

29-A  
2eje.



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO ANALITICO  
PARA LA CUANTIFICACION DE PLOMO EN DIENTES POR  
ABSORCION ATOMICA, EMPLEANDO EL SISTEMA  
APDC/MIBK

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
ANA MARIA HERRERA SALAZAR

U N A M  
F E S  
Z A R A G O Z A



LO UNAMO S.E.  
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
" Z A R A G O Z A "

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO ANALITICO  
PARA LA CUANTIFICACION DE PLOMO EN DIENTES  
POR ABSORCION ATOMICA, EMPLEANDO EL SISTEMA  
APDC/MIBK

ASESOR: D.A. LOURDES CASTILLO GRANADA

ALUMNA: ANA MARIA HERRERA SALAZAR

EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLO  
EN EL LABORATORIO DE ESPECTROSCOPIA ,  
DE LA FES " ZARAGOZA " CAMPUS II ,  
BAJO LA ASESORIA DE LA Q. A. LOURDES  
CASTILLO GRANADA , A QUIEN AGRADEZCO  
TODA SU AYUDA OTORGADA.

**AGRADEZCO A LA BIOLOGA  
MARICELA ARTEAGA MEJIA  
POR EL APOYO BRINDADO  
CON SUS CONOCIMIENTOS  
DE ESPECTROFOTOMETRIA  
DE ABSORCION ATOMICA.**

A MIS PADRES  
ROSA Y NICOLAS  
POR SU CARIÑO Y APOYO  
QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO

## I N D I C E

|  | pag. |
|--|------|
| I. INTRODUCCION.....                           | 1    |
| II. FUNDAMENTACION DEL TEMA .....              | 3    |
| A. Farmacocinética del plomo.....              | 6    |
| 1. Absorción, distribución y excreción de Pb.. | 6    |
| 2. Distribución de Pb en Hueso.....            | 7    |
| B. Toxicología.....                            | 9    |
| 1. Envenenamiento agudo por plomo.....         | 9    |
| 2. Envenenamiento crónico por plomo.....       | 10   |
| a. Efectos gastrointestinales.....             | 10   |
| b. Efectos neuromusculares.....                | 11   |
| c. Efectos renales.....                        | 11   |
| d. Efectos hematológicos.....                  | 12   |
| e. Efectos sobre el SNC.....                   | 13   |
| f. Otros.....                                  | 14   |
| C. Análisis de plomo en dientes.....           | 15   |
| 1. Métodos Directos .....                      | 16   |
| a. Espectrofotometría de Absorción Atómica.    | 18   |

|   |    |
|---|----|
| D. Validación de Métodos Analíticos.....      | 22 |
| 1. Definiciones.....                          | 23 |
| 2. Determinaciones.....                       | 26 |
| a. Perfil de flama.....                       | 26 |
| b. Límite de detección y cuantificación... .. | 26 |
| c. Especificidad.....                         | 27 |
| d. Linealidad del sistema.....                | 28 |
| e. Precisión del sistema.....                 | 28 |
| f. Linealidad del método.....                 | 29 |
| g. Precisión (repetibilidad).....             | 29 |
| h. Precisión (reproducibilidad).....          | 30 |
| i. Exactitud.....                             | 30 |
| III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....          | 31 |
| IV. OBJETIVOS.....                            | 33 |
| V. HIPOTESIS.....                             | 34 |
| VI. MATERIAL Y METODO .....                   | 35 |
| VII. RESULTADOS.....                          | 41 |
| VIII. DISCUSION DE RESULTADOS.....            | 66 |
| IX. CONCLUSIONES.....                         | 69 |

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES..... | 70 |
| XI. ANEXOS.....                      | 71 |
| XII. BIBLIOGRAFIA.....               | 94 |

## I. INTRODUCCION

El hombre ha estado siempre expuesto a los metales pesados que tienen concentraciones naturales en el suelo y el agua, en áreas de grandes concentraciones urbanas la contaminación metálica del alimento y el agua produjo probablemente los primeros envenenamientos.

El método históricamente utilizado para analizar plomo en muestras biológicas y ambientales es el complejométrico con ditizona. Otros métodos para el análisis de plomo son : Espectrofotometría por Absorción Atómica (EAA) con sus variantes (EAA clásica, la técnica en microescala de Delves y el horno de grafito con y sin plataforma de Livov), la tercera categoría general de métodos analíticos de plomo es la electroquímica.<sup>(4)</sup>

La elección de una metodología para la determinación de plomo en un laboratorio particular depende de varios factores entre ellos, disponibilidad del equipo, número de muestras a analizar por día, propósito del análisis, experiencia de los analistas que efectúan el trabajo.

Cuando se inicia el desarrollo de un nuevo método analítico se requieren de parámetros que permitan la selección de la técnica más apropiada para el análisis de un compuesto determinado, así como de la seguridad y confiabilidad de la misma. Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación generalmente incluye una evaluación de la especificidad, linealidad, exactitud y precisión proporcionando una medida del comportamiento del método. <sup>(2-5)</sup>

En el presente trabajo se desarrolló un método de análisis y su validación, para aplicarlo a la cuantificación de plomo en dientes de niños, entre 5 y 12 años de edad, que viven en el área de Nezahualcoyotl. El método consistió en la formación de un quelato con pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y extracción con disolvente orgánico, metil isobutil cetona (MIBK), empleando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con flama. El método resultó ser exacto, preciso y lineal bajo las condiciones que fueron establecidas.

## II. FUNDAMENTACION DEL TEMA

El plomo es un metal del grupo IV B de la tabla periódica, se encuentra en tres estados de oxidación  $Pb^0$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Pb^{4+}$ . El  $Pb^{2+}$  es el más abundante en las sales inorgánicas, mientras que el  $Pb^{4+}$  es el estado más importante en los compuestos orgánicos. Este metal se encuentra ampliamente distribuido en una variedad de minerales, su compuesto más común es el sulfuro de plomo comúnmente conocido como galena ( $PbS$ ), se extrae de las minas y es de muy baja toxicidad, quizás debido a su escasa solubilidad. Otros compuestos menos comunes son la anglesita ( $PbSO_4$ ) y cerrusita ( $PbCO_3$ )<sup>(6)</sup>. También se encuentra en los minerales de Uranio y Torio como producto de degradación radioactiva. Los múltiples beneficios que el plomo ha otorgado a la civilización como metal oxidado o transformado en sus sales es en la plomería, fabricación de acumuladores, pigmentos (cromatos y silicatos), esmaltes, cerámicos (azulejo, loza, alfarería), cristal de plomo, antidetonantes en las gasolinas, de relleno de plásticos, en soldadura, etc.

El envenenamiento por plomo no es una enfermedad moderna, sus síntomas fueron descubiertos ampliamente por médicos griegos y romanos. Dioscorides en el primer siglo descubrió que la ingestión de plomo, o la inhalación de sus vapores provocaban cólicos.<sup>(7)</sup>

Las culturas clásicas se vieron expuestas al plomo, en gran parte, debido a los avances tecnológicos, por el uso de barnices con plomo utilizados en la cerámica cocida a bajas temperaturas, recipientes para alimento y vino, como material estructural en la construcción de acueductos, sistemas hidráulicos de la ciudad y tinacos. A la fecha la población en general se ve expuesta a varias fuentes similares a esas pero se ha añadido un toque moderno: las latas de alimentos selladas con soldadura de plomo, la pintura y las gasolinas contienen este metal. En urbes densamente pobladas y mecanizadas, la exposición al plomo aumenta.<sup>(8)</sup>

El plomo se encuentra en el aire, el agua y el suelo a consecuencia de numerosas actividades humanas. La inhalación del plomo es un riesgo industrial cuando los metales pintados son cortados o quemados. El plomo de las cañerías o de los esmaltes de la cerámica ha contaminado el agua y los alimentos, y ha sido identificado cerca de las fundiciones.<sup>(9)</sup>

La contaminación atmosférica se debe en gran parte a la combustión de la gasolina que contiene plomo<sup>(10,11)</sup>. México ha sido el primer productor de plomo refinado dentro del grupo de los países en desarrollo.

