

Determinación de selenio en mieles utilizando espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros en flujo continuo

**Adriana Rondón Gutiérrez¹, Fernando José Méndez Pereira¹, Carlos Rondon^{*1},
Carlos Daniel Ayala Montilla¹, Edgar Albarrán¹.**

¹) Laboratorio de Espectroscopia Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela

(*) rondon2823@gmail.com.

Recibido: 31/03/2025

Revisado: 22/04/2025

Aceptado: 16/06/2025

Resumen

La miel, sustancia natural dulce, producida principalmente por la abeja *Apis mellifera* y usada por el hombre para nutrirse y por sus propiedades organolépticas y terapéuticas, contiene al menos 180 componentes químicos que difieren en tipos y cantidades dependiendo del origen botánico y geográfico de donde procedan. Dentro de sus compuestos se encuentran minerales que representan del 0,1% al 0,2% de su composición. El selenio es un micro mineral o elemento traza presente en la miel, siendo beneficioso por sus aportes a la salud. En esta investigación se determinó selenio en mieles de casas apícolas y producción artesanal del Estado Mérida, mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica en llama acoplada a generación de hidruros en flujo continuo. La metodología se optimizó utilizando análisis multivariado y diseño experimental de Box-Behnken por bloque, aleatorizado, reduciendo costo y tiempo de análisis. Las características analíticas para la determinación de selenio fueron: LOD: 0,7 µg/L, LOQ: 2,4 µg/L e intervalo lineal: (2,4 – 200) µg/L. El porcentaje de recuperación en condiciones de repetibilidad está entre (94,6 ± 0,1) % y (103,3 ± 0,3) %, y en condiciones de reproducibilidad está entre (96 ± 1) % y (104 ± 1) %, dando resultados en con un % DSR menor al 5%. Por tanto, la metodología empleada es sensible, exacta, precisa y libre de interferencia para determinar selenio en miel. Las concentraciones de selenio determinadas se encuentran en el intervalo de (17 ± 1) µg/L y (55 ± 1) µg/L, siendo aptas para el consumo humano.

Palabras claves: absorción atómica; mieles; generación de hidruros; selenio.

Abstract

Determination of selenium in honey using atomic absorption spectroscopy with continuous flow hydride generation. Honey, a sweet natural substance produced primarily by the honeybee *Apis mellifera* and used by humans for nutrition and for its organoleptic and therapeutic properties, contains at least 180 chemical components that differ in type and quantity depending on their botanical and geographic origin. Its compounds include minerals that represent 0.1% to 0.2% of its composition. Selenium is a micromineral or trace element present in honey, beneficial for its health benefits. In this study, selenium was determined in honey from beekeeping and artisanal production in the state of Mérida using flame atomic absorption spectroscopy coupled with continuous-flow hydride generation. The methodology was optimized using multivariate analysis and a randomized Box-Behnken block experimental design, reducing cost and analysis time. The analytical characteristics for the determination of selenium were: LOD: 0.7 µg/L, LOQ: 2.4 µg/L and linear interval: (2.4 – 200) µg/L. The recovery percentage under repeatability conditions is between (94.6 ± 0.1) % and (103.3 ± 0.3) %, and under reproducibility conditions it is between (96 ± 1) % and (104 ± 1) %, giving results with a DSR % less than 5%. Therefore, the methodology used is sensitive, accurate, precise and free of interference to determine selenium in honey. The selenium concentrations determined are in the range of (17 ± 1) µg/L and (55 ± 1) µg/L, being suitable for human consumption.

Keywords: Atomic absorption; Honeys; Hydride generation; Selenium.

Introducción

Algunos elementos minerales son necesarios en cantidades muy pequeñas en la dieta humana, pero son vitales para fines metabólicos, los elementos trazas o micro minerales como el selenio (Se)¹, elemento no metálico, que presenta varios estados de oxidación, Se (-2) seleniuros, Se (0) selenio elemental, Se (+4) selenitos y Se (+6) selenatos². Constituye numerosas enzimas y la seleno-proteína, necesaria para mantener la integridad de las membranas celulares frente a la acción dañina de los radicales libre, desempeña funciones antiinfla-

matorias y actúa como catalizador para la producción de hormonas tiroideas e interviene en el metabolismo de los lípidos³. Su deficiencia puede causar la enfermedad de Keshan (una enfermedad del corazón) e infertilidad en los hombres, también podría causar la enfermedad de Kashin-Beck, un tipo de artritis⁴.

Por otro lado, exposición breve a altas concentraciones de selenio puede producir náuseas, vómitos y diarrea. La exposición crónica a altas concentraciones de compuestos de selenio puede producir la selenosis, enfermedad que genera

pérdida del cabello, uñas quebradizas y anormalidades neurológicas⁵. De acuerdo al Anexo XIII del Reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo, del Consejo de 25 de octubre de 2011 relativo al etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, que tiene su origen en un informe de la FAO/OMS de 1988 y los valores de ingesta diaria recomendada (IDR) según el *Institute of Medicine of the National Academies* de Estados Unidos (IOM), establecen que la ingesta recomendada (adulto hombre/mujer) de selenio es de 55 µg, por su parte, los valores de IDR establecidos por la EFSA16-28 a partir de evidencias científicas recientes, establecen que la ingesta diaria de selenio es de 70 µg⁶.

