

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA



**PRECONCENTRACIÓN Y ANALISIS MULTIELEMENTAL DE METALES
PESADOS EN ACEITES COMESTIBLES – APLICACIÓN A ACEITES
COMERCIALES VENEZOLANOS.**

Trabajo Especial de Grado presentado
ante la Ilustre Universidad Central de
Venezuela, por la **Br. Carmen Báez B.**,
para optar al título de Licenciado en
Química.

Caracas, Octubre 2010

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: **“PRECONCENTRACIÓN Y ANALISIS MULTIELEMENTAL DE METALES PESADOS EN ACEITES COMESTIBLES - APLICACIÓN A ACEITES COMERCIALES VENEZOLANOS”** Presentado por la Br. Carmen Báez B., certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Prof. María de los Ángeles Álvarez
(Director)

Prof. Luis Gómez
(Jurado)

Prof. Marinela Barrero
(Jurado)

Yo Profesor(a) María de los Ángeles Álvarez, Investigadora del Centro de Química Analítica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

"PRECONCENTRACIÓN Y ANALISIS MULTIELEMENTAL DE METALES PESADOS EN ACEITES COMESTIBLES. APLICACIÓN A ACEITES COMERCIALES VENEZOLANOS"

Que presenta la Br. Carmen Báez B., para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Centro de Química Analítica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección, durante los años 2009 y 2010, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, Octubre de 2010

Prof. María de los Ángeles Álvarez

RESUMEN

La presencia de metales pesados en los aceites comestibles, se debe a varios factores entre los cuales, el enriquecimiento de los suelos donde se cultivan las semillas oleaginosas, el proceso de refinación y almacenamiento son las causas más evidentes. El contenido de metales pesados en los aceites comestibles está limitado, debido al efecto que muchos de ellos tienen sobre la salud humana. A nivel nacional, contamos con las Normas Covenin, las cuales indican los niveles máximos de concentración de Pb, As, Fe y Cu permitidos en los aceites comestibles comerciales en Venezuela. Estas normas son un reflejo de las normas internacionales expresadas en el Codex Alimentarius.

En este trabajo se optimizaron las metodologías de extracción en el punto de niebla empleando DDTP y APDC como agentes complejantes, la extracción ácida y la digestión ácida y se compararon en base a sus figuras de mérito: factor de enriquecimiento, LOD_m , $\%R_m$, y reproducibilidad.

La metodología de extracción ácida resultó la opción idónea para la determinación simultánea de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en aceites comestibles, puesto que es una metodología sencilla, que permite realizar un elevado número de extracciones en poco tiempo, y minimiza los posibles factores de contaminación debido al empleo de pocos reactivos. Esta metodología se caracterizó por presentar los mejores límites de detección para todos los analitos (LOD_m entre 1,5 y 4,75 veces mejor que los obtenidos por extracción por CPE) y una reproducibilidad superior a la obtenida con los otros métodos estudiados. La exactitud del método analítico, determinada mediante el estudio de recuperación efectuado en distintos aceites vegetales, estuvo entre 86% y 103%, a excepción del Cr para el cual se presentaron problemas de contaminación en algunos aceites.

Para el caso de la digestión ácida se observaron bajos límites de detección que limitan su aplicación al análisis deseado, y para la metodología de extracción por CPE, aunque presentó límites de detección apropiados, su procedimiento se vió

severamente afectado por la contaminación, bien proveniente del ambiente y/o debido a la cantidad de pasos y reactivos que involucra, lo cual afecta tanto la exactitud como la reproducibilidad de los resultados.

La metodología de extracción ácida y análisis simultáneo mediante ETAAS fue aplicado para la determinación simultánea de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en una gran cantidad de aceites comerciales venezolanos, de diferentes tipos y marcas, para los cuales se obtuvieron niveles inferiores a los máximos permitidos en las normativas nacionales (que coinciden con los del Codex Internacional), y por lo tanto resultan adecuados para el consumo humano.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UCV-CDCH-PI-03-7534-2009/1.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero dar gracias a Dios, por estar conmigo en todo momento, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a todas las personas que han sido mi soporte y compañía durante todo éste periodo de estudio.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. María de los Ángeles Álvarez, por su enorme dedicación, tolerancia, comprensión, amistad y su calidez como persona.

Agradezco la confianza, colaboración y el apoyo de mi madre y hermanos, Gabriel, Víctor y Juan quienes han contribuido positivamente para llevar a cabo esta laboriosa tarea.

A Omar, por darme la estabilidad emocional necesaria para llevar a feliz término éste trabajo, por ser mi guía y una luz extraordinaria a lo largo de todos estos años.

A mis amigas, Karina, María Virginia, por compartir los momentos buenos y también los malos durante mi permanencia en esta casa de estudio. A Jazmery y Luisa, dos personas que fueron mi apoyo durante este agradable y difícil periodo académico, por ser mis buenas amigas, y por seguir siendo parte de mi vida.

A Anamelia, Maria Carolina, Kharla y Arnoldo por ser extraordinarios compañeros en este último año de mi vida, por brindarme su apoyo y colaboración en todo momento, por su paciencia, cariño y amistad.

A todos los profesores y compañeros del Centro de Química Analítica por su valiosa colaboración, disponibilidad, apoyo y paciencia para llevar a cabo la culminación de éste trabajo.

ÍNDICE GENERAL	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. Metales pesados.	3
2. Metales presentes en aceites comestibles.	10
3. Metodologías empleadas para la determinación de metales traza en aceite comestibles.	12
4. Tratamiento de muestra	24
4.1. Extracción ácida	24
4.2. Digestión ácida	24
4.3. Extracción en el punto de niebla o cloud point	24
4.3.1 Variables a optimizar en la extracción por CPE	26
4.3.1. a Concentración del surfactante	26
4.3.1. b Efecto del pH	27
4.3.1. c Concentración del agente quelante o acomplejante	27
4.3.1. d Fuerza iónica y centrifugación	28
4.3.1. e Separación de las fases	28
4.3.1. f Agente diluyente de la fase micelar	28
5. Aceites comestibles en Venezuela	29
III. OBJETIVOS	36
1. Objetivo general	36
2. Objetivos específicos	36
VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	37
1. Equipos	37
2. Reactivos	37
3. Metodología	38
3.1 Tratamiento de muestra	38
Procedimiento de digestión ácida	38
Procedimiento de extracción en el punto de niebla	39
Procedimiento de extracción ácida	42

3.2 Análisis multielemental por ETAAS	44
3.3 Comparación entre métodos de análisis	46
3.3.1- Determinación de figuras de mérito	46
3.3.2 Comparación de resultados obtenidos entre métodos	49
3.4 Análisis de aceites comestibles venezolanos mediante extracción ácida y detección simultánea mediante ETAAS.	50
4. Resultados y discusión	51
4.1 Tratamiento de muestra	51
Procedimiento de extracción en el punto de niebla (CPE).	51
Extracción ácida	53
a. La influencia del volumen de HNO ₃ en la concentración extraída y el porcentaje de recuperación (%R _m)	53
b. Efecto de la masa de analito en el porcentaje de recuperación	53
4.2 Comparación entre métodos de análisis	56
4.2.1 Figuras de mérito	56
Masa característica (m _o)	56
Factor de enriquecimiento (FE)	57
Factor de preconcentración (FP)	58
Límite de detección instrumental (LOD _i) y metodológico (LOD _m)	60
Porcentaje de recuperación (% R)	63
4.2.2 Comparación de resultados entre metodologías	64
4.3 Análisis de aceites comestibles venezolanos mediante extracción ácida y detección simultánea mediante ETAAS.	66
V. CONCLUSIONES	70
VI. RECOMENDACIONES	71
VII. BIBLIOGRAFIA	72
VIII. ANEXOS	84

Listado de Tablas	Pag.
Tabla 1. Límites máximos permitidos de metales en aceites comestibles (mg Kg ⁻¹)	11
Tabla 2. Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.	12
Tabla 3. Metodologías de preconcentración aplicadas en el análisis de aceites comestibles.	22
Tabla 4. Distintas marcas comerciales elaboradas en Venezuela para diferentes variedades de aceites comestibles.	31
Tabla 5. Programa de digestión de las muestras de aceite asistida con digestor de microondas.	39
Tabla 6. Concentraciones empleadas en el estándar multielemental	40
Tabla 7. Intervalo de concentraciones empleado en la determinación del %R en distintas muestras de aceite	43
Tabla 8. Programa de calentamiento para el horno de grafito	44
Tabla 9. Condiciones instrumentales empleadas para los diferentes analitos	45
Tabla 10. Intervalo de concentraciones en los análisis mediante ETAAS	45
Tabla 11. Intervalo de concentraciones en la determinación del % R _m	47
Tabla 12. Aceites vegetales comerciales venezolanos analizados	50
Tabla 13. Intervalos de concentración obtenidos en la extracción por CPE empleando el método convencional y la adición de NaCl	52
Tabla 14. Masas características obtenidas para los distintos métodos	57
Tabla 15. Factores de enriquecimiento para la extracción por CPE	58
Tabla 16. Factores de preconcentración para la extracción por CPE	59
Tabla 17. Límites de detección para los distintos procedimientos de preparación de muestra	60

Tabla 18. Comparación de los límites de detección obtenidos en extracción ácida con los de la literatura para muestras de aceites vegetales	61
Tabla 19. Comparación de los límites de detección (LOD_m) y límites de cuantificación (LOQ_m) respecto a la mínima concentración analizable para los distintos analitos en la extracción ácida.	62
Tabla 20. Porcentajes de recuperación metodológico ($\%R_m$) e instrumental ($\%R_i$) para los diferentes métodos	63
Tabla 21. Concentraciones obtenidas en dos muestras de aceite mediante las tres metodologías estudiadas	65
Tabla 22. Determinación de trazas metálicas en aceites comestibles venezolanos por el método de extracción ácida y análisis por ETAAS	67

Listado de figuras	Pag.
Figura 1. Esquema del procedimiento de extracción por CPE.	41
Figura 2. Esquema del procedimiento de extracción ácida	42
Figura 3. Influencia del volumen de HNO_3 en el procedimiento de extracción ácida.	54
Figura 4. Porcentaje de recuperación metodológico ($\%R_m$) obtenido en la metodología de extracción ácida aplicada a diferentes aceites comerciales.	55

Listado de anexos	Pag.
Anexo 1- Aplicaciones de Cloud Point Extraction (CPE) con APDC y DDTP como agentes acomplejantes para los analitos estudiados.	84
Anexo 2- Determinación de trazas metálicas en aceites vegetales mediante la digestión ácida.	85
Anexo 3- Concentraciones obtenidas para los distintos aceites estudiados siguiendo la metodología de extracción por CPE con APDC.	86
Anexo 4- Concentración de metales en aceites comestibles comerciales venezolanos mediante extracción ácida y análisis por ETAAS	87
Anexo 5- Norma venezolana COVENIN 635: 1997 (2 ^{da} Revisión) Aceites y grasas vegetales. Preparación de la muestra para análisis.	89
Anexo 6- Norma venezolana COVENIN 708: 2004 (3 ^{ra} Revisión). Aceites y grasas vegetales. Determinación del contenido de metales por absorción atómica.	90

I. INTRODUCCIÓN

El aceite comestible es un alimento muy importante, ya que el cuerpo humano emplea las grasas y los aceites, que se incorporan con la dieta, como fuente de energía, como componente estructural y para efectuar regulaciones biológicas poderosas, además juegan un papel muy importante en las reacciones metabólicas en el cuerpo humano ^[1].

De manera específica, los aceites vegetales comestibles tienen una función vital en nuestro organismo y constituyen una de las más importantes fuentes de energía, indispensable para mantener el equilibrio de lípidos, colesterol y lipoproteínas que circulan en la sangre, proporcionan vitaminas A, D, E y K y aceites esenciales que nuestro organismo no puede producir; y además, tienen la capacidad de resaltar muchas de las características sensoriales de los alimentos, como el sabor, olor y textura ^[2].

La grasa en la dieta infantil, en un volumen restringido, es fundamental para asegurar un buen aporte de energía. Durante los primeros dos años de vida, la grasa debe ser vista también en su función estructural, pues provee los ácidos grasos y el colesterol necesario para formar membranas celulares en todos los órganos. Más aún, órganos importantes como son la retina del ojo y el sistema nervioso central están constituidos predominantemente por grasas. Gran parte de las grasas necesarias para la formación de estos tejidos está constituida por ácidos grasos esenciales, que no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser aportados por la dieta. En cambio, el colesterol y las grasas de depósito que constituyen la reserva energética pueden ser fabricados por nuestro cuerpo a partir de carbohidratos o aún de proteína, si no se dispone de otra fuente de carbono ^[3].

En términos generales, se puede afirmar que la obtención de esta fuente de energía empezó a ser muy eficiente a partir de la invención de la agricultura-entre 7 y 4 mil años de antigüedad- principalmente en cinco centros de origen: el olivo, la colza y el

lino del Mediterráneo; el maíz, el aguacate, el algodón, el girasol y el cacao de América; el cártamo de Asia; la soja y el ajonjolí de China, y el coco y la palma de aceite de la India y África. Con la conquista de América en el siglo XIV empieza un intenso intercambio de plantas oleaginosas por todo el mundo, y se diversifican las técnicas para la extracción y refinación de los aceites y se descubren nuevas aplicaciones. Pero no fue sino hasta fines del siglo XIX, que la industria de aceites, grasas y proteínas vegetales obtiene mejores aceites gracias al mejoramiento por hibridación de las plantas, el perfeccionamiento de las técnicas agrícolas, y de las tecnologías para la extracción y refinación de aceites, lo cual le permite una mayor eficiencia para la obtención de aceites y diversificación de los usos y aplicaciones ^[2].

El análisis de aceites vegetales está dominado por la determinación de parámetros clásicos como la acidez, valores de peróxidos, absorción ultravioleta y su composición de ácidos grasos. Las regulaciones internacionales imponen valores para estos criterios analíticos para definir la autenticidad y calidad de los aceites ^[4]. La autenticidad es un criterio de calidad importante para las grasas y aceites comestibles ya que determina el precio de los distintos tipos de aceites y productos grasos ^[5]. Adicionalmente, su calidad puede depender de su origen ^[6] y su forma de producción. La determinación de metales en los aceites es un criterio de calidad que da información sobre su frescura, almacenamiento y toxicidad ^[7].

El desarrollo de métodos analíticos confiables y rápidos para la determinación de elementos traza en aceites comestibles ha sido un reto en el control de calidad y el análisis de alimentos, pues, la calidad de los aceites comestibles está directamente relacionada con la concentración de los metales traza que contiene ^[7]. Las grasas y aceites son particularmente difíciles para analizar su contenido de metales pesados y/o tóxicos ya que algunos de éstos se encuentran en niveles traza ^[8].

II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

1. Metales pesados

La presencia de los metales en los aceites comestibles puede deberse a diferentes factores como la contaminación natural, la introducción de los metales durante el proceso de refinación y el contacto con el material donde se almacenan ^[6]. Metales tales como Cd, Pd, Co y Cr, pueden causar efectos perjudiciales a la salud. Aunque los efectos a exposiciones crónicas de cantidades traza de algunos metales no son bien conocidos, muchos incidentes hacen referencia acerca de la gravedad de altos niveles de exposición a algunos metales tóxicos, especialmente cadmio, cromo, cobalto, níquel y plomo ^[9].

El término metal pesado no está bien definido, a veces se emplea el criterio de densidad, por ejemplo, metales de densidad mayor que $4,5 \text{ g/cm}^3$, pero los valores en la bibliografía pueden ir desde 4 g/cm^3 hasta 7 g/cm^3 . Otros criterios empleados son el número atómico y el peso atómico. Los metales pesados se refieren a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas, entre los más conocidos podemos mencionar el mercurio, plomo, talio, cromo, níquel, cobalto, estaño y el cadmio. También se suele incluir un semi metal como el arsénico y un no metal como el selenio ^[10].

El plomo es reconocido como un metal tóxico y ha sido considerado durante siglos como un veneno metabólico acumulativo en altas dosis, las formas más estables son los dialquilados y trialkilados por ser lo bastante persistentes en el ambiente, las formas tetra-y trietilados son los más tóxicos en humanos y 10-100 veces más venenosos que el plomo inorgánico ^[11]. El plomo cuando entra en contacto con el ambiente no se degrada, pero sus compuestos son transformados por la luz natural, el aire y el agua. Cuando se libera plomo al aire, puede moverse largas distancias antes de depositarse en el suelo, una vez que cae al suelo, generalmente se adhiere a partículas de éste y su movilización hasta el agua subterránea dependerá del tipo

de compuesto de plomo y de las características del suelo. Los efectos del plomo son los mismos si se ingiere o inhala, puede afectar a casi todos los órganos y sistemas en el cuerpo, el más sensible es el sistema nervioso, tanto en niños como en adultos. Puede producir debilidad en los dedos, las muñecas o los tobillos. La exposición al plomo también produce un pequeño aumento de la presión sanguínea, especialmente en personas de mediana edad y de edad avanzada, y puede causar anemia. La exposición a niveles altos de plomo puede dañar seriamente el cerebro y los riñones de niños y adultos y causar la muerte. En mujeres embarazadas, la exposición a niveles altos de plomo puede producir pérdida del embarazo. En hombres, la exposición a altos niveles puede alterar la producción de espermatozoides. No hay evidencia definitiva de que el plomo produzca cáncer en seres humanos. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), así como La EPA han determinado que es razonable predecir que el plomo y los compuestos de plomo son carcinogénicos en seres humanos. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que el plomo inorgánico probablemente es carcinogénico en seres humanos y que no hay suficiente información para determinar si los compuestos orgánicos de plomo pueden producir cáncer en seres humanos^[12].

El arsénico es un metaloide que suele estar presente con otros minerales de la corteza terrestre, las formas más tóxicas del arsénico son el arsénico inorgánico (III) y los compuestos (V); el trióxido de arsénico es muy conocido como veneno para ratas. En el ambiente, el arsénico generalmente se encuentra combinado con otros elementos como por ejemplo oxígeno, cloro y azufre, el arsénico combinado con estos elementos se conoce como arsénico inorgánico, mientras que el arsénico combinado con carbono e hidrógeno se conoce como arsénico orgánico. Tanto la forma inorgánica como la forma orgánica de arsénico abandonan el cuerpo por la orina. La mayoría del arsénico abandona el cuerpo en unos días, pero una cantidad permanecerá en el cuerpo durante meses o más tiempo^[13]. En el pasado, los compuestos inorgánicos de arsénico se usaron predominantemente como plaguicidas, principalmente en cosechas de algodón y huertos frutales. Actualmente,

los compuestos inorgánicos de arsénico no se pueden usar en la agricultura. Sin embargo, los compuestos orgánicos de arsénico, específicamente el ácido cacodílico, el arsenato de metilo bisódico (DSMA) y el arsenato de metilo monosódico (MSMA), aún se usan como plaguicidas, principalmente en el algodón. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) y la EPA han determinado que el arsénico inorgánico es reconocido como sustancia carcinogénica en seres humanos ^[12].

El cadmio en aceites y grasas es considerado como un contaminante inorgánico y su determinación es importante debido a su elevada toxicidad ^[14]. La absorción del cadmio por el cuerpo humano es muy baja en humanos (3-5%), no obstante este metal es retenido muy eficazmente por el riñón y el hígado, y su vida media biológica es muy larga, oscilando entre 10 y 30 años. El cadmio es tóxico principalmente para el riñón, donde se acumula y puede causar disfunción renal, también puede producir desmineralización en los huesos, bien directamente produciendo daño en los huesos o indirectamente como resultado de la disfunción renal. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC en siglas inglesas) lo ha clasificado como cancerígeno en humanos basándose en estudios ocupacionales, además nuevos datos de exposición de cadmio en humanos se han asociado a un aumento del riesgo de cáncer, concretamente en pulmón, endometrio, vejiga y pecho ^[12].

El cobre es conocido por tener un efecto vital y también tóxico en muchos sistemas biológicos y puede penetrar en los alimentos a través de la mineralización de los cultivos, el procesamiento de los alimentos, por la contaminación ambiental así como el aporte que ejerce la agricultura como los pesticidas a base de cobre, los cuales son usados comúnmente en granjas de algunas ciudades ^[4]. Este micromineral se encuentra presente en el organismo en 100 a 150 mg, y el 90% de esta cantidad se encuentra en músculos, huesos e hígado. Participa en la formación de la hemoglobina, y es fundamental para el desarrollo y mantenimiento de huesos, tendones, tejido conectivo y el sistema vascular. La carencia de cobre en el organismo se puede manifestar con síntomas como anemias moderadas a severas, edemas, desmineralización ósea, detención del crecimiento, anorexia y

vulnerabilidad a infecciones. En niveles altos, el cobre puede producir efectos nocivos como por ejemplo irritación de la nariz, la boca y los ojos, vómitos, diarrea, calambres estomacales, náusea y aún la muerte. La EPA ha determinado que el cobre no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos ^[12].

El níquel es el componente metálico de la enzima ureaza y es considerado esencial para plantas y algunos animales domésticos, aunque se ha orientado más la atención en la toxicidad del níquel a bajas concentraciones, tal como el hecho de que este elemento puede causar reacciones alérgicas y que ciertos compuestos del níquel pueden ser cancerígenos ^[15]. Los alimentos contienen níquel y son la principal fuente de exposición para la población general. Se estima que el consumo diario es de aproximadamente 170 µg (µg= 10⁻⁶ g) de níquel en los alimentos. Los efectos más graves a la salud por exposición al níquel, son, por ejemplo bronquitis crónica, disminución de la función pulmonar y cáncer de los pulmones y los senos nasales, lo cual ha ocurrido cuando se inhalan partículas de este elemento. Por la ingestión de alimentos contaminados con este metal no se tiene información certera, pues comer o tomar cantidades de níquel mucho más altas que las que ocurren normalmente en el agua o en los alimentos ha producido enfermedad del pulmón en perros y ratas y ha afectado el estómago, la sangre, el hígado, los riñones, el sistema inmunitario y la reproducción y el desarrollo de ratas y ratones. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) de EE. UU. determinó que es razonable predecir que el níquel metálico es carcinogénico y que los compuestos de níquel son carcinogénicos. La Agencia Internacional para el Estudio del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) determinó que algunos compuestos de níquel son carcinogénicos en seres humanos y que el níquel metálico posiblemente es carcinogénico en seres humanos. La EPA ha determinado que el polvo de níquel de refinerías y el subsulfuro de níquel son carcinogénicos en seres humanos. Estas clasificaciones fueron basadas en estudios de trabajadores expuestos a níquel y de animales de laboratorio ^[12].

