

## **Determinación de Fe(II) en vinos blancos mediante análisis de inyección en flujo con detección espectrofotométrica**

Arlene Soto, Israel Enciso, José A. Rodríguez, Araceli Castañeda, Araceli Sierra.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas, Laboratorio de Química Analítica. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. C.P. 42076. Tel: (771) 717 2000 ext 6785. e-mail: jara78@qa.uva.es

### **1. Introducción**

La calidad de los vinos así como sus propiedades organolépticas, pueden estar influenciadas por la cantidad de iones inorgánicos que contienen. La presencia de distintos iones se debe tanto a la composición natural de los productos de partida como al procedimiento de fabricación. Es por ello que la determinación de algunas especies metálicas es indispensable.

El hierro se encuentra presente naturalmente en uvas y mostos, su concentración puede variar entre 0.5 y 20 mg l<sup>-1</sup>. La importancia de la determinación de Fe(II) en vinos, se debe a que esta especie es susceptible a sufrir procesos de oxidación durante la maduración del vino, este hecho se relaciona con la calidad del proceso de producción. Cuando el vino es producido en condiciones adecuadas (protegido del aire), éste posee características reductoras, por lo que el hierro tendrá concentraciones por encima de 20 mg L<sup>-1</sup> y se encontrará principalmente como Fe(II) [1].

La determinación de hierro en vinos es realizada por diversas metodologías analíticas, tales como espectroscopia de absorción atómica, técnicas electroquímicas y su acoplamiento como detectores a la cromatografía de intercambio iónico. Sin embargo las técnicas espectrofotométricas dada su selectividad y sencillez siguen siendo las más utilizadas. El método descrito en esta comunicación se basa en la determinación colorimétrica a 515 nm del complejo formado entre el Fe(II) y la 1,10-fenantrolina [2].

### **2. Experimentación**

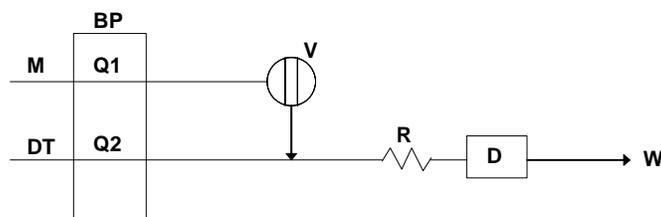
#### **2.1. Reactivos y disoluciones**

Todas las disoluciones fueron preparadas disolviendo el respectivo reactivo en agua desionizada con una conductividad específica menor de 0.1  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . Una disolución patrón de 1.00 g l<sup>-1</sup> de Fe(II) se preparó disolviendo Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O en HCl 0.1 mol l<sup>-1</sup>; esta disolución es renovada semanalmente. Las distintas disoluciones estándar fueron preparadas diariamente mediante dilución de la disolución patrón, las disoluciones finales contenían un 11 % de etanol el cual se adicionó con la finalidad de simular la matriz analítica de las muestras de vino. Se utilizó una disolución transportadora compuesta por tampón de acetatos (pH 4.2, 1.0 mol l<sup>-1</sup>) y 1,10-fenantrolina (1.00 x 10<sup>-3</sup> mol l<sup>-1</sup>) para todos los experimentos. Las muestras de vino blanco de distintas denominaciones de origen fueron adquiridas en establecimientos comerciales. Con la finalidad de evitar la oxidación del Fe(II) a Fe(III), las muestras fueron abiertas segundos antes de ser analizadas e inyectadas sin tratamiento previo.

#### **2.2. Equipo**

El sistema FIA desarrollado para la determinación de Fe(II) (Figura 1) consta de una bomba peristáltica de 4 canales (Gilson, Minipuls 3) con tubos de la misma marca. La introducción de las muestras y patrones en el flujo del transportador se realizó utilizando una válvula de inyección de cuatro vías Rheodyne. Los diferentes componentes del montaje se unieron entre sí por tubos de teflón de 0.8 mm de diámetro interno de la marca Omnifit, ligadores y terminales Gilson.

El registro de las señales analíticas se realizó utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo lambda 40 acoplado a una celda de cuarzo de 18  $\mu\text{l}$  de volumen interno y 1 cm de paso óptico.