Venezuela posee una comunidad científica y apícola activa que ha generado una gran cantidad de aportes al conocimiento sobre miel de abeja desde el punto de vista científico como desde el punto de vista práctico. Sin embargo, no hay información reciente respecto a determinación de elementos como el selenio, en mieles del estado Mérida. El trabajo más reciente de determinación de selenio en una matriz orgánica se llevó a cabo en el 2014 por Gutiérrez Peña *et al.*, quienes desarrollaron un método analítico para la determinación de selenio en huevos fortificados de gallinas (Isa Brown) por espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros, evaluaron la incorporación del selenio con el objeto de obtener huevos fortificados⁷. En 2011, Silva-Trejos publicó un trabajo de investigación cuyo objetivo fue validar la metodología analítica para la determinación de selenio en alimentos de la canasta básica costarricense por espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros⁸. La cuantificación se realizó sobre las muestras digeridas en horno de microondas por HGAAS, utilizando como reductor borohidruro de sodio al 0,6 % en hidróxido de sodio al 0,5 % y ácido clorhídrico 10 mol/L. **Acidificación de muestra y patrón:** HCl pH 1, calentamiento: 70-90 °C por 15 minutos para garantizar el estado de oxidación +4. Intervalo lineal: 1,3-50 µg/L, L.D.: 1,3±0,2 µg/L y L.C.: 2,2±0,2 µg/L. Finalmente, en México, 2019, Quintero Lira *et al.* determinaron el contenido de selenio por medio de espectroscopia de absorción atómica acoplada a generador de hidruros (HGAAS), con una digestión ácida previa; el valor más alto para el contenido de selenio se presenta en la miel de San Felipe con (172,75 ± 3,18) µg/Kg de miel y contenido más bajo se presenta en la miel de Huejutla (145,85 ± 0,35) µg/Kg de miel⁹.

Parte experimental

Reactivos

Se utilizó ácido nítrico Riedel-de Haen, con un 65 % de pureza; peróxido de hidrógeno Sigma – Aldrich (34,5-36,5 %); ácido clorhídrico de Riedel-de Haen (37 %); hidróxido de sodio de Riedel-de Haen y borohidruro de sodio de Sigma–Aldrich (98 %). El agua empleada para la preparación de soluciones y lavado de material de laboratorio fue doblemente

destilada y desionizada con resistividad específica de 18 MΩ/cm, obtenida en un sistema Millipore Milli-Q plus. Se preparó una solución estándar de 1000 mg/L de Se a partir de selenio metálico siguiendo el procedimiento descrito en el PerKin Elmer¹⁰. Se disolvió 1,000 g de selenio metal en un volumen mínimo de HNO₃ concentrado, se evaporó a sequedad, se agregó 2 mL de agua evaporando nuevamente a sequedad 3 veces adicionales, por último, se disolvió en HCl al 10 % (v/v) y se diluyó en un litro de solución. Posteriormente, se realizó una dilución de 5000 µg/L (ppb) y a partir de ésta se prepararon las soluciones de trabajo de 5, 50, 100, 150 y 200 µg/L, adicionando 10 mL de HCl al 10 %, enrazando con agua. Adicional se prepararon las soluciones de 1000 mL de HCl 1M, 2M y 3M, a partir de HCl concentrado y soluciones de 1000 mL de NaBH₄/NaOH (0,5 %/0,25 %) m/v, (0,75 %/0,5 %) m/v, y (1 %/0,75 %) m/v. Las soluciones de borohidruro de sodio fueron preparadas diariamente y para evitar la descomposición del reactivo, las soluciones fueron estabilizadas preparándolas en un medio de NaOH % m/v.

Metodología experimental

Muestreo: el muestreo empleado en la recolección de las muestras fue del tipo aleatorio simple, donde se extrajeron todos los individuos al azar de una lista (marco de la encuesta)¹¹ con un número de unidades variable según la zona y la disponibilidad de los apicultores que estuvieron dispuestos a colaborar, se recolectaron 12 muestras en total en el Estado Mérida, de las cuales 5 corresponden a casas apícolas del centro de la ciudad de Mérida, municipio Libertador; 5 a los apiarios ubicados en las localidades de Bailadores, La Playa y sector El Potrero, Municipio Rivas Dávila y 2 son de producción artesanal pertenecientes a El Molino, municipio Arzobispo Chacón.

Con el fin de estudiar si hay o no diferencia significativa en los valores de Se encontrados en cada localidad, se realizó un estudio, empleando la estadística básica para evaluar si había diferencia entre las concentraciones, como el estadístico F y el estadístico t de student; para ello, se subdividieron las muestras provenientes del centro de Mérida en dos grupos de acuerdo a la procedencia de las casas apícolas, el grupo A, corresponde a las 2 primeras muestras y el grupo B, corresponde a las 3 últimas muestras; las 5 muestras procedentes de Bailadores corresponden al grupo C y las muestras procedente del Molino corresponden al grupo D.