El Distrito Federal se encuentra situado en el suroeste de la Cuenca de México a una altitud de más de 2,240 m. sobre el nivel del mar. La Cuenca está casi en su totalidad rodeada de montañas. La combinación de la topografía local, la consecuente frecuencia de inversiones de temperatura, la alta concentración demográfica, la densidad de industrias y el elevado tránsito de vehículos que consumen gasolina con un alto grado de plomo producen altos niveles de contaminación del aire en la Ciudad de México.<sup>(12)</sup>

Es probable que los efectos tóxicos del plomo constituyan el padecimiento ocupacional más antiguo del mundo. En la actualidad el plomo se encuentra ampliamente distribuido en el aire, alimentos y agua, de modo que es difícil o casi imposible lograr un medio ambiente libre de él.<sup>(13,14)</sup>

## A. FARMACOCINETICA

### 1. ABSORCION DISTRIBUCION Y EXCRECION

Las principales vías de absorción del plomo son el tracto gastrointestinal y el aparato respiratorio. Los compuestos inorgánicos de plomo de los alimentos son pobremente absorbidos por los adultos y su velocidad de absorción es proporcional a su concentración. Muchos de los aniones (fosfatos, sulfatos), presentes en los alimentos, pueden reaccionar con plomo iónico dando sales insolubles que no se absorben en el tracto digestivo. Los niños absorben una parte mucho mayor de plomo dietético que los adultos.<sup>(45)</sup> La absorción por vía digestiva varía de acuerdo con la naturaleza del compuesto, en general se absorbe aproximadamente 10 % del plomo inorgánico ingerido. El calcio, hierro y fósforo en la dieta, pueden alterar la absorción gastrointestinal de éste metal.

Después de su absorción, el plomo inorgánico se distribuye inicialmente en los tejidos blandos, especialmente el epitelio tubular del riñón y en el

hígado. Con el tiempo se redistribuye y deposita en los huesos, dientes y cabello. <sup>(16-18)</sup> Solo pequeñas cantidades de plomo inorgánico se acumula en el cerebro, en la sustancia gris y los ganglios basales. Casi todo el plomo inorgánico circulante se asocia a los eritrocitos; únicamente cuando está presente en concentraciones relativamente altas queda una porción significativa en el plasma. <sup>(19)</sup>

El plomo ingerido se excreta en las heces y la orina. También se elimina con el sudor y en la leche materna. <sup>(20)</sup>

## 2. DISTRIBUCION EN HUESO

Alrededor del 95 % de la carga corporal del metal absorbido se deposita en los huesos. <sup>(21,22)</sup> El plomo de las sales óseas no contribuye a la toxicidad. Los factores que afectan la distribución del calcio afecta análogamente la del plomo. Una ingesta elevada de fosfato favorece el almacenamiento esquelético de plomo, y menor concentración en los tejidos blandos. A la inversa, una ingesta escasa de fosfatos moviliza el plomo óseo y eleva su contenido en los tejidos blandos.

La ingesta elevada de calcio en ausencia de elevación de la ingesta de fosfato tiene un efecto similar, debido a la competencia con el plomo por el fosfato disponible. La vitamina D tiende a remover el plomo en los huesos si se dispone de una cantidad suficiente de fosfato, si no el depósito de calcio sustituye al de plomo. La hormona paratiroidea y el dihidrotaquisterol movilizan el plomo del esqueleto y aumentan la concentración de plomo en la sangre y su índice de excreción urinario.

Puesto que el plomo se deposita en los huesos y dientes, se puede encontrar por medio de los rayos X la evidencia de una exposición en el pasado, por análisis en los dientes o por "la línea del plomo" azul gris en las encías de individuos que han tenido una exposición importante en presencia de una higiene dental pobre. <sup>(23)</sup>

## B. TOXICOLOGIA

### 1. ENVENENAMIENTO AGUDO POR PLOMO

El envenenamiento agudo por plomo no es muy común. Suele deberse a la inhalación de grandes cantidades de compuestos industriales de óxido de plomo, la ingestión de compuestos de plomo solubles en ácidos. Acciones locales en la boca producen marcada astrigencia, sed y un sabor metálico, se pueden presentar náuseas, dolores abdominales y vómitos. Las heces pueden ser negras debido al sulfuro de plomo, con diarrea o constipación. Los síntomas agudos del sistema nervioso central incluyen parestesia, dolor y debilidad muscular. A veces se produce una crisis hemolítica aguda que causa severa anemia y hemoglobinuria. Los riñones sufren daño, y hay evidente oliguria y cambios urinarios. La muerte puede ocurrir en uno o dos días. Si el paciente sobrevive al episodio agudo, es probable que aparezcan signos y síntomas característicos de envenenamiento crónico por plomo. (24)

## 2. ENVENENAMIENTO CRONICO POR PLOMO

Los signos y síntomas de envenenamiento crónico por plomo (saturnismo) pueden dividirse en seis categorías: gastrointestinales, neuromusculares, del sistema nervioso central, hematológicos, renales y otros. Pueden aparecer juntos o por separado. Los síndromes neuromuscular y sistema nerviosos central son resultado de una exposición intensa, y el síndrome abdominal de una exposición más lenta.

### a. EFECTOS GASTROINTESTINALES

El plomo afecta el músculo liso del intestino produciendo síntomas intestinales que son un importante signo precoz de exposición al metal. El síndrome abdominal comienza a menudo con síntomas vagos como anorexia, molestias musculares, cefalea. La constipación es generalmente un signo precoz especialmente en adultos, pero ocasionalmente hay diarrea. Al avanzar la intoxicación la anorexia y la constipación se hacen más marcados, el espasmo intestinal produce un gran dolor abdominal, los ataques son paroxísticos y generalmente

muy dolorosos. Los músculos abdominales se hacen rígidos y la hipersensibilidad se manifiesta especialmente en la región umbilical.

#### b. EFECTOS NEUROMUSCULARES

El síndrome neuromuscular es una manifestación de envenenamiento subagudo avanzado. Hay debilidad muscular y fácil fatiga mucho antes de una parálisis. Los grupos musculares afectados son generalmente los más activos.

#### c. EFECTOS RENALES

Se produce nefropatía. Los aminoácidos, glucosa y fosfato no pueden reabsorberse normalmente (síndrome de Fanconi), y es posible la hipofosfatemia. En la orina frecuentemente se encuentran albúmina y eritrocitos. Las biopsias renales y las muestras obtenidas en autopsias muestran fibrosis intersticial no específica, degeneración tubular y cambios glomerulares y vasculares.

#### d. EFECTOS HEMATOLOGICOS

Una manifestación hematológica muy conocida del saturnismo es la formación de agregados de ácido ribonucleico en los eritrocitos, que produce un punteado basófilo. Esto no es exclusivo del envenenamiento por plomo.

La anemia hipocrómica microcítica es más común que el punteado y es un hallazgo casi invariable en los niños afectados. Esta anemia puede deberse en parte a la destrucción de eritrocitos. El tipo de hemoglobina (HbA3) que se encuentra en eritrocitos de niños anémicos con una concentración elevada de plomo en la sangre es característico de los eritrocitos prematuramente envejecidos, pero la vida de la mayoría de los eritrocitos es normal. La anemia causada por el envenenamiento por plomo pocas veces es severa.

