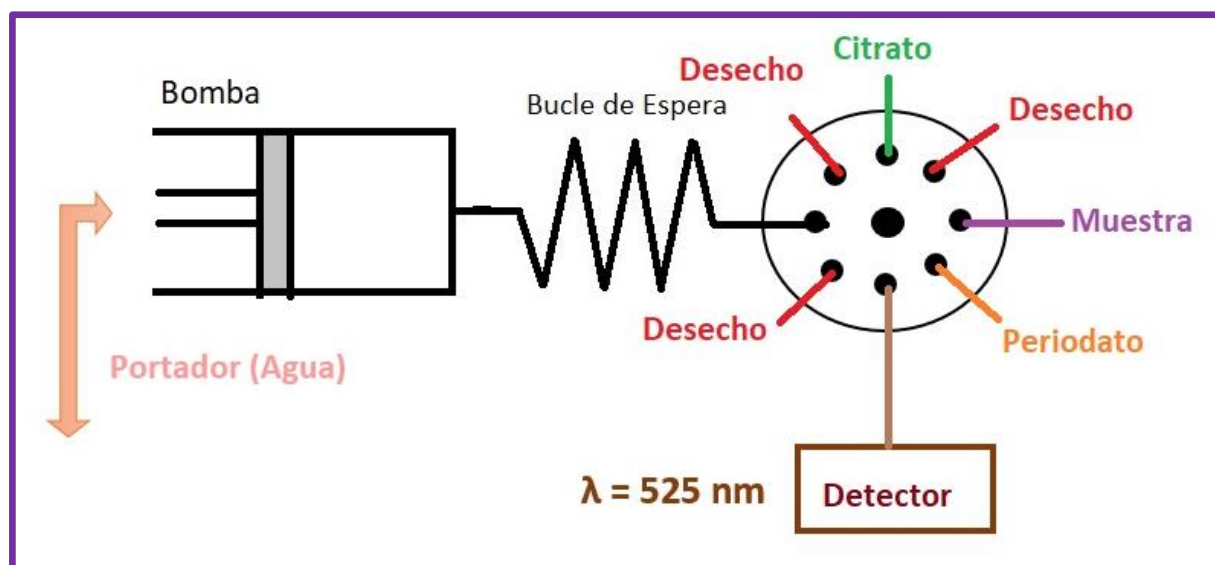


Aplicación de análisis por inyección secuencial en la determinación de manganeso en vino de Baja California

Application of analysis by sequential injection in the determination of manganese in wine from Baja California



Fuente: Elaboración propia

Germán Adán Sánchez-Gallegos, Eugenia Gabriela Carrillo-Cedillo*,
María del Pilar Haro-Vázquez

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería
Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional
C.P 22390, Tijuana B.C. México.

*Correspondencia para autor: Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo
Universidad Autónoma de Baja California
Correo electrónico: gaby@uabc.edu.mx

Resumen

El diseño factorial de Box-Behnken se utilizó para determinar el manganeso mediante análisis por inyección secuencial en diferentes tipos de vino de la región de Baja California, este metal forma complejos estables con aminoácidos y polifenoles. Esta determinación es importante porque los procesos de oxidación del vino dependen de las concentraciones de hierro, cobre y manganeso. La cuantificación espectrofotométrica involucra la oxidación del ion Mn^{+2} a ion $[MnO_4]^{-1}$ en presencia del ion $[IO_4]^{-1}$ en un medio de citratos. La coloración violeta propia de este ion es medida en la región visible a una longitud de onda de 525 nm (Mehlig, 1939). Los factores estudiados para el método de análisis por inyección secuencial fueron: Factor A: Volumen de citrato (μL), Factor B: Volumen de muestra (μL), Factor C: Volumen de periodato (μL) y Factor D: Caudal en rpm.

Palabras clave: análisis por inyección secuencial, manganeso, vinos, diseño factorial Box-Behnken.