Digestión de las muestras: la digestión de las muestras de miel se realizó por vía húmeda con plancha de calentamiento, se empleó ácido nítrico concentrado como agente digestor y debido a su punto de ebullición bajo se adicionó peróxido de hidrógeno, que es un agente oxidante más fuerte, para oxidar los residuos de materia orgánica que quedan tras la digestión con el HNO₃, además tiene la particularidad de no contener ningún ion y descomponerse en agua y oxígeno. Las muestras se pesaron por triplicado y se colocaron en er-

lenmeyers, se añadió el agente digestor, luego el recipiente se cubrió con un vidrio de reloj y se colocó en la plancha de calentamiento aplicando temperatura suavemente para prevenir las salpicaduras y la evaporación de los analitos. Una vez terminado el calentamiento de la digestión, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadió el peróxido de hidrógeno, para luego de 24 horas hacer el análisis por espectroscopia de absorción atómica y con generación de hidruros acoplado a ésta técnica^{12,13}.

Optimización del sistema experimental: para la determinación del selenio, los experimentos fueron realizados utilizando el sistema de flujo continuo, mostrado en la figura 1, realizados mediante un procedimiento del Laboratorio de Espectroscopia Molecular¹⁴. Las soluciones de los patrones o la muestra (flujo 9,4 mL/min) se acidificaron con HCl 2M, luego esta se combina con el agente reductor NaBH₄/NaOH (0,5 %/0,75 %) m/v, para pasar por los serpentines de mezclado y reacción L1 (8 cm de longitud) y L2 (12 cm de longitud), para la generación de las especies volátiles de selenio. Luego de esto la especie H₂Se generada es separada de la fase líquida y transportadas con la ayuda del gas de arrastre (nitrógeno, 150 mL/min) hacia la celda de cuarzo, para luego medir la absorbancia de los átomos del analito.

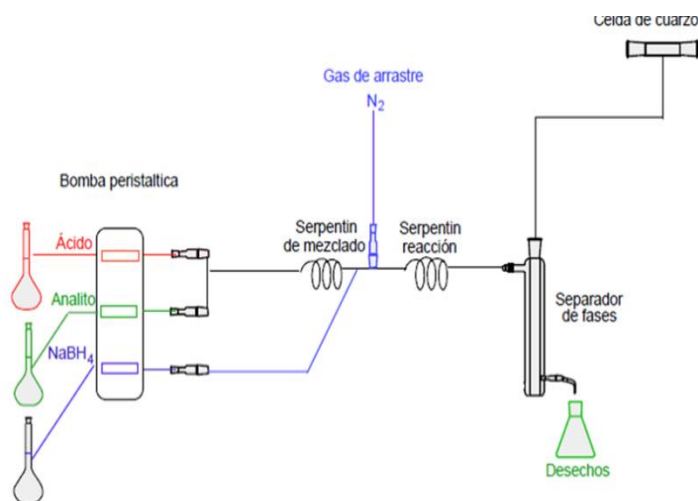


Fig. 1: Esquema del sistema de generación de hidruros en flujo continuo¹⁴.

Diseño experimental para la optimización de la digestión de la muestra y generación de hidruro de selenio

En vista de la gran cantidad de parámetros evaluados en las metodologías empleadas para la determinación del selenio, se seleccionó la optimización multivariada y el diseño de Box-Behnken, por bloque, aleatorizado, enmarcado en la quimiometría, ya que este es el que mejor se acopla al sistema experimental diseñado. A partir de éste, se obtuvieron los parámetros óptimos empleados en la digestión de las muestras de miel y en la generación del hidruro de selenio, el cual consta de dos bloques, el primero corresponde a los parámetros de la digestión de las muestras y el segundo a los parámetros implicados en la generación del hidruro de selenio.

Bloque 1. Digestión de la muestra: El bloque 1, constituye una serie de experimentos, donde se optimizaron los parámetros implicados en la digestión de la muestra, como la cantidad de muestra de miel “masa” donde se tomaron los valores de 1 g, 1,5 g y 2 g; el agente oxidante “HNO₃” se varió en 2 mL, 3 mL y 4 mL; temperatura de la plancha de calentamiento, se varió en 25 °C, 30 °C y 35 °C; para el tiempo de digestión se tomaron los valores de 2 horas, 3 horas y 4 horas; cantidad de agente oxidante “H₂O₂” se varió en 2 mL, 3 mL y 4 mL, teniendo como respuesta analítica a la variación de cada uno de ellos en conjunto la absorbancia medida en el equipo de absorción atómica VARIAN SpectrAA 110. Estos parámetros se identificaron como efectos y para el análisis de varianza ANOVA de la absorbancia fueron: A: MASA; B: ácido nítrico, C: T digestión; D: temperatura; E: peróxido; AA; AB; AC; AD; AE; BB; BC; BD; BE; CC; CD; CE; DD; DE; EE. Se seleccionó el modelo cuadrático para ajustar a los resultados del experimento con 21 coeficientes. No se excluyó ningún efecto. Se seleccionó el diagrama de Pareto como herramienta gráfica, donde los estimados se colocaron en orden decreciente de importancia, lo que deja más claro qué aspectos deben resolverse primero. En este estudio, se especificó 1 variable de respuesta y 5 factores experimentales. El diseño seleccionado tiene 46 ejecuciones, con 1 una muestra para ser tomada en cada ejecución. El modelo por defecto es cuadrático con 21 coeficientes. Los modelos estadísticos se ajustaron a las variables de respuesta.