Las concentraciones muy bajas de plomo influyen en la síntesis del Hemo.<sup>(25)</sup> La inhibición se ve a nivel de la delta-aminolevulínico (delta-ALA) dehidratasa y ferroquelatasa.

La medición de los precursores del hemo es un índice de la absorción reciente de sales de plomo inorgánico. La actividad de la delta-ALA dehidratasa en hemolizados y delta-ALA en orina son indicadores sensibles de la exposición al plomo.

Los efectos más comunes, por intoxicación con plomo en los adultos son: anemia, con hemólisis de las células rojas maduras y alteraciones en la síntesis de hemoglobina, trastornos gastrointestinales (cólico) y neuropatías periféricas.

#### e. EFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SCN)

El síndrome del SNC se ha llamado encefalopatía por plomo. Es la manifestación más seria del envenenamiento por plomo. Se produce raramente en adultos, solo como consecuencia de la absorción rápida e intensa del metal, pero el síndrome es común en los niños.<sup>(26-28)</sup> Las primeras manifestaciones pueden ser torpeza, vértigo, ataxia, caldas, cefalea insomnio, inquietud e irritabilidad. También hay trastornos visuales, puede haber meningitis proliferativa, intenso edema, hemorragias puntiformes, gliosis y áreas de necrosis focal.

La exposición al plomo produce ocasionalmente un deterioro mental definido y progresivo en los niños.<sup>(29,30)</sup> Los antecedentes de los afectados indican un desarrollo normal durante los primeros 12 a 18 meses de vida o más, seguido de una pérdida sostenida de las habilidades motoras y del habla. Puede tener severos trastornos hiperkinéticos, conducta agresiva y convulsiones mal controladas. La falta de percepción sensitiva deteriora gravemente el aprendizaje. El sistema nervioso es más susceptible al daño permanente entre más pequeño es el niño y este principio se puede extrapolar así a la vida fetal.<sup>(31)</sup>

#### f. OTROS

Otros signos y síntomas de saturnismo son el color ceniciento de la cara y la palidez de los labios, el punteado retiniano la aparición de "envejecimiento prematuro" con postura caída de hombros, hipotonía muscular y una línea llamada de plomo, azul gris, a lo largo del margen gingival, resultado del depósito periodontal de sulfuro de plomo, que puede removerse con una buena higiene dental.

### C. ANALISIS DE PLOMO EN DIENTES.

La contaminación ambiental por plomo ha sido reconocida como la causa de efectos adversos en los niños. Una compilación de varios estudios en correlación entre la inteligencia de los niños y la exposición al plomo demostró una fuerte relación entre dosis respuesta. <sup>(22)</sup>

El plomo se une con gran firmeza a muchos tejidos en especial al hueso, por tanto, su depósito en cuerpo es sumamente lenta. El nivel sanguíneo (sobre todo en células rojas) refleja la ingestión diaria, mientras que la cantidad en el hueso refleja principalmente los antecedentes de exposición.

En diferentes estudios la cantidad de plomo presente en dientes ha sido usado como parámetro para medir el tiempo de exposición de niños y adultos (Barry 1978, Shapiro et. al. 1978, Needlenman et. al. 1979, Fergusson et. al. 1980, Steenhout ad pourtois 1981). <sup>(23)</sup>

Existen diferentes pruebas de laboratorio para medir el grado de exposición al plomo. Estas pruebas se pueden dividir en dos grupos :

1). Métodos Directos. Basados en la medición del metal en tejidos y líquidos corporales (hueso, dientes, orina sangre, etc.).

2). Métodos Indirectos. Miden elevaciones de metabolitos producidos por la acción del plomo presente en el organismo.

#### 1. METODOS DIRECTOS

El método que se ha utilizado para analizar plomo en muestras biológicas y ambientales, es el complejométrico con Ditizona, actualmente este es poco empleado.

En la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA), se han descrito muchos métodos de preparación, y concentración de la muestra, sin embargo todas tienen las características comunes de :

- 1) Digestión o tratamiento de la muestra para permitir la separación del plomo de la matriz .
- 2) Aspiración del plomo iónico en una flama o calentamiento del plomo iónico en solución por medios electrotérmicos, donde se reduce al estado atómico.
- 3). Cuantificación espectrofotométrica.

Se han publicado varios métodos aplicables en la técnica de espectrofotometría de absorción atómica. (34-37) Uno de éstos y el más empleado para el análisis de metales en niveles traza de plomo es con ditiocarbamato de amonio (APDC), éste quelato se extrae con metil isobutil cetona (MIBK), el extracto orgánico se analiza por absorción atómica con flama. (38-43)

Otra categoría general de métodos analíticos de plomo es la electroquímica. Esta técnica utiliza voltamperometría de reducción anódica (ASV). (44-46)

Otros métodos empleados para analizar plomo en dientes son: Fluorescencia, Rayos X (XRF), Emisión, Protón-Inducido, Rayos X (PIXE).

#### a. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

La espectrofotometría de absorción atómica utiliza con fines analíticos cuantitativos la propiedad que poseen los átomos neutros en el estado fundamental de absorber energía radiante en forma selectiva.

Esta metodología posee información acerca del contenido total de un compuesto metálico en una muestra, es una técnica muy útil y difundida en la determinación de metales traza en solución, permite determinar 72 elementos, alcanzando límites de detección bajos, del orden de los  $\mu\text{g/ml}$ , con excelente precisión y baja desviación estándar. Posee además la ventaja de disminuir las pocas interferencias químicas y espectrales, determinando la posibilidad de cuantificar el elemento en solución. <sup>(47,48)</sup>

En el análisis por absorción atómica el elemento a cuantificar debe ser introducido a la celda

de la muestra como átomos libres y neutros, a través de la celda pasa el haz de radiación que va a absorber la muestra. Frecuentemente este proceso se logra llevando una solución de la muestra como fina niebla a una flama apropiada, la cual desempeña la función de una celda conteniendo los átomos del elemento a cuantificar.

El átomo de cualquier elemento está formado por un núcleo rodeado por electrones en un número determinado por su número atómico, estos electrones se encuentran distribuidos en los orbitales atómicos de menor energía "estado basal", de acuerdo a la configuración electrónica, cuando el átomo absorbe energía un electrón de algún orbital puede ser promovido a un orbital más alejado del núcleo y pasar al "estado excitado" de alta energía, que es inestable, el electrón retorna espontáneamente a su orbital original o "estado basal", emitiendo energía. (Figura 1)

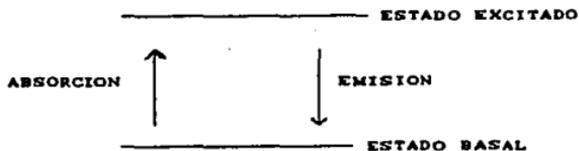


FIGURA 1. ENERGIA DE ABSORCION Y DE EMISION.

El espectro de absorción y de emisión de un elemento como átomo neutro consta de una serie de líneas finas bien definidas por su longitud de onda y su energía, éstas líneas provienen de las diferentes transiciones de electrones.

La longitud de onda de la energía absorbida o emitida es directamente proporcional a la transición electrónica que se efectúa. Como cada elemento posee un número de electrones único y en una distribución electrónica también única, el espectro de absorción o de emisión también es único para cada elemento, estas longitudes de onda en absorción atómica se conocen como líneas de resonancia.

Un requerimiento importante para que el proceso de absorción atómica sea efectivo y resulte de utilidad es que la mayoría de los átomos presentes en la muestra se encuentren en el estado basal, como átomos excitados o ionizados por la flama sea despreciable.