El cromo es un metal de transición que se encuentra predominantemente en los estados de oxidación Cr (III) y Cr (IV). Este metal se encuentra en la naturaleza en

pequeñas cantidades y está asociado con otros metales, particularmente el hierro ^[11]. El Cr (III) es un nutriente importante, pues, es un elemento nutritivo esencial que ayuda al cuerpo a usar azúcares, proteínas y grasas y ocurre naturalmente en los alimentos, por lo que siempre habrá una cantidad de cromo en el cuerpo. El cromo se puede medir en el cabello, la orina y la sangre. El Cr (IV) es un conocido mutágeno y cancerígeno y además es más soluble y por lo tanto más móvil que el Cr (III). Niveles altos de Cr (VI) pueden producir irritación del revestimiento interno de la nariz, úlceras nasales, secreción nasal y problemas respiratorios tales como asma, tos, falta de aliento o respiración jadeada. Los efectos principales que se observan al ingerir compuestos de Cr (VI) son irritación, úlceras en el estómago y el intestino delgado y anemia. Los compuestos de Cr (III) son menos tóxicos y no parecen causar estos problemas. El contacto de la piel con ciertos compuestos de Cr (VI) puede producir úlceras en la piel ^[12].

El estaño metálico no es muy tóxico debido a que es pobremente absorbido en el tracto gastrointestinal. Los estudios de seres humanos y animales han demostrado que la ingestión de grandes cantidades de compuestos inorgánicos de estaño puede producir dolores de estómago, anemia, y alteraciones del hígado y los riñones. Respirar o tragar ciertos compuestos orgánicos de estaño (por ejemplo, trimetilestaño y trietilestaño) puede interferir con el funcionamiento del sistema nervioso y el cerebro. En casos graves, puede causar la muerte. Otros compuestos orgánicos de estaño (por ejemplo, dibutilestaño y tributilestaño) afectan el sistema inmunitario en animales, pero esto no se ha evaluado en seres humanos. Algunos estudios en animales también han demostrado que estos compuestos afectan la reproducción. Esto tampoco se ha evaluado en seres humanos. El contacto de la piel o los ojos con compuestos inorgánicos u orgánicos de estaño puede producir irritación de la piel y los ojos. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la EPA no han clasificado al estaño metálico ni a los compuestos inorgánicos de estaño en cuanto a carcinogenicidad ^[12].

El mercurio está considerado generalmente entre los contaminantes ambientales de mayor importancia a escala global, aunque su excesivo uso en la industria y agricultura se ha detenido, debido a su naturaleza venenosa e insidiosa éste todavía se encuentra presente en el ambiente ^[12]. El mercurio se combina con otros elementos, por ejemplo cloro, azufre u oxígeno para formar compuestos de mercurio inorgánicos o "sales," las que son generalmente polvos o cristales blancos. El mercurio también se combina con carbono para formar compuestos de mercurio orgánicos, el más común, metilmercurio, es producido principalmente por organismos microscópicos en el suelo y en el agua. El sistema nervioso es muy susceptible a todas las formas del mercurio. El metilmercurio y los vapores de mercurio metálico son más nocivos que otras formas, ya que una mayor cantidad de estas formas de mercurio llega al cerebro. La exposición a altos niveles de mercurio metálico, inorgánico, u orgánico puede dañar en forma permanente a los riñones, el cerebro, y al feto. Los efectos sobre la función cerebral pueden manifestarse como irritabilidad, timidez, temblores, alteraciones a la vista o la audición y problemas de la memoria. La EPA ha determinado que el cloruro mercúrico y el metilmercurio son posiblemente carcinogénicos en seres humanos ^[12].

El cobalto tiene efectos tanto beneficiosos como perjudiciales para la salud de seres humanos. El cobalto es beneficioso porque forma parte de la vitamina B₁₂, pero, la exposición a niveles altos de cobalto puede producir efectos en los pulmones y el corazón. También puede producir dermatitis. En animales expuestos a niveles altos de cobalto también se han observado efectos en el hígado y los pulmones. La exposición a altas cantidades de radioactividad emitida por el cobalto puede dañar las células en su cuerpo. Aunque es improbable que ocurra, también se puede sufrir el síndrome de radiación aguda que incluye náusea, vómitos, diarrea, hemorragia, coma y aun la muerte. No se ha demostrado que el cobalto no radiactivo produce cáncer en seres humanos o en animales después de exposición a través de los alimentos o el agua. Sin embargo, se ha observado cáncer en animales que respiraron cobalto o cuando se colocó cobalto directamente en el tejido muscular o bajo la piel. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha

determinado que el cobalto y sus compuestos son posiblemente carcinogénicos en seres humanos ^[12].

La exposición al talio ocurre principalmente a través de los alimentos. Algunos estudios sugieren que ingerir grandes cantidades de talio durante un período breve de tiempo puede provocar vómitos, diarrea, caída temporal del cabello y efectos en el sistema nervioso, así como efectos en los pulmones, el corazón, el hígado y los riñones y en algunos casos la muerte. Los efectos de ingerir bajos niveles de talio por largo tiempo no se conocen aún. Ni el Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS), ni la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) ni la EPA han clasificado al talio en cuanto a su carcinogenicidad en seres humanos. El Instituto Nacional de Seguridad Ocupacional y Salud (NIOSH) recomienda que un nivel de talio de 15 mg/m³ sea considerado como inmediatamente peligroso a la vida y la salud. Este es el nivel de exposición a una sustancia química que es probable que cause daño permanente a la salud o la muerte ^[12].

El zinc está extendido entre los seres vivos debido a su importancia biológica, y es conocido por estar involucrado en muchos caminos metabólicos en el humano y su deficiencia puede llevar a la pérdida del apetito, retardo en el crecimiento, cambio de piel y anormalidades inmunológicas ^[6]. Los efectos nocivos generalmente se empiezan a manifestar a niveles de 10-15 veces más altos que la cantidad necesaria para mantener buena salud. La ingestión de grandes cantidades aun brevemente puede causar calambres estomacales, náusea y vómitos. Si se ingieren grandes cantidades durante un período más prolongado puede ocurrir anemia y disminución de los niveles del tipo de colesterol que es beneficioso. Inhalar grandes cantidades de polvos o vapores de zinc puede producir una enfermedad de corta duración llamada fiebre de vapores de metal. El Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) no han clasificado a éste elemento en cuanto a carcinogenicidad. Basado en información incompleta de estudios en seres humanos y en animales, la EPA ha determinado que el zinc no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos ^[12].

2. Metales presentes en aceites comestibles

Algunos elementos metálicos, tales como el Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn y Mn son nutrientes esenciales para el crecimiento humano. Sin embargo, ciertas formas de algunos metales pueden también ser tóxicas, incluso relativamente en pequeñas cantidades y por lo tanto representan un riesgo para la salud de animales y personas ^[9]. Se conoce que cantidades trazas de metales como Fe, Cu, Ca, Mg, Co, Ni y Mn aumentan la velocidad de oxidación del aceite, mientras que otros elementos como el Cr, Cd y Pd son importantes debido a su función en el metabolismo y a su toxicidad ^[5].

La naturaleza de una sustancia, su concentración en los alimentos, su velocidad de excreción, los metabolitos formados (que pueden ser incluso más peligrosos que el propio compuesto) y el periodo previo al consumo, son factores que deben considerarse para determinar su inocuidad ^[10], de esta forma, el estudio de los distintos metales pesados en aceites vegetales y su incidencia en lo que respecta a salud pública, supone una enorme importancia debido a la toxicidad que presentan algunos de ellos, así como su contribución en la estabilidad y preservación del aceite. Es por esa razón, que algunos metales contaminantes son regidos por normativas que simplemente nos ofrecen especificaciones que deben ser cumplidas por los alimentos.

En la Tabla 1 se muestran algunos reglamentos que rigen ciertos países latinoamericanos, incluyendo a Venezuela, en cuanto al límite máximo permitido de metales para diferentes variedades de aceites vegetales, así mismo, se pueden observar los valores recomendados por el CODEX alimentarius (perteneciente a la FAO y OMS), éste último, refleja como elementos contaminantes a el plomo y el arsénico, mientras que para los elementos hierro y cobre los refieren como característicos de la calidad del producto.

Tabla 1. Límites máximos permitidos de metales en aceites comestibles (mg Kg⁻¹)

ACEITES	TIPO DE ACEITES	Pb	As	Fe	Cu	Hg	Cr	P	NORMATIVA	PAIS	Ref.
Ajonjolí o sésamo	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 31:2006	Venezuela	[16]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	NTC 256	Colombia	[17]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	1.5 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.40 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Algodón	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 33 :2006	Venezuela	[21]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	NTC 257 (18/09/1996)	Colombia	[22]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.4 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Girasol	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 1272:2005	Venezuela	[23]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	NTC 264 (18/09/1996)	Colombia	[24]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.4 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Maíz	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 743:2002	Venezuela	[25]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	NTC 255 (18/09/1996)	Colombia	[26]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.4 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Maní	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 32:2006	Venezuela	[27]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	NTC 261 (18/09/1996)	Colombia	[28]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.4 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Soja	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	—	COVENIN 744:2005	Venezuela	[29]
	Refinado	0.1	0.1	1.5	0.1	—	—	3.0	NTC 254	Colombia	[30]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	1.5 1.5	0.1 0.1	0.05 0.05	0.05 0.05	—	Código alimentario Argentino 525 (2008)	Argentina	[18]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 0.5	0.40 0.05	—	—	—	RTCR 386 (2004)	Uruguay	[19]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	5.0 1.5	0.4 0.1	—	—	—	CODEX STAN-210 (2003) Rev. 2005.	Mundial	[20]
Oliva	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	6.0 1.5	0.4 —	—	—	—	COVENIN 742:2001	Venezuela	[31]
	Virgen	0.1	—	3.0	0.1	—	—	—	UNE 34601:2003	España	[32]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	3.0 3.0	0.1 0.1	—	—	—	Código alimentario Argentino 535 (2006)	Argentina	[33]
	Virgen Refinado	0.1 0.1	0.1 0.1	3.0 3.0	0.1 0.1	—	—	—	CODEX STAN-33 (1981) Rev. 3-2009.	Mundial	[34]

3. Metodologías empleadas para la determinación de metales traza en aceites comestibles.

La determinación cuantitativa de metales traza en aceites vegetales, aún, hoy en día, implica un gran reto analítico, debido a sus bajos niveles de concentración y las dificultades que surgen debido a las características de la matriz ^[35]. En general, para la determinación de metales en aceites comestibles es necesario un método sensible, capaz de detectar concentraciones de metales a niveles de ng/g, con capacidad multi-elemental y de ser posible, con un procedimiento sencillo para el tratamiento de la muestra ^[36].

Varias técnicas como la espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS) y llama (FAAS), espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP-AES), espectrometría de masas (ICP-MS), y voltamperometría son empleadas para el análisis de aceites comestibles ^[7], tal como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Distintas metodologías empleadas para la determinación de algunos metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
As	Aceite de oliva	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0896	103.3 %	2.325	[37]
	Aceite de oliva	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	86.4–97 %	6.0, 1.2	[38]
	Aceite de maíz	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0896	103.3 %	4.467	[37]
	Aceite de maíz	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	NR	11	[38]
	Aceite de girasol	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0896	103.3 %	0.7322	[37]
	Aceite de girasol	Dilución con n-heptano	ET-AAS	0.010 ppm	94–96.7 %	NR	[39]
	Aceite de girasol	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	NR	5 – 6	[38]
	Aceite de palma	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	89.8–95 %	25	[38]
	Aceite de palma	Dilución con n-heptano	ET-AAS	0.010 ppm	91.2–94.3 %	NR	[39]
	Aceite de canola	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	NR	13	[38]
	Aceite ensaladas	Digestión ácida con H ₂ SO ₄ , HNO ₃ y H ₂ O ₂ , asistida con horno microonda.	AFS	0.05	NR	13	[38]

NR: no reportado

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Cd	Aceite de oliva	Dilución en kerosén	ICP-MS	0.121	101.0%	1.502	[37]
	Aceite de oliva	Emulsión con Triton X-100	ICP-MS	1	130.1-131.8%	3 – 4	[40]
	Aceite de oliva	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ICP-MS	NR	96%	0.088– 0.366	[8]
	Aceite de oliva	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	0.06	NR	3.5 ± 0.1	[41]
	Aceite de oliva	Dilución en 1,4- dioxano.	ET-AAS	< 10	95%	< 10	[42]
	Aceite de oliva	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	NR	NR	0.15± 0.02	[6]
	Aceite de oliva	Formación de emulsiones con Triton X-100 y propanol- agua.	ICP-OES	5	87.4–97.3%	NR	[36]
	Aceite de oliva	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	93±4 %	NR	[7]
	Aceite de soja	Formación de emulsiones con Triton X-100 y propanol	ICP-OES	5	90–102 %	NR	[36]
	Aceite de soja	Extracción ácida y posterior dilución en agua	ICP-AES	NR	NR	1.3 ± 0.1	[9]
	Aceite de soja	Extracción con HCl y H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.5 – 1.3	96.5 ± 2.1%	2.5 – 5.0	[43]
	Aceite de maíz	Dilución en kerosén.	ICP-MS	0.121	101.0 %	0.6848	[37]
	Aceite de maíz	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	NR	NR	0.09 ± 0.01	[6]
	Aceite de maíz	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	0.06	NR	12.3 ± 0.4	[41]
	Aceite de maíz	Formación de emulsión con Triton X-100.	ICP-AES	NR	97±4 %	NR	[7]
	Aceite de maíz	Extracción con HCl y H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.5 – 1.3	96.5 ± 2.1%	2. 6– 6.7	[43]
	Aceite girasol	Dilución en kerosén.	ICP-MS	0.121	101.0 %	0.6787	[37]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ asistida con horno microonda.	ET-AAS	0.327	96.7–98.6%	1510 – 4460	[44]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	NR	NR	3.76 ± 0.4	[6]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	0.06	NR	8.2 ± 0.2	[41]
	Aceite girasol	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	96±6	NR	[7]
	Aceite de girasol	Extracción con HCl y H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.5 – 1.3	96.5 ± 2.1%	0.51 – 4.15	[43]
	Aceite canola	Emulsión con Triton X-100, HNO ₃ y H ₂ O ₂	ETVICPMS	1	NR	41– 45	[45]
	Aceites y grasas	Dilución en un aceite con lecitina	ET-AAS	0.4	101±12 %	2 – 10	[46]

NR: no reportado

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Cu	Aceite de oliva	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0525	98.6 %	1.562	[37]
	Aceite de oliva	Emulsión con Triton X-100	ICP-MS	7.7	98.1 – 102.7 %	140-280	[40]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	2.15	NR	20.3 ± 0.4	[41]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	<4	NR	30– 50	[5]
	Aceite de oliva	Dilución con MIBK	ET-AAS	1.3	NR	<1.3 - 86	[47]
	Aceite de oliva	Dilución en 1,4- dioxano	ET-AAS	NR	97 %	20	[42]
	Aceite de oliva	Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1 - 1280	[4]
	Aceite de oliva	Formación de emulsiones con Triton X-100	ICP-AES	NR	99 ± 6 %	57± 10	[7]
	Aceite de oliva	Formación de emulsiones con Triton X-100 y estabilización con propanol y agua.	ICP-OES	3	86.7 –105.3 %	NR	[36]
	Aceite de oliva	Digestión acida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	FAAS	NR	NR	710 ± 60	[6]
	aceite de soja	Digestión con HNO ₃ H ₂ SO ₄ asistida con horno microonda	ET-AAS	≤ 5	89 –94 %	NR	[48]
	Aceite de soja	Digestión acida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	<4	NR	< 4	[5]
	Aceite de soja	Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	11-36	[49]
	Aceite de soja	Calcinación de la muestra a baja temperatura con plasma de oxígeno y posterior dilución en HNO ₃	ET-AAS	NR	NR	10 –33	[49]
	Aceite de soja	Formación de emulsiones con Triton X-100 y estabilización con propanol y agua.	ICP-OES	3	79.9 – 99.7 %	NR	[36]
	Aceite de soja	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ICP-AES	≤ 20	84 – 95 %	NR	[48]
	Aceite de soja	Extracción acida con HCl y H ₂ O ₂ con posterior dilución en agua	dPSA	0.8 – 1.8	97.0 ± 2.7 %	440 –854	[43]
	Aceite de soja	Calcinación y posterior dilución en HCl	FAAS	NR	NR	40 – 120	[50]
	Aceite de maíz	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0525	98.6 %	5.351	[37]
		Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	26 ± 2	[49]
Digestión acida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.		ET-AAS	≤ 5	78 – 95 %	NR	[48]	
Digestión acida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.		ET-AAS	2.15	NR	81.6±2.6	[41]	
Digestión acida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.		ICP-AES	≤ 20	89 – 97 %	NR	[48]	
Formación de emulsiones con Triton X-100		ICP-AES	NR	98±3 %	NR	[7]	
Extracción acida con HCl y H ₂ O ₂ con posterior dilución en agua		dPSA	0.8 – 1.8	97.0 ± 2.7 %	27 – 79	[43]	
Calcinación y posterior dilución en HCl		FAAS	NR	NR	20– 170	[50]	

NR: no reportado.

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Cu	Aceite de girasol	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0525	98.6 %	5.602	[37]
	Aceite de girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	2.15	NR	22.0±0.9	[41]
	Aceite de girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	<4	NR	< 4	[5]
	Aceite de girasol	Dilución con MIBK	ET-AAS	1.3	NR	< 1.3	[47]
	Aceite de girasol	Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	25 ± 2	[49]
	Aceite de girasol	Calcinación a baja temperatura y posterior dilución en HNO ₃	ET-AAS	NR	NR	28 ± 1	[49]
	Aceite de girasol	Extracción con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ET-AAS	NR	NR	119 ± 3	[49]
	Aceite de girasol	Extracción ácida con HNO ₃ y H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	ET-AAS	NR	NR	164 ± 4	[49]
	Aceite de girasol	Formación de emulsiones con Triton X-100	ICP-AES	NR	95±3 %	NR	[7]
	Aceite de girasol	Extracción ácida con HCl y H ₂ O ₂ con posterior dilución en agua	dPSA	0.8 – 1.8	97.0 ± 2.7 %	55 – 153	[43]
	Aceite de girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	FAAS	NR	NR	110± 10	[6]
	Aceite de girasol	Calcinación y posterior dilución en HCl	FAAS	NR	NR	30 – 190	[50]
	Aceite ensalada	Dilución con lecitina-ciclohexano	ET-AAS	2	85.5–90.0 %	NR	[51]
	Aceites de cocina	Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	13 –37	[52]
Cr	Aceite de oliva	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.0935	100 %	1.043	[37]
	Aceites de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ICP-MS	NR	134 %	116 – 437	[8]
	Aceite de oliva	Formación de emulsión con triton X-100.	ICP-MS	50	106.1 –124.7 %	690– 2000	[40]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	1.30	NR	7.3 ± 0.1	[41]
	Aceite de oliva	Dilución con MIBK	ET-AAS	6.8	NR	< 6.8	[47]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite de oliva	Dilución con 1,4- dioxano, y (HMDC-HMA) como modificador universal.	ET-AAS	NR	94 %	20	[42]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[4]
	Aceite de oliva	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	103 ± 8 %	31 ± 9	[7]
	Aceite de oliva	Formación de emulsiones con Triton X-100 estabilizado con propanol-agua.	ICP-OES	2.8	82.7–91.3 %	NR	[36]

NR: no reportado

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Cr	Aceite de soya	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite de soja	Formación de emulsiones con Triton X-100 estabilizado con propanol-agua.	ICP-OES	2.8	79.6–93.5 %	NR	[36]
	Aceite de maíz	Dilución con kerosén.	ICP-MS	0.0935	100 %	1.515	[37]
	Aceite de maíz	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	1.30	NR	44.4 ± 1.3	[41]
	Aceite de maíz	Formación de emulsión Con Triton X-100.	ICP-AES	NR	107 ± 5 %	NR	[7]
	Aceite de girasol	Dilución con kerosén.	ICP-MS	0.0935	100 %	1.515	[37]
	Aceite de girasol	Dilución con MIBK	ET-AAS	6.8	NR	< 6.8	[47]
	Aceite de girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite de girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	1.30	NR	125.4 ± 4.5	[41]
	Aceite de girasol	Formación de emulsión con triton X-100.	ICP-AES	NR	97 ± 6	NR	[7]
	Aceite vegetal	Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	1 – 5	[52]
	Ni	Aceite de oliva	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.025	106.2%	0.398
Aceite de oliva		Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ICP-MS	NR	119%	n.d–46.9	[8]
Aceite de oliva		Formación de emulsión con Triton X-100.	ICP-MS	6	98.6–103.6%	40 – 70	[40]
Aceite de oliva		Dilución con MIBK	ET-AAS	14.9	NR	<14.9	[47]
Aceite de oliva		Dilución con 1,4- dioxano, y (HMDC-HMA) como modificador universal.	ET-AAS	NR	103%	50	[42]
Aceite de oliva		Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 5	NR	1100 –1900	[5]
Aceite de oliva		Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	< 1	NR	< 1 –2260	[4]
Aceite de oliva		Formación de emulsiones con Triton X-10	ET-AAS	NR	92 ± 10%	NR	[7]
Aceite de oliva		Formación de emulsiones con Triton X-10 0 estabilizado con propanol-agua.	ICP-OES	7.8	89 – 103 %	NR	[36]
Aceite de soja		Digestión con HNO ₃ H ₂ SO ₄ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	8	96–116%	NR	[48]
Aceite de soja		Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	<5	NR	210–250	[5]
Aceite de soja		Digestión con HNO ₃ H ₂ SO ₄ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ICP-AES	30	104–107%	NR	[48]
Aceite de soja		Formación de emulsiones con Triton X-100 estabilizado con propanol-agua.	ICP-OES	7.8	89.3–103%	NR	[36]