Bloque 2. Generación de hidruro: en este segundo bloque, se trabajó con el sistema de generación de hidruros y los parámetros de la reacción como la concentración del agente reductor NaBH₃ (%) que se varió en 0,5 %; 0,75 % y 1 %; la concentración del NaOH como agente estabilizador de la solución del NaBH₃ (%) en 0,25 %; 0,5 % y 0,75 %; la concentración del HCl en 1 M, 2 M y 3 M; el tamaño de la manguera de reacción en 8 cm (valor mínimo a construir con el material disponible), 12 cm y 18 cm; tamaño de la manguera de arrastre en 8 cm, 12 cm, y 18 cm; frecuencia en la bomba peristáltica de la manguera del flujo del NaBH₄ (ml/min) en 25, 30 y 35; frecuencia en la bomba peristáltica del flujo del HCl (ml/min) en 25, 30 y 35, con lo que se obtuvieron los valores optimizados de los parámetros implicados en la generación del hidruro de selenio.

Los efectos para el análisis de varianza ANOVA de la absorbancia en este segundo bloque son: A: NaBH₄; B: NaOH; C: HCl; D: Serpentin de Reacción; E: Longitud de manguera T y S; F: Flujo de NaBH₄; G: Flujo de HCl; FF; DD; CC; AA; AB; AE; CG; AD; CF; CD; GG; BD; DE; FG; BF; CE; BE; EE; EG; DG; BG; AF; DF; BC; AG; EF; BB y AC. Se seleccionó el modelo cuadrático para ajustar a los resultados del experimento con 18 coeficientes. Nuevamente se seleccionó el diagrama de Pareto como herramienta gráfica, donde los estimados se ordenaron en orden decreciente de importancia.

Características analíticas para la validación del método de la determinación de selenio por HGAAS en flujo continuo.

Una vez optimizado el sistema experimental, se procedió a realizar la validación del método, para lo cual se empleó el patrón estándar de 1000 mg/L de Se, a partir de este se prepararon las soluciones de trabajo en µg/L, para las curvas de calibración sencilla y adición estándar. La adición estándar se hizo sobre un pool de las muestras de miel y en la muestra N° 6, para corroborar el comportamiento de la curva. Luego se procedió a validar las principales características analíticas del método, al evaluar la linealidad, el coeficiente de correlación, la sensibilidad expresada como pendiente de la curva y el intercepto. Con los resultados obtenidos se determinó el “estadístico F” y el estadístico “t de student” para evaluar si hay o no diferencia significativa entre las pendientes de ambos métodos y con ello se descartó el efecto matriz, además se determinó el límite de detección, límite de cuantificación y el intervalo lineal de cada una de las curvas realizadas, así como la precisión de este, expresada como % DSR.

La metodología por seguir para la curva de calibración sencilla del Se a partir de patrón de Se de 1000 ppm, consistió en preparar una solución de 5000 ppb en 100 ml de agua desionizada, a partir de esta se prepararon las soluciones de 5, 50, 100, 150 y 200 µg/L, adicionando 10 mL de HCl y llevando un volumen final de 100 mL, estos puntos comprenden el intervalo de concentraciones que se espera obtener en las muestras de miel analizadas.

La metodología por seguir para la curva de adición de estándar consistió en tomar 2 g de un pool de las muestras de miel, para luego realizarle el mismo tratamiento de digestión previamente optimizado, posteriormente se tomaron 5 alícuotas con 2 mL de este pool y se le adicionaron cantidades exactamente conocidas de selenio, llevándolas a un volumen final de 10 mL, para luego evaluar que no había interferencia por parte de la matriz.

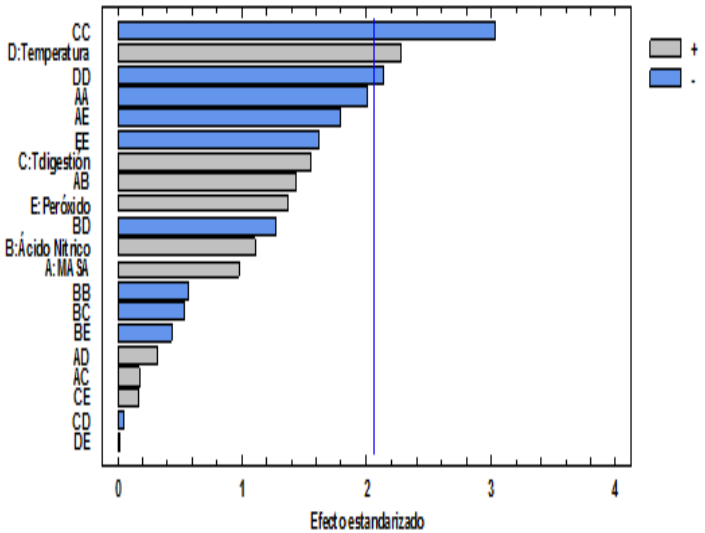
Para evaluar la precisión del método analítico, se procedió a realizar el cálculo de los porcentajes de recuperación donde se realizó el dopaje de tres muestras con patrón de selenio a tres distintas concentraciones bajo, medio y alto, de la muestra N° 6, siendo usada durante toda la validación, se realizaron tres repeticiones por muestra en condiciones de repetibilidad, en las mismas condiciones operativas y el mismo día. Para evaluar la exactitud se estudió la reproducibilidad del método, se realizó el dopaje de tres concentraciones de la muestra de miel N° 6, a 5, 100 y 200 µg/L, y se realizó una medición por triplicado con la metodología anteriormente descrita durante 10 días para un total de 30 réplicas.