El análisis cuantitativo por absorción atómica se basa en el conocimiento de la cantidad de energía absorbida y su relación directa con la concentración del elemento a cuantificar, la energía absorbida tiene asociada una longitud de onda o línea de resonancia típica para cada elemento.

La radiación que proviene de la fuente con una intensidad  $I_0$ , es dirigida hacia la flama (celda), que contiene átomos en el estado basal, la radiación que emerge  $I$ , se ve disminuida en la concentración de átomos presentes en la flama, esta radiación  $I$  pasa a través del monocromador y finalmente llega al detector donde es medida.

#### D. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación generalmente incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad, proporcionando una medida del comportamiento del método.

La validación del método analítico puede definirse como el proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso en términos de parámetros analíticos.

El proceso de validación de un método en particular está basado en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

## 1. DEFINICIONES

a. **PERFIL DE FLAMA.** Se conoce como perfil de flama a la curva que se obtiene al graficar los valores de absorbancia (de una disolución), en función de la altura a la cual se encuentra el quemador. El perfil de flama varía dependiendo del elemento de que se trate, del disolvente en el que se encuentre y de los gases que se usen para la flama.

b. **LIMITE DE DETECCION.** Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de trabajo establecidas.

c. **LIMITE DE CUANTIFICACION.** Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

d. **ESPECIFICIDAD.** Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de muestra.

e. **LINEALIDAD.** La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

f. **INTERVALO.** El intervalo de un método analítico está definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles de concentración superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), en la cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

g. **PRECISION.** La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se

aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación. La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

1) REPETIBILIDAD. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, instrumento, laboratorio, muestra, etc.).

2) REPRODUCIBILIDAD. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizada bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.).

h. EXACTITUD. La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

## 2. DETERMINACIONES

a. PERFIL DE FLAMA. Se prepara una disolución de concentración conocida del elemento que se va a analizar en el disolvente de extracción. Si la flama es de aire-acetileno se varía la proporción de los gases, aspirando la disolución preparada en la flama y se mide la absorbancia hasta encontrar una mayor lectura.

Una vez que se conoce la composición óptima de la flama, se procede a variar la altura del quemador y se obtiene las lecturas de absorbancia.

b. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION. Para efectuar la determinación del límite de detección se preparan cuatro disoluciones, dos con una concentración del triple de lo señalado en el manual del equipo como límite de detección y otras dos del quintuple. Primero se ajusta el equipo con una disolución de mayor concentración que las anteriores y luego se aspira agua para lavar bien la cámara de premezclado y en seguida se toman 20 lecturas de cada una de las cuatro disoluciones.

El límite de cuantificación se toma como 10 veces la desviación estándar y es la cantidad mínima que se puede informar, cuando se efectúa una determinación, para tener la certeza de que la señal es debida al elemento medido.

c. ESPECIFICIDAD. La especificidad de un método analítico se demuestra al comparar los resultados del análisis de una muestra que contiene impurezas, productos de degradación o formación u otros componentes diferentes a la sustancia de interés, con una muestra que carece de lo anterior.

CRITERIO: Confirmar que el método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes.

d. LINEALIDAD DEL SISTEMA. Se determina construyendo una curva de calibración (concentración contra respuesta medida) utilizando cuando menos cinco diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método.

CRITERIO:

$$CV < \delta = 1.5 \%$$

$$r > \delta = 0.99, \quad r^2 > \delta = 0.98$$

$$m \cong 1.0, \quad b \cong 0.0$$

e. PRECISION DEL SISTEMA. Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 % establecido en la linealidad del sistema.

CRITERIO:

$$CV < \delta = 1.5 \%$$

f. LINEALIDAD DEL METODO. Se determina a partir de cantidades adicionadas de cuando menos tres diferentes concentraciones de la sustancia de interés, cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado.

Las concentraciones de las cantidades adicionadas deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones finales estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100 %. La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método.

CRITERIO:

$$m \cong 1, \quad b \cong 0, \quad r^2 > 0.98$$

$$\bar{x} = 97 - 103 \%, \quad CV < 0.03 = 3 \%$$

g. PRECISION (REPETIBILIDAD). Para cuantificar este parámetro se utilizan los datos obtenidos en la exactitud.

h. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD). Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100 % de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

i. EXACTITUD AL 100 %. Se determina de, cuando menos, seis placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100 %, utilizando el método propuesto, haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

CRITERIO:

$$\bar{r} = 97 - 103 \% , \quad CV < 6 = 3 \%$$

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la exposición al plomo de origen industrial en México, la vía de absorción gastrointestinal es importante, debido a los malos hábitos de higiene. La vía de absorción pulmonar representa para la población de los grandes asentamientos humanos la principal vía de absorción. (17)

Los niños están expuestos crónicamente a bajos niveles de plomo en su dieta, en el mismo aire que respiran, en el polvo y la tierra de los lugares donde juegan. Esto se refleja en elevadas concentraciones de plomo en sangre de varios niños (30 a 60  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) y puede ser causa de toxicidad para el SNC.

En general, los cambios funcionales en niños expuestos a bajos niveles de plomo que más frecuentemente han sido reportados son: un incremento en la incidencia de hiperactividad, problemas de aprendizaje y bajas en el coeficiente intelectual. (2)

La cantidad de plomo presente en dientes ha sido usado como parámetro para medir el tiempo de exposición de niños y adultos en diferentes estudios.

Aunque el método de Espectrofotometría por Absorción Atómica tiene la precisión y exactitud para obtener resultados analíticos aceptables para la determinación de plomo en dientes, se debe asegurar la calidad de los resultados obtenidos, es decir, que la técnica proporcione resultados confiables, lo cual solo se puede garantizar mediante una validación del método desarrollado.

La validación se convierte en una valiosa arma en la implementación de métodos analíticos, es decir en aquellos casos en los que resulta necesario adecuar dichos métodos a las condiciones de cada laboratorio. Tal es el caso del presente trabajo, para el cual se recurrió al desarrollo e implementación del método para la cuantificación de plomo en dientes de niños.

#### IV. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL:

Validar el método analítico para la cuantificación de plomo en muestras de dientes, empleando el sistema de quelación-extracción con pirrolidín ditiocarbamato de amonio/metil isobutil cetona (APDC/MIBK).

##### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Determinar el perfil de flama para Pb.
2. Determinar el límite de detección para Pb.
3. Determinar el límite de cuantificación para Pb.
4. Determinar el efecto del pH en la eficiencia de la extracción del quelato (Pb-APDC).
5. Determinar los tiempos de agitación óptimos para la formación del quelato (Pb-APDC).
6. Determinar la especificidad, linealidad, precisión y exactitud del método analítico.

## V. HIPOTESIS

Dado que una porción del plomo que se absorbe por vía respiratoria y gastrointestinal se distribuye en dientes, se puede cuantificar la cantidad del metal presente en ellos, mediante la disolución de las muestras, formando posteriormente un quelato de plomo con pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC), y extrayendo con metil isobutil cetona para evaluarlo mediante espectroscopía de absorción atómica. Para asegurar que los resultados obtenidos son confiables se debe validar el método analítico.

## VI. MATERIAL Y METODO.

### A. MATERIAL

1. Vasos de precipitado de 50, 100 ml. Pyrex.
2. Matraces aforados de 25, 50 y 100 ml. Pyrex.
3. Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 5 y 10 ml. Pyrex.
4. Pipeta automática 5-200  $\mu$ l.
5. Pipetas graduadas de 5 y 10 ml. Pyrex.
6. Pipetas pasteur.
7. Tubos para centrifuga de 15 ml. Pyrex.
8. Tubos de ensayo de 10 ml. Pyrex.
9. Pinzas, espátula, perilla, piseta, gradilla.
10. Parrilla de calentamiento.