NR: no reportado; n.d: no detectable

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Ni	Aceite de maíz	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.025	106.2 %	2.823	[37]
	Aceite de maíz	Digestión con HNO ₃ , H ₂ SO ₄ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS ICP-OES	< 8 < 30	95–107 % 101–108 %	NR NR	[48]
	Aceite de maíz	Formación de emulsiones con Triton X-100	ICP-AES	NR	87±7 %	NR	[7]
	Aceite girasol	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.025	106.2 %	0.4023	[37]
	Aceite girasol	Dilución con MIBK	ET-AAS	14.9	NR	<14.9	[47]
	Aceite girasol	Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	<5	NR	90 –110	[5]
	Aceite girasol	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	84 ± 8 %	NR	[7]
	Aceites cocina	Dilución con MIBK	ET-AAS	NR	NR	29–207	[52]
	Aceites y grasas	Dilución con blanco de aceites	ET-AAS	NR	100 ± 5 %	NR	[53]
Pb	Aceite de oliva	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.00724	103.6 %	0.425	[37]
	Aceite de oliva	Formación de emulsión con Triton X-100.	ICP-MS	3.2	129.7–136.2%	12– 24	[40]
	Aceite de oliva	Dilución con MIBK y Lecitina.	ET-AAS	6.6	NR	<6.6 –15	[47]
	aceite de oliva	Dilución con 1,4- dioxano, y (HMDC-HMA) como modificador	ET-AAS	NR	97	20	[42]
	Aceite de oliva	Digestión HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[4]
	Aceite de oliva	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	NR	NR	30 ± 0.3	[6]
	Aceite de oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite de Oliva	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	0.85	NR	74.6±1.0	[41]
	Aceite de oliva	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	93 ± 12 %	NR	[7]
	Aceite de soja	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite de soja	Digestión con HNO ₃ , H ₂ SO ₄ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS ICP-AES	25–50 50	86 – 106 % 100 – 107 %	NR NR	[48]
	Aceite de soja	Extracción con HCl, H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.6–1.6	95.0 ± 1.8 %	10.7–43.3	[43]
	Aceite de maíz	Dilución con kerosén.	ICP-MS	0.00724	103.6 %	0.5475	[37]
	Aceite de maíz	Digestión ácida asistida con horno microonda	ET-AAS	0.85	NR	86.8±2.7	[41]
	Aceite de maíz	Digestión con HNO ₃ , H ₂ SO ₄ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS ICP-AES	25–50 50	88 – 117 % 75 – 95 %	NR NR	[48]
	Aceite de maíz	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	91 ± 12 %	NR	[7]
	Aceite de maíz	Extracción con HCl, H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.6–1.6	95.0 ± 1.8 %	5.7–10.9	[43]

NR: no reportado; n.d: no detectable

Tabla 2. (Continuación) Distintas metodologías empleadas para la determinación de metales en diferentes muestras de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	Ref.
Pb	Aceite girasol	Dilución con kerosén	ICP-MS	0.00724	103.6%	0.11	[37]
	Aceite girasol	Digestión con HNO ₃ y H ₂ O ₂ asistida con horno microonda	ET-AAS	< 1	NR	< 1	[5]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ , H ₂ O ₂ asistida con horno microonda.	ET-AAS	NR	NR	10	[6]
	Aceite girasol	Dilución con MIBK y Lecitina.	ET-AAS	6.6	NR	< 6.6	[47]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ asistida con horno microonda.	ET-AAS	3.38	96.9–98.7%	770–4270	[44]
	Aceite girasol	Digestión ácida con HNO ₃ asistida con horno microonda.	ET-AAS	0.85	NR	34.2±1.4	[41]
	Aceite girasol	Formación de emulsión con Triton X-100	ICP-AES	NR	89 ± 15%	NR	[7]
	Aceite girasol	Extracción con HCl, H ₂ O ₂ y posterior dilución en agua.	dPSA	0.6–1.6	95.0 ± 1.8%	5 –15.5	[43]
	Aceite canola	Formación de una emulsión con Triton X-100, H ₂ O ₂ y HNO ₃ .	ETV-ICP-MS	2	NR	71.2 ± 0.8	[45]
	Aceite vegetal	formación de emulsión con Emulsogen MS–12 y agua.	DCP-AES	120	100–105%	NR	[54]

NR: no reportado; n.d: no detectable

Una de las características resaltantes de los análisis espectroquímicos es el procedimiento previo de preparación de la muestra, el cual debe ser sencillo y capaz de transformar la muestra a fin de hacerla compatible con el sistema de introducción y de atomización [36]. Una desventaja de los métodos espectroscópicos de llama es el requisito de que la muestra se debe introducir disuelta en la fuente de excitación, por lo general en agua, por lo que es necesario un tratamiento previo laborioso para obtener una disolución del analito, adecuada para la atomización, a diferencia de la atomización electrotérmica donde algunos materiales se pueden introducir directamente, evitando así la etapa de la disolución [55].

Mientras que, en la mayoría de las técnicas espectrométricas la muestra debe introducirse como un líquido poco denso y viscoso, en ETAAS las muestras sólidas se ajustan perfectamente a la técnica. Sin embargo, las muestras viscosas plantean una dificultad especial, ya que su introducción directa resulta

problemática, pues, la reproducibilidad se ve afectada ^[35]. Es por ello, que las muestras de grasas y aceites son, en general, difíciles de analizar ya que tienen una elevada carga orgánica y además son viscosas ^[36]. Por lo tanto, debido al alto contenido orgánico presente en ellas, frecuentemente es necesario un procedimiento de pre-tratamiento, como la digestión húmeda o digestión seca, digestión ácida asistida con horno microonda ^{[48] [5] [8] [44] [6] [38]}, calcinación ^{[49] [50] [54]}, dilución con solventes orgánicos ^{[49] [47] [42] [37] [39]}, métodos de extracción ácida ^{[49] [43] [7] [52]}, así como la formación de emulsiones ^{[40] [7] [36] [8]} para eliminar la matriz orgánica. En muchos casos, estos métodos son tediosos y consumen gran cantidad de tiempo. Además, existe la posibilidad de que la muestra se contamine debido a la contaminación en la mufla, que los analitos se pierdan debido a la formación de compuestos volátiles o la mineralización incompleta de la matriz orgánica ^[44].

Debido a la importancia del procedimiento de pre-tratamiento de la muestra en la determinación de elementos metálicos en aceites comestibles, en la Tabla 2, ordenada de acuerdo al elemento de interés en distintos aceites, también se muestran algunos métodos de tratamiento empleados en muestras de aceites.

La calcinación húmeda ^{[50] [54]}, por ejemplo, no provoca la pérdida de los elementos inorgánicos que están presentes en la muestra, pero el riesgo de contaminación y explosión (si se emplea el ácido perclórico) es mayor que con otros métodos. Además, se producen cambios en el medio, los cuales se pueden disminuir de acuerdo a la precisión con la que sea tomada la medida final. Las muestras de aceites tienden a ser arrastradas durante la carbonización, por lo que resulta indispensable el cuidado en la programación de la temperatura de la mufla. Este método, permite recuperaciones completas de la mayoría de los metales, aunque, algunos elementos como el cadmio o zinc se pueden perder por volatilización. Ésta técnica resulta muy útil y sensible pero puede tomar un largo periodo de tiempo ^[50].

Las diluciones de un aceite con MIBK ^{[47] [49]}, u otros solventes orgánicos ofrecen un tratamiento de muestra sencillo y fácil, reduciendo así, la manipulación del aceite y

minimizando una posible contaminación. Sin embargo tienen la desventaja de reducir la concentración en los metales ^[50], toma varias horas para ser completado el procedimiento antes de ser analizado por las distintas técnicas, ^[36] y necesita, además, un aceite base libre de metales o el uso del método de la adición estándar para minimizar los efectos de la matriz ^[50] Adicionalmente, la dilución con solventes orgánicos provoca el incremento del contenido orgánico en la matriz lo que generalmente causa problemas en los análisis con ICP-MS ^[37], ICP-AES, como la disminución en la sensibilidad de los analitos, el aumento en la abundancia de iones poliatómicos que contienen carbono y la deposición del carbono sólido en el orificio de la muestra ^[45].

Una alternativa para la introducción directa de las muestras de los aceites es la formación de emulsiones, las cuales ofrecen algunas ventajas como el empleo de soluciones estándar acuosas para la calibración y cuantificación, la reducción de las interferencias provenientes de la matriz, una frecuencia de muestreo superior, la disminución en los costos del análisis ^[7] y pueden reducir el contenido orgánico de la muestra por lo menos en 95% ^[40]. El principal problema cuando se emplean las emulsiones consiste en lograr mantenerlas estables por un periodo de tiempo aceptable ^[45], pues, generalmente, las emulsiones son poco estables cuando los aceites se encuentran en concentraciones elevadas ^[7].

Los procedimientos como la digestión ácida, y la extracción con ácidos buscan destruir la materia orgánica que puede interferir en la determinación a niveles traza de los metales. En la digestión con calcinación, por ejemplo, se emplean temperaturas muy elevadas para destruir la matriz orgánica (aproximadamente 450 °C) lo que resulta en la pérdida de analitos por volatilización. Sin embargo, con la digestión húmeda este problema es minimizado debido a las menores temperaturas empleadas en el proceso (aproximadamente 200 °C). Generalmente el ácido nítrico y el ácido perclórico son empleados en el procedimiento de digestión húmeda para las grasas y aceites, pero se necesitan tiempos muy largos para ser llevada a cabo. La digestión húmeda asistida con horno de microondas, es utilizada ampliamente

como pre-tratamiento para el análisis de los metales pesados en distintas muestras, ofreciendo de esta forma algunas ventajas pues en este caso la irradiación es más directa, y el mecanismo de calentamiento se puede controlar de forma sencilla, sin embargo, el volumen de muestra es pequeño para prevenir un aumento de la presión^[38].

En la Tabla 2 también se muestran los valores de concentración de ciertos analitos determinados en aceites comestibles, y se observa como en algunos casos estos valores se encuentran por debajo del límite de detección del método analítico, sobre todo cuando se analizan mediante FAAS o ICP-OES.

Para resolver esta limitación se han empleado técnicas de separación-extracción, las cuales posibilitan aislar los analitos de la matriz, y de esta manera, reducir, controlar e incluso eliminar las interferencias presentes y así mismo, nos ofrecen la oportunidad de preconcentrar y determinar niveles muy bajos de concentración^[38].

En la Tabla 3 se muestran algunos trabajos sobre la determinación de metales traza en distintos aceites comestibles utilizando para ello diferentes métodos de extracción y preconcentración.

Tal como se observa, la extracción con solventes, o extracción líquida como suele llamarse, es quizás la más empleada. En ella, el analito de interés puede ser selectivamente separado y preconcentrado en la matriz deseada con el empleo de un solvente orgánico^[38]. Así, Hosny^[54], realizó la determinación de plomo en aceite de semillas de algodón empleando la extracción con el ácido etilendiamintetracético (EDTA) y detección DCP-AES como técnica analítica.

La extracción ácida, con la inmediata introducción de la muestra en el sistema analítico, también ha sido empleada en la determinación de algunos metales en aceites comestibles, ejemplo de ello es el trabajo realizado por De Leonardis A, et al

Tabla 3. Metodologías de preconcentración aplicadas en el análisis de aceites comestibles.

Analito	Tipo de muestra	Tratamiento de muestra	Técnica analítica	Concentración del analito (ngg ⁻¹)	LOD (ngg ⁻¹)	Porcentaje de recuperación	FP.	Ref.
Cd	Aceite girasol	Dilución en hexano y extracción en fase sólida con ZnPDC y posterior elución con Hg(NO ₃) ₂	FAAS	550–1530	2.8	93.5–96.8 %	NR	[60]
	Aceite de maíz			558–1550	2.8	97.2–100.0 %	NR	
	Aceite de oliva			554–1540	2.8	99.3–97.5 %	NR	
	Aceite de soja	Extracción ácida con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ICP-OES	1.3 ± 0.1	NR	NR	NR	[9]
	Aceite de oliva			1.6 – 3.3	NR	NR	NR	
	Aceite girasol			0.7 – 1.9	NR	NR	NR	
Aceite vegetal	Método CPE con APDC y Triton X-114	ETAAS	Adición estándar:	0.3 ± 0.2	0.3	96.5 %	9.3±0.6	[62]
			Calibración externa:	1.00±0.06	0.3	96.5 %	9.3±0.6	
Cu	Aceite girasol	Extracción con HNO ₃ , H ₂ O ₂ Y PPDOT como acomplejante.	Colorimetría	632	NR	117.8 %	NR	[56]
	Aceite sésamo			1246	NR	100.4 %	NR	
Aceite de oliva	Extracción con HCl y adición de DCDT en etanol para la formación del complejo.	Ad-SSWV	4.66–29.56	0.49 ng ml ⁻¹	NR	NR	[57]	
Aceite girasol	Dilución en acetona y posterior extracción en fase sólida con (PDC) Pb y KCN.	FAAS	970–1950	2.4	91-94 %	NR	[58]	
			Aceite de maíz	2110–3120	2.4	92-96 %		NR
			Aceite de soja	900–1860	2.4	91-94 %		NR
Aceite de oliva	Extracción ácida con HNO ₃	ETAAS	4 – 14	NR	94 %	NR	[59]	
			Aceite de soja	1± 0.0	NR	94 %		NR
			Aceite girasol	2 ± 0.2	NR	94 %		NR
Aceite de soja	Extracción ácida con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ICP-OES	27.3 ± 0.5	NR	NR	NR	[9]	
			Aceite de oliva	13.1 – 19.4	NR	NR		NR
			Aceite de maíz	8.2 – 13.8	NR	NR		NR
			Aceite girasol	10.5 – 2.31	NR	NR		NR
Aceite vegetal	Método CPE con APDC y Triton X-114	ETAAS	Adición estándar:	121 ± 11	2.2	95.5 %	12.1±1.5	[62]
			Calibración externa:	134 ± 22	2.2	95.5 %	12.1±1.5	
Cr	Extracción ácida con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ICP-OES	0.9	NR	NR	NR	[9]	
			Aceite de oliva	0.6 – 0.9	NR	NR		NR
			Aceite de maíz	0.6 – 0.7	NR	NR		NR
			Aceite girasol	0.5 – 0.8	NR	NR		NR
Aceite vegetal	Método CPE con APDC y Triton X-114	ETAAS	Adición estándar:	65 ± 2	4.9	102.4 %	13.1±3.0	[62]
			Calibración externa:	80 ± 4.0	4.9	102.4 %	13.1±3.0	
Ni	Aceite girasol	Extracción con HNO ₃ , H ₂ O ₂ Y PPDOT como acomplejante.	Colorimetría	n.d	NR	97.6 %	NR	[56]
				Aceite sésamo	n.d	NR	98.1 %	
Aceite de soja	Extracción ácida con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ICP-OES	2.7 ± 0.1	NR	NR	NR	[9]	
			Aceite de oliva	1.3 – 2.8	NR	NR		NR
			Aceite de maíz	1.5 – 9.6	NR	NR		NR
Aceite girasol	Método CPE con APDC y Triton X-114	ETAAS	Adición estándar:	1822 ± 247	26.2	119.1%	12.3±1.6	[62]
			Calibración externa:	1774 ± 240	26.2	119.1%	12.3±1.6	
Pb	Aceite algodón	Extracción con EDTA.	DCP-AES	186 – 9737	800	93-98 %	NR	[54]
Aceite vegetal	Formación de complejos con SPADNS, NH ₄ Cl/NH ₃	DPAdSV	5 y 45	0.110	98.8–99.0 %	NR	[61]	
Aceite de oliva	Extracción ácida con HNO ₃ y posterior dilución en agua	ICP-OES	n.d – 2.4	NR	NR	NR	[9]	
			nd – 2.6	NR	NR	NR		
Aceite vegetal	Método CPE con APDC y Triton X-114	ETAAS	Adición estándar:	87.4± 0.8	13.6	70.2 %	10.8±0.3	[62]
			Calibración externa:	53.6 ± 0.6	13.6	70.2 %	10.8±0.3	

n.d: no detectable; CPE: Cloud Point Extractions; NR: no reportado.

[59], en el cual determinaron hierro y cobre en distintas muestras de aceites empleando para ello la extracción con el ácido nítrico y análisis por ETAAS.

La extracción en sustratos sólidos, también llamada extracción en fase sólida (SPE) o micro-extracción (SPME), así como técnicas más elaboradas, como la electro-deposición, pre-concentración en membranas poliméricas y extracción en fluidos supercríticos (SFE) se encuentran en desarrollo a fin de reducir los problemas provocados por el uso de solventes orgánicos [38].

Los métodos de extracción con ditiocarbamatos han sido una técnica de preconcentración extensamente empleados para el análisis de trazas metálicas. Estos métodos pueden ser clasificados generalmente en dos importantes categorías: (I) complejos metal-ditiocarbamatos que han sido extraídos con solventes orgánicos oxigenados, como MIBK, y su introducción directa para análisis; (II) extracción de complejos metálicos con solventes orgánicos que posean átomos de oxígeno o cloro como cloroformo y MIBK, que han sido respaldados con una extracción con ácido nítrico, para finalmente analizar la solución ácida [60].

Recientemente se ha empleado de manera intensiva la metodología de extracción en el punto de niebla (CPE) o cloud point extraction.

El cloud point extraction es una técnica que ofrece un método sencillo, seguro, económico y poco contaminante para el enriquecimiento y análisis de muestras que contienen trazas metálicas. En este caso, se requieren pequeñas cantidades del surfactante no iónico (o zwitterionico), eliminando así, la necesidad de emplear grandes cantidades de solventes orgánicos que pueden ser volátiles e inflamables, y que normalmente son empleados en los esquemas de extracción líquido-líquido para el estudio de los metales. Además, el uso de sistemas micelares proporciona elevados porcentajes de recuperación y excelentes factores de preconcentración [63].

4. Tratamientos de la muestra

4.1 Extracción ácida: la extracción directa de metales pesados con ácido nítrico diluido en aceites vegetales comestibles, es un procedimiento sencillo, que permite reducir los tiempos de preparación y manipulación de la muestra, y adicionalmente, posibilita la obtención de resultados adecuados con el uso de pequeñas cantidades de aceite ^{[9],[59]} , Sin embargo se ha empleado poco. Con éste procedimiento se ha determinado la concentración de Cu y Fe en aceites comestibles empleando ETAAS ^[59] y otros metales pesados como Cd, Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Pb, Ni y Zn mediante ICP-AES ^[9].

4.2 Digestión ácida: es una metodología ampliamente utilizada en el tratamiento previo de las muestras para eliminar o minimizar la matriz orgánica proveniente de los aceites comestibles. En éste procedimiento, las muestras se someten a elevadas presiones y temperaturas, en medio ácido, favoreciendo de esta manera, la adecuada extracción de los distintos metales pesados previo al análisis., y se caracteriza por ser un método rápido, simple y permite la reducción en el uso de reactivos. Sin embargo, la metodología no permite la preconcentración de los analitos, sino su dilución por lo que no es apropiada para la determinación de analitos que se encuentran en muy bajas concentraciones.

4.3 Extracción en el punto de niebla o cloud point: Cloud point es la temperatura por encima de la cual una disolución acuosa de un surfactante no iónico o zwitterionico se torna turbia. Específicamente, se origina una separación de fases: una fase de pequeño volumen compuesta casi en su totalidad de surfactante, y una fase acuosa diluida en la cual la concentración del surfactante es próxima a la concentración micelar crítica ^[63] .

En disoluciones acuosas, se tienen bajas concentraciones de moléculas del surfactante, principalmente como monómeros, aunque también pueden estar

presentes dímeros y trímeros, pero cuando estas concentraciones aumentan por encima de un cierto umbral, entonces, ése intervalo de concentraciones en el cual aparecen las primeras micelas de surfactante es lo que se conoce como la concentración micelar crítica (CMC)^[64].

En el cloud point el fenómeno de separación de fases es facilitada por la diferencia de densidades entre las fases y se atribuye al incremento del tamaño micelar y a la deshidratación de las capas micelares externas al incrementarse la temperatura^[63].

Cuando se habla de micelas, nos referimos a la acumulación espontánea de monómeros de surfactante para formar agrupamientos de tamaño coloidal y dependiendo del surfactante empleado y de las condiciones en la solución las micelas pueden adoptar una variedad de formas^[64].

El análisis de analitos metálicos según la metodología del cloud point extracción resulta sorprendentemente sencilla, pues unos pocos ml del surfactante concentrado es adicionado a algunos ml (10 a 100) de la muestra acuosa, para formar un complejo hidrofóbico, el agente quelante se añade junto con el surfactante disuelto en un solvente orgánico o directamente a la solución acuosa, dependiendo de su solubilidad, donde luego, la solución es calentada por encima de la temperatura de cloud point y la separación de las fases normalmente ocurre luego de la centrifugación^[64]. El mecanismo por el cual la separación se lleva a cabo es atribuido al rápido incremento en el número de agregados de surfactante como resultado del incremento en la temperatura.

La temperatura a la cual ocurre la fase de la separación depende de la naturaleza y concentración del surfactante, así como a la presencia y concentración de los aditivos orgánicos e inorgánicos.

Alzualde Zuleima^[62] realizó la determinación de algunos elementos metálicos en muestras de aceites comestibles por ETAAS, empleando para ello, la técnica de

extracción en el punto de niebla. Éste trabajo es relevante, pues en la literatura no existen referencias anteriores donde se aplica esta técnica de pretratamiento en aceites comestibles. Los límites de detección obtenidos resultaron bastante aceptables como se puede observar en la Tabla 3. Encontró como inconvenientes, elevados valores de los blancos, lo cual se debió a contaminación durante el procedimiento.

4.3.1 Variables a optimizar en la extracción por CPE:

4.3.1.a Concentración del surfactante: los surfactantes son sustancias que poseen actividad interfacial, y una de sus propiedades más importantes es la solubilización, que está directamente relacionada con la formación de micelas^[64]. Se caracterizan por tener una estructura molecular que posee un grupo hidrofílico, el cual es afín con las moléculas de agua y otro hidrofóbico que no se ve atraído por el agua. Los surfactantes no iónicos (principalmente los alquilfenoles polioxietilenados, en donde se agrupan los de la serie Triton y PONPE) los más empleados para el análisis de metales, cuando se emplea el cloud point extraction. Todos ellos están disponibles comercialmente, son estables, no volátiles, y son relativamente no tóxicos^[65]. Un surfactante ideal para trabajar con la extracción en el punto de niebla es aquel que posee ciertas características fisicoquímicas como: elevada densidad, la cual favorece la separación de las fases; una temperatura de cloud point baja, por debajo o cercana a la temperatura ambiente en un rango estrecho de concentraciones para moléculas termolábiles; que posea hidrofobicidad equilibrada, disponibilidad comercial y bajo costo^[63].

La extracción y el factor de preconcentración se ven severamente afectados por la concentración del surfactante, así, un aumento en la misma provoca que el factor de preconcentración disminuya, deteriorando la señal analítica, mientras que una disminución de la concentración del surfactante por debajo de lo recomendado provoca serios problemas en lo que a exactitud y reproducibilidad se refiere^[64].

4.3.1.b Efecto del pH: el pH juega un papel muy importante en la formación del metal-complejo y la subsiguiente extracción^[63], ya que la formación de los complejos se produce en un intervalo de pH determinado, por lo que un ajuste del pH es básico, pues el rendimiento de la extracción depende de la formación de complejos hidrofóbicos para que puedan ser separados de la fase acuosa^[65].

4.3.1.c Concentración del agente quelante o acomplejante: en los procesos de extracción, la correcta selección del agente acomplejante es un factor determinante. En este caso, la selección de un ligando adecuado que conduzca a la formación de complejos hidrofóbicos, que sean formados rápida y cuantitativamente con el menor exceso posible y que posean un coeficiente de partición elevado resultan la mejor opción. Los parámetros de acomplejamiento, como la termodinámica así como la cinética de la formación del complejo y la transferencia a la fase micelar gobiernan el procedimiento entero, mientras que las contribuciones del cloud point y los parámetros de micelación son menos pronunciadas^[64].

El agente quelante O, O- dietilditiofosfato de amonio (DDTP), ha sido empleado en distintas determinaciones^{[66] [67] [68] [69]}, debido a su capacidad para extraer varios metales de transición y semi-metales en medio ácido, además, es suficientemente hidrofóbico para ser usado como agente acomplejante en las extracciones en el punto de niebla. Los elementos alcalino y alcalino térreos no reaccionan con este acomplejante. Su estabilidad en medio ácido ofrece una ventaja porque las muestras son preparadas y preservadas a valores bajos de pH, normalmente valores menores a 2, para lo cual se requiere del uso de soluciones de HCl^{[66] [67] [68] [69]}, sin la necesidad del uso de NaOH lo que aumenta la viscosidad de la solución y de esta manera se minimiza el uso de agentes diluyentes de la fase rica en surfactante. Otra ventaja de éste agente es que el uso de los buffer no es necesario, los cuales normalmente suelen ser fuente de contaminación^[66].

Otro agente acomplejante muy empleado es el Pirrolidintiocarbamato de amonio, (APDC)^{[70] [71] [72] [73]}, el cual, a diferencia del DDTP, requiere valores de pH que van

desde 4 a 6, lo que trae como consecuencia la adición de NaOH ^[73] ^[70], NH₄OH ^[71], HCl ^[73] para ajustarlo, que provocan que la emulsión formada sea de elevada viscosidad y sea necesario disolver el extracto de CPE con ciertos diluyentes para su posterior determinación.

4.3.1.d. Fuerza iónica y centrifugación: el incremento de la fuerza iónica provoca mejoras sustanciales en la separación de las fases, provocando recuperaciones más altas sin deteriorar el funcionamiento analítico. En este sentido, es posible aplicar éste factor directamente a matrices difíciles como aguas ambientales y fluidos biológicos ^[64].

La formación de las micelas no se ve afectada por el tiempo de centrifugación, pero es éste, el que permite acelerar la separación de las dos fases, de la manera convencional en la que un precipitado es separado de sus aguas madres. Tiempos de centrifugación de 5 – 10 minutos son generalmente eficientes para la aplicación de esta metodología ^[64].

4.3.1.e. Separación de las fases: Posterior al paso de la centrifugación, la solución es colocada en un baño de hielo (frecuentemente a - 4 °C), donde la fase rica en surfactante se convierte en un gel viscoso, facilitándose de esta manera la separación física de las fases, por la simple inversión del tubo ^[74].

4.3.1.f. Agente diluyente de la fase micelar: al implementar la extracción en el punto de niebla es importante disminuir la gran viscosidad de la fase rica en surfactante antes de efectuar las medidas. Normalmente, se emplea una solución metabólica o etanólica de HNO₃ 1N, como agente diluyente para darle respuesta a esta problemática. Hay un volumen óptimo para el metanol agregado con respecto a las señales analíticas. Esto debe ser un compromiso entre la capacidad de la solución metanólica para bajar la viscosidad, mejorando la homogeneidad de la solución, y la cantidad de disolvente orgánico que puede ser tolerada sin problemas por algunos detectores, como plasma y llama en detectores atómicos ^[63]. Para las

determinaciones por espectrometría de absorción atómica (FAAS), (ETAAS), y espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS) se emplean disolventes orgánicos como metanol o etanol mezclados con ácidos fuertes como agentes diluyentes, mientras que en el caso de emplear técnicas como espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado ICP-OES se utilizan solamente ácidos fuertes pues el uso de disolventes orgánicos puede generar inestabilidad en el instrumento ^[74].

5. Aceites comestibles en Venezuela

Los aceites vegetales son un producto fundamental de la dieta del venezolano, pues su consumo es de gran relevancia en la cocina. En Venezuela existen varias empresas encargadas de la elaboración de los aceites, entre las más importantes podemos mencionar las siguientes: Cargill de Venezuela, una transnacional norteamericana, COPOSA Consorcio oleaginoso Portuguesa, S.A., Empresas Polar y las Empresas Diana. Estas empresas elaboran los aceites comestibles que se mencionan en la Tabla 4.

La obtención de la información para la elaboración de los distintos aceites en nuestro país resultó complicada, pues, en las distintas oficinas visitadas (Cargill, Coposa y Empresas Polar) no proporcionaron la información solicitada. Adicionalmente, se realizaron llamadas telefónicas a las plantas de procesamiento de Cargill y Coposa sin encontrar respuestas. Tampoco se pudo obtener información mediante el contacto vía e-mail con estas empresas.

La información que se presenta a continuación sobre la producción y origen de semillas empleadas para la producción del aceite comestible en Venezuela fue recopilada de diferentes páginas Web.

Cargill de Venezuela C.A., es una empresa de origen norteamericano, cuyo principal accionista es Cargill Inc. Se estableció en nuestro país en el año 1986,

iniciando sus operaciones, a través de una asociación con Mimesa C.A. para formar Agroindustrial Mimesa situada en la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, dedicándose a la fabricación de harinas y a la elaboración de pastas alimenticias. En el año 1990 esta empresa incursiona en el mercado de aceites refinados con la adquisición de una planta de refinación en Turmero, Estado Aragua, para luego, tres años más tarde, comprar las plantas aceiteras de Mavesa, ubicadas en Valencia y Puerto Cabello, Edo. Carabobo, así como las reconocidas marcas Vatel, Branca, Los Tres Cochinitos y Tresco. Hoy en Día la elaboración de los aceites vegetales se realiza en la planta de refinación de aceites ubicada en Valencia, Edo. Carabobo ^[75].

En el año 1974 fue fundado en Venezuela el Consorcio Oleaginoso Portuguesa, S.A. (Coposa), con el objetivo principal de producir, comercializar y distribuir distintos productos especialmente dentro del mercado de aceites y grasas vegetales comestibles, así como también, harinas oleaginosas. En cuanto a la elaboración de aceites, esta empresa posee dos plantas de extracción, ubicadas en Acarigua con una capacidad de 1.000 TM y la otra de 400 TM ^[76].

Las Empresas Polar comienzan sus actividades en el país en el año 1941, como Cervecería Polar C.A. en la parroquia Antímano de Caracas. En el año 1954 nace la Refinadora de Maíz Venezolana (REMAVENCA), empresa dedicada a la producción de hojuelas de maíz, hasta entonces importadas, que se requerían como materia prima para la elaboración de la cerveza y que, posteriormente, sirvió de laboratorio o centro de experimentación que daría origen en 1960, a la harina de maíz precocida conocida hoy como Harina PAN y, posteriormente, a la División de Alimentos de Empresas Polar, la cual se robusteció con la producción de aceites de maíz (Mazeite) y con la construcción de una nueva planta en Chivacoa (Edo. Yaracuy): Productora de Maíz, S.A. (PROMASA), donde también se producirían alimentos para animales. En el año 2003 se crea Alimentos Polar, empresa que asume el portafolio de las marcas de productos alimenticios comercializados por empresas Polar y que por supuesto incluye el aceite de maíz Mazeite ^[77].

Tabla 4. Distintas marcas comerciales elaboradas en Venezuela para diferentes variedades de aceites comestibles.

Compañías	TIPOS DE ACEITE				
	vegetal	Maíz	girasol	Soja	Cánola
Cargill de Venezuela, SRL.	Vatel	Vatel	Vatel	Vatel	—
	El Rey	El Rey	El Rey	El Rey	—
	—	—	Deleite	—	Deleite
	—	—	—	—	Purilev
	—	—	—	CASA	—
Corporación Agropecuaria Integrada CAICA C.A	Santa Lucia	—	Santa Lucia	—	—
Coposa	Coposa	—	Mirasol	NaturOil	—
	Bonna	—	—	—	—
Oleaginosas Industriales OLEICA CA.	Portumesa	Portumesa	Portumesa	Portumesa	—
	ORI	—	—	—	—
Empresas Polar	—	Mazeite	—	—	—
Industrias Diana C.A	Diana	—	—	Diana	—

Las empresas Diana C.A. surgen en el año 1898 en Valencia como Telares de Valencia, empresa especializada en hilos de algodón, la cual experimentó un aumento en la producción de algodón a través de la cual se obtenían gran cantidad de semillas de algodón provenientes del desmote, por lo que se comenzó a extraer el aceite comestible de dicha semilla. Las industrias Diana son una empresa manufacturera y comercializadora que se dedican a la fabricación de aceites, mantecas, margarinas y jabones. En 1998, nace Industrias Diana C.A cuando se realizó el cambio de denominación social. El 23 de Julio del año 2008 PDVAL, Productora y Distribidora Venezolana de Alimentos, compró la totalidad de las acciones de las empresas del Grupo Diana: Industrias, C.A y Palmeras Diana del

Lago C.A., ubicadas en Valencia, Edo Carabobo y Casigua El Cubo, estado Zulia, respectivamente ^[78].

Oleaginosas Industriales Oleica, C.A. nacen un día treinta de marzo de 1990 por iniciativa y apoyo financiero de ANCA (Asociación Nacional Cultivadores de Algodón). A partir de entonces, han crecido y se han consolidado como una empresa agroindustrial del Estado Portuguesa, elaborando productos oleaginosos de origen vegetal, en la fabricación de aceites vegetales. En la actualidad prestan servicios a terceros en los procesos de: extracción de semillas oleaginosas y refinación y Envasado de Aceites. Son los encargados actualmente de la elaboración de los aceites comestibles pertenecientes a la marca Portumesa ^[79].

La Corporación Agropecuaria Integrada CAICA, C.A., hasta hace poco conocida como Molinos Nacionales MONACA C.A., y filial del grupo Gruma, con sede en Monterrey (México), que funcionaba en la producción y procesamiento agroindustrial de harina de trigo, maíz, pasta, arroz, aceite, avena y atún, cuyas marcas comerciales en Venezuela son: harina de maíz Juana, arroz Mónica, aceite Gold Bell, harina de trigo Robin Hood, avena Lassie y adobo La Comadre, pasó a formar parte del gobierno nacional, luego de que el 12 de mayo de 2010, el Ejecutivo Nacional decidiera la adquisición forzosa de la empresa de alimentos Molinos Nacionales C.A. ^[80]. A partir de entonces los aceites vegetales producidos por esta empresa, adquieren la marca comercial Santa Lucia.

Debe destacarse que para lograr una buena producción del aceite comestible es necesario usar semillas de alta calidad que cumplan con requisitos de certificación. En Venezuela, la institución que exige esta certificación es el Servicio Nacional de Semillas (SENASA), perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ^[81].

A continuación se muestra información sobre la producción de algunas semillas oleaginosas en Venezuela.

Semillas de soja: El cultivo de la soja es totalmente industrializado y en Venezuela gran parte del aceite que se consume es derivado de esta semilla y su principal aplicación en el país es la formulación de alimentos balanceados para animales, de manera que la producción de pollo, huevo y cerdo se fundamenta en la utilización de este cultivo ^[79]. La demanda de soja en Venezuela, actualmente se encuentra alrededor de 1 millón 200 mil toneladas al año. La producción nacional de soja solamente supe una fracción pequeña de esa demanda nacional, por lo que se tiene una dependencia mayor al 90 % de soja importada. En nuestro país, existen zonas potenciales para el cultivo de la soja, las cuales se encuentran en los estados Portuguesa, Guárico, Anzoátegui y actualmente donde ha habido un mayor desarrollo de éste cultivo es en el estado Monagas, siendo en esta zona donde se ha sembrado cerca del 60 % de la superficie de soja en los últimos 3 años observándose la necesidad de aumentar la producción de esta semilla en el país, lo cual, va a requerir desarrollar tecnologías y cultivares propios ^[82].

En la actualidad se está llevando a cabo un trabajo importante bajo la coordinación del SENASEM para evaluar cultivares que inscriben empresas productoras de semillas, la mayoría de las cuales, son foráneas, traídas de otros países, evaluándose su comportamiento en diversas regiones del país en relación al rendimiento y las características de importancia agronómica. Los resultados de la evaluación de 2 ó 3 años consecutivos les otorgarán la elegibilidad de certificación que permite que sean comercializados y que estén disponibles para los productores ^[82].

Así mismo, mediante el convenio suscrito entre la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA) y el INIA realizaran el intercambio de las experiencias que tiene Brasil en el cultivo de soja en condiciones tropicales, así como acceder a materiales genéticos que ha desarrollado ese país para condiciones similares a nuestro país, los cuales, en poco tiempo pudieran ir directamente a ensayos regionales de soja para estar disponibles para los productores venezolanos ^[82].

Otro aporte en el marco de este convenio es en la producción de semillas en Venezuela, ya que actualmente, las semillas que utilizan los productores son importadas y a través de este convenio se va a crear el Sistema de Producción de Semillas de Soya en la nación, el cual se comenzaría con materiales genéticos de Brasil en tierras venezolanas. También, se tiene previsto el inicio de un programa de mejoramiento genético en el país, que a mediano plazo, generaría variedades venezolanas con el apoyo del INIA. Del mismo modo, se ha trabajado sobre el manejo agronómico del cultivo para adaptar los referenciales tecnológicos a nuestras condiciones agroecológicas, de manera que se han llevado a cabo en los últimos años, ensayos de evaluación de épocas de siembra de soya, tanto en el estado Monagas como en Guárico y Anzoátegui. Mediante este convenio suscrito entre el estado de Paraná, de la República Federativa del Brasil, y la República Bolivariana de Venezuela se desarrolla el proyecto que contempla la ejecución de 35 mil hectáreas de cultivo de soya, el cual se despliega en 3 fases. La primera etapa, consta de unas 2 mil hectáreas siendo destinada la mitad de ésta, a la producción de granos para la elaboración de alimentos concentrados como lácteos de soya, extracción de aceite, entre otros, y el restante para la producción de semillas. El segundo período está previsto desarrollarse para éste año, con la siembra de unas 25 mil hectáreas y para el año 2012 se espera alcanzar la meta final de 35 mil hectáreas de soya. Entre los tipos de soya empleada para esta primera fase del proyecto se encuentran la “Sambaiba” y “Tracajá” de conocido rendimiento, que supera los 2.500 kilos por hectárea ^[82].

En la empresa Coposa se pudo averiguar que la semilla de soja empleada en la elaboración de sus aceites es importada.

En cuanto a la Semilla de girasol: Se espera que para el año 2009 en Venezuela se cosechen más de 100 mil toneladas de girasol que se destinarán a la fabricación de aceite para el consumo humano y de alimentos balanceados para animales. Las cien mil hectáreas previstas para la siembra del rubro están distribuidas en Portuguesa (86 mil hectáreas), Barinas (12 mil) y Cojedes (2 mil). Para llevar a cabo

esta labor, el organismo agrícola venezolano facilitará la cantidad de semillas de Girasol -traídas de Argentina, gracias al convenio binacional- necesarias para el sembradío estimado para este ciclo norte verano, que arrancó a mediados de octubre del pasado año, para el cual se cuenta con una diversidad de semillas entre las que resaltan las variedades: Contiflor 31, Aguará 4, Aguará 3, Contiflor 27, Charrúa y VDH487 ^[82].

La transnacional norteamericana Cargill compró 50 por ciento de la producción nacional (de los años 2008-2009) de semillas de girasol de Venezuela, la cual es empleada en la elaboración del aceite Vatel de girasol, así lo anunció la empresa mediante un comunicado de prensa de fecha 16/04/2009. Se trató de 16 mil toneladas de la cosecha de girasol sembrada por diversas cooperativas y asociaciones de productores del país, las cuales actualmente están siendo acopiadas en el Estado Portuguesa para su procesamiento y posterior comercialización. Con la compra, Cargill espera producir 6,5 millones de litros de aceite comestible ^[83].

El Banco Agrícola de Venezuela (BAV) entregó un financiamiento de 10 millones a la empresa Coposa con el objetivo de comprar la cosecha de girasol a los productores financiados por el BAV, para la producción de aceite y margarina dirigida a la Corporación de Servicios y Abastecimiento Agrícola (CASA) ^[81].

El trabajo que se presenta se enfocó en la optimización y selección de una metodología para la determinación de metales pesados en aceites comestibles y el análisis de varios de ellos, presentes actualmente en el comercio venezolano.

III. OBJETIVOS

1. General

Preconcentración y determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en aceites comestibles Venezolanos mediante métodos espectrométricos atómicos.

2. Específicos

- Estudiar la viabilidad de la extracción ácida como método de preconcentración de metales traza en aceites comestibles.
- Alternativamente, optimizar la metodología de preconcentración multielemental por CPE empleando DDTP y APDC como agentes acomplejantes y como surfactante Triton X-114.
- Comparar las metodologías estudiadas para la determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en el análisis de aceites comestibles mediante ETAAS, mediante la determinación de las figuras de mérito y la validación de los resultados.
- Aplicar la metodología seleccionada en la determinación de la concentración de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en aceites comestibles venezolanos.

IV. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

1. Equipos:

- Espectrómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica marca Perkin Elmer, modelo SIMAA 6000. Este equipo cuenta con un corrector de fondo basado en el efecto Zeeman longitudinal y emplea hornos calentados transversalmente y un automuestreador AS-70. Emplea como detector un arreglo CMOS, permitiendo la detección simultánea de hasta seis elementos.
- Digestor de microondas, marca CEM, modelo MDS 2000, de potencia máxima 630 watts; con sensor de presión. Envases de Teflón PFA (resina de perfluoroalcoxi copolímero) ACV-50.
- Centrífuga marca Termo Electrón Corporation, modelo IEC Centra CL2.
- pH-metro.
- Baño de ultrasonido marca Cole-Palmer 8894

2. Reactivos:

- Disoluciones estándar acuosas de 1000 μg / mL de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb marca Spex-CertiPrep.
- Ácido nítrico HNO_3 65% marca Fluka Chemical, tetradestilado (sub-boiling en teflón).
- Peróxido de hidrógeno H_2O_2 30% marca Riedel-deHaën (p.a).
- Etanol absoluto $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 99.8% marca Sigma-Aldrich.
- Hidróxido de sodio NaOH 99.99% marca Riedel-deHaën.
- Surfactante Triton[®] X-114 (d: 1,067; PM: 614) marca Sigma-Aldrich.
- Agente complejante O,O-dietilditiofosfato de amonio $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2\text{S}_2\text{P}\cdot\text{H}_3\text{N}$ (DDTP) marca Sigma-Aldrich.
- Agente complejante pirrolidinditiocarbamato de amonio $\text{C}_5\text{H}_9\text{NS}_2$ (APDC) marca Sigma-Aldrich.
- Cloruro de sodio NaCl 99.5% marca Sigma-Aldrich.
- Agua (H_2O) destilada y desionizada 18 Milli-Q para la preparación de las disoluciones.

3. Metodología

3.1 Tratamiento de la muestra

Se siguieron tres procedimientos de tratamiento de muestra para el análisis de los aceites comestibles, los cuales fueron:

- Digestión ácida asistida con digestor de microonda
- Extracción en el punto de niebla
- Extracción ácida

Procedimiento de Digestión ácida

La digestión ácida de las muestras de aceite se realizó empleando un digestor de microondas.

El procedimiento empleado optimizado previamente por Alzualde ^[62], consistió en pesar aproximadamente 0,2 g del aceite en los envases de Teflón, se añadió 1,25 ml de HNO₃ al 65 % m/v tetradestilado y 0,75 ml de H₂O₂ al 30%. Se dejó reaccionar durante 20 minutos y posteriormente se introdujo al digestor de microonda. El programa de digestión aplicado se muestra en la Tabla 5.

Las muestras, luego de ser digestadas, se llevaron a un volumen final de 5 ml para su posterior análisis por ETAAS, el cual se realizó mediante curva de adición estándar, empleando un estándar acuoso multielemental conteniendo las concentraciones especificadas en la Tabla 6, preparado en una matriz similar a la de las muestras, es decir, HNO₃ al 0,1 % m/v.

Tabla 5. Programa de digestión de las muestras de aceite asistida con digestor de microondas*^[62]

Etapas	1	2	3	4	5
Potencia (%)	50	50	50	50	50
Presión (psi)	20	40	85	150	180
Tiempo (min)	10:00	10:00	10:00	10:00	10:00
TAP (min)	5:00	5:00	5:00	5:00	5:00

*Tiempo: tiempo necesario para alcanzar la presión. TAP: tiempo durante el la presión se mantiene constante. Este programa está optimizado para el empleo de 6 envases.

Procedimiento de extracción en el punto de niebla (CPE).

Para la extracción en el punto de niebla (CPE) se utilizaron metodologías previamente optimizadas señaladas por Alzualde Z. ^[62] y Maranhao T ^[68] quienes emplearon APDC y DDTP, respectivamente, como agentes acomplejantes. Los esquemas de preparación en cada caso se muestran en la Figura 1.

En la extracción por CPE con DDTP se estudió, adicionalmente, el efecto de la adición de la sal inorgánica NaCl, sobre el comportamiento de la separación de fases, añadiéndose 1500 µl de NaCl al 10% p/v.

Los procedimientos se aplicaron a estándares acuosos multielementales para determinar las figuras de merito correspondientes, factor de enriquecimiento (FE), factor de preconcentración (FP) y porcentaje de recuperación instrumental (%R_i). En este caso se empleó como solución de partida, 10 ml de solución estándar acuosa multielemental conteniendo las concentraciones que aparecen en la Tabla 6, y tomando de ésta solución 250 µl para llevar a cabo la extracción por CPE.