Abstract

Box-Behnken's factorial design was used to determine manganese by sequential injection analysis in different types of wine from the Baja California region, this metal forms stable complexes with amino acids and polyphenols. This determination is important because the oxidation processes of the wine depend on the concentrations of iron, copper and manganese. The spectrophotometric quantification involves the oxidation of the Mn^{+2} ion to the $[MnO_4]^{-1}$ ion in the presence of the $[IO_4]^{-1}$ ion in a citrate medium. The violet coloration of this ion is measured in the visible region at a wavelength of 525 nm (Mehlig, 1939). The factors studied for the sequential injection analysis method were: Factor A: Volume of citrate (μL), Factor B: Volume of sample (μL), Factor C: Volume of periodate (μL) and Factor D: Flow rate in rpm.

Key words: sequential injection analysis, manganese, wines, Box-Behnken Factorial Design.

Introducción

El vino se obtiene del jugo de uva recién recolectada por medio de una fermentación de azúcares presentes en las uvas para ser una bebida alcohólica. El vino es una matriz compleja y contiene una concentración baja de elementos minerales (Pérez-Álvarez y col., 2019), polifenoles, ácidos orgánicos y azúcares entre otros compuestos. Los investigadores tienen un gran interés en el desarrollo y aplicación de metodologías para el análisis de estos diversos analitos en vinos debido a esta complejidad (Farias y col., 2020). La condición de los metales/metaloideos en el vino se ve afectado por los factores típicos que comprenden la composición del suelo específica del lugar, los requisitos nutricionales y la absorción de minerales por las plantas de uva, así como algunas prácticas agrícolas y los aditivos utilizados durante la elaboración y maduración del vino (Espinoza y col., 2020).

A menudo se utiliza la composición mineral de un vino para discriminar su origen geográfico porque la composición mineral refleja potencialmente su origen en el viñedo del que se deriva el vino. Se considera el Valle de Guadalupe en Baja California, México, como una región vitivinícola de alto prestigio y reconocimiento a nivel mundial. Se ha determinado en diferentes estudios de Hideaki Shimizu la concentración de 18 minerales en el vino (Li, B, Na, Mg, Si, P, S, K, Ca, Mn, Co, Ni, Ga, Rb, Sr, Mo, Ba y Pb) (Shimizu y col., 2020).

El manganeso (Mn) es un microelemento esencial para el ser humano, pero debe evitarse su ingesta excesiva debido a su efecto nocivo (Yhung y col., 2019). El manganeso es muy importante en la industria vinícola, considerando la relevancia de los metales en la calidad y seguridad alimentaria (Drava y Minganti, 2019), ya que la deficiencia de manganeso ocurre a menudo en suelos alcalinos donde se cosecha la uva. Los colores amarillos del tejido foliar causado por la falta de clorofila entre las nervaduras de las hojas jóvenes es el síntoma más evidente de una deficiencia grave de Mn en las plantas de uva, particularmente es muy sensible a este mineral. La aplicación de Mn tiene efectos sobre los índices fisicoquímicos del vino, como en los azúcares solubles totales, ácidos, el peso de la baya, así como la acumulación de compuestos fenólicos. También se ha encontrado una estrecha relación entre el contenido de Mn en el suelo y el contenido de catequinas en las uvas de vinificación (Chen y col., 2020).

Existen metodologías alternativas para cuantificar estos minerales, como la espectroscopia de infrarrojo cercano para el análisis de elementos en el vino, su cuantificación se basa principalmente en técnicas la espectroscopia de emisión atómica (Bodart y col., 2020) se usa comúnmente para determinar los metales en las bebidas alcohólicas, como el vino, en general, es necesario un paso previo de mineralización siendo esta etapa del procedimiento crítica y muy propensa a introducir desviaciones e incertidumbres en el resultado final (Moreno y col., 2008); además de que es muy costoso el equipo y es difícil tener acceso a estos equipos tan complejos. Por lo anterior se propone utilizar la espectrofotometría UV-Vis, ya que es un método preciso que se basa en medir la transmisión de luz a través de un volumen conocido de muestra, en el que se utilizan valores de absorción de luz en longitudes de onda específicas para cuantificar la concentración de la muestra

según la ley de Beer-Lambert (Lesani y col., 2020). La espectrofotometría UV-Vis tiene varias ventajas de análisis como: costo operativo más bajo, fácil de usar y se puede encontrar en casi todos los laboratorios (Soylak y col., 2020).