Resultados y discusión

Bloque 1. Digestión de la muestra

En el diagrama de Pareto estandarizada para la absorbancia (grafica N° 1), los factores que causan más impacto sobre la digestión de la muestra son la temperatura aplicada y el

tiempo de digestión al momento de agregar el HNO₃. El ácido empleado en la digestión es un elemento de gran importancia, el HNO₃ es uno de los ácidos más ampliamente usados en la descomposición de materia orgánica y liberación de los elementos trazas, formando sales de nitrato altamente solubles. En cuanto a la temperatura aplicada en la digestión, es bien sabido que la temperatura actúa como un catalizador de la reacción, puesto que el aplicar temperatura, se proporciona energía térmica a la digestión con lo que ocurre más rápido la descomposición de la materia orgánica por el ácido nítrico, siempre y cuando esté por debajo del punto de ebullición de HNO₃, para evitar perder analitos con los vapores desprendidos, es por ello que se prueban diferentes temperaturas a fin de encontrar la idónea. El tiempo que se deja para que ocurra la reacción también es un factor importante, de este depende que la reacción de descomposición de la materia orgánica se lleve en su totalidad.



Gráfica N° 1. Diagrama de Pareto estandarizado para absorbancia.

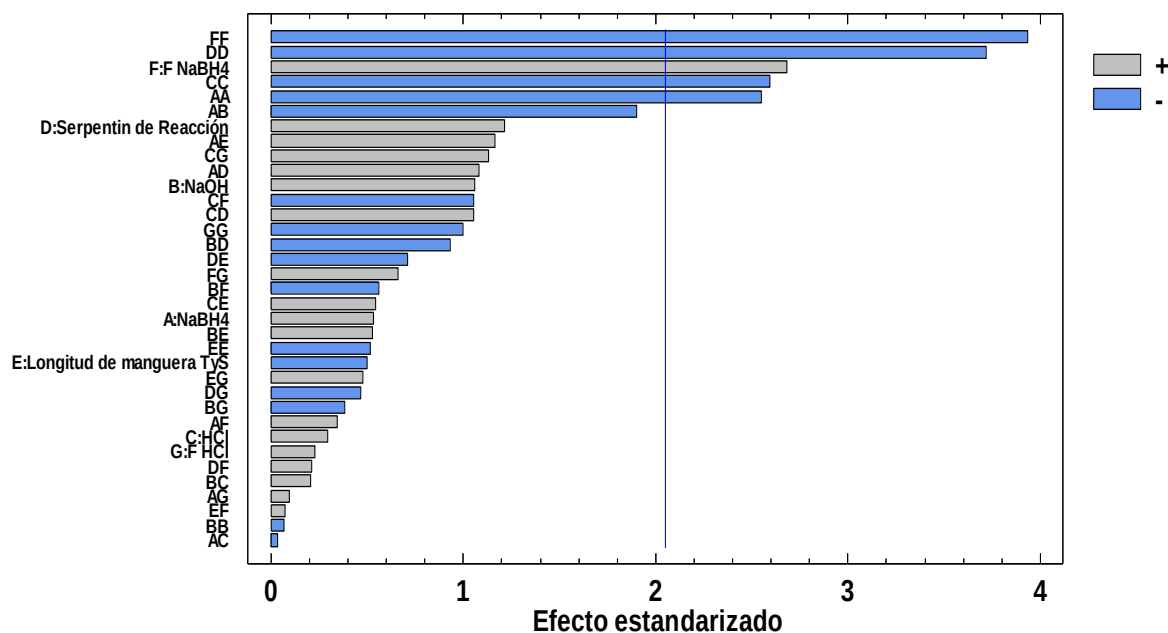
Los resultados de los parámetros optimizados implicados en la digestión de la muestra se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Factores establecidos y óptimo

Factor	Establecimiento
Masa (g)	2
Ácido Nítrico (mL)	4
Tiempo digestión (h)	3
Temperatura (°C)	33
Peróxido (mL)	2

Bloque 2. Generación de hidruro

Como se observa en la Gráfica N° 2, correspondiente al diagrama de Pareto estandarizada para la absorbancia, los factores que causan más impacto sobre el sistema y la generación del hidruro son las concentraciones de NaBH₄ y HCl, el tamaño del serpentín donde ocurre la reacción y el flujo del NaBH₄.



Gráfica N° 2. Diagrama de Pareto estandarizado para la absorbancia.

La concentración y el flujo del NaBH₄ son factores influyentes en la generación del hidruro, debido a que la cantidad de agente reductor añadida debe ser eficiente para que la reducción del analito sea eficaz, rápida y cuantitativa, pero es necesario mantener un equilibrio entre el volumen y concentración del agente reductor, puesto que en esta reacción se usa en exceso de este con respecto a la concentración del analito y una cantidad excesiva produce gran cantidad de hidrógeno que diluye el hidruro generado y con ello perdida de la señal.