### B. INSTRUMENTOS

1. Potenciómetro. CORNING 20.
2. Balanza Analítica. AINSWORTH. MODEL 100A
3. Espectrofotómetro de Absorción Atómica. PYE UNICAM  
SP-192.

### C. METODO GENERAL

Los dientes se pulieron y lavaron correctamente con detergente no iónico y agua desionizada. Las piezas se pesaron individualmente y se colocaron en vasos de precipitado de 50 ml. Se secaron a  $110^{\circ}\text{C}$  durante 4 horas y  $60^{\circ}\text{C}$  durante 12 horas. Una vez secos se pesaron. Se adicionó ácido nítrico y se calentó hasta disolución. Se aforó a 50 ml con agua desionizada. De ésta solución se tomó una alícuota, se adicionó 1.0 ml de buffer glicina 0.2 M - ácido clorhídrico a pH 2.0 se adicionó pirrolidín ditiocarbamato de amonio se extrajo con metil isobutil cetona (MIBK). Se separó la fase orgánica y se sometió a análisis por absorción atómica. De forma paralela se trabajó un blanco.

#### 1. PERFIL DE FLAMA .

De una solución de 1.0 ppm, se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se realizó el método general para la formación del quelato. Las lecturas de absorbancia se efectuaron a diferentes alturas del quemador ( 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18 y 20 mm.).

## 2. TIEMPO DE AGITACION

Se preparó una solución de 1.0 ppm de Pb en agua. De esta solución se tomaron alícuotas de 5.0 ml. y se colocaron en tubos de centrifuga, se adicionó 1.0 ml de buffer glicina - ácido clorhídrico a pH 2.0 . Se adicionó pirrolidín ditiocarbamato de amonio y se agitó por 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0 minutos. El quelato se extrajo con metil isobutil cetona y se analizó mediante absorción atómica. El análisis de cada una de las muestras se hizo por duplicado, para obtener los datos de absorbancia.

## 3. EFECTO DEL pH

Se preparó una solución de 1.0 ppm. de Pb en agua. De esta solución se tomaron alícuotas de 5.0 ml. y se colocaron en tubos de centrifuga, se adicionó 1.0 ml de glicina variando el pH desde 0 hasta 14 adicionando HCl o NaOH. Se adicionó pirrolidín ditiocarbamato de amonio y se agitó por 1.0 min. El quelato se extrajo con metil isobutilcetona y se analizó mediante absorción atómica. El análisis de cada una de las muestras se hizo por duplicado.

#### 4. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

Se prepararon dos soluciones por duplicado de 0.25 y 1.0 ppm. Se tomaron alícuotas de 5.0 ml de éstas soluciones y se les realizó el procedimiento general para la formación del quelato. Se tomaron 20 lecturas de absorbancia de cada una de las concentraciones, para determinar el límite de detección y de cuantificación.

#### 5. ESPECIFICIDAD

Se construyó una curva de calibración empleando la disolución de dientes a la cual se le adicionó diferentes cantidades de plomo (0.6, 0.8, 1.0 y 1.2 ppm.) para obtener la gráfica de absorbancia contra concentración. Se preparó una curva patrón de Pb en solución acuosa y se compararon ambas gráficas. Se trabajó una muestra de la solución de dientes sin adicionarle Pb y se obtuvo su absorbancia.

## 6. LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración contra absorbancia), utilizando la siguiente concentración: 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm de Pb. De éstas soluciones se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se les realizó el método general para la formación del quelato. El análisis de cada dilución se hizo por duplicado.

## 7. PRECISION DEL SISTEMA

Se determinó por el análisis sextuplicado de una solución de 1.0 ppm de Pb, se tomaron alícuotas de 5 ml y se les realizó el método general para la obtención del quelato de plomo con pirrolidín ditiocarbamato de amonio.

## 8. LINEALIDAD DEL METODO

Se determinó a partir de cantidades adicionadas a una solución de dientes que van de: 60, 80, 100 y 120 % (tomando como el 100 % la concentración de 1.0 ppm), cada una de manera independiente. Los análisis se hicieron por cuadruplicado.

#### 9. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %

Se determinó a partir de seis disoluciones de dientes, adicionando de manera independiente 1.0 ppm de Pb (correspondiente al 100 %), utilizando el método general para la obtención del quelato de plomo con APDC. El análisis se hizo bajo las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

#### 10. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

Se determinó a partir de una muestra homogénea de Pb cercana al 100 % (1.0 ppm) y se analizó por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

## VII. RESULTADOS

1. PERFIL DE FLAMA.

Tabla No. 1. Valores de absorbancia a las diferentes alturas del quemador

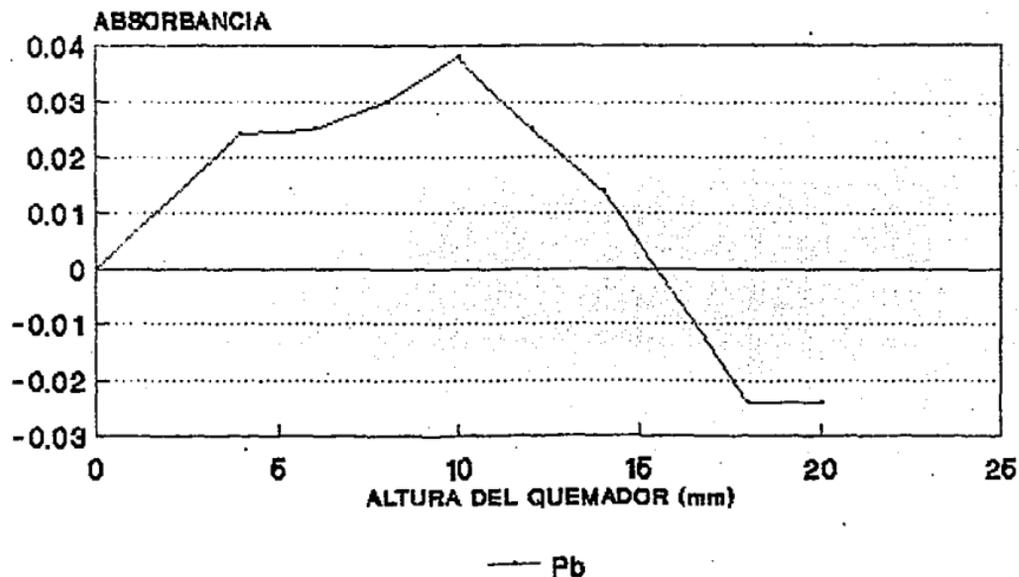
| ALTURA (mm) | ABSORBANCIA |
|-------------|-------------|
| 4.0         | 0.0244      |
| 6.0         | 0.0254      |
| 8.0         | 0.0300      |
| 10.0        | 0.0380      |
| 12.0        | 0.0250      |
| 14.0        | 0.0140      |
| 18.0        | -0.0240     |
| 20.0        | -0.0240     |

2. TIEMPO DE AGITACION.

Tabla No.2. Lecturas de absorbancia a diferentes tiempos de agitación.

| TIEMPO (min) | ABSORBANCIA |
|--------------|-------------|
| 0.5          | 0.026       |
| 1.0          | 0.025       |
| 1.5          | 0.023       |
| 2.0          | 0.025       |
| 3.0          | 0.025       |

# PERFIL DE FLAMA PARA Pb.

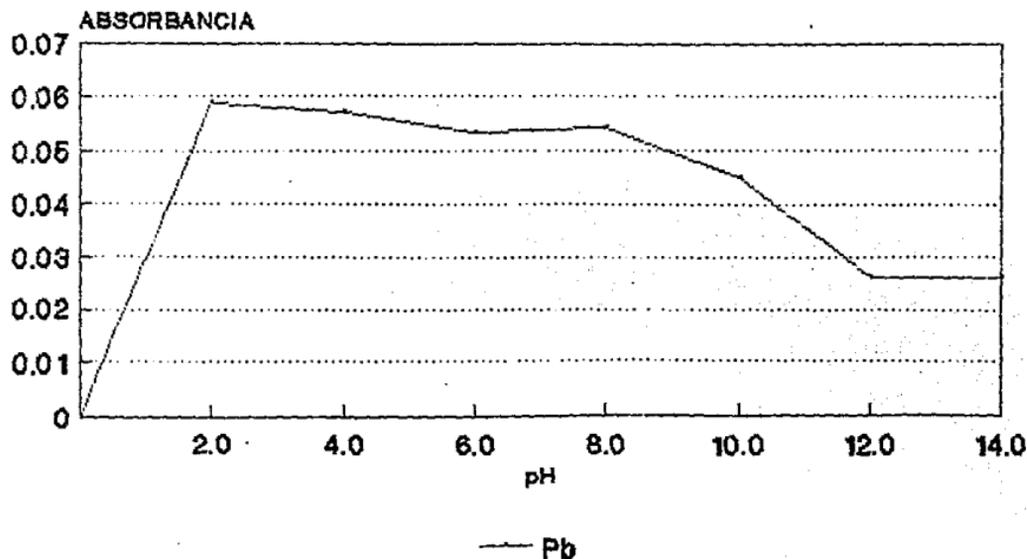


Grafica No. 1 Perfil de Flama.  
Sistema APDC-MIBK.

**3. EFECTO DEL pH EN LA EXTRACCION DEL QUELATO****Tabla No.3. Absorbancias obtenidas a diferentes pH.**

| <b>pH</b> | <b>ABSORBANCIA</b> |
|-----------|--------------------|
| 2.0       | 0.0585             |
| 4.0       | 0.0565             |
| 6.0       | 0.0535             |
| 8.0       | 0.0535             |
| 10.0      | 0.0445             |
| 12.0      | 0.0255             |
| 14.0      | 0.0255             |

# PH OPTIMO DE EXTRACCION PARA EL QUELATO Pb-APDC



GRAFICA No. 2. Efecto del pH, en la eficiencia de extracción del Pb. Usando el sistema APDC-MIBK

**4. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION**

Tabla No 4. Absorbancias de dos soluciones de Pb a diferente concentración.

| MUESTRA | A B S O R B A N C I A<br>(CONCENTRACION 0.02 PPM) |       |
|---------|---|-------|
|         | 1   | 0.006 |
| 2       | 0.007   | 0.008 |
| 3       | 0.006   | 0.009 |
| 4       | 0.007   | 0.009 |
| 5       | 0.006   | 0.007 |
| 6       | 0.005   | 0.008 |
| 7       | 0.009   | 0.007 |
| 8       | 0.010   | 0.007 |
| 9       | 0.008   | 0.006 |
| 10      | 0.007   | 0.008 |
| 11      | 0.008   | 0.008 |
| 12      | 0.006   | 0.006 |
| 13      | 0.007   | 0.007 |
| 14      | 0.007   | 0.006 |
| 15      | 0.010   | 0.007 |
| 16      | 0.007   | 0.008 |
| 17      | 0.009   | 0.009 |
| 18      | 0.009   | 0.008 |
| 19      | 0.008   | 0.007 |
| 20      | 0.008   | 0.008 |

LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

Tabla No 5. Absorbancias de dos soluciones de Pb a diferente concentración.

| MUESTRA | A B S O R B A N C I A<br>(CONCENTRACION 0.04 PPM) |       |
|---------|---|-------|
|         | 1   | 0.034 |
| 2       | 0.036   | 0.036 |
| 3       | 0.035   | 0.035 |
| 4       | 0.035   | 0.035 |
| 5       | 0.035   | 0.037 |
| 6       | 0.036   | 0.036 |
| 7       | 0.037   | 0.037 |
| 8       | 0.036   | 0.036 |
| 9       | 0.036   | 0.037 |
| 10      | 0.036   | 0.035 |
| 11      | 0.035   | 0.036 |
| 12      | 0.036   | 0.036 |
| 13      | 0.036   | 0.036 |
| 14      | 0.035   | 0.035 |
| 15      | 0.036   | 0.036 |
| 16      | 0.037   | 0.037 |
| 17      | 0.036   | 0.036 |
| 18      | 0.035   | 0.036 |
| 19      | 0.036   | 0.035 |
| 20      | 0.036   | 0.036 |

Concentración = 0.02 ppm

$\bar{x} = 0.0072$

$s = 0.001056309$

LD = 0.0088

LQ = 0.027

Concentración = 0.02ppm

$\bar{x} = 0.00755$

$s = 0.000944513$

LD = 0.0075

LQ = 0.025

Concentración = 0.04 ppm

$\bar{x} = 0.0357$

$s = 0.0007163$

LD = 0.0024

LQ = 0.0080

Concentración = 0.04ppm

$\bar{x} = 0.03575$

$s = 0.0007181$

LD = 0.0024

LQ = 0.0080

### 5. ESPECIFICIDAD

Tabla. No.6. Absorbancias obtenidas en la solución de dientes, con cantidades adicionads de Pb.

| CONCENTRACION<br>ppm   | ABSORBANCIA |
|------------------------|-------------|
| 0.60                   | 0.38        |
| 0.80                   | 0.47        |
| 1.00                   | 0.56        |
| 1.20                   | 0.65        |
| SOLUCION DE<br>DIENTES | 0.12        |

Tabla No.7. Absorbancias obtenidas en una solución estándar de Pb.

| CONCENTRACION<br>ppm | ABSORBANCIA |
|----------------------|-------------|
| 0.60                 | 0.27        |
| 0.80                 | 0.36        |
| 1.00                 | 0.44        |
| 1.20                 | 0.52        |

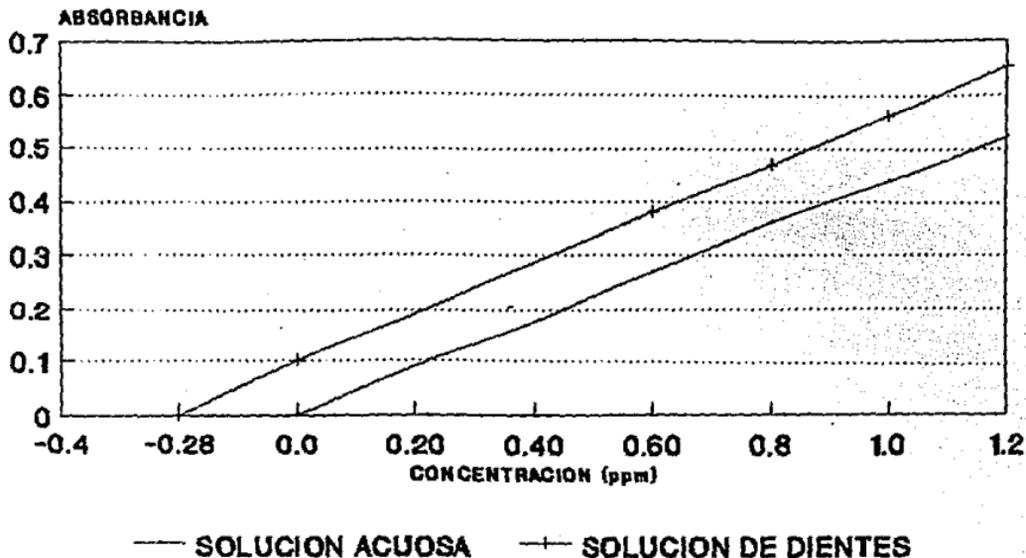
**Cálculo de las pendientes:****a) Solución estándar de plomo:**

$$m = \frac{0.52 - 0.27}{1.2 - 0.6} = 0.41$$

**b) Solución de dientes :**

$$m = \frac{0.65 - 0.38}{1.2 - 0.6} = 0.45$$

# ESPECIFICIDAD DEL METODO ANALITICO.



Grafica No 3. Comparación de dos curvas para Pb en solución de dientes y en solución acuosa.

6. LINEALIDAD DEL SISTEMA

Tabla. No. 8. Linealidad del sistema para Pb.  
empleando el sistema APDC-MIBK.

| CONC. ( ppm ) | A B S O R B A N C I A |       |
|---------------|-----------------------|-------|
| 0.2           | 0.006                 | 0.005 |
| 0.5           | 0.016                 | 0.017 |
| 1.0           | 0.034                 | 0.035 |
| 1.5           | 0.052                 | 0.052 |
| 2.0           | 0.070                 | 0.070 |

$$\Sigma x = 10.40$$

$$\Sigma y = 0.357$$

$$\Sigma x^2 = 15.08$$

$$\Sigma y^2 = 0.018195$$

$$\Sigma xy = 0.5237$$

Coefficiente de correlación.

$$r = \frac{[(2)(5)(0.5237) - (10.4)(0.357)]^2}{\left[ (2)(5)(15.08) - (10.4)^2 \right] \left[ (5)(2)(0.018195) - (0.357)^2 \right]}^{\frac{1}{2}}$$

$$r = 0.999841419$$

Coefficiente de determinación:

$$r^2 = 0.99968286$$

Desviación estándar:

$$DE = \left[ \frac{(10)(0.032988) - (0.328)^2}{(10)(10-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 0.049488045$$

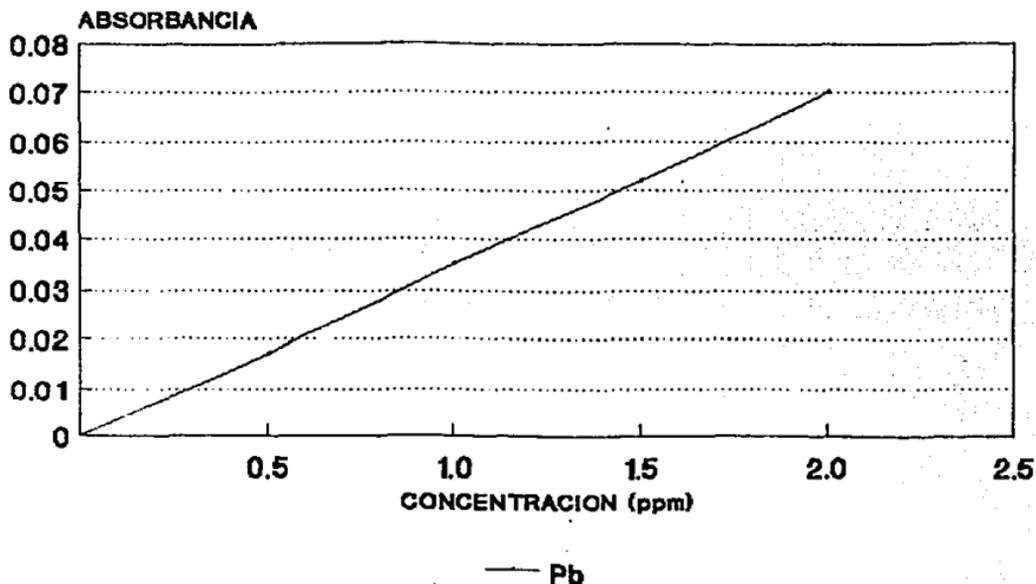
Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{0.049488045}{3.28} \times 100 = 1.5 \%$$

Pendiente:

$$m = \frac{(5)(2)(0.5237) - (10.4)(0.357)}{(5)(2)(15.08) - (10.40)^2} = 0.03574$$

# LINEALIDAD DEL SISTEMA PARA PLOMO



Grafica No. 4. Linealidad del Sistema  
Para Pb. Sistema APDC-MIBK

Ordenada:

$$b = \frac{(0.037) - (0.03574)(10.04)}{(2)(5)} = - 0.033599$$

Criterio de aceptación: El sistema es lineal

ya que:

$$CV = 1.5$$

$$r = 0.99$$

$$r^2 = 0.99$$

#### 7. PRECISION DEL SISTEMA

Tabla 9. Absorbancias obtenidas de seis muestras de una solución estándar de Pb al 100 %.

| CONCENTRACION (ppm) | ABSORBANCIA |
|---------------------|-------------|
| 1.0                 | 0.044       |
| 1.0                 | 0.045       |
| 1.0                 | 0.045       |
| 1.0                 | 0.043       |
| 1.0                 | 0.044       |
| 1.0                 | 0.043       |

$$\Sigma y = 0.264$$

$$\Sigma y^2 = 0.011617$$

$$\bar{y} = 0.044$$

Desviación estándar:

$$DE = \left[ \frac{(6)(0.011617) - (0.264)^2}{(6)(6-1)} \right]^{1/2} = 0.000447213$$

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{0.000447213}{0.044} \times 100 = 1.01639 \%$$

Criterio de aceptación: El sistema es preciso ya que cumple con el criterio de aceptación

$$CV = 1.01 \%$$

B. LINEALIDAD DEL METODO

Tabla No.10. Linealidad del método. Cantidades recuperadas de Pb en la solución de dientes.

| CANTIDAD<br>ADICIONADA ppm | CANTIDAD<br>RECUPERADA ppm | % RECUBRO |
|----------------------------|----------------------------|-----------|
| 0.60                       | 0.60                       | 60.00     |
| 0.60                       | 0.58                       | 58.18     |
| 0.60                       | 0.61                       | 61.80     |
| 0.60                       | 0.60                       | 60.00     |
| 0.80                       | 0.78                       | 78.18     |
| 0.80                       | 0.80                       | 80.00     |
| 0.80                       | 0.81                       | 81.88     |
| 0.80                       | 0.80                       | 80.00     |
| 1.00                       | 0.98                       | 98.18     |
| 1.00                       | 1.00                       | 100.00    |
| 1.00                       | 1.00                       | 100.00    |
| 1.00                       | 1.01                       | 101.81    |
| 1.20                       | 1.21                       | 121.88    |
| 1.20                       | 1.20                       | 120.00    |
| 1.20                       | 1.18                       | 118.18    |
| 1.20                       | 1.20                       | 120.00    |

$$\Sigma x = 1440.00$$

$$\Sigma y = 1440.09$$

$$\Sigma x^2 = 137600.00$$

$$\Sigma y^2 = 137646.4345$$

$$\Sigma xy = 137609.80$$

$$s_x = 24.4969$$

Pendiente:

$$m = \frac{(4)(4)(137609.8) - (1440)(1440.09)}{(4)(4)(137600) - (1440)^2} = 1.0002125$$

Ordenada al origen:

$$b = \frac{(1440.09) - (1.0002125)(1440)}{16} = -0.0135$$

Coefficiente de determinación:

$$r^2 = \frac{\left[ (16)(137609.8) - (1440)(1440.09) \right]^2}{\left[ (16)(137600) - (1440)^2 \right] \left[ (16)(137646.43) - (1440.09)^2 \right]}$$

$$r^2 = 0.996658$$

$$r = 0.998327601$$

$$\Sigma R = 1599.915$$

$$\Sigma R^2 = 160023.9923$$

$$\bar{R} = 99.99$$

$$DE = 2.7327$$

$$CV = 2.732932$$

Contraste de Hipótesis para la pendiente.

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m = 1$$

Error típico:

$$S_{y/x} = \left[ \frac{(137646.43) - (-0.0135)(1440.09) - (1.0)(137609.8)}{16} \right]^{1/2}$$

$$S_{y/x} = 1.295029922$$

$$\hat{S}_{y/x} = \left[ \frac{16}{16 - 1} \right]^{1/2} (1.295029922) = 1.337501153$$

$$t_{\text{calc.}} = \frac{(1.0002125 - 1.0)(24.49698079)(16-1)^{1/2}}{1.337501153}$$

$$t_{\text{calc}} = 0.015073807$$

$$t_{\alpha/2} = 2.602$$

$$t_{\alpha/2} = - 2.602$$

$-2.602 < 0.0150 < 2.602$  . Por lo tanto se acepta  $H_0$ . La pendiente es igual a uno.

Contraste de hipótesis para la ordenada .

$$H_0 : \quad b = 0$$

$$H_a : \quad b \neq 0$$

Estadígrafo de prueba:

$$t_{\text{calc.}} = \frac{-0.0135 - 0.00}{(1.3375) \left[ \frac{137600.00}{(16)(9601633085)} \right]^{1/2}} = - 2.05 \times 10^{-8}$$

$-2.602 < -2.05 \times 10^{-8} < 2.602$ . Por lo tanto se acepta  $H_0$ . La ordenada es igual a cero.

Intervalo de confianza:

a) pendiente:

$$1.000212 \pm (2.602) \left[ \frac{1.3375011}{24.4969 (15)^{1/2}} \right]$$

$$IC = ( 0.9635 \text{ a } 1.03689 )$$

b) ordenada:

$$-0.0135 \pm (2.602) (0.001265)$$

$$IC = (-0.0102 \text{ a } 0.003293 )$$

Criterio de aceptación: El método es lineal

ya que:

$$m = 1.0$$

$$r = 0.99$$

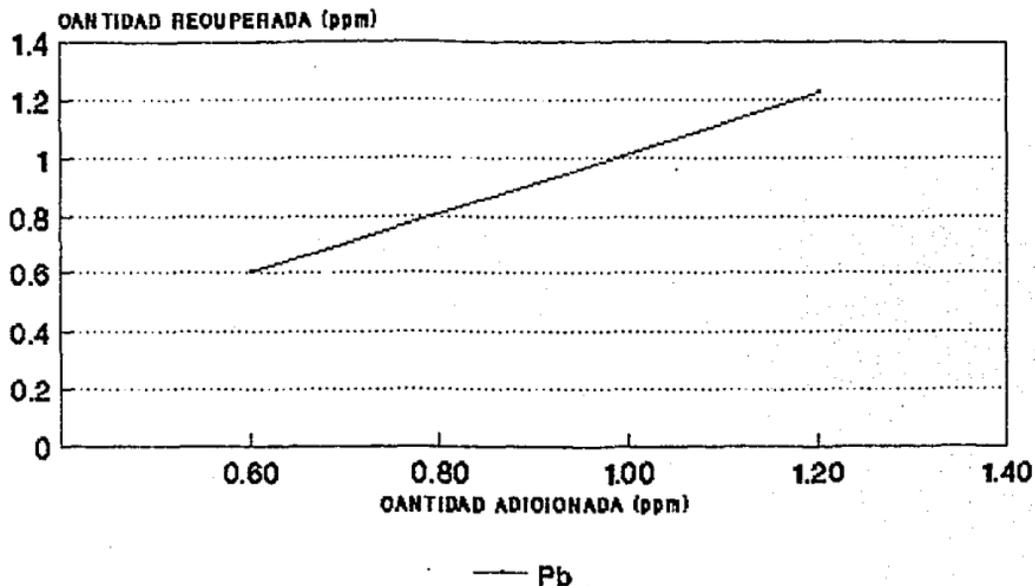
$$b = 0.0$$

$$CV = 2.73$$

$$r^2 = 0.99$$

$$\bar{r} = 99.96$$

# LINEALIDAD DEL METODO PARA PLOMO



Gráfica No 5. Linealidad del Método  
Para Pb. Sistema APDC-MIBK

9. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %

Tabla No.11. Porcentaje de recobro de Pb, en una solución de dientes, de cantidades adicionadas.

| CANTIDAD<br>ADICIONADA ppm | CANTIDAD<br>RECUPERADA ppm | % RECOBRO |
|----------------------------|----------------------------|-----------|
| 1.00                       | 0.97                       | 97.72     |
| 1.00                       | 0.97                       | 97.72     |
| 1.00                       | 1.00                       | 100.00    |
| 1.00                       | 1.00                       | 100.00    |
| 1.00                       | 0.97                       | 97.72     |
| 1.00                       | 1.02                       | 102.27    |

$$\Sigma R = 603.7$$

$$\Sigma R^2 = 60746.845$$

$$\bar{R} = 100.6166$$

Desviación estándar:

$$DE = \left[ \frac{(6)(60746.845) - (603.7)^2}{(6)(6-1)} \right]^{1/2} = 0.95533589$$

Coefficiente de variación.

$$CV = \frac{0.95533589}{100.6166} \times 100 = 0.949480767 \%$$

Contraste de hipótesis:

$$H_0 : \mu = 0$$

$$H_a : \mu \neq 0$$

Estadígrafo de contraste:

$$t_{\text{cal}} = \frac{100.61 - 100}{\frac{0.9553}{(6)^{1/2}}} = 1.5809$$

$$t_{\text{tab}(4,0.05)} = 2.1318$$

$$IC = ( 99.78 - 101.44 )$$

Criterio de aceptación: Se acepta  $H_0$ , ya que:

$t_{\text{cal}} < t_{\text{tab}}$ . Por lo tanto el método es exacto, es decir existe una concordancia de los resultados obtenidos en el análisis experimental con respecto al valor de referencia.

$CV < 3.0$ , y  $\bar{x} = 100.61$ . El método es repetible por un mismo analista, entre determinaciones independientes.

10. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

Tabla No.12. Porcentaje de recobro de Pb obtenido por dos analistas en dos días diferentes.

| ANALISTA |   |        |        |
|----------|---|--------|--------|
|          |   | 1      | 2      |
| D        | 1 | 100.00 | 100.00 |
|          |   | 100.00 | 102.27 |
| I        |   | 97.77  | 97.72  |
|          |   |        |        |
| A        | 2 | 101.58 | 97.72  |
|          |   | 100.00 | 100.00 |
|          |   | 98.41  | 100.00 |

$$\Sigma y_i = 597.76$$

$$\Sigma y_{i_1} = 597.60$$

$$\Sigma y_{i_2} = 1195.36$$

$$\Sigma \Sigma y_{ij} = 357226.6852$$

$$(\Sigma y_i)^2 = 714442.7776$$

$$\Sigma \Sigma y^2_{ijk} = 119098.0608$$

Suma de cuadrados:

$$SCa = \frac{714442.7776}{(2)(3)} - \frac{(1195.36)^2}{(2)(2)(3)} = 0.00214$$

$$SCd = \frac{357226.6852}{3} - \frac{714442.7776}{(2)(3)} = 1.76546$$

$$SCe = 119098.0608 - \frac{357226.6852}{3} = 22.49907$$

Tabla No.13. Análisis de varianza (ANADEVA)

| FUENTE DE VARIACION | GRADOS DE LIