde

Tabla 2 O.I.V. Francia (1993) Description des cepages du monde

Tabla 3 O.I.V. Code Sheet ed. 2008

Tabla 4 André Dominé, Madrid (2000), El vino, Könemann Verlagsgesellschaft

Tabla 5 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 221

Tabla 6 Vinos analizados

Tabla 7 Programa del horno de microondas

Tabla 8 Programa de temperatura del horno de grafito

Tabla 9 Curvas de calibración de Cobre

Tabla 10 Curvas de calibración de Hierro

Tabla 11 Curvas de calibración de Plomo

Tabla 12 Curvas de calibración de Zinc

Tabla 13 Concentración de metales en vinos

FIGURAS

Fig. 1 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 221.

Fig. 2 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 221.

Fig. 3 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 222.

Fig. 4 <http://www.monografias.com/trabajos53/impacto-ambiental-mercurio/impacto-ambiental-mercurio2.shtml>

Fig. 5 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 222.

Fig. 6 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 224.

Fig. 7 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 224.

Fig. 8 Skoog D.A, Holler F.J., Nieman T. A., España (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, 5ª Ed., pág. 229.

Fig. 9 Muestras para análisis Laboratorio 103

Fig. 10 Equipo para digestión.

Fig. 11 Equipo de Absorción Atómica Perkin Elmer Modelo 2380

Fig. 12 Equipo de Absorción Atómica Perkin Elmer Modelo 3100

GRÁFICAS

Gráfica 1 Programa del horno de microondas

Gráfica 2 Programa de temperatura del horno de grafito

Gráfica 3 Curva de calibración de Cobre #2

Gráfica 4 Curva de calibración de Hierro #1

Gráfica 6 Curva de calibración Plomo #2

Gráfica 8 Curva de calibración Zinc #2

Gráfica 7 Comparativa de concentración de Cobre

Gráfica 8 Comparativa de concentración de Hierro

Gráfica 9 Comparativa de concentración de Plomo

Gráfica 10 Comparativa de concentración de Zinc