El HCl es el agente acidificante del analito, el borohidruro de sodio se hidroliza en presencia del HCl, esto garantiza una abundante liberación de hidrógeno atómico que favorece la transición del hidruro a la fase gaseosa a través de la aparición de burbujas que promueven la desorción del gas, que posteriormente es arrastrado por el gas de purga. El hidrógeno resultante conduce el hidruro desde la mezcla de reacción a la fase gaseosa dado que la concentración del hidruro en la mezcla es típicamente mucho menor que la solubilidad del hidruro, en particular en el caso de selenio, esta es la función adicional del agente reductor.²

En cuanto al serpentín de reacción también es un factor influyente por el tiempo de residencia de los reactivos que forman los productos en este tramo, y como los hidruros son compuestos más o menos inestables, cuanto más pequeño sea el camino del hidruro a atravesar en la disolución mayor será el rendimiento de reacción.

Las características óptimas de los factores experimentales han sido determinadas y se muestran en el resumen, basada en las respuestas observadas, los resultados más convenientes son obtenidos para la ejecución 58. Basada en las respuestas predichas del modelo ajustado, los resultados más

convenientes corresponden a la ejecución 54, mostrados en la Tabla N° 4, en donde se puede observar que el tamaño óptimo del serpentín de reacción para la generación del hidruro resultó ser el más pequeño evaluado experimentalmente, tal como se discute en el diagrama de Paretos para este segundo bloque. También se observa que la concentración del NaOH es mayor que la del NaBH₄, esto se debe a que el agente reductor es tan energético, que se hidroliza fácilmente en agua, por lo que es necesario usar esta concentración de NaOH para estabilizar la disolución.

Los resultados de los parámetros optimizados implicados en la generación del hidruro de selenio se muestran a continuación.

Tabla 2. Factores establecidos y Óptimo, correspondiente a la ejecución 54.

Factor	Establecimiento
NaBH ₄ (%)	0,5
NaOH (%)	0,75
HCl (M)	2
Serpentín de reacción (cm)	8
Longitud de la manguera de separación y transporte (cm)	12
Flujo de NaBH ₄ (ml/min)	9,4
Flujo de HCl (ml/min)	9,4

Características analíticas para la validación del método de la determinación de selenio por HGAAS en flujo continuo

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las curvas de calibración sencilla y adición estándar realizadas sobre un pool de las muestras de miel y en la muestra de miel N° 6, así como las figuras de mérito determinadas para la curva de calibración sencilla de Se en HCl al 10%.

Tabla 3. Resultados obtenidos de la curva de calibración sencilla de Se y con adición de estándar de Se para un pool de las muestras de miel.

Curva de calibración sencilla		Curva de adición estándar	
Pendiente (m)	(0,00263 ± 0,00004)	Pendiente (m)	(0,00267 ± 0,00004)
Corte (b)	(0,0197 ± 0,0048)	Corte (b)	(0,1337 ± 0,0052)
Coeficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9993	Coeficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9992

Tabla 4. Resultados obtenidos de la curva de calibración sencilla de Se y con adición de estándar de Se en la muestra de miel N° 6.

Curva de calibración sencilla		Curva de adición estándar	
Pendiente (m)	(0,00263 ± 0,00004)	Pendiente (m)	(0,00268 ± 0,00004)
Corte (b)	(0,0197 ± 0,0048)	Corte (b)	(0,1387 ± 0,0049)
Coeficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9993	Coeficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9993

Tabla 5. Figuras de mérito determinadas para la curva de calibración sencilla de Se en HCl al 10%.

Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOC)	Intervalo lineal
0,7 µg/L.	2,4 µg/L.	2,4-200 µg/L.

Con los resultados obtenidos de las curvas de calibración sencilla y adición estándar, se determinó el “estadístico F” y el estadístico “t de student” para evaluar si hay o no diferencia significativa entre las pendientes de ambos métodos, dando como resultado que el estadístico F es 1,04 y al compararlo con el valor tabulado para un contraste de dos colas (95% de confianza, Probabilidad 0,05), F_{4,3;15,10}; por tanto, no hay diferencia significativa entre las varianzas y las variaciones respecto a 1 se deben a errores aleatorios. Al aplicar el estadístico “t” se tiene que el valor de “t” calculado: 1,89, es menor que el “t” tabulado, para 8 grados de libertad y un 95 % de confianza: 2,31, por tanto, no existe diferencia significativa entre las pendientes evaluadas, asimismo se puede indicar que el método propuesto está libre de interferencias del tipo físico y químico por parte de la matriz.

Precisión y exactitud del método analítico para el análisis de selenio en miel

A continuación, se presentan los resultados para el estudio del porcentaje de recuperación, en condiciones de repetibilidad, mismas condiciones operativas y el mismo día.

Como se observa, los porcentajes de recuperación promedio del selenio en la muestra de miel N° 6 se encuentra entre el (94,6 ± 0,1) % y (103,3 ± 0,3) %, estos resultados se encuentran en el intervalo aceptable para los estudios de recuperación por tanto el selenio se puede determinar cuantitativa-

Tabla 6. Resultado del porcentaje de recuperación del Se, para las concentraciones 5, 100, 200 µg/L en la muestra N° 6 de miel, evaluado por triplicado.

Concentración (ppb)	5	100	200
% Réplica 1	(98,3 ± 0,1)	(103,3 ± 0,1)	(94,4 ± 0,1)
% Réplica 2	(98,9 ± 0,1)	(103,3 ± 0,1)	(95,0 ± 0,1)
% Réplica 3	(99 ± 0,1)	(103,4 ± 0,1)	(94,4 ± 0,1)
Promedio %	(98,4 ± 0,3)	(103,3 ± 0,3)	(94,6 ± 0,1)
%RDS	4	2	3

mente en las muestras estudiadas, puesto que no hay pérdida del analito durante el proceso de separación de la matriz y la generación del hidruro. Adicional a esto, la precisión del procedimiento en función de la concentración y expresada como % DSR varían del 2 % al 4 %, los mismos son menores al 5 %, obteniendo un resultado aceptable para la repetibilidad, comprobando que el método empleado para la cuantificación del selenio en miel es óptimo.

A continuación, se presentan los resultados del estudio del porcentaje de recuperación en condiciones de reproducibilidad, mismas condiciones experimentales durante 10 días.

Tabla 7. Resultado del porcentaje de recuperación de las concentraciones 5, 100, 200 µg/L de la muestra N° 6, evaluado para 10 días.

Concentración (ppb)	5	100	200
% Réplica Día 1	(98,2 ± 0,1)	(106,1 ± 0,1)	(97,1 ± 0,2)
% Réplica Día 2	(96,3 ± 0,1)	(102,8 ± 0,1)	(95,9 ± 0,2)
% Réplica Día 3	(98,2 ± 0,1)	(103,8 ± 0,1)	(97,1 ± 0,2)
% Réplica Día 4	(98,1 ± 0,1)	(102,6 ± 0,2)	(96,4 ± 0,3)
% Réplica Día 5	(97,1 ± 0,1)	(102,8 ± 0,1)	(97,1 ± 0,3)
% Réplica Día 6	(97,3 ± 0,1)	(105,3 ± 0,2)	(96,4 ± 0,1)
% Réplica Día 7	(98,8 ± 0,1)	(105,9 ± 0,2)	(94,6 ± 0,2)
% Réplica Día 8	(99,1 ± 0,2)	(104,4 ± 0,1)	(94,7 ± 0,2)
% Réplica Día 9	(98,4 ± 0,1)	(104,3 ± 0,1)	(97,4 ± 0,2)
% Réplica Día 10	(98,0 ± 0,1)	(102,7 ± 0,2)	(95,4 ± 0,2)
% Promedio	(98,0 ± 0,8)	(104 ± 1)	(96 ± 1)
% DSR	3	4	3

Se puede observar que los porcentajes de recuperación promedio del selenio en la muestra de miel N° 6, están entre el (96 ± 1) % y (104 ± 1) %, estos resultados se encuentran en el intervalo aceptable para los estudios de recuperación, nuevamente se comprueba que el selenio se puede determinar cuantitativamente en las muestras estudiadas, puesto que no hay pérdida del analito durante el proceso de separación de la matriz y la generación del hidruro. Adicional a esto en término de reproducibilidad, atributo de la exactitud, se puede observar que el % DSR varían del 3 % al 4 %, los mismos son menores al 5 %, comprobando que el método empleado para la cuantificación del selenio en miel es óptimo.

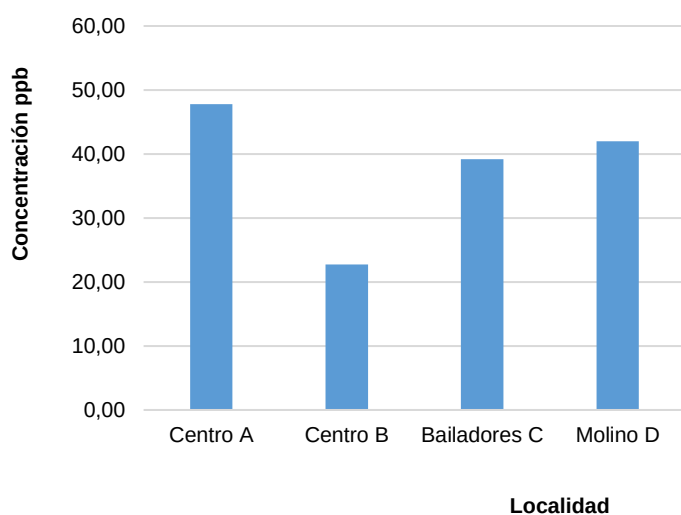
Determinación del contenido de selenio en las muestras de miel del Estado Mérida

A continuación, se presenta la tabla 8, correspondiente a los

resultados obtenidos para la determinación del selenio en las muestras de miel recolectadas en el estado Mérida, donde se observa que las concentraciones de selenio encuentran entre el $(17 \pm 1) \mu\text{g/L}$ y $(55,4 \pm 0,9) \mu\text{g/L}$.

Tabla 8: Resultados obtenidos para el selenio presente en las muestras de miel recolectadas en el estado Mérida.