**Figura 1.** Esquema del montaje FIA utilizado DT, disolución transportadora; M, muestra; BP, bomba peristáltica; Q, caudal; V, válvula de inyección; R, reactor; D, detector espectrofotométrico; W, desecho.

## 2.3. Metodología

El sistema de análisis en flujo optimizado comienza con la inyección de 100  $\mu\text{l}$  de muestra en la disolución transportadora que fluye por el canal DT (Fig. 1) con un caudal de 1.4  $\text{ml min}^{-1}$ , la muestra se mezcla en un reactor de 140 cm donde tiene lugar la formación del complejo entre Fe(II)-1,10-fenantrolina que es posteriormente detectado a 515 nm.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Optimización de las variables del sistema de flujo

Los parámetros del sistema FIA se optimizaron para permitir realizar la determinación de Fe(II) en las concentraciones presentes en las muestras y obtener la máxima sensibilidad. El contenido de Fe(II) en las muestras será variable, por lo que hay que optimizar el sistema para que nos proporcione medidas secuenciales con buenos ritmos de muestreo y adecuada reproducibilidad. Según estudios reportados, los principales parámetros operacionales correspondientes al sistema FIA: caudal de la disolución transportadora, volumen de inyección y longitud del tubo donde ocurre la dispersión (reactor), son los principales factores que afectan significativamente la respuesta de los detectores espectrofotométricos [3].

Para optimizar los parámetros del sistema de flujo se utilizó un método clásico. En el diseño clásico se investiga por turno la respuesta de cada variable, mientras se mantienen constantes todas las demás.

#### 3.1.1. Caudal

Se estudió la variación del caudal a 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.7 y 2.0  $\text{ml min}^{-1}$ . La repetitividad de la señal expresada en % DER en función al caudal aplicado (en disoluciones acuosas) se presenta en la Tabla 1, en la que podemos observar que la repetitividad de las señales de 5 y 15  $\text{mg l}^{-1}$  es mínima cuando se trabaja a un caudal de 1.4  $\text{ml min}^{-1}$ , por ello se elige como el caudal de trabajo mas adecuado. Los demás parámetros se mantuvieron constantes en valores de volumen de inyección, 100  $\mu\text{l}$ ; longitud del reactor 60 cm.

**Tabla 1.** Repetitividad de la señal analítica de Fe(II) expresada como %DER (n=3)

Caudal (ml min <sup>-1</sup> )	Repetitividad (% DER, n=3)	
	5 mg l <sup>-1</sup>	15 mg l <sup>-1</sup>
0.4	4.87	1.23
0.8	0.34	4.56
1	2.30	3.07
1.2	4.73	2.29
<b>1.4</b>	<b>0.08</b>	<b>0.07</b>
1.7	1.80	0.44
2	3.53	1.94

### 3.1.2. Volumen de inyección

Una vez fijado el caudal a 1.4 ml min<sup>-1</sup> y utilizando una longitud del reactor de 60 cm, se estudio estudió la influencia del volumen de inyección, eligiéndose los volúmenes de 30, 50, 75, 100 y 200 µl. Los resultados de intensidad de la señal observada, así como de la repetitividad de la misma se presentan en la Tabla 2. Los valores obtenidos muestran una tendencia lineal en el aumento de la señal, manteniéndose constante a partir de volúmenes de inyección de 100 µl. Este volumen es elegido como el mas adecuado, debido a que la señal observada era máxima además de que la variación de la señal era mínima.

**Tabla 2.** Intensidad de la señal analítica (u.a.) (Media y %DER, n=3) en función del volumen de inyección

Vi (µl)	[Fe(II)] mg l <sup>-1</sup>	
	5.0	15.0
30	0.0808 (6.85)	0.1556 (13.83)
50	0.1506 (1.64)	0.3425 (4.21)
75	0.2173 (5.68)	0.5021 (2.97)
<b>100</b>	<b>0.3284 (0.58)</b>	<b>0.7085 (0.79)</b>
200	0.3556 (3.69)	0.7139 (2.54)

### 3.1.3. Longitud del reactor

Para evaluar la extensión del reactor, se trabajó con un caudal de 1.4 ml min<sup>-1</sup> y un volumen de inyección de 100 µl. La optimización se realizó considerando el tiempo de retorno de la línea base, definido como el tiempo que tarda el pico en volver a la línea base después de que alcanza su máximo valor. Este tiempo no es solo función de las características del detector, sino también de las características mecánicas del sistema.

Los datos obtenidos del tiempo de retorno de la línea base se muestran en la Tabla 3, estos valores tienden a aumentar hasta valores de 140 cm a valores superiores se mantiene constante, lo que es indicativo de una máxima dispersión en el reactor, misma que se ve reflejada en la repetitividad de las señales.

**Tabla 3.** Valores de tiempo (s) de retorno de la línea base en función de la longitud del reactor

L(cm)	[Fe(II)] mg l <sup>-1</sup>	
	5.0	15.0
30	28.5	34.5
60	32	42.5
90	36.4	50.2
140	40.4	56
170	40.7	56.8

### 3.2. Evaluación del efecto matriz

Con la finalidad de evaluar el efecto que podía tener sobre nuestro análisis la matriz analítica de las muestras, se procedió a comparar los resultados obtenidos de las disoluciones patrón en medio acuoso, con los obtenidos con las disoluciones patrón en medio hidro-alcohólico (disoluciones patrón que contenían un 11 % de etanol). Para ello se llevó a cabo un análisis de varianza [4], planteándose como hipótesis nula  $H_0$  que no había diferencias significativas entre la media de los resultados obtenidos cuando se inyectan disoluciones patrón en medio acuoso ( $\bar{x}_1$ ) y la media de los disoluciones en medio hidro-alcohólico ( $\bar{x}_2$ ).

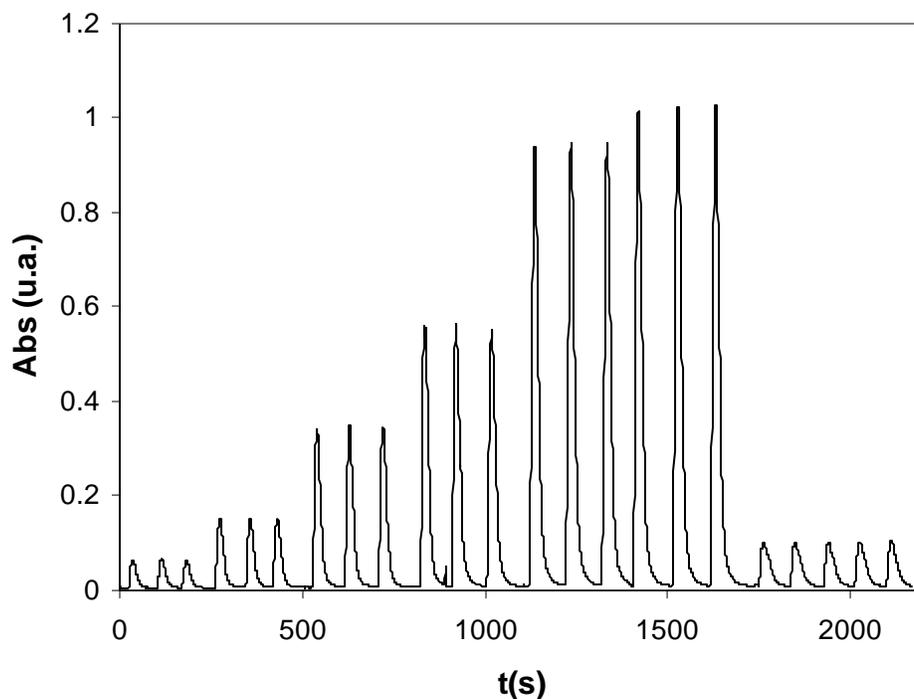
Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4. El valor de  $F_{\text{calculado}}$  se comparó con el valor  $F_{\text{crítico}}$  (1,8) para grados de libertad y un nivel de significación del 95 % ( $F_{\text{crítico}} = 5.31$ ). El valor de  $F_{\text{calculado}}$  (5.35) es mayor que el  $F_{\text{crítico}}$ , de tal forma que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que postula que existen diferencias significativas entre la absorbancia de las disoluciones patrón en medio acuoso e hidro-alcohólico.

**Tabla 4.** Intensidades de señal obtenidas en condiciones optimizadas en distintas matrices analíticas

[Fe(II)] mg l <sup>-1</sup>	Absorbancia (u.a.)	
	Medio acuoso	Medio hidro-alcohólico
2.0	0.0191	0.1035
5.0	0.0362	0.2363
10.0	0.0501	0.4557
15.0	0.1640	0.6151
20.0	0.3275	0.8266

### 3.3. Parámetros analíticos

Bajo las condiciones optimizadas según se describió, se realizaron las líneas de calibrado utilizando disoluciones estándar en el intervalo de concentraciones entre 10 y 35 mg l<sup>-1</sup>. La altura de la señal obtenida (u.a.) se midió por triplicado, construyéndose las líneas de calibrado a partir de las alturas medias. Las líneas de calibrado muestran una dependencia lineal entre la intensidad de pico anódico media y la concentración de Fe(II) presente en la disolución estándar. El fiagrama obtenido en condiciones óptimas y los parámetros de regresión de las líneas de calibrado se muestran en la Figura 2 y la Tabla 5, respectivamente.



**Figura 2.** Diagrama correspondiente a la inyección de disoluciones patrón en medio hidro-alcohólico de 10, 15, 20, 25, 32 y 35 mg l<sup>-1</sup> de Fe(II). Q, 1.4 ml min<sup>-1</sup>; Vi, 100 µl; L, 140 cm.

**Tabla 5.** Parámetros de regresión de las líneas de calibrado, altura (u.a.) vs concentración de Fe(II) (mg l<sup>-1</sup>).

Parámetro	Línea calibrado Fe(II)
Raíz cuadrada de la varianza residual, $s_e$	0.044
Número de estándares, n	6
Coefficiente de correlación, $r^2$	0.991
Ordenada en el origen, $b_0 \pm ts(b_0)$	-0.435 ± 0.137
Pendiente, $b_1 \pm ts(b_1)$	0.0416 ± 0.006
Intervalo lineal (mg l <sup>-1</sup> )	10-35
Limite de detección (mg l <sup>-1</sup> )	3.2
Reproducibilidad (%DSR, n=5, 10 mg l <sup>-1</sup> )	0.57

### 3.4 Análisis de muestras

El método optimizado se aplicó a muestras de vinos blancos de distintos orígenes, las disoluciones patrón inyectadas en el sistema estaban en una matriz hidro-alcohólica. Los resultados obtenidos para cada una de las 5 muestras se exponen en la Tabla 6. La concentración determinada se presenta como la media de 5 determinaciones independientes de Fe(II). La precisión de las determinaciones se evaluó por medio del %DER, el cual es menor al 5 % en todos los casos.

**Tabla 6.** Contenido de Fe(II) (media y %DER, n=5) en muestras de vino blanco determinado por el método de análisis propuesto. Unidades de concentración, mg l<sup>-1</sup>

Muestra	[Fe(II)]
1	12.3 (0.9)
2	11.0 (0.6)
3	11.7 (0.7)
4	15.8 (0.6)
5	14.2 (0.4)

#### 4. Conclusiones

Se desarrolló un sistema de análisis de inyección en flujo con detección espectrofotométrica el cual permite el análisis de 32 muestras h<sup>-1</sup> con un consumo de reactivos mínimo. El método diseñado demostró ser efectivo para la determinación de Fe(II) en vinos blancos. La inyección de las muestras sin tratamiento previo, le proporciona al sistema diseñado una ventaja adicional en comparación con otras metodologías propuestas.

#### 5. Agradecimientos

José A. Rodríguez agradece al CONACyT por la beca de repatriación otorgada.

#### 6. Referencias

- [1] K. Argyri, M. Komaitis, M. Kapsokefalou. Food Chemistry **96**, 281-289 (2006)
- [2] K.A. Riganakosa, P.G. Veltsistas. Food Chemistry **82**, 637-643 (2003)
- [3] L. Campanella, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz. Talanta **43**, 835-838 (1996)
- [4] J.N. Miller, J.C. Miller. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Ed. Pearson. España. (2002)