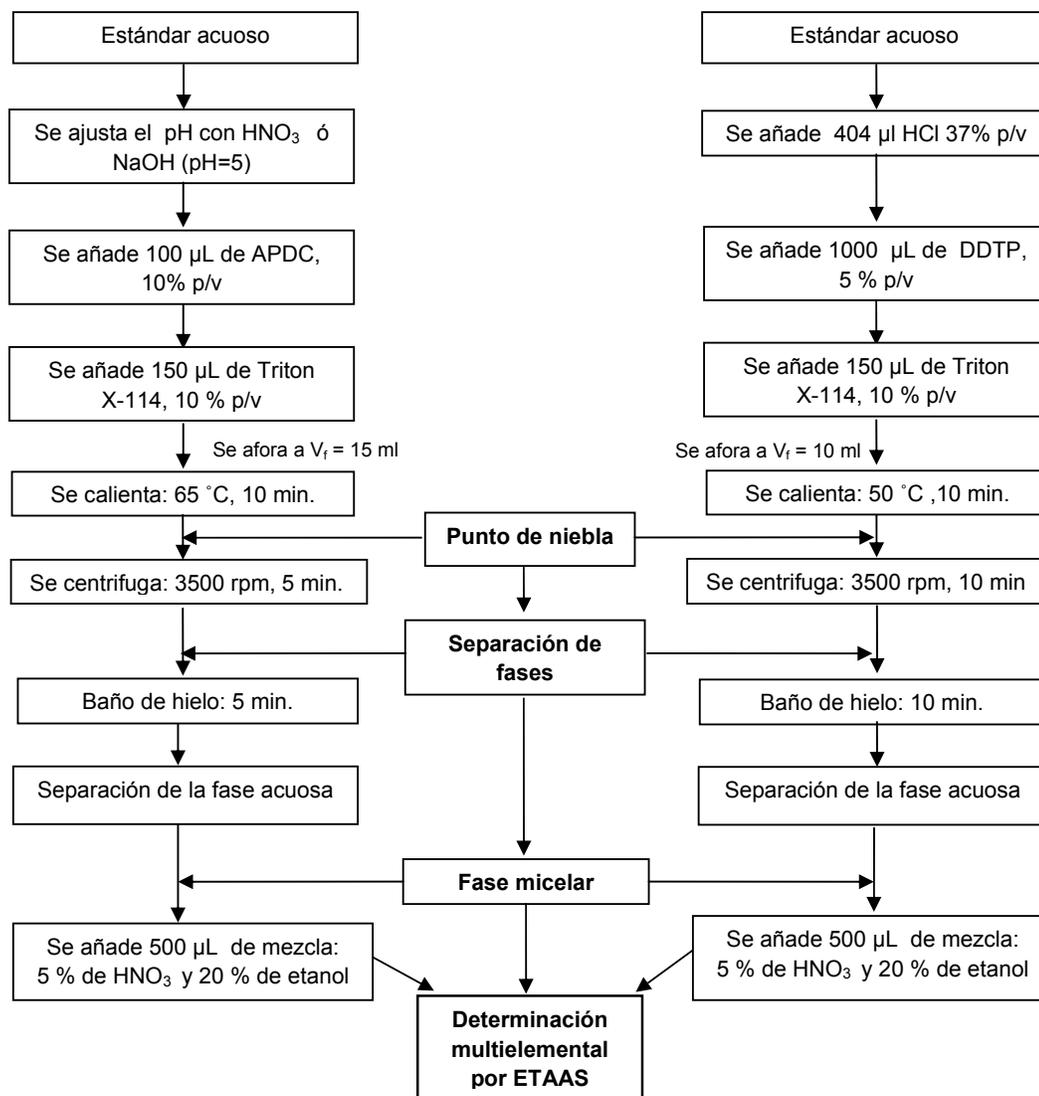
Para la aplicación de la metodología a muestras de aceites, éstas fueron llevadas previamente a solución mediante digestión ácida asistida con digestor de microondas, empleando el procedimiento de digestión aplicado en la digestión ácida, señalada anteriormente. El aforo de la solución resultante de la digestión a 10 ml se realizó luego de añadir todos los reactivos necesarios para el procedimiento de CPE.

En las muestras de aceite, se determinó el porcentaje de recuperación del método de análisis (%R_m), mediante la contaminación del aceite, previo a su digestión, con cantidades similares a las empleadas en la solución estándar acuosa multielemental.

Para la elaboración de la curva de calibración externa, los patrones empleados fueron preparados en una matriz de 3% p/v de Triton X-114, 4% m/v HNO₃ y 16% v/v de etanol, similar a la de los extractos obtenidos en la preconcentración por CPE. En la Tabla 6 se muestran las concentraciones del estándar acuoso multielemental.

Tabla 6. Concentraciones empleadas en el estándar multielemental

Elemento	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd	1
Cu	20
Cr	5
Ni	25
Pb	25



a) CPE con APDC

b) CPE con DDTP

Figura 1. Esquemas del procedimiento de extracción por CPE

Procedimiento de Extracción ácida

La metodología de extracción ácida empleada se basó en la señalada por De Leonardis ^[59] y Pehlivan ^[9] cuyo esquema se presenta en la Figura 2.

La fase acuosa fue separada del resto, retirando la capa orgánica sobrenadante, empleando para ello una micropipeta automática, para su posterior análisis por ETAAS, por curva de calibración externa, empleando un estándar acuoso multielemental conteniendo las concentraciones de los analitos que se muestran en la Tabla 6, en una matriz de HNO₃ 10% m/v.

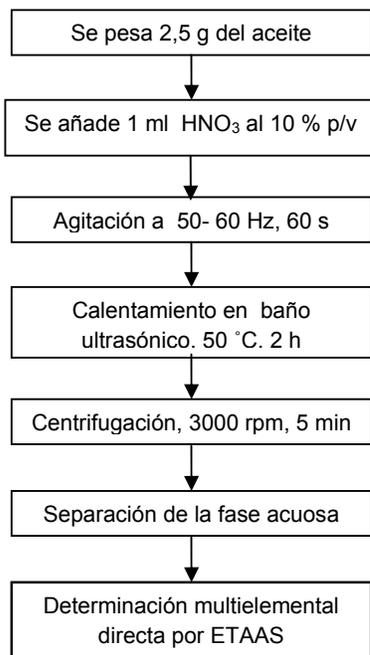


Figura 2. Esquema del procedimiento de extracción ácida

Para esta metodología se estudió:

a. La influencia del volumen de HNO₃ en la concentración extraída y el %R_m.

Para ello, se determinó la concentración de cada elemento extraído, variando el volumen del HNO₃ 10% m/v a emplear en la extracción, utilizando los volúmenes de: 0.5 ml; 0,75 ml y 1,00 ml.

En cada caso se determinó el porcentaje de recuperación del método de análisis, (%R_m), contaminando el aceite previamente al proceso de extracción ácida, con una concentración de cada elemento equivalente a la mitad de la concentración que aparece en la Tabla 6. El aceite de marca comercial Mazeite fue el empleado para la realización de esta experiencia.

b. Efecto de la masa de analito en el porcentaje de recuperación (%R_m)

Se determinó el %R_m contaminando las muestras con diferentes masas de los analitos, en el intervalo de concentración que se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Intervalo de concentraciones empleado en los estudios de recuperación %R_m en distintas muestras de aceite

Elemento	Vatel (vegetal) µg L ⁻¹	Bonna (vegetal) µg L ⁻¹	Diana (vegetal) µg L ⁻¹	Mazeite (maíz) µg L ⁻¹
Cd	0,1 - 0,3	0,20 - 1,25	0,20 - 1,25	0,20 - 1,25
Cu	3 - 8	2 - 20	2 - 20	2 - 20
Cr	1 - 2	1 - 5	1 - 5	1 - 5
Ni	5 - 10	2 - 25	2 - 25	2 - 25
Pb	5 - 10	2 - 25	2 - 25	2 - 25

3.2 Análisis multielemental mediante ETAAS

La determinación simultánea de los elementos en los extractos obtenidos mediante la preconcentración por CPE y extracción ácida, así como en las soluciones de digestión de los aceites, fue realizada mediante ETAAS empleando como modificador químico la mezcla de 5 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 3 μg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, la cual permite la estabilización térmica de los elementos más volátiles (Cd y Pb) cuando se utilizan elevadas temperaturas de pirólisis y eliminar de esta manera su pérdida. El programa optimizado ^[62] se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Programa de calentamiento ^[62] empleado en ETAAS

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de permanencia (s)	Flujo de Argon (ml min ⁻¹)
Secado I	110	1	30	250
Secado II	130	15	30	250
Calcinado	600	10	20	250
Enfriamiento	30	1	2	250
Atomización*	2300	0	6	0
Limpieza	2450	1	3	250

*Lectura de la señal de absorbancia integrada.

Las condiciones instrumentales empleadas para los distintos analitos mediante ETAAS se muestran en la Tabla 9, donde se observan las longitudes de onda y los tiempos de integración utilizados para cada elemento. La lectura se realizó en el modo de absorbancia integrada.

Tabla 9. Condiciones instrumentales empleadas para los diferentes analitos en ETAAS ^[62]

Condición	Cd	Cu	Cr	Ni	Pb
Longitud de onda (nm)	228,8	324,8	357,9	232,0	283,3
Tiempos de lectura (s)	2,0	3,5	5,5	5,0	3,0

Los análisis de los extractos de CPE y extracción ácida se realizaron mediante curva de calibración externa empleando un volumen de inyección de la muestra de 10 µl, y en el caso del análisis de las soluciones de digestión ácida se empleó la curva de adición de estándar empleando un volumen de inyección de la muestra de 20 µl. La determinación multielemental se realizó empleando soluciones acuosas en el intervalo de concentraciones que se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Intervalo de concentraciones en los análisis mediante ETAAS

Elemento	CCE* (µg L ⁻¹)	CAE* (µg L ⁻¹)
Cd	0,50 - 1,50	0,25 - 0,55
Cu	10,0 - 30,0	5,0 - 11,0
Cr	2,5 - 7,5	1,25 - 2,75
Ni	12,5 - 37,5	6,25 - 13,75
Pb	12,5 - 37,5	6,25 - 13,75

*CCE: curvas de calibración externa; CAE: curva de adición estándar.

Para cada metodología se preparó el blanco correspondiente, teniendo en cuenta las matrices de las soluciones a analizar, así como los blancos de reactivos correspondientes en cada tipo de muestra.

3.3 Comparación entre métodos de análisis

3.3.1 Determinación de Figuras de mérito.

Factor de enriquecimiento (FE). Se determinó para los procedimientos de extracción por CPE y se expresa mediante la Ecuación 1:

$$FE = (m_{CPE} / m_{std}) \quad (1)$$

Donde, m_{CPE} es la pendiente de la curva de calibración obtenida empleando, como solución estándar el extracto conseguido en el procedimiento de extracción por CPE (absorbancia integrada del extracto CPE vs. concentración de los analitos en la solución de partida, antes de aplicar el procedimiento de extracción por CPE); m_{std} es la pendiente de la curva de calibración obtenida empleando un estándar acuoso multielemental, preparado en una matriz similar a la de los extractos de CPE (3% p/v de Triton X-114, 4% m/v HNO₃ y 16% v/v de etanol) y que contiene concentraciones de los analitos equivalentes a las de la solución de partida del procedimiento de extracción por CPE multiplicadas por la relación de volúmenes V_i/V_f . Para el caso del CPE con DDTP como agente acomplejante esta relación fue 10/0,5; mientras que para el CPE con APDC fue 15/0,5.

Factor de preconcentración (FP). Se emplea para comparar la capacidad de extracción de sistemas micelares, por lo que se determinó para el procedimiento de extracción por CPE. Se define como la relación de la concentración del analito en la fase rica en surfactante (C_{CPE}) con respecto a la concentración en el medio original de la muestra antes de la extracción ($C_{inicial}$), y se expresa según la Ecuación 2:

$$FP = (C_{CPE} / C_{inicial}) \quad (2)$$

Porcentaje de Recuperación del método analítico (% R_m). Permite determinar la eficiencia de la extracción y análisis. Consistió en añadir diferentes concentraciones de cada analito, a las muestras, antes de los distintos procedimientos. Para el caso

de la extracción por CPE se determinó según la Ecuación 3. En este caso, (C_{m+spk}) corresponde a la concentración de la muestra que contiene una cantidad determinada conocida del elemento; C_m es la concentración de la muestra; C_{spk} es la concentración adicionada a la muestra y FE es el factor de enriquecimiento para cada analito.

$$\%R_m = (((C_{m+spk}) / FE) - C_m) / C_{spk} \times 100 \quad (3)$$

En los casos de la extracción acida y digestión acida asistida con digestor de microonda, el $\%R_m$ se determinó según la Ecuación 4.

$$\%R_m = ((C_{m+spk}) - C_m) / C_{spk} \times 100 \quad (4)$$

El intervalo de concentraciones o concentraciones empleadas en la contaminación del aceite, para los distintos métodos se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Intervalo de concentraciones en la determinación del $\% R_m$

Elemento	Extracción CPE ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Extracción acida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Digestión acida ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd	1	0,1 - 1,25	0,5
Cu	20	2 - 20	10
Cr	5	1 - 5	2,5
Ni	25	2 - 25	12,5
Pb	25	2 - 25	12,5

Masa característica (m_0). Es una figura de merito que expresa la sensibilidad en ETAAS y corresponde a la masa o concentración del analito que genera una

absorbancia que equivale a la atenuación aproximadamente del 1% de transmitancia. Se expresa según la Ecuación 5:

$$m_o = (0,0044/m) \times V_{iny} \quad (5)$$

Donde m corresponde a la pendiente de la curva de calibración en unidades de absorbancia integrada por unidad de masa, y V_{iny} es el volumen de inyección de la muestra en μL .

Limite de detección instrumental (LOD_i). Es la mínima concentración o la mínima masa del analito que se puede detectar. Este límite depende del valor de la fluctuación estadística de la señal del blanco y la sensibilidad analítica, y viene definida por la Ecuación 6, donde S_{BL} es la desviación estándar de 10 lecturas del blanco y m corresponde a la pendiente de la curva de calibración externa ^[55].

$$LOD_i = (3 S_{BL})/m \quad (6)$$

Ya que cada procedimiento analítico involucra un blanco diferente (cantidad y tipo de reactivos matriz), se determinó un LOD_i para cada método.

Limite de detección del método (LOD_m). Para el *método de extracción CPE* la concentración del limite de detección del método se determinó mediante la Ecuación 7, donde FE corresponde al valor del factor de enriquecimiento para cada elemento; V_i es el volumen inicial (10 ml en este caso) empleado en el procedimiento de CPE y M es la masa del aceite en gramos, aproximadamente 0,2 g.

$$LOD_m = (LOD_i \times V_i) / (FE \times M) \quad (7)$$

En el *procedimiento de extracción ácida* la concentración del límite de detección metodológico viene expresada según la Ecuación 8, donde el V_{ext} es el volumen del

ácido empleado en la extracción (1 ml en este caso) y M es la masa en gramos del aceite, 2,5 g aproximadamente.

$$\text{LOD}_m = (\text{LOD}_i \times V_{\text{ext}}) / M \quad (8)$$

La concentración del límite de detección metodológico para *el método de digestión acida* viene expresada según la Ecuación 9, donde el V_i es el volumen al que se llevó la muestra luego de la digestión (5 ml en este caso) y M es la masa en gramos del aceite, que equivale a aproximadamente 0,2 g.

$$\text{LOD}_m = (\text{LOD}_i \times V_i) / M \quad (9)$$

3.3.2. Comparación de resultados obtenidos entre métodos.

Se comparó la concentración obtenida mediante las tres metodologías de análisis para los elementos Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en dos aceites comestibles (Diana y Mazeite).

La concentración (C) de los aceites, expresada en ng g^{-1} , se determinó de forma distinta para cada metodología, pues en cada una de ellas se diferencia la matriz empleada y el volumen de muestra.

Así, para *la extracción por CPE* se empleó la Ecuación 10, donde el volumen de muestra (V_m) utilizado fue de 10,0 ml; una masa de aceite (M) de 0,2 g aproximadamente, y la C_{obt} corresponde a la concentración determinada en el extracto por ETAAS en $\mu\text{g L}^{-1}$

$$C = (C_{\text{obt}} \times V_m) / (FE \times M) \quad (10)$$

Para la extracción ácida, la concentración final (C) viene expresada según la Ecuación 11, donde el V_{ext} corresponde al volumen del extracto, que equivale a 1 ml, y la masa de aceite (M) en g, que en este caso fue 2,5 g aproximadamente.

$$C = (C_{\text{obt}} \times V_{\text{ext}}) / M \quad (11)$$

Para la digestión ácida, la concentración final (C) viene expresada según la Ecuación 12, donde el V_{m} corresponde al volumen de muestra, que en este caso es 5 ml, y la masa de aceite (M) en g, que es 0,2 g aproximadamente.

$$C = (C_{\text{obt}} \times V_{\text{m}}) / M \quad (12)$$

3.4. Análisis de aceites comestibles venezolanos mediante extracción ácida y detección simultánea mediante ETAAS.

El análisis se aplicó a muestras de aceites comestibles comerciales producidos en Venezuela que se distribuyen usualmente en los mercados nacionales. En la Tabla 12 se señalan sus nombres comerciales y compañías que los producen.

Tabla 12. Aceites vegetales comerciales venezolanos analizados

Tipo de aceite	Marca comercial	Empresa productora
Vegetal	Bonna	Consorcio Oleaginoso Portuguesa, S.A
	Coposa	Consorcio Oleaginoso Portuguesa, S.A
	Diana	Industrias Diana, C.A
	Santa Lucia	Corporación Agropecuaria Integrada CAICA, C.A
	Vatel	Cargil de Venezuela, S.R.L
Soja	CASA	Cargil de Venezuela, S.R.L
	Naturoil	Cargil de Venezuela, S.R.L
	Portumesa	Oleaginosas industriales OLEICA, C.A
	Vatel	Cargil de Venezuela, S.R.L
Girasol	Portumesa	Oleaginosas industriales OLEICA, C.A
Maíz	Mazeite	Empresas Polar

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Tratamiento de muestra

Procedimiento de extracción en el punto de niebla (CPE).

La separación del pequeño volumen proveniente de la fase rica en surfactante de la fase acuosa, generalmente es mejorada colocando la solución en un baño de hielo, luego de la centrifugación. De esta manera, se incrementa la viscosidad de la fase rica en surfactante y se favorece su separación de la fase acuosa. En el procedimiento donde se empleó DDTP como agente acomplejante, se presentó gran dificultad en la separación correcta de ambas fases, pues la simple inversión del tubo para la eliminación de la fase acuosa no fue suficientemente apropiado, ocurriendo la pérdida del extracto micelar en la mayoría de los casos; así mismo, al intentar eliminar la capa acuosa con una micropipeta automática, se observó la mezcla de ambas fases, por lo que la reproducibilidad presente en el análisis se ve severamente afectada .

El proceso de separación de fases se puede facilitar enormemente por la presencia de un electrolito inorgánico, ya que la temperatura del CPE disminuye debido a la deshidratación de las cadenas polioxietilenadas presentes en el surfactante, y al mismo tiempo, las interacciones hidrofóbicas se incrementan entre los agregados de surfactante y los analitos, favoreciéndose así, la precipitación de las moléculas de surfactante y su extracción de la acuosa a la fase micelar ^[74]. Por ésta razón, se estudió el comportamiento de la separación de fases al añadir una sal inorgánica, como NaCl. En este caso, se observó una pequeña mejoría en la separación, pues, la fase micelar resultó mejor diferenciada de la fase acuosa. Sin embargo, en el momento crítico de su separación se advirtieron los mismos inconvenientes que el método empleado sin la sal, mencionados anteriormente. Si bien, la fuerza iónica del medio se ve incrementada por la adición de la sal, reduciéndose así, la solubilidad de los analitos, quedando éstos más fácilmente retenidos, este efecto depende

también de otros parámetros como la polaridad del analito, la concentración de la sal y la matriz de la muestra.

La Tabla 13 muestra los intervalos de concentración obtenidos en los extractos de CPE con DDTP, empleando el método convencional mostrado en la Figura 1, con respecto al agregado de una solución de NaCl 10%. Adicionalmente, se muestran también los intervalos de los valores del blanco para cada caso.

Tabla 13. Intervalos de concentración ^(a) obtenidos en la extracción por CPE empleando el método convencional y la adición de NaCl

Elemento	Método convencional		Adición de NaCl	
	Intervalo de Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intervalo de los blancos ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intervalo de Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intervalo de los blancos ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd	nd - 0,13	nd	nd	nd
Cu	7,1 - 9,7	1,7 - 1,8	4,5 - 8,4	0,9 - 2,1
Cr	5,0 - 9,0	4,0 - 5,7	12,5 - 14,5	12,3 - 13,9
Ni	nd - 1,2	nd	3,0 - 13,7	1,2 - 4,8
Pb	7,2 - 10,3	1,0 - 3,2	8,6 - 16,7	2,1 - 8,5

^a intervalo de concentraciones (n = 4); nd: no detectable.

Se observó para todos los elementos, excepto para el Cd, un incremento en la concentración determinada cuando se empleó NaCl en el procedimiento de CPE, así como valores elevados de concentración para los blancos, lo que indica la presencia de contaminación para estos elementos debido a la sal.

Extracción acida

a. La influencia del volumen de HNO₃ en la concentración extraída y %R_m:

La Figura 3 muestra el efecto del volumen de HNO₃ 10% p/v, sobre la concentración extraída y el % R_m en cada elemento. En estas gráficas se observa en todos los casos la misma tendencia: la eficiencia en la extracción aumenta con el volumen de HNO₃ empleado, observándose los mejores valores con un volumen de 1,00 ml de HNO₃ 10% p/v. Por esta razón, se seleccionó este volumen de ácido para el estudio de las muestras de aceites vegetales siguiendo la metodología de extracción acida. Los %R_m obtenidos para el volumen elegido de ácido se encuentran entre el 85,0 % y 120,0 %, quedando de esta manera probada la aplicabilidad del método. Estos valores del %R_m indican que la eficacia de extracción está alrededor del 100 % al aplicarla en aceites. Para los %R_m superiores al 100 % se supone la presencia de contaminación, específicamente para el cobre.

b. Efecto de la masa de analito en el porcentaje de recuperación (%R_m)

La Figura 4 muestra el efecto de la masa de analito sobre el porcentaje de recuperación del método (%R_m) para los aceites estudiados, siguiendo la metodología de la extracción acida.

Los resultados obtenidos demuestran una tendencia semejante para los elementos Cd, Cu, Ni y Pb, en los cuales se observó que a bajas concentraciones la eficiencia de la extracción es muy variable, debido al efecto relativo de la contaminación, y a partir de cierto valor de concentración, diferente para cada analito (5 ng mL⁻¹ para los elementos Cu, Ni y Pb y 0,2 ng mL⁻¹ para el Cd), la eficacia es cercana al 100 % y permanece constante, independientemente de la masa del analito. Estas concentraciones límite, expresadas en ng g⁻¹ corresponden a la mínima concentración analizable en la metodología de extracción ácida, (0,08 ng g⁻¹ para el Cd y 2 ng g⁻¹ para los elementos Cu, Ni y Pb en aceites comestibles).