Muestra	Replica 1 ($\mu\text{g/L}$)	Replica 2 ($\mu\text{g/L}$)	Replica 3 ($\mu\text{g/L}$)	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
1	41,3	39,1	40,3	$(40,3 \pm 0,9)$
2	54,1	55,7	56,3	$(55,4 \pm 0,9)$
3	29,7	27,8	31,1	(30 ± 1)
4	22,3	20,2	21,8	$(21,4 \pm 0,9)$
5	16,7	16,2	19,1	(17 ± 1)
6	29,6	30,3	27,0	(29 ± 1)
7	39,7	41,1	40,5	$(40,4 \pm 0,6)$
8	40,6	40,4	42,0	$(41,0 \pm 0,7)$
9	39,4	37,7	38,8	$(38,6 \pm 0,7)$
10	46,1	48,5	46,3	(47 ± 1)
11	42,2	41,6	41,1	$(41,6 \pm 0,4)$
12	43,2	41,9	42,1	$(42,4 \pm 0,5)$



Gráfica N° 3. Concentración de Se vs. Localidad

Los resultados obtenidos de las combinaciones posibles para los grupos de ese estudio, tabla 9, que sigue a continuación, muestran que (A y C); (A y D); (C y D), no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones del selenio para estas localidades. Sin embargo, las combinaciones de los grupos (A y B); (D y B); (B y C), si presentaron diferencias significativas, por lo que se puede decir que, cualquiera de las combinaciones que implicara el grupo B, que es el que dio menores concentraciones de selenio, resultó tener diferencias significativas, esto se debe a que el contenido de metales en la miel depende de varios factores como el clima, la altura, la vegetación, y la biodisponibilidad de estos en el ambiente.

Tabla 9. Resultados de la evaluación de la concentración de Se respecto a cada localidad.

Combinación	Resultado
A y B	Si hay diferencia significativa
A y C	No hay diferencia significativa
A y D	No hay diferencia significativa
B y C	Si hay diferencia significativa
B y D	Si hay diferencia significativa
A y D	No hay diferencia significativa

Conclusiones

Mediante el estudio realizado y la metodología propuesta, se determinó que el selenio presente en las muestras de miel recolectadas en casas apícolas y de producción artesanal el estado Mérida, se encuentra entre $(17 \pm 1) \mu\text{g/L}$ y $(55 \pm 1) \mu\text{g/L}$, encontrándose dentro de los límites establecidos para el consumo humano.

Referencias

1. M Latham. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29. Roma (2002).
2. J Dedina; L Dimiter. *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, 1era edición; Winefordner, J. D; Análisis químico: Serie de monografías sobre química analítica y aplicaciones, editor de la serie. Wiley; Inglaterra; Volumen 130. (1995).
3. H Hernández, & M. Rios. Rol biológico del selenio en el humano. **Química Viva**, 8(2), 64-79 (2009).
4. E Millán. Biomarcadores de estatus de selenio en paciente crítico con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Seguimiento durante 7 días de estancia en la unidad de cuidados intensivos. Doctoral dissertation, Universidad de Granada, Granada (2012).
5. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). Reseña Toxicológica del Selenio (edición actualizada) (en inglés). Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública. CAS # 7782-49-2. (2003). https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts92.pdf Consultado 9/07/2023.
6. T Ruiz. Nuevos desafíos en el análisis de la composición mineral de los alimentos. Trabajo especial de Doctorado, Universidad de Valencia, España (2017). <http://hdl.handle.net/10550/60880> Consultado 15/07/2023.
7. L Gutiérrez, P Carrero, Y Delgado, D Picón, L Paz, J Vielma, A Quintero, E Gutiérrez & I Gutiérrez. Desarrollo de un método analítico para la determinación de selenio en huevos fortificados de gallinas (Isa Brown) por espectroscopia de absorción atómica con de hidruros. **Rev. Inst. Nac. Hig. "Rafael Rangel"**, 45(2), 19-28 (2014).
8. P Silva. Validación de la metodología analítica para cuantificación de Selenio en alimentos de la canasta básica del costarricense. **Revista Costarricense de Salud Pública**, 20(1), 31-35 (2011).
9. A Quintero, A López, V Martínez, O Del Razo, R Jiménez & R Campos. Determinación de Compuestos Bioactivos y Contenido de Selenio en diversas mieles del Estado de Hidalgo. **Journal of**

Energy, Engineering Optimization and Sustainability, 3(2), 1-18 (2019).

10. Perkin-Elmer. Condiciones estándar de absorción atómica para Se. En: *Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry*. Manual part No. 0303-0152, pp. 34, January (1982).
 11. L. Figueroa. Guía rápida para la elaboración de muestreos estadísticos en los programas de vigilancia epidemiológica: microbiológicos y residuos tóxicos. OIRSA, Calle Ramón Bellosó, final pasaje Isalde, Edificio OIRSA colonia Escalón, San Salvador, El Salvador, págs. 19-21 (2017).
 12. D Fechner. Estudio de la presencia de potenciales marcadores químicos de trazabilidad en mieles producidas en la región Nordeste de Argentina. Trabajo especial de Doctorado en Química. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina (2019). https://notables-delaciencia.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/97899/CONI-CET_Digital_Nro.bbe9fa0a-f82a-4069-8b20-b79ca94cd978_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y Consultado: 11/6/2022.
 13. A Obasi, C Aloke, S Obasi, A Famurewa, P Ogbu & G Onyeji. Elemental composition and associated health risk of honey obtained from apiary farms in southeast Nigeria. **Journal of Food Protection**, 83(10), 1745-1756. 2020. DOI: 10.4315/JFP-20-072
 14. F Méndez, CE Rondón, CD Montilla, CD Guillén. Evaluación eco-toxicológica de mercurio en aguas afectadas por la actividad minera en El Palmar Municipio Padre Pedro Chien, estado Bolívar, Venezuela. **Avances en Química**, 17(1), 15-22 (2022).
-