Se propone utilizar la metodología de espectrofotometría de UV-Vis acoplado a la técnica de análisis de inyección secuencial (SIA), una técnica de flujo propuesta por Ruzicka y Marshall (Santos y Masini, 2009). El análisis por SIA se basa en un flujo programable que permite ingresar las condiciones de reacción de manera secuencial (dilución de la muestra, adición de reactivo y tiempo de reacción) vía manual o por computadora, y como consecuencia ofrece vías aún inexploradas para el desarrollo de nuevas metodologías aplicables a una variedad de analitos (Skrliková y col., 2010). Tiene varias ventajas la técnica SIA, como: la viabilidad de la preparación en línea de reactivos inestables y al mismo tiempo la reducción sustancial de la generación de residuos, así como la minimización del consumo de muestra y reactivos (Mervartova y col., 2007); lo que es agradable para el medio ambiente y una reducción en costos significativa. Aprovechando las ventajas de esta técnica de análisis se utilizará un programa estadístico para asegurar los resultados de los experimentos y obtener información clara a partir de los datos.

El Diseño de Experimentos (DOE) es una herramienta estadística en la que cada experimento es una prueba y permite a un investigador obtener información sobre un proceso o sistema (Moreira y col., 2021). El DOE es una técnica estadística que tiene su origen en tratar de comprender los sistemas y tomar decisiones, en función de los resultados que se obtienen tras la ejecución del experimento. Tiene una ruta de proceso clara: definición del problema, diseño del experimento, ejecución del experimento y recopilación de datos; posteriormente realizar el procesamiento de datos, su análisis y continuar experimentando hasta llegar a conclusiones. (Miranda-Ackerman y García-Lechuga, 2020).

Una de las metodologías de superficie de respuesta, que se ha utilizado ampliamente son los diseños de Box-Behnken (BBD), proporcionan una respuesta precisa que requiere menos combinaciones de tratamiento en comparación con el diseño compuesto central (Tae Goo y col., 2020). Los BBD requieren de tres niveles en cada factor para operar, se pueden rotar total o parcialmente. Además, estos diseños no contienen combinaciones de factores completos en su nivel más alto o más bajo al mismo tiempo y así evitar experimentos en condiciones extremas, que pueden dar resultados inadecuados (Güray y col., 2020).

El objetivo de este trabajo es utilizar la metodología de espectrofotometría de UV-Vis acoplado a la técnica de análisis de inyección secuencial (SIA), utilizando un diseño factorial Box-Behnken con el fin de determinar el contenido de manganeso en vinos de la región de Baja California.

Materiales y Métodos

Equipos: Espectrofotómetro DR5000 con módulo Sipper HACH, bomba peristáltica (Watson Marlow 400 sci), válvula de inyección secuencial 12V-0666L model No. EMHCA-CE Serial No. EMMC59690 (VICI. Valco Instruments Co. Inc), balanza analítica (PB 303-5 Mettler Toledo), ultrasonido (Branson 2510), celda de cuarzo 160 uL, software informático y estadístico Statgraphics Centurion XVI.I.

Reactivos: Ampolleta de disolución estándar de manganeso (250 mg/L) como Mn^{+2} , citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$), periodato de sodio ($NaIO_4$). Todos los reactivos con grado reactivo analítico. En todos los experimentos se utilizó agua desionizada.

Muestras analizadas: Vino Rojo LA CETTO Cabernet Sauvignon, Vino Blanco LA CETTO Blanc of Zinfandel, Vino Rojo LA Cetto Petite Sirah y Vino Blanco LA CETTO Blanc of Blancs.

Metodología de análisis por inyección secuencial (SIA): El sistema de análisis por inyección secuencial está integrado por una válvula de inyección secuencial de 8 posiciones, la cual tiene actuadores microeléctricos para seleccionar las posiciones, con la bomba peristáltica se selecciona el sentido del flujo para aspiración de los reactivos. En cada canal se colocan los reactivos de acuerdo al orden de aspiración, para nuestro estudio se usó citrato (C), muestra (M) y periodado (P) (ver **Figura 1**). Estos pasan al bucle de espera de 150 cm, su diseño es de tubería de Tygon (1.02 mm d.i.). Una vez aspirado los reactivos y la muestra se transportan a la celda de flujo y se mide la absorbancia a 525 nm. Para eliminar interferencia entre las muestras se realiza limpieza de la celda utilizando flujo de agua desionizada.

Para encontrar las mejores condiciones de los parámetros hidrodinámicos y químicos se realizó un diseño factorial Box-Behnken con tres puntos centrales y 12 grados de libertad para cuatro factores. Factor A: Volumen de citrato (μL), Factor B: Volumen de muestra (μL), Factor C: Volumen de periodato (μL) y Factor D: Caudal en rpm utilizando disoluciones patrón de ion manganeso.

Utilizando una disolución patrón de Mn^{+2} de 10 mg/L se determinó el orden de aspiración, en la **Figura 1** se observa que orden de CMP es la mejor opción debido a que la absorbancia es más alta.

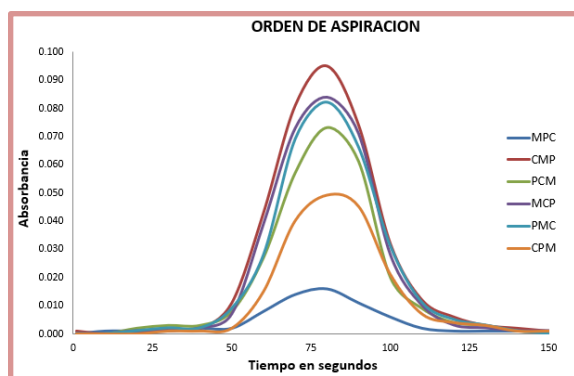


Figura 1. Orden de aspiración para el citrato (C), muestra (M) y periodato (P).

Resultados y Discusión

El análisis de varianza del diseño factorial de Box-Behnken de la **Tabla 1** mostró que el volumen de muestra, volumen de periodato, la interacción volumen de citrato-Caudal y la interacción volumen de muestra-volumen de periodato son los factores más influyentes en la formación del permanganato; de acuerdo con los valores de *p* son estadísticamente significativos.

Tabla 1 Análisis de Varianza para Absorbancia

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Volumen de citrato	0.00033075	1	0.00033075	1.10	0.3156
B: Volumen de muestra	0.00313633	1	0.00313633	10.40	0.0073
C: Volumen de periodato	0.00525008	1	0.00525008	17.41	0.0013
D: Caudal	0.000363	1	0.000363	1.20	0.2941
AA	0.000249037	1	0.000249037	0.83	0.3813
AB	0.000009	1	0.000009	0.03	0.8657
AC	0.00001225	1	0.00001225	0.04	0.8436
AD	0.002116	1	0.002116	7.02	0.0212
BB	0.000316898	1	0.000316898	1.05	0.3255
BC	0.002809	1	0.002809	9.32	0.0100
BD	0.000676	1	0.000676	2.24	0.1601
CC	0.000112037	1	0.000112037	0.37	0.5535
CD	0.0004	1	0.0004	1.33	0.2718
DD	0.000063787	1	0.000063787	0.21	0.6538
Error total	0.00361792	12	0.000301493		
Total (corr.)	0.019153	26			

En el gráfico de efectos principales (ver **Figura 2**) se puede observar los efectos para los cuatro factores; la curvatura indica que los valores para cada factor ya no pueden seguir incrementándose

para mejorar la medición de la absorbancia. La variable con mayor influencia es el volumen de periodato, esto se explica de acuerdo a la reacción descrita en la **Ecuación 1**.

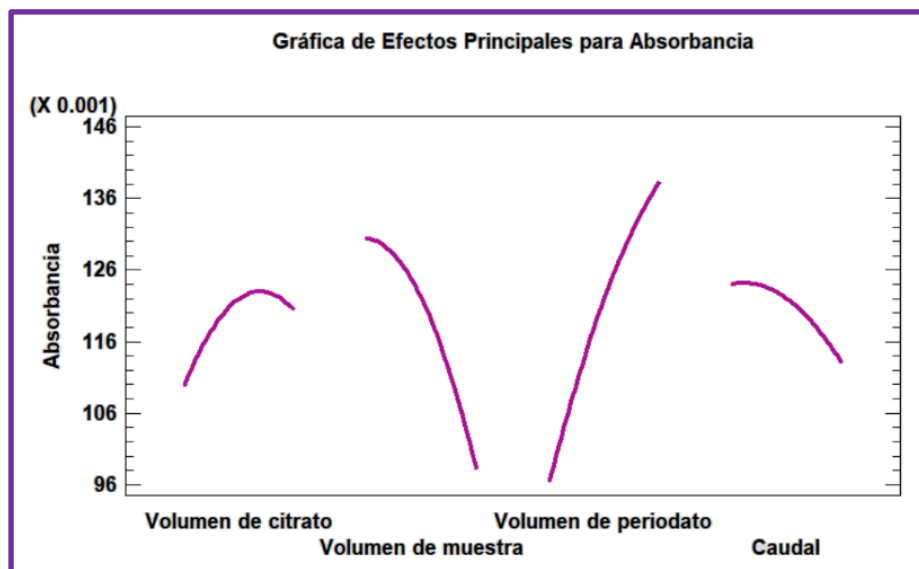


Figura 2. Gráfico de efectos principales

En la **Figura 3** se muestra el gráfico de superficie de respuesta, las coloraciones indican los diversos valores de absorbancia que se pueden obtener en la oxidación del Mn^{+2} a $[\text{MnO}_4]^{-1}$ en presencia del ion $[\text{IO}_4]^{-1}$ en un medio de citratos.

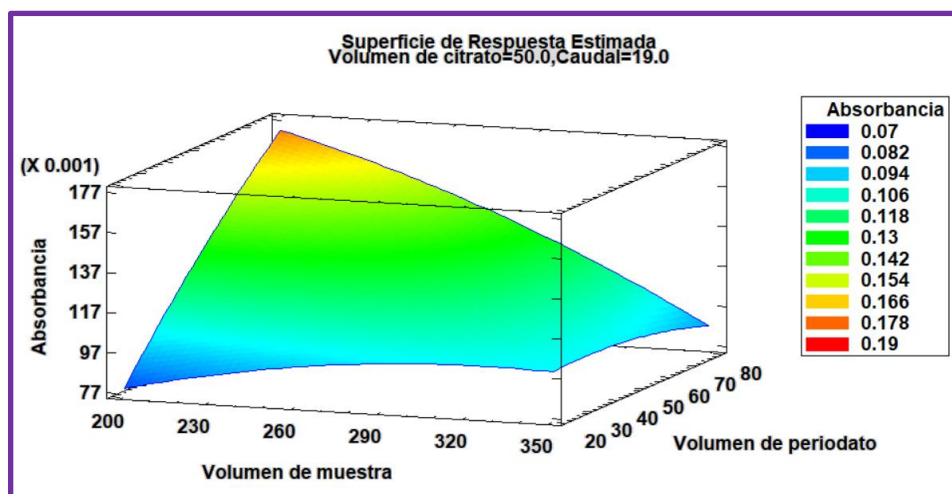


Figura 3. Gráfico de superficie de respuesta

En la **Tabla 2** se muestran los valores óptimos para los cuatro factores de acuerdo a los resultados del diseño Box-Behnken.

Tabla 2. Valores óptimos

Factor	Bajo	Alto	Óptimo	Unidades
Volumen de citrato	20	80	80	uL
Volumen de muestra	200	350	200	uL
Volumen de periodato	20	80	80	uL
Caudal	14	24	14	rpm

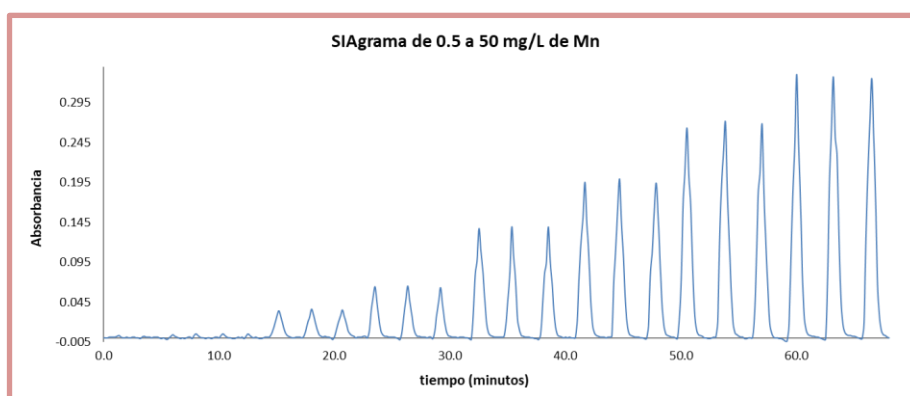


Figura 4. SIagrama de la oxidación del Mn²⁺ de 0.5 a 50 mg/L

Con los valores óptimos sugeridos por el diseño se realizó una curva de calibración para la oxidación del Mn²⁺ en un intervalo de 0.5 a 50 mg/L, la ecuación de regresión lineal es $\text{Absorbancia} = 0.0066 * [\text{Mn (mg/L)}] + 0.0013$, con su respectivo coeficiente de regresión lineal ($r^2 = 0.9997$); en la siguiente **Figura 4** se muestra el SIagrama obtenido:

Por último, se analizaron las muestras de vino por SIA para determinar la concentración de ion Mn, encontrando los siguientes resultados en la **Tabla 3**:

Tabla 3. Muestras de Vinos de Baja California, México analizadas por SIA.

Tipo de Vino	Concentración de Mn (mg/L)
Vino Rojo LA Cetto Cabernet Sauvignon 2016 13.5 % Alc. Vol. Cont. Net. 187 mL	2.04
Vino Blanco LA CETTO Blanc of Zinfandel 11.5 % Alc. Vol. Cont. Net. 187 mL	1.24
Vino Rojo LA Cetto Petite Sirah 2016 13.8 % Alc. Vol. Cont. Net. 187 mL	3.13
Vino Blanco LA CETTO Blanc of Blancs 12.0 % Alc. Vol. Cont. Net. 187 mL	0.64

Conclusiones

La metodología planteada en este artículo permite la cuantificación de ion Mn en vino. Las condiciones óptimas obtenidas para el análisis del ion Mn encontradas son: 80 uL de ion periodato, 200 uL de muestra y 80 uL de ion citrato con un caudal de 14 rpm. El contenido de ion Mn en los vinos del Valle Guadalupe de la compañía vinícola LA CETTO en Baja California, México, muestra que el Vino Rojo LA Cetto Petite Sirah 2016 es el que presenta la concentración mayor de los 4 vinos analizados y el Vino Blanco LA CETTO Blanc of Blancs el que presenta la concentración mínima.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California. Al Conacyt por la beca otorgado a estudiante de doctorado MC. German Adán Sánchez Gallegos con CVU 579185.

Al Cuerpo Académico de Biofarmacia con registro UABC-CA-287 del PRODEP.

Referencias

Bodart, P., Rachocki, A., Tritt-Goc, J., Michalke, B., Schmitt-Kopplin, P., Karbowski, T., & Gougeon, R. (2020). Quantification of manganous ions in wine by NMR relaxometry. *Talanta*, 1-9. doi:org/10.1016/j.talanta.2019.120561

Chen, H., Yang, J., Deng, X., Lei, Y., Xie, S., Guo, S., Xu, T. (2020). Foliar-sprayed manganese sulfate improves flavonoid content in grape berry skin of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) growing on alkaline soil and wine chromatic characteristics. *Food Chemistry*, 1-11. doi:org/10.1016/j.foodchem.2020.126182

Drava, G., & Minganti, V. (2019). Mineral composition of organic and conventional white wines from Italy. *Heliyon*, 1-4. doi:org/10.1016/j.heliyon.2019.e02464

Espinoza Cruz, T., Guerrero Esperanza, M., Wrobel, K., Yanez Barrientos, E., Acevedo Aguilar, F., & Wrobel, K. (2020). Determination of major and minor elements in Mexican red wines by microwave-induced plasma optical emission spectrometry, evaluating different calibration methods and exploring potential of the obtained data in the assessment of wine provenance. *Spectrochimica Acta Part B*, 1-10. doi:org/10.1016/j.sab.2019.105754

Farias de Andrade, M., Santos da Silva, I. J., Pimentel, M. F., Silveira Paim, A. P., Cercera, M. L., & Guardia, M. (2020). Ultrasonic nebulization inductively coupled plasma optical emission spectrometry method for wine analysis. *Spectrochimica Acta Part B*, 1-8. doi:org/10.1016/j.sab.2020.105924

Güray, T., Menevşe, B., & Altın Yavuz, A. (2020). Determination of optimization parameters based on the Box-Behnken design for cloud point extraction of quinoline yellow using Brij 58 and application of this method to real samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 1-7. doi:org/10.1016/j.saa.2020.118800

Lesani, A., Kazemnejad, S., Moghimi Zand, M., Azadi, M., Jafari, H., Mofrad, M., & Nosrati, R. (2020). Quantification of human sperm concentration using machine learning-based spectrophotometry. *Computers in Biology and Medicine*, 1-7. doi:org/10.1016/j.compbio.2020.104061

Mehlig, J. (1939). Colorimetric determination of manganese with periodate. *Industrial & Engineering Chemistry*, 11(5): 274-278.

Mervartova, K., Polasek, M., & Martínez Calatayud, J. (2007). Sequential injection analysis (SIA)-chemiluminescence determination of indomethacin using tris[(2,2'-bipyridyl)]ruthenium(III) as reagent and its application to semisolid pharmaceutical dosage forms. *Analytica Chimica Acta*, 114-121. doi:10.1016/j.aca.2007.01.057

Miranda-Ackerman, M., & García-Lechuga, A. (2020). An Overview of the Design of Experiment Workflow: Applications in Food Production Systems. *IGI Global, Design of Experiments for Chemical, Pharmaceutical, Food, and Industrial Applications* (pág. 204). Obtenido de IP Address: 148.231.170.52

Moreira, M., Balestrassi, P., Paiva, A., Ribeiro, P., & Bonatto, B. (2021). Design of experiments using artificial neural network ensemble for photovoltaic generation forecasting. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 1-14. doi:org/10.1016/j.rser.2020.110450

Moreno, I., González-Weller, D., Gutierrez, V., Marino, M., Cameán, A., González, A., & Hardisson, A. (2008). Determination of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr and Zn in red wine samples by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy: Evaluation of preliminary sample treatments. *Microchemical Journal*, 56-61. doi:10.1016/j.microc.2007.09.005

Pérez-Álvarez, E., García, R., Barrulas, P., Dias, C., Cabrita, M., & Garde-Cerdán, T. (2019). Classification of wines according to several factors by ICP-MS multi-element analysis. *Food Chemistry*, 273-280. doi:org/10.1016/j.foodchem.2018.07.087

Santos, A., & Masini, J. (2009). Applying sequential injection analysis (SIA) and response surface methodology for optimization of Fenton-based processes. *Talanta*, 1081-1086. doi:10.1016/j.talanta.2008.08.006

Shimizu, H., Akamatsu, F., Kamada, A., Koyama, K., Iwashita, K., & Goto-Yamamoto, N. (2020). Variation in the mineral composition of wine produced using different winemaking techniques. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 130(2), 166-172. doi:org/10.1016/j.jbiosc.2020.03.012

Skrlíková, J., Andruch, V., Sklenářová, H., Chocholous, P., Solich, P., & Balogh, I. (2010). A novel dual-valve sequential injection manifold (DV-SIA) for automated liquid-liquid extraction. Application for the determination of picric acid. *Analytica Chimica Acta*, 55-61. doi:10.1016/j.aca.2010.03.039

Soylak, M., Ozdemir, B., & Yilmaz, E. (2020). An environmentally friendly and novel amine-based liquid phase microextraction of quercetin in food samples prior to its determination by UV-vis spectrophotometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 1-6. doi:org/10.1016/j.saa.2020.118806

Tae Goo, Y., Young Park, S., Ram Chae, B., Yub Yoon, H., Hyun Kim, C., Yeh Choi, J., Wook Choi, Y. (2020). Optimization of solid self-dispersing micelle for enhancing dissolution and oral bioavailability of valsartan using Box-Behnken design. *International Journal of Pharmaceutics*, 1-11. doi:org/10.1016/j.ijpharm.2020.119483

Yhung Jung, M., Hui Kang, J., Seo Choi, Y., Young Lee, D., Yeon Lee, J., & Su Park, J. (2019). Analytical features of microwave plasma-atomic emission spectrometry (MP-AES) for the quantitation of manganese (Mn) in wild grape (*Vitis coignetiae*) red wines: Comparison with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). *Food Chemistry*, 20-25. doi:org/10.1016/j.foodchem.2018.08.114