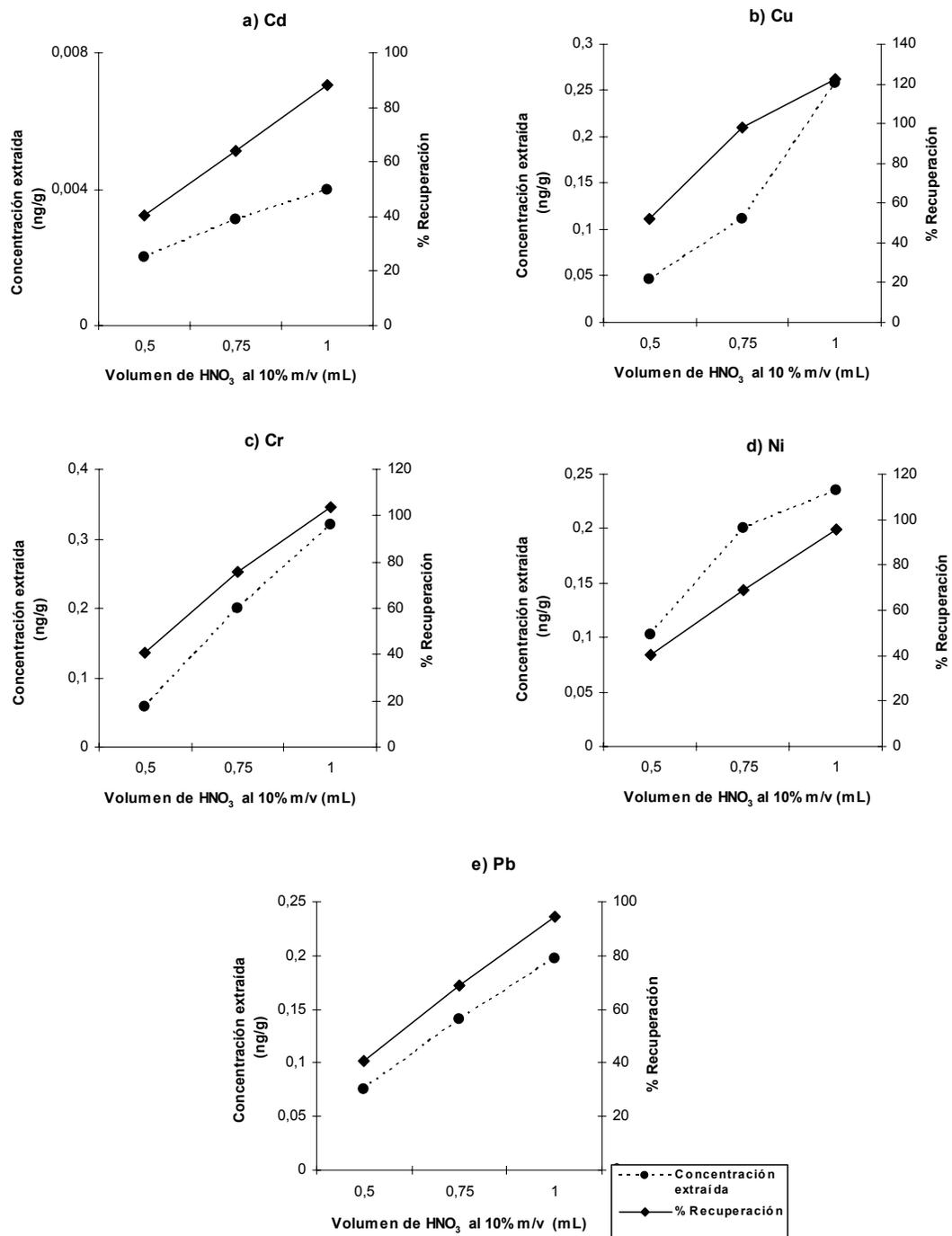


Figura 3. Influencia del volumen de HNO₃ en el procedimiento de extracción ácida.

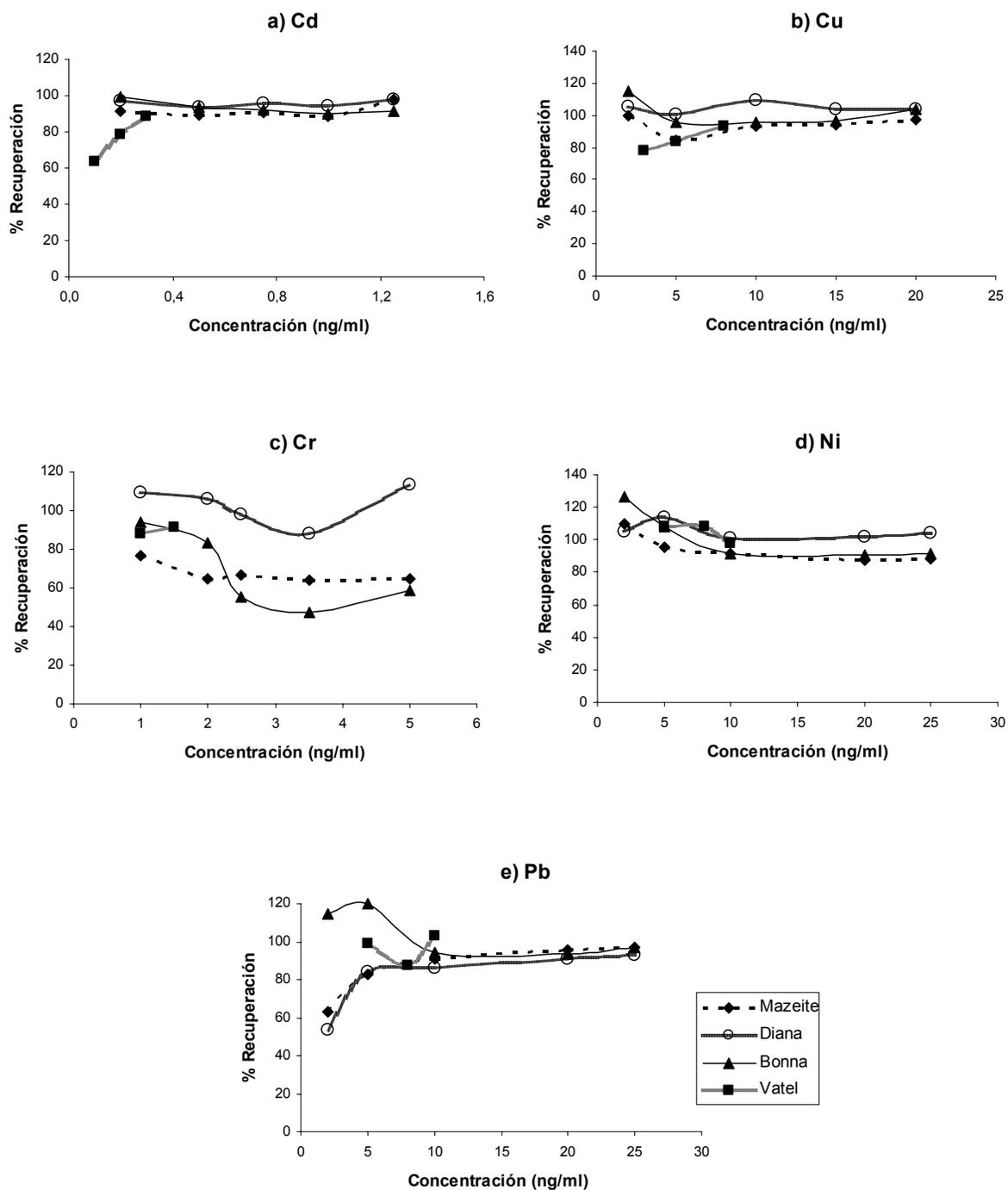


Figura 4. Porcentaje de recuperación metodológico (%R_m) obtenido en la metodología de extracción ácida aplicada a diferentes aceites comerciales.

Los valores de recuperación oscilan entre 88 - 99% para el Cd y 83 - 97% para el Pb. Asimismo, para el Ni se obtuvieron valores entre 91 - 104% y para el Cu 94 - 109%. De acuerdo con los valores de $\%R_m$ obtenidos para estos elementos, la aplicabilidad de éste método quedó demostrada para las distintas muestras de aceites.

En el Cr, a diferencia de los demás elementos, se observaron diferencias en el $\%R_m$, observándose los valores del $\%R_m$ más elevados para el aceite Diana (88 - 113%), mientras, que para los otros aceites se encontraron valores entre 65 - 90 %. Estos bajos valores de $\%R_m$ implican la contaminación de los blancos.

4.2 Comparación entre métodos de análisis

4.2.1 Figuras de mérito

Masa característica (m_o). En la Tabla 14 se indican las masas características determinadas para los distintos métodos en estudio, así como también, las masas características esperadas para los distintos analitos, cuando se trabaja en ETAAS.

Para todos los elementos, excepto para el Cr en extracción ácida, se advirtieron para la masa característica valores superiores a los señalados en el manual del instrumento (ETAAS), lo cual es debido a que esta figura de mérito se ve afectada tanto por las condiciones compromiso empleadas en la determinación multielemental, como por el tipo de modificador utilizado, el programa térmico empleado y la matriz en la que se encuentra el analito. Ya que las condiciones instrumentales empleadas en las tres metodologías fueron las mismas, se concluye que las diferencias provenientes de la matriz son predominantes, y entre ellas superior en la extracción por CPE donde se obtuvieron las mayores diferencias en las masas características (m_o). Las diferencias en m_o obtenidas por curva de calibración externa y curva de adición estándar en la extracción por CPE, lo confirman.

Tabla 14. Masas características (m_o) obtenidas para los distintos métodos

Analitos	Extracción por CPE APDC		Extracción acida		Digestión acida	m_o ^[83] reportada
	CCE (pg)	CAE (pg)	CCE (pg)	CAE (pg)	CAE (pg)	(pg)
Cd	3,7	3,9	2,8	2,6	2,2	1,8
Cu	37,6	26,9	24,4	23,2	25,6	20
Cr	11,6	31,4	5,6	5,1	8,1	7
Ni	45,4	31,2	29	27,2	30,9	20
Pb	88	67,7	62	58,7	61,5	60

Factores de enriquecimiento (FE). En la Tabla 15 se muestran los factores de enriquecimiento obtenidos en la extracción por Cloud Point Extraction, empleando DDTP y APDC como agentes acomplejantes. Asimismo, se muestran las pendientes obtenidas en las curvas de calibración externa con el estándar acuoso multielemental y la correspondiente al extracto de CPE, para cada caso.

En el procedimiento con DDTP los FE para los elementos Ni y Cr alcanzaron valores significativamente bajos, lo que indica una eficiencia de la extracción muy pobre, por lo que puede ser ésta una razón por lo que en las publicaciones revisadas no se encontró la determinación de estos elementos por CPE con el empleo de éste acomplejante (Anexo 1). Para el CPE con APDC se observó una mayor eficiencia de extracción, siendo el Cr el elemento para el cual se obtuvo el valor inferior.

Los valores de FE involucran las posibles interferencias de la matriz, pues el método analítico compensa los posibles efectos de la viscosidad y densidad de los extractos de CPE sobre la sensibilidad, además de la eficiencia de la extracción. También, deja de lado, la incertidumbre proveniente del volumen de la fase micelar final obtenida en las medidas, pues, debido al reducido volumen que se obtiene, la

introducción de errores lleva a resultados irreproducibles. Por todo lo expuesto anteriormente, los FE son tomados en cuenta en la determinación de los metales.

Tabla 15. Factores de enriquecimiento para la extracción por CPE

Analitos	CPE con DDTP			CPE con APDC		
	m C _{organica} *	m C _{CPE} **	FE	m C _{organica} *	m C _{CPE} **	FE
Cd	0,01460	0,23070	15,8	0,01556	0,29720	19,1
Cu	0,00148	0,02233	15,1	0,00140	0,02983	21,3
Cr	0,00522	0,03219	6,2	0,00488	0,05731	11,7
Ni	0,00127	0,00279	2,2	0,00120	0,02144	17,9
Pb	0,00066	0,01150	17,4	0,00058	0,01210	20,9

*Curva con patrón orgánico; ** Curva con extracto CPE; m: pendiente de la curva analítica.

Factores de preconcentración (FP). En la Tabla 16 se señalan los factores de preconcentración obtenidos tras la preconcentración de disoluciones estándar acuosas multielemental, mediante el método de CPE empleando los distintos acomplejantes.

El FP se determinó empleando las concentraciones de los extractos (C) obtenidas por curva de calibración externa (CCE) y por curva de adición estándar (CAE)

Para la extracción empleando DDTP con las concentraciones obtenidas se observó para los elementos Ni y Cr una diferencia notable entre los FP obtenidos mediante curva de calibración externa y curva de adición estándar, lo cual es indicio de la presencia de interferencias de la matriz para ambos analitos que afectan su determinación por ETAAS. De igual manera, se observó éste comportamiento para los analitos Cd, Cu, Cr y en menor proporción para el Pb cuando se empleó APDC

como acomplejante, por lo que se aprecia una mayor incidencia de interferencias provenientes de la matriz con el uso de este quelante.

Tabla 16. Factores de preconcentración para la extracción por CPE

Analito	CPE con DDTP		CPE con APDC	
	^a FP CCE	^b FP CAE	^a FP CCE	^b FP CAE
Cd	16,2	15,4	21,3	31,2
Cu	16,4	16,6	21,3	29,6
Cr	1,9	5,8	10,8	36,3
Ni	5,7	2,5	24,0	25,3
Pb	16,7	16,7	25,2	31,6

^aFP obtenidos de un pool que contiene 6 muestras de CPE para DDTP, y 4 muestras para APDC leídos en una curva de calibración externa; ^bFP obtenidos de un pool que contiene 6 muestras de CPE para DDTP y 4 muestras para APDC leídos en una curva de adición estándar.

Para los elementos estudiados, los FP obtenidos resultaron, en general, menores a la relación de fases, (20 en el caso de CPE con DDTP y 30 en el caso de CPE con APDC) y diferentes para cada elemento, lo cual resulta esperado, pues, el pH óptimo de extracción varía para cada analito, siendo el empleado en el método, un valor compromiso para la extracción multielemental. Además la constante de distribución entre la fase acuosa y la micelar, depende del carácter hidrofóbico del analito. El máximo factor de preconcentración que se puede alcanzar con la metodología de CPE, coincide numéricamente con la relación de fases.

Los resultados de FP y FE obtenidos indican que en la extracción CPE se obtiene mejor eficiencia de extracción para todos los elementos cuando se emplea APDC como agente acomplejante, además de que se presenta menor incertidumbre en la

separación del extracto. Por lo tanto, es la metodología que se comparará con la de extracción ácida y digestión ácida.

Limite de detección instrumental (LOD_i) y Límite de detección del método (LOD_m): Los límites de detección tanto metodológicos como instrumentales para los distintos métodos estudiados se muestran en la Tabla 17. Puede observarse, en la extracción por CPE, que los límites de detección instrumental presentan los valores más bajos, respecto a las otras metodologías. Sin embargo, al determinar los límites de detección metodológicos (LOD_m) la extracción ácida es la metodología que mostró los mejores valores de LOD_m , siendo éste un motivo para su escogencia como el método de tratamiento de muestra para los aceites en estudio.

Los LOD_m obtenidos para el Cd y el Cr en la extracción ácida resultaron alrededor de cuatro veces mejores que los alcanzados en CPE, y superaron hasta 60 veces a los obtenidos en el procedimiento de la digestión ácida, notándose para ésta última LOD_m bastante elevados para todos los elementos estudiados, lo cual, es esperado puesto que no es un procedimiento de preconcentración.

Tabla 17. Límites de detección para los distintos procedimientos de preparación de muestra

Analitos	LOD_i ($\mu\text{g L}^{-1}$)			LOD_m (ng g^{-1})		
	CPE APDC	Extracción ácida	Digestión ácida	CPE APDC	Extracción ácida	Digestión ácida
Cd	0,015	0,021	0,014	0,038	0,008	0,4
Cu	0,1	0,52	0,53	0,23	0,2	13
Cr	0,04	0,18	0,17	0,18	0,07	4
Ni	0,4	1,7	1,1	1,1	0,7	27
Pb	0,2	0,50	0,33	0,52	0,2	8

La Tabla 18 permite cotejar, para efectos comparativos, los límites de detección obtenidos mediante la metodología de extracción acida propuesta, respecto a los alcanzados por distintos autores y diferentes tratamientos de muestra en el estudio de aceites vegetales, empleando para ello distintas técnicas analíticas. Se muestran en negrilla los valores obtenidos en este trabajo.

Tabla 18. Comparación de los límites de detección obtenidos en extracción acida con los de la literatura para muestras de aceites vegetales

Técnica analítica	LOD (ng g ⁻¹)					Ref.
	Cd	Cu	Cr	Ni	Pb	
ICP-MS	0,121	0,053	0,094	0,025	0,0072	[37] ^a
	1,0	7,7	50	6	3,2	[40] ^b
ETAAS	0,06	2,15	1,30		0,85	[41] ^c
		1,3	6,8	14,9	6,6	[47] ^d
		< 5		8	25 - 50	[48] ^e
		< 1	< 1	< 1	< 1	[4] ^f
		< 4	< 1	< 5	< 1	[5] ^g
	0,008	0,2	0,07	0,7	0,2	**
ICP-AES	5	3	2,8	7,8		[36] ^h
		< 20		< 30	50	[48] ^e

** Correspondiente a este trabajo cuando se emplea la metodología de extracción acida; El tratamiento de muestra empleado fue: [37]^a dilución en kerosén ; [40]^b emulsión con triton X-100; [36]^h emulsión con triton X-100 y propanol agua; [47]^d Dilución con MIBK; [41]^c, [48]^e, [4]^f, [5]^g Digestión acida asistida con microondas.

Los LOD_m obtenidos en este trabajo, mediante la extracción acida y análisis en ETAAS, resultaron mejores en varios ordenes de magnitud que los obtenidos mediante diferentes metodologías de extracción y análisis, con la excepción de los LOD_m obtenidos para el Cu, Ni y Pb por Woods G. *et al.*,^[37] quienes aplicaron una dilución directa con kerosén y análisis por ICP-MS obteniendo para estos elementos LOD_m hasta 30 veces mejores, como en el caso del Pb. En la mayoría de los casos,

se lograron LOD_m (para la extracción ácida) mejores en un orden de magnitud, a los correspondientes en la literatura, con lo cual, se pone de manifiesto que la metodología propuesta ofrece entre sus ventajas, una elevada sensibilidad.

La Tabla 19 permite comparar los límites de detección metodológicos (LOD_m) obtenidos, así como los límites de cuantificación (LOQ_m), con la mínima concentración analizable para la metodología de extracción ácida, esta última obtenida a partir de la Figura 4, donde se estudió el porcentaje de recuperación metodológico ($\%R_m$) y su comportamiento en diferentes aceites comerciales. Se observa para los elementos Cd, Cu y Pb que la mínima concentración analizable corresponde a tres veces el LOQ_m , mientras que para el Cr se aprecia un valor de 2 veces el LOQ_m y para el Ni la concentración analizable responde a un valor aproximadamente igual al LOQ_m .

Tabla 19. Comparación de los límites de detección (LOD_m) y límites de cuantificación (LOQ) respecto a la mínima concentración analizable para los distintos analitos en la extracción ácida

Analito	LOD_m^* $ng\ g^{-1}$	LOQ $ng\ g^{-1}$	Mínima concentración analizable $ng\ g^{-1}$	Concentración del método**
Cd	0,008	0,03	0,08	2,67
Cu	0,20	0,67	2,00	2,99
Cr	0,07	0,23	0,4	1,74
Ni	0,70	2,33	0,86	0,86
Pb	0,2	0,67	2,00	2,99

* Límite de cuantificación del método ($10s_{bl} / m$); ** Corresponde a la relación entre la mínima concentración analizable respecto al límite de cuantificación (LOQ_m).

Porcentaje de Recuperación (%R): como no se disponen de materiales de referencia certificados para los distintos aceites comestibles analizados, la exactitud de los diferentes métodos se evaluó mediante la determinación del porcentaje de recuperación metodológico. En la Tabla 20 se muestran los porcentajes de recuperación metodológicos para los diversos métodos de análisis de muestra a comparar. Asimismo se señalan los porcentajes de recuperación instrumental determinados para la extracción acida y el procedimiento por CPE empleando APDC como agente acomplejante. Los porcentajes de recuperación metodológicos obtenidos fueron adecuados para la mayoría de los analitos, excepto para el Ni, en CPE, donde se presume una posible contaminación debido al valor tan elevado en el resultado.

Tabla 20. Porcentajes de recuperación metodológico (%R_m) e instrumental (%R_i) para los diferentes métodos

Analito	CPE APDC		Extracción acida		Digestión acida
	% R _m	%R _i	% R _i	% R _m	% R _m
Cd	81	76	86	94	98
Cu	88	79	89	102	117
Cr	84	80	100	94	83
Ni	845*	72	87	98	110
Pb	86	73	89	90	107

Los porcentajes de recuperación instrumental obtenidos para la extracción ácida, se encuentran entre 86 y 100 % para todos los analitos, lo cual indica que el comportamiento de los analitos en la matriz del extracto ácido es similar al de los patrones acuosos. En el caso de la extracción por CPE con APDC, el %R_i es menor que el 85% en todos los casos, lo cual indica que el análisis mediante curva de

calibración externa está afectada por la matriz en la que se encuentran los extractos. Aquí el cálculo del $\%R_i$ se ve afectado ya que la concentración $C_{m + spk}$ no refleja el verdadero valor.

En la digestión ácida no se mencionan los porcentajes de recuperación instrumental puesto que ésta metodología se estudió mediante curva de adición estándar, la cual puede considerarse una forma indirecta de estudio de recuperación.

En la Tabla 20 también se observa que los $\%R_m$ obtenidos para las tres metodologías caen, con pequeñas desviaciones, en el intervalo aceptado, lo cual indica que los analitos son extraídos cuantitativamente en los tres casos y que no son perdidos ni en el procedimiento de digestión del aceite ni durante el análisis.

4.2.2 Comparación de resultados obtenidos entre métodos.

Se comparó la concentración de los elementos Cd, Cu, Cr, Ni y Pb obtenida en dos aceites comestibles comerciales (Diana y Mazeite) mediante las tres metodologías de análisis. Las concentraciones obtenidas se señalan en la Tabla 21.

Como se observa en la Tabla 21, la metodología de digestión ácida no permitió determinar la mayoría de los elementos en ambos aceites, debido a la poca sensibilidad de la misma. Los valores de concentración obtenidos para el Ni y Pb en el aceite Diana y para el Cr en el aceite Mazeite no son confiables, dado la elevada imprecisión de los mismos, cuyos coeficientes de variación oscilan entre 8,5 y 70 % para el aceite Diana y 18 - 60% para el Mazeite, suponiéndose que son producto de contaminación durante el procedimiento, lo cual es avalado por los elevados valores de los blancos (Anexo 2). La presencia de contaminación no era esperada en esta metodología, dado su sencillez y la calidad de los reactivos empleados, por lo que se repitió el procedimiento, obteniéndose resultados comparables en reproducibilidad y contaminación de los blancos. Se considera que la fuente de contaminación provendría del H_2O_2 .

Tabla 21. Concentraciones* obtenidas en dos muestras de aceite mediante las tres metodologías estudiadas

Analito	Aceite Diana			Aceite Mazeite		
	Extracción CPE (ng g ⁻¹)	Extracción acida (ng g ⁻¹)	Digestión acida (ng g ⁻¹)	Extracción CPE (ng g ⁻¹)	Extracción acida (ng g ⁻¹)	Digestión acida (ng g ⁻¹)
Cd	≤ LOD _m	0,017 ± 0,002	≤ LOD _m	≤ LOD _m	≤ LOD _m	≤ LOD _m
Cu	25 ± 10	0,8 ± 0,1	≤ LOD _m	21,9 ± 2,3	0,30 ± 0,07	≤ LOD _m
Cr	≤ LOD _m	1,9 ± 0,2	≤ LOD _m	≤ LOD _m	≤ LOD _m	16 ± 14
Ni	301 ± 25	1,8 ± 0,1	46 ± 21	432 ± 23	0,8 ± 0,1	≤ LOD _m
Pb	≤ LOD _m	1,07 ± 0,02	46 ± 16	≤ LOD _m	0,5 ± 0,1	34 ± 8

* Expresada como el promedio ± desviación estándar para n ≥ 3; LOD_m: límite de detección del método.

La extracción por CPE también arrojó resultados poco confiables, ya que, en el caso de la determinación de Cr y Pb se obtuvieron valores en los blancos superiores a los obtenidos en las muestras, y para el Ni valores elevados, tanto en las muestras como en los blancos y %R_m superiores al 100% (Tabla 20), lo cual induce a considerar que la metodología es susceptible de una contaminación que puede afectar severamente los resultados. El elevado número de pasos a seguir, así como la diversidad de reactivos empleados, la necesidad de ajustar el pH durante el acomplejamiento y la incertidumbre en la separación del volumen exacto del extracto, serían responsables de la contaminación e irreproducibilidad obtenida en el análisis. Este comportamiento se ve reflejado en los coeficientes de varianza obtenidos, que oscilan desde 4,75 % para el Ni hasta 64,6 % para el Cr en el aceite Diana, y desde 3,5 % para el Ni hasta 81,4 % para el Cd (Anexo 3).

Los resultados obtenidos mediante la extracción ácida ponen de manifiesto que es una metodología alternativa adecuada para la determinación de metales ultra-traza como Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en matrices complejas como los aceites vegetales,

ofreciendo ciertas ventajas respecto a los otros procedimientos estudiados. En primer lugar, es una metodología sencilla, que permite realizar un elevado número de análisis en poco tiempo y minimiza el uso de disolventes y/o reactivos, por lo que se ve menos afectada por la contaminación, siendo éste, un parámetro decisivo en la exactitud del método. Por otro lado, el blanco de la muestra es el mismo blanco de la curva de calibración, permitiendo que las medidas en las muestras se obtengan directamente, eliminándose las dudas que puedan surgir. La reproducibilidad obtenida mediante la extracción ácida, apreciable en el Anexo 4, resultó en la mayoría de los casos apropiada, correspondiendo a valores que oscilan entre 1 y 10%, lo cual está dentro de lo esperado, teniendo en cuenta la manipulación de la muestra en la separación de fases. Además, los bajos LOD_m obtenidos para esta metodología, permiten la determinación de concentraciones a nivel de ultra-traza de los analitos en los aceites. Por estas razones se seleccionó esta metodología para el análisis de los metales pesados Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en los aceites comestibles comerciales venezolanos.

4.3. Análisis de aceites comestibles venezolanos mediante extracción ácida y detección simultánea mediante ETAAS

Los resultados obtenidos en la determinación de los metales para los diferentes aceites comerciales son recopilados en la Tabla 22. La metodología se aplicó a diversos tipos de aceites vegetales, tales como aceite vegetal, aceite de soja, aceite de girasol y aceite de maíz.

Como se observa, el Cd se encuentra en los niveles de concentración más bajos, observándose para la mayoría de los aceites de soja, girasol y maíz concentraciones tan pequeñas que no superan los LOD_m, siendo los aceites vegetales los que poseen los mayores valores. Las concentraciones obtenidas para el Cd se aproximan a las conseguidas por Mendil *et al.* ^[6] con 0,09 ng g⁻¹ y Benincasa *et al.* ^[8] con 0,088 ng g⁻¹ en aceite de oliva y maíz respectivamente, los cuales emplearon como tratamiento de muestra la digestión ácida asistida con

digestor de microonda, y resultaron bastante menores que las señaladas en la mayoría de los trabajos.

Tabla 22. Determinación de trazas metálicas* en aceites comestibles venezolanos por el método de extracción ácida y análisis por ETAAS

Tipo de aceite	Marca comercial	Cd (ng g ⁻¹)	Cu (ng g ⁻¹)	Cr (ng g ⁻¹)	Ni (ng g ⁻¹)	Pb (ng g ⁻¹)
Vegetal	Bonna	0,021 ± 0,002	0,88 ± 0,05	0,6 ± 0,1	1,40 ± 0,03	0,55 ± 0,07
	COPOSA	0,031 ± 0,002	0,4 ± 0,2	0,17 ± 0,02	3,1 ± 0,1	0,78 ± 0,03
	Diana	0,017 ± 0,002	0,8 ± 0,1	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,07 ± 0,02
	Santa Lucia	0,016 ± 0,004	≤ LODm	0,79 ± 0,08	3,2 ± 0,1	1,2 ± 0,3
	Vatel	0,053 ± 0,008	1,03 ± 0,08	0,41 ± 0,02	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2
Soja	Casa	≤ LODm	0,30 ± 0,01	≤ LODm	1,91 ± 0,03	0,48 ± 0,02
	Naturoil	≤ LODm	≤ LODm	0,11 ± 0,01	2,0 ± 0,1	0,5 ± 0,1
	Portumesa	0,04 ± 0,01	0,4 ± 0,1	0,40 ± 0,04	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,3
	Vatel	≤ LODm	0,56 ± 0,07	0,18 ± 0,02	1,69 ± 0,04	0,23 ± 0,01
Girasol	Portumesa	≤ LODm	0,8 ± 0,2	≤ LODm	1,7 ± 0,4	2,1 ± 0,6
Maíz	Mazeite	≤ LODm	0,30 ± 0,07	≤ LODm	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1

* Concentraciones promedio ± desviación estándar para n = 3.

Para el Cu, se obtuvieron las mayores concentraciones en el aceite vegetal Vatel, con $1,03 \pm 0,08 \text{ ng g}^{-1}$, valor comparable al obtenido por De Leonardis *et al.* ^[59], quienes emplearon el mismo procedimiento y técnica estudiada en este trabajo aplicada a los aceites de soja y de girasol obteniendo respectivamente 1,0 y 2,0 ppb y por Martín-Polvillo *et al.* ^[47], quienes trabajaron en aceite de girasol aplicando una dilución con MIBK y análisis por ETAAS y obtuvieron concentraciones inferiores a $1,3 \text{ ng g}^{-1}$. Sin embargo, las concentraciones de Cu obtenidas en este trabajo son menores que las obtenidas por Pehlivan *et al.* ^[9], quienes igualmente utilizaron la

extracción ácida para preparar la muestra e ICP-OES para el análisis, encontrando en aceite de maíz intervalos de concentración de $8,2 - 13,8 \text{ ng g}^{-1}$; $10,5 - 22,6 \text{ ng g}^{-1}$ en aceite de girasol y $27,3 \text{ ng g}^{-1}$ en aceite de soja. El valor máximo permitido para este elemento en aceites vegetales según las normativas venezolanas, así como para el Codex Alimentarius para los distintos aceites del tipo refinado están fijados en 100 ng g^{-1} , por lo que los aceites analizados cumplen plenamente los criterios de calidad para este analito.

Para el elemento Cr, los niveles encontrados en los distintos aceites analizados varían entre $\leq 0,07$ y $1,9 \text{ ng g}^{-1}$, siendo el aceite vegetal Diana el que posee la mayor concentración. Pehlivan *et al.* [9], obtuvieron para el aceite de soja valores afines a los obtenidos en este trabajo ($0,9 \text{ ng g}^{-1}$). De igual manera, Juranovic C. *et al.* [5], que emplearon la digestión ácida asistida con digestor de microonda y ETAAS en el análisis, encontraron en el aceite de soja y maíz valores inferiores a $1,0 \text{ ng g}^{-1}$. Para este analito, se encontró como límite máximo permitido el valor de 50 ng g^{-1} reflejado en el Código Alimentario Argentino, valor éste muy superior al encontrado en nuestros aceites.

Los valores para el Ni, se encontraron en el intervalo de $0,8$ y $3,2 \text{ ng g}^{-1}$, siendo los aceites vegetales Santa Lucia y Coposa los que detentan los mayores valores. Estos resultados son comparables a los alcanzados por otros autores como Pehlivan *et al.* [9], que consiguieron en el aceite de maíz un intervalo entre $0,2 - 1,3 \text{ ng g}^{-1}$; $0,7 - 4,5 \text{ ng g}^{-1}$ en el aceite de girasol y $1,3 \text{ ng g}^{-1}$ para el aceite de soja; y Woods G. *et al.* [37], quienes obtuvieron una concentración de $0,4 \text{ ng g}^{-1}$ en aceite de girasol luego de una dilución en kerosén y análisis por ICP-MS. La concentración de éste elemento no está regido por ninguna normativa nacional o internacional.

En el caso del Pb, el intervalo de concentraciones hallado se encuentra entre $0,4 - 2,1 \text{ ng g}^{-1}$, valores que coinciden con los encontrados por Pehlivan *et al.* [9], en el aceite de girasol, donde determinó valores tan pequeños como no detectables hasta $2,6 \text{ ng g}^{-1}$. Asimismo, Juranovic C. *et al.* [5] encontraron concentraciones menores a 1 ng g^{-1} para este analito en los aceites de soja y girasol y Woods G. *et al.* [37],

quienes hallaron valores de 0,55 y 0,11 ng g⁻¹ en los aceites de maíz y girasol respectivamente. Las normativas venezolanas, así como las recomendadas mundialmente por el Codex Alimentarius fijaron como límite máximo legal para este elemento una concentración de 100 ng g⁻¹ en aceites refinados, que como se puede observar nunca llega a aproximarse a éste valor para este trabajo.

Los resultados obtenidos para las concentraciones de los metales pesados Cd, Cu, Cr, Ni y Pb indican que los aceites comestibles comerciales venezolanos analizados cumplen las normas de calidad establecidas a nivel del contenido de estos metales.

V. CONCLUSIONES

El estudio comparativo realizado en este trabajo, entre las metodologías de extracción en el punto de niebla, extracción ácida y digestión ácida de aceites comestibles para la determinación de metales trazas por ETAAS permitió determinar que:

La digestión ácida no permite la cuantificación de la mayoría de los elementos estudiados, debido a los bajos límites de detección del método (varios órdenes por debajo de los obtenidos por extracción ácida y extracción por CPE). Asimismo es susceptible a la contaminación proveniente de los reactivos empleados para el ataque de la muestra, hecho que se observa en los elevados valores de los blancos y precisión.

Por otra parte, la metodología de extracción por CPE es sencilla pero laboriosa con excelentes límites de detección. Sin embargo, se ve severamente afectada por la contaminación, bien proveniente del ambiente y/o debido a la cantidad de pasos y reactivos que involucra. Asimismo, la separación de la fase micelar es, dependiendo del acolejante empleado, compleja, lo cual agrega posibles errores que afectan la reproducibilidad.

La metodología de extracción ácida resultó la opción idónea para la determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en aceites comestibles, puesto que es una metodología sencilla, que permite realizar un elevado número de extracciones en poco tiempo, y minimiza los posibles factores de contaminación debido al empleo de pocos reactivos. Esta metodología se caracterizó por presentar los mejores límites de detección para todos los analitos (LOD_m entre 1,5 y 4,75 veces mejor que los obtenidos por extracción por CPE) y una reproducibilidad superior a la obtenida con los otros métodos estudiados. La exactitud del método analítico, determinada mediante el estudio de recuperación efectuado en distintos aceites vegetales, estuvo entre 86% y 103%, a excepción del Cr para el cual se presentaron problemas de contaminación en algunos aceites. Por estas razones, esta metodología es la propuesta en este trabajo.

Aplicando la metodología propuesta, el análisis de una gran cantidad de aceites comerciales venezolanos de diferentes tipos y marcas mostró que todos ellos poseen niveles inferiores a los máximos permitidos en las normativas nacionales (que coinciden con los del Codex Internacional) y por lo tanto resultan adecuados para el consumo humano.

VI. RECOMENDACIONES

Comparar la metodología de extracción ácida aplicada en este trabajo para la determinación multielemental de Cd, Cu, Cr, Ni y Pb en el análisis de aceites comestibles mediante ETAAS respecto a la metodología descrita por las normativas venezolanas COVENIN establecidas para el estudio de metales contaminantes en aceites comestibles (Anexos 5 y 6).

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Khan H., Fida M., Mohammadzai I. U., Khan M., (2007), **Estimation of residual nickel and some heavy metals in vanaspati ghee**, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 54, 737 – 741.

<http://nr.stpi.org.tw/ejournal/ChiChemSociety/2007/EJ52-2007-737.pdf>

2. <http://portal.aniame.com/uploads/losaceitesvegetales.pdf>

3. <http://www.fao.org/docrep/T4660T/T4660T05.HTM>

4. Zeiner M., Steffan I., Juranovic Cindric I., (2005), **Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: A pilot study on the geographical characterization**, *Microchemical Journal*, 81, 171-176.

5. Juranovic Cindric I., Zeiner M., Steffan I., (2007), **Trace elemental characterization of edible oils by ICP-AES and GFAAS**, *Microchemical Journal*, 85, 136 – 139.

6. Mendil D., Dogan Uluözlü Ö., Tüzen M., Soylak M., (2009), **Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry**, *Journal of Hazardous Materials*, 165 , 724– 728.

7. Anthemidis A. N., Arvanitidis V., Stratis J. A., (2005), **On-line emulsion formation and multi-element analysis of edible oils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**, *Analytica Chimica Acta*, 537, 271 – 278.

8. Benincasa C., Lewis J., Perri E., Sindona G., Tagarelli A.,(2007), **Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis**, *Analytica Chimica Acta*, 585, 366 – 370.

9. Pehlivan E., Arslan G., Gode F., Altun T. and Özcan M. M., (2008), **Determination of some inorganic metals in edible vegetable oils inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES)**, *Grasas y Aceites*, 59 (3), 239 – 244.

10. <http://www.quimica-chemistry.com/MetalesPesados.ppt>

11. Gonzalez A., Cervera M. L., Armenta S., M. de la Guardia., (2009), **A review of non–chromatographic methods for speciation analysis**, *Analytica Chimica Acta*, 636, 129–157.

12. Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR
http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_toxfaqs.html

13. CODEX STAN 193-1995. Norma general del Codex para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos.
http://www.codexalimentarius.net/.../standards/17/CXS_193s.pdf

14. Report: **The determination of cadmium in oils and fats by direct graphite furnace atomic absorption spectrometry**, Results of collaborative studies and the standardized method, *Pure and Applied Chemistry*, 71 (2), 361 - 368 (1999)

15. Manzoori J., Karim-Nezhad G., (2004), **Development of a cloud point extraction and preconcentration method for Cd and Ni prior to flame atomic absorption spectrometric determination**, *Analytica Chimica Acta* 521, 173 –177.

16. Normas Covenin, (2006), **Aceite Comestible de Ajonjolí (sésamo)**, FONDONORMA 31:2006, (3ª Revisión).

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite Comestible de Ajonjolí (sésamo), FONDONORMA 31:1999, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

17. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 256, (2003), Aceite de Ajonjolí o Sésamo.

18. Código Alimentario Argentino.

<http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm>

19. Normativas alimentarias de Costa Rica RTCR 386,2004, Aceites vegetales especificados.

<http://www.mag.go.cr/Legislacion/2005/de-32243.pdf>

20. Norma del Codex para aceites vegetales especificados CODEX STAN – 210. (2005) http://www.codexalimentarius.net/download/standards/336/CXS_210s.pdf

21. Normas Covenin, (2006), **Aceite Comestible de Algodón**, FONDONORMA 0033:2006, (3ª Revisión). En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite Comestible de Ajonjolí (sésamo), FONDONORMA 0033:1999, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

22. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 257, (2003), Aceite de Algodón.

23. Normas Covenin, (2005), **Aceite Comestible de Girasol**, FONDONORMA 1272:2005, (3ª Revisión).

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite Comestible de Ajonjolí (sésamo), FONDONORMA 1272:1999, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

24. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 264, (2003), Aceite de Girasol.

25. Normas Covenin, (2008), **Aceite de Maíz Comestible**, FONDONORMA 0743:2008, (3ª Revisión).

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite de Maíz comestible, FONDONORMA: 0743:02, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

26. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 255, (2003), Aceite de Maíz.

27. Normas Covenin, (2008), **Aceite Comestible de maní**, FONDONORMA 0032:2006, (3ª Revisión).

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite de Maíz comestible, FONDONORMA: 0032:1999, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

28. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 261, (2003), Aceite de Maní.

29. Normas Covenin, (2005), **Aceite Comestible de Soja**, FONDONORMA 0744:2005, (3ª Revisión).

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión anterior de esta normativa, Norma Covenin, Aceite comestible de Soja, FONDONORMA: 0744:1999, (2ª Revisión).

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

30. Catalogo de Normas Técnicas Colombianas (NTC) 254, (2003), Aceite de Soja.

31. Normas Covenin, (2001), **Aceite de Oliva**, FONDONORMA 0742:2001, 4ª Revisión.

En la siguiente página Web puede ser encontrada la versión de esta normativa, Norma Covenin, Aceite de Oliva, FONDONORMA: 0742:01, 4ª Revisión.

<http://www.ultraforos.com/foro/e.books/56937-normas-covenin-peticion.html>

32. Catalogo de Norma UNE 2006 (España), AENOR (Asociación española de normalización y certificación), UNE 34601:2003, Aceite de oliva virgen extra.

33. Código Alimentario Argentino 535, 2006.

http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/Marco_Regulatorio/CAA/CAPITULO_VII.htm

[http://www.anmat.gov.ar/codigoa/CAPITULO_VII_Grasos\(actualiz11-06\).pdf](http://www.anmat.gov.ar/codigoa/CAPITULO_VII_Grasos(actualiz11-06).pdf)

34. Norma del Codex para aceites de oliva CODEX STAN – 33. (2009)

http://www.codexalimentarius.net/download/standards/88/CXS_033s.pdf

35. Matos Reyes M. N., Campos R. C., (2006), **Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry**, *Talanta*, 70, 929 – 932.

36. De Souza R., Mathias M., P. da Silveira C., Aucélio R. Q., (2005), **Inductively coupled plasma optical emission spectrometry for trace multi-element determination in vegetable oils, margarine and butter after stabilization with propan-1-ol and water**, *Spectrochimica Acta*, 60 (B), 711 – 715.

37. Woods G., (2008), **Direct Measurement of Trace Metals in Edible Oils by 7500cx ICP-MS with Octopole Reaction System**, *Agilent Technologies* [.www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

38. Song Chen S., Yu Lee B., Chen Cheng C. and Shou Chou S., (2001), **Determination of Arsenic in Edible Fast and Oils by Focused Microwave Digestion and Atomic Fluorescence Spectrometer**, *Journal of Food and Drug Analysis*, 9(2), 121 – 125.

39. Song Chen S., Chen Cheng C. and Shou Chou S., (2003), **Determination of Arsenic in Edible Oils by Direct Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry**, *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(3), 214 – 219.
40. Castillo J. R., Jiménez M. S., Ebdon L., (1999), **Semiquantitative simultaneous determination of metals in olive oil using direct emulsion nebulization**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14, 1515 – 1518.
41. Bakkali K., Ballesteros E., Souhail B. y Ramos Martos N., (2009), **Determinación de trazas metálicas en aceites vegetales de España y Marruecos mediante espectroscopía de absorción con cámara de grafito después de la digestión en horno de microondas**, *Grasas y Aceites*, 60 (5), 490 – 497.
42. Karadjova I., Zachariadis G., Boskou G., Stratis J., (1998), **Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium, cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel and lead in olive oil**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13, 201 – 204.
43. Dugo G., La Pera L., Loredana La Torre G., Giuffrida D., (2004), **Determination of Cd (II), Cu (II), Pb (II), and Zn (II) content in comercial vegetable oils using derivative potentiometric stripping analysis**, *Food Chemistry*, 87, 639 – 645.
44. Ansari R., Gul Kazi T., Khan Jamali M., Balal Arain M., Dowood Wagan M., Jalbani N., Imran Afridi H., Qadir Shah A., (2009), **Variation in accumulation of heavy metals in different verities of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique**, *Food Chemistry* , 115, 318 – 323.
45. Huang S. J. and Jiang S. J., (2001), **Determination of Zn, Cd and Pb in vegetable oil by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16, 664 – 668.

46. Van Dalen G., (1996), **Determination of Cadmium in Edible Oils and Fats by Direct Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 1087 – 1092.
47. Martin-Polvillo M., Albi T., Guinda A., (1994), **Determination of Trace Elements in Edible Vegetable Oils by Atomic Absorption Spectrophotometry**, *J. Am Oil Chem. Soc.*, 71 (4), 347 – 353.
48. Allen L. B., Siitonen P. H., Thompson H. C. Jr., (1998), **Determination of Copper, Lead, and Nickel in Edible Oils by Plasma and Furnace Atomic Spectroscopies**, *J. Am Oil Chem. Soc.*, 75 (4), 477 –481.
49. Houngh-Jen Sun, (1989), **A Rapid Method for the Determination of Trace Cu and Fe in Edible Salad Oil by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy**, *J. Am Oil Chem. Soc.*, 66 (4), 549 – 552.
50. Garrido M. D., Frías I., Díaz C., Hardisson A., (1994), **Concentrations of metals in vegetable edible oils**, *Food Chemistry*, 50, 237– 243.
51. Song Chen S., Mei Chen C., Chen Cheng C., Shou Chou S., (1999), **Determination of Copper in Edible Oils by Direct Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry**, *Journal of Food and Drug Analysis*, 7 (3), 207 – 214.
52. Nash A. M., Mounts T. L. and Kwolek W. F., (1983), **Determination of Ultratrace Metals in Hydrogenated Vegetable Oils and Fats**, *J. Am Oil Chem. Soc.*, 60 (4), 811 – 814.
53. Van Dalen G., de Galan L., (1994), **Direct determination of particulate elements in edible oils and fats using an ultrasonic slurry sampler with graphite furnace atomic absorption spectrometry**, *Spectrochimica Acta*, 49 (B), Nos 12 – 14, 1689 – 1693.

- 54.** Hosny I., (1991), **Determination of Lead in Frying Oils by Direct Current Plasma Atomic Emission Spectrometry**, *J. Am. Oil Chem. Soc.* , 68 (9), 678 – 679.
- 55.** Skoog, Holler, Nieman, Principios de análisis instrumental, Quinta edición, Editorial McGraw-Hill Interamericana de España, 2000.
- 56.** Hussain Reddy K., Prasad N. B. L., Sreenivasulu Reddy T., (2003), **Analytical properties of 1-phenyl-1,2-propanedione-2-oxime thiosemicarbazone: simultaneous spectrophotometric determination of copper (II) and nickel (II) in edible oils and seeds**, *Talanta*, 59, 425 – 433.
- 57.** Galeano Díaz T., Guiberteau A., López Soto M. D., Ortiz J. M., (2006), **Determination of copper with 5, 5-dimethylcyclohexane-1, 2, 3-trione 1,2-dioxime 3-thiosemicarbazone in olive oils by adsorptive stripping square wave voltammetry**, *Food Chemistry*, 96, 156 – 162.
- 58.** Bati B. and Cesur H., (2002), **Determination of Copper in Edible Oils by Atomic Absorption Spectrometry after Lead Piperazinedithiocarbamate Solid-Phase Extraction and Potassium Cyanide Back-Extraction**, *Analytical Sciences*, 18, 1273 – 1274.
- 59.** De Leonardis A., Macciola V., De Felipe M., (2000), **Copper and iron determination in edible vegetable oils by graphite furnace atomic absorption spectrometry after extraction with diluted nitric acid**, *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 371 – 375.
- 60.** Y. A. Mehtap., Efend Glu., Bati B., (2008), **Solid Phase Extraction of Cadmium in Edible Oils Using Zinc Piperazinedithiocarbamate and Its Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry**, *Turk J. Chem.*, 32, 431 – 440.

61. Abbasi S., Allahyari M., Taherimaslak Z., (2009), **New Determination of Lead in Edible Oil and Water samples by High Selective Adsorptive Stripping Voltammetry with SPADNS**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 4, 602 – 613.
62. Alzualde Z., (2007), **Estudio de la preconcentración mediante extracción en el punto de niebla (Cloud Point Extraction, CPE) y análisis por métodos espectrométricos atómicos de los elementos de interés en aceite comestible**, *Tesis Especial de Grado*, UCV, Facultad de Ciencias, Venezuela.
63. Stalikas C. D., (2002), **Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis**, *Trends in Analytical Chemistry*, 21 (5), 343 – 355.
64. Paleologos E. K., Giokas D. L., Karayannis M. I., (2005), **Micelle-mediated separation and cloud-point extraction**, *Trends in Analytical Chemistry*, 24 (5), 426 – 436.
65. Quina F. H. and Hinze W. L., (1999), **Surfactant-Mediated Cloud Point Extractions: An Environmentally Benign Alternative Separation Approach**, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 38, 4150 – 4168.
66. Melo Coelho L., Zezzi Arruda M. A., (2005), **Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry**, *Spectrochimica Acta Part B*, 60, 743 – 748.
67. Maranhão T., Martendal E., Borges D. L. G., Carasek E., Welz B., Curtius A. J., (2007), **Cloud point extraction for the determination of lead and cadmium in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with multivariate optimization using Box-Behnken design**, *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1019 – 1027.

68. Maranhão T., Borges D. L., Da Veiga M. A. M. S., Curtius A. J., (2005), **Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead in biological samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry**, *Spectrochimica Acta Part B*, 60, 667 – 672.
69. Dittert I. M., Maranhão T. A., Borges D. L., Vieira M. A., Welz B., Curtius A. J., (2007), **Determination of mercury in biological samples by cold vapor atomic absorption spectrometry following extraction with salt-induced phase separation**, *Talanta*, 72, 1786 – 1790.
70. Giokas D. L., Paleologos E. K., Karayannis M. I., (2005), **Optimization of a multi-elemental preconcentration procedure for the monitoring survey of dissolved metal species in natural waters**, *Analytica Chimica Acta*, 537, 249–257.
71. Donati G. L., Pharr K. E., Calloway C. P. Jr., (2008), **Determination of Cd in urine by cloud point extraction – tungsten coil atomic absorption spectrometry**, *Talanta*, 76, 1252–1255.
72. Wu P., Zhang Y., Lv Y., Hou X., (2006), **Cloud point extraction- thermospray flame quartz furnace atomic absorption spectrometry for determination of ultratrace cadmium in water and urine**, *Spectrochimica Acta Part B*, 61, 1310 – 1314.
73. Giokas D. L., Paleologos E. K., Tzouwara-Karayanni S. M. and Karayannis M. I., (2001), **Single-sample cloud point determination of iron, cobalt and nickel by flow injection analysis flame atomic absorption spectrometry- application to real samples and certified reference materials**, *J. Anal. At. Spectrom*, 16, 521– 526.
74. Silva M. F., Cerutti E. S. and Martínez L. D., (2006), **Coupling Cloud Point Extraction to Instrumental Detection Systems for Metal Analysis**, *Microchimica Acta*, 155, 349 – 364.

75. Cargill de Venezuela,

<http://www.cargill.com.ve/default.asp?caso=10&idrev=31&idsec=299&idedi=32>

76. Coposa

<http://www.coposa.com/acerca.htm>

77. Empresas Polar

<http://www.empresas-polar.com/marca-alimentos.php>

78. Empresas Diana

<http://www.empresasdiana.com/quienes/>

<http://www.empresasdiana.com/>

79. Oleaginosas industriales OLEICA C.A.

<http://www.oleica.com.ve/portal/>

80. Corporación Agropecuaria Integrada CAICA, C.A. <http://www.vtv.gov.ve/noticias-nacionales/35584>

81. http://www.inia.gob.ve/index.php?option=com_content&task=view&id=1023&Itemid=145

82. http://www.inia.gob.ve/index.php?option=com_content&task=view&id=1108&Itemid=174

83. <http://www.analitica.com/va/sintesis/nacionales/1959032.asp>

84. Meeravali N. N., Jiang S., (2009), **A novel cloud point extraction approach using cationic surfactant for the separation and pre-concentration of chromium species in natural water prior to ICP-DRC-MS determination**, *Talanta*, 80, volumen 1, 173 -178.

85. Meeravali N. N., Reddy M. A., Kumar S. J., (2007), **Cloud point extraction of trace metals from seawater and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry with iridium permanent modifier**, *Analytical sciences*, 3, volumen 23, 351 – 356.

86. Gallindo B., Mesquita Silva da Veiga, Azzolin F., Welz B., Curtius A. J., (2003), **Cloud point extraction for the determination of Cd, Pb and Pd in blood by electrothermal atomic absorption spectrometry, using Ir or Ru as permanent modifiers**, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, 501 – 507.

87. Giokas D. L., Antelo J., Paleólogos E. K., Arce F., Karayannis M., (2002), **Copper fractionation with dissolved organic matter in natural Waters and wastewater- a mixed micelle mediated methodology (cloud point extraction) employing flame atomic absorption spectrometry**, *J. Environ. Monit.*, 4, 505-510.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1- Aplicaciones de *Cloud Point Extraction* (CPE) con APDC y DDTP como agentes acomplejantes para los analitos estudiados.

Analito	Técnica	Tipo de muestra	Surfactante	Acomplejante	FE	FP	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref.
Cd	WCAAS	Orina	Triton X-114	APDC	NR	15	0,005	[71]
	TS-FFAAS	Agua de río y orina.	Triton X-114	APDC	13	NR	0,04	[72]
	FAAS	Agua: ecosistemas naturales	Triton X-114	APDC	NR	NR	NR	[70]
	ETAAS	Orina	Triton X-114	DDTP	16	NR	0,002	[67]
	ETAAS	Muestras biológicas	Triton X-114	DDTP	129	NR	6*	[68]
	ETAAS	Muestras biológicas	Triton X-114	DDTP	71	NR	0,02	[86]
	FAAS	Agua mineral, soluciones fisiológicas y tabaco	Triton X-114	DDTP	NR	NR	0,9	[66]
Cu	ETAAS	Agua de mar	Triton X-114	APDC	NR	200	0,006	[85]
	FAAS	Agua: ecosistemas naturales	Triton X-114	APDC	NR	NR	NR	[70]
	FAAS	Aguas naturales	Triton X-100 / Triton X-45	APDC	~ 1	50	8,5	[87]
Cr	ICP-DRC-MS	Aguas naturales	Triton X-114	APDC	NR	10	0,025	[84]
	ETAAS	Agua de mar	Triton X-114	APDC	NR	200	0,003	[85]
	FAAS	Agua: ecosistemas naturales	Triton X-114	APDC	NR	NR	NR	[70]
Ni	ETAAS	Agua de mar	Triton X-114	APDC	NR	200	0,009	[85]
	FAAS	Agua de río, agua de mar y aguas naturales	Triton X-114	APDC	~ 1	20	11	[73]
Pb	ETAAS	Agua de mar	Triton X-114	APDC	NR	200	0,01	[85]
	ETAAS	Muestras biológicas	Triton X-114	DDTP	34	NR	0,08	[86]
	ETAAS	Orina	Triton X-114	DDTP	16	NR	0,04	[67]
	ETAAS	Muestras biológicas	Triton X-114	DDTP	18	NR	40*	[68]

* Corresponde a ng g^{-1}

ANEXO 2 - Determinación de trazas metálicas* en aceites vegetales mediante la digestión ácida.

Tipo de Aceite	Elemento	Digestión 1	Digestión 2	Digestión 3	Promedios de las digestiones	**Desvest de las digestiones	***CV	Blanco 1	Blanco 2	Promedios de los blancos	**Desvest de los blancos	***CV	Conc. Final ^[a]
Aceite vegetal Diana	Cd	1,50	0,74	2,24	1,49	0,75	50,12	0,49	2,45	1,47	1,39	94,28	<LOD _m
	Cu	22,69	73,09	25,88	40,56	28,22	69,59	45,34	72,78	59,06	19,41	32,86	*<LOD _m
	Cr	59,35	67,64	69,94	65,64	5,57	8,48	58,08	64,70	61,39	4,68	7,62	4,26
	Ni	60,10	101,09	76,66	79,28	20,62	26,01	26,22	41,17	33,70	10,57	31,37	45,59
	Pb	40,15	72,10	52,02	54,76	16,15	29,50	-8,09	25,24	8,58	23,57	274,76	46,18
Aceite de maíz Mazeite	Cd	0,51	2,19	1,48	1,40	0,84	60,28	0,49	2,45	1,47	1,39	94,28	*<LOD _m
	Cu	40,18	53,04	37,04	43,42	8,48	19,53	45,34	72,78	59,06	19,41	32,86	*<LOD _m
	Cr	74,55	92,94	65,56	77,68	13,96	17,97	58,08	64,70	61,39	4,68	7,62	16,30
	Ni	28,74	53,53	57,41	46,56	15,56	33,41	26,22	41,17	33,70	10,57	31,37	<LOD _m
	Pb	36,99	51,09	39,63	42,57	7,50	17,61	-8,09	25,24	8,58	23,57	274,76	34,00

* Concentraciones obtenidas en ng g⁻¹; **Desvest: Desviación estándar; ***CV: coeficiente de varianza; ^[a] Concentración final: corresponde a la sustracción de los promedios de la digestión y del blanco para cada analito. Los valores <LOD_m corresponden a valores inferiores al límite de detección metodológico (LOD_m) para ese elemento; Los valores que presentan el símbolo *<LOD_m en negrita corresponden a valores negativos.

ANEXO 3 - Concentraciones obtenidas* para los distintos aceites estudiados siguiendo la metodología de extracción por CPE con APDC

Tipo de Aceite	Elemento	CPE 1	CPE 2	CPE 3	CPE 4	CPE 5	Promedios de CPE	**Desvest de CPE	***CV	Blanco 1	Blanco 2	Blanco 3	Promedios de los blancos	**Desvest de los blancos	***CV	Conc. Final ^[a]
Aceite vegetal Diana	Cd	-0,70	-0,91	-0,94	-0,72	-0,21	-0,69	0,29	42,13	-1,14	-0,91	–	-1,02	0,17	16,11	*<LOD_m
	Cu	25,36	15,61	28,51	–	–	27,44	10,17	37,07	4,86	-0,44	–	2,21	3,75	169,71	25,24
	Cr	15,57	–	21,22	12,23	–	16,34	10,56	64,61	20,20	24,33	–	22,27	2,92	13,12	*<LOD_m
	Ni	520,29	565,31	534,80	506,39	–	531,70	25,23	4,75	97,09	363,73	–	230,41	188,54	81,83	301,29
	Pb	2,08	4,00	2,96	3,17	–	3,05	0,79	25,82	4,13	12,84	–	8,49	6,16	72,59	*<LOD_m
Aceite de maíz Mazeite	Cd	0,31	0,10	0,39	0,31	0,03	0,19	0,16	81,41	0,47	1,04	0,21	0,57	0,43	74,41	*<LOD_m
	Cu	40,04	45,54	41,36	41,52	39,66	41,63	2,34	5,61	15,11	13,57	30,41	19,69	9,31	47,27	21,93
	Cr	29,35	30,02	34,61	37,13	29,76	32,17	3,50	10,88	33,66	38,96	46,69	39,77	6,55	16,48	*<LOD_m
	Ni	629,96	663,34	688,62	663,74	684,27	665,99	23,22	3,49	255,32	179,96	267,85	234,38	47,54	20,28	431,61
	Pb	11,54	11,33	–	12,31	13,04	12,06	0,78	6,50	36,93	23,65	23,89	28,16	7,60	26,99	*<LOD_m

* Concentraciones obtenidas en ng g⁻¹; **Desvest: Desviación estándar; ***CV: coeficiente de varianza; ^[a] Concentración final: corresponde a la sustracción de los promedios de la digestión y del blanco para cada analito; Los valores que presentan el símbolo ***<LOD_m** en negrita corresponden a valores negativos.

ANEXO 4 - Concentración de metales* en aceites comestibles comerciales venezolanos mediante extracción ácida y análisis por ETAAS

Tipo de Aceite	Marca comercial	Elemento	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3	Promedios	**Desvest	***CV
Vegetal	Bonna	Cd	0,020	0,020	0,024	0,021	0,002	10,9
		Cu	0,82	0,91	0,90	0,88	0,05	5,4
		Cr	0,44	0,66	0,69	0,60	0,13	22,5
		Ni	1,44	1,38	1,38	1,40	0,03	2,2
		Pb	0,53	0,50	0,63	0,55	0,07	12,2
	Coposa	Cd	0,03	0,03	0,03	0,031	0,002	7,5
		Cu	0,61	0,18	0,25	0,35	0,23	66,0
		Cr	0,16	0,19	0,16	0,17	0,02	11,1
		Ni	3,01	3,10	2,96	3,03	0,07	2,3
		Pb	0,76	0,80	0,75	0,77	0,028	3,7
	Diana	Cd	0,020	0,016	0,016	0,017	0,002	13,3
		Cu	0,77	0,62	0,85	0,75	0,12	15,9
		Cr	1,78	2,14	1,74	1,89	0,22	11,7
		Ni	1,82	1,66	1,91	1,79	0,13	7,1
		Pb	1,04	1,08	1,08	1,07	0,02	1,9
	Santa Lucia	Cd	0,020	0,012	0,016	0,016	0,004	25,1
		Cu	0,19	0,19	0,20	0,19	0,01	4,2
		Cr	0,72	0,88	0,78	0,79	0,08	10,1
		Ni	3,23	3,32	3,07	3,21	0,13	3,9
		Pb	1,07	1,07	1,53	1,22	0,26	21,4
Vatel	Cd	0,06	0,04	0,06	0,053	0,008	15,6	
	Cu	1,04	0,95	1,10	1,03	0,08	7,5	
	Cr	0,40	0,43	0,42	0,42	0,01	3,4	
	Ni	1,44	1,20	1,51	1,38	0,16	11,5	
	Pb	1,01	1,16	1,45	1,21	0,22	18,6	

* Concentraciones obtenidas en ng g⁻¹; **Desvest: Desviación estándar; ***CV: coeficiente de varianza; Los valores en negrita para la concentración final corresponden a valores inferiores al límite de detección metodológico (LOD_m) para ese elemento

ANEXO 4 - (Continuación) Concentración de metales* en aceites comestibles comerciales venezolanos mediante extracción ácida y análisis por ETAAS

Tipo de Aceite	Marca comercial	Elemento	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3	Promedios	**Desvest	***CV
Soja	Casa	Cd	0,008	0,008	0,008	0,008	0,00001	0,2
		Cu	0,30	0,30	0,29	0,30	0,01	2,1
		Cr	0,048	0,056	0,044	0,049	0,006	12,2
		Ni	1,91	1,95	1,89	1,91	0,03	1,6
		Pb	0,48	0,46	0,50	0,48	0,02	3,7
	Naturoid	Cd	0,004	0,008	0,004	0,005	0,002	43,4
		Cu	0,21	0,008	0,004	0,07	0,12	159,1
		Cr	0,11	0,12	0,10	0,11	0,01	11,2
		Ni	2,09	1,90	1,91	1,97	0,10	5,3
		Pb	0,34	0,53	0,52	0,46	0,11	23,3
	Portumesa	Cd	0,03	0,04	0,05	0,04	0,01	31,5
		Cu	0,30	0,25	0,51	0,35	0,13	38,1
		Cr	0,40	0,44	0,35	0,40	0,04	10,7
		Ni	1,10	1,43	1,49	1,34	0,21	15,6
		Pb	0,43	0,99	1,00	0,81	0,33	40,8
	Vatel	Cd	-0,004	-0,008	-0,004	*<LOD_m	0,002	43,2
		Cu	0,60	0,60	0,48	0,56	0,07	12,6
		Cr	0,16	0,20	0,18	0,18	0,02	9,8
		Ni	1,68	1,65	1,74	1,69	0,04	2,6
		Pb	0,25	0,23	0,22	0,23	0,01	6,1
Girasol	Portumesa	Cd	0,100	0,064	0,076	0,080	0,018	22,9
		Cu	0,86	1,14	1,27	0,82	0,21	25,7
		Cr	0,08	0,01	0,06	0,05	0,04	71,7
		Ni	2,14	1,55	1,43	1,70	0,38	22,2
		Pb	2,76	1,71	1,82	2,10	0,58	27,5
Maíz	Mazeite	Cd	-0,004	-0,008	-0,004	*<LOD_m	0,002	43,4
		Cu	0,24	0,29	0,38	0,30	0,07	23,7
		Cr	0,032	0,008	0,024	0,021	0,012	57,3
		Ni	0,61	0,81	0,81	0,75	0,12	15,7
		Pb	0,74	0,55	0,61	0,47	0,10	20,2

* Concentraciones obtenidas en ng g⁻¹; **Desvest: Desviación estándar; ***CV: coeficiente de varianza. Los valores en negrita para la concentración final corresponden a valores inferiores al límite de detección metodológico (LOD_m) para ese elemento; Los valores que presentan el símbolo ***<LOD_m** en negrita corresponden a valores negativos.

ANEXO 5 - Norma venezolana COVENIN 635: 1997 (2^{da} Revisión)**Aceites y grasas vegetales.****Preparación de la muestra para análisis.****Mezcla y filtrado**

- Muestra líquida, clara y sin sedimento:
Homogeneizar la muestra volteando el recipiente varias veces.
- Muestra líquida, turbia o con sedimento:
Para la determinación de la humedad y materia volátil y de impurezas insolubles en petróleo liviano, se voltea repetidamente el recipiente que contiene la muestra hasta que el sedimento se separe completamente de las paredes del mismo y se distribuya uniformemente en la masa del aceite.
Para todas las demás determinaciones, colocar el recipiente con la muestra de la estufa a 50°C, homogeneizar y finalmente filtrar dentro de la estufa mantenida a 50°C. El filtrado debe ser suficientemente claro.
- Muestra sólida:
 - a. Derretir la muestra en la estufa, calentando a 10°C por encima del punto de fusión de la grasa en particular.
 - b. Homogeneizar y filtrar.

Secado

- Para determinaciones donde los resultados pueden estar afectados por la posible presencia de humedad en el aceite o grasa a ser analizado, secar la muestra previamente.
 - a. Mantener la muestra completamente homogénea en la estufa a 50°C.
 - b. Añadir sulfato de sodio anhidro en proporción de 1 a 2 y por 10 g de aceite o grasa.
 - c. Agitar vigorosamente y se filtra (en la estufa, si la grasa o aceite solidifica al enfriar).

ANEXO 6 - Norma venezolana COVENIN 708: 2004 (3^{ra} Revisión)**Aceites y grasas vegetales.****Determinación del contenido de metales por absorción atómica.**

Esta norma aplica para la determinación de los siguientes metales: calcio, cobre, hierro, magnesio, níquel, plomo, zinc.

1. Preparar la muestra según la normativa COVENIN 635:1997.
2. Preparación de la curva patrón: Preparar la curva patrón del metal que se va a determinar a partir de una solución patrón del mismo metal, con las concentraciones que recomienda el manual de operación del equipo o de técnicas de análisis suministradas por el proveedor del equipo. (Debe prepararse una curva de calibración para cada metal que se requiera determinar).
3. Pesar 25 g de muestra en capsula de porcelana.
4. Colocar en la plancha de calentamiento e ir aumentando gradualmente la temperatura de la plancha hasta la carbonización completa de la muestra. (Evitar un sobrecalentamiento de la muestra, lo cual conlleva a posibilidades de derrame).
5. Colocar la muestra en la mufla, comenzar en 200°C e ir aumentando en forma gradual hasta 500°C, mantener a cuatro horas.
6. Sacar la capsula de la mufla, colocar 2 ml de ácido clorhídrico concentrado, calentar en baño de agua (dentro de la campana) hasta evaporación completa.
7. Adicionar 2 ml de ácido nítrico concentrado, colocar en baño de agua y hervir por un minuto.
8. Transferir la muestra a un balón de 25 ml lavando con la menor cantidad de agua desionizada o destilada posible y llevar a enrase. (Se puede utilizar 10 ml de ácido sulfúrico al 5% en vez de los ácidos nítrico y clorhídrico y luego calentar por espacio de 30 minutos).
9. Proceder a medir la concentración del metal en el equipo de absorción atómica de acuerdo a las condiciones operativas indicadas en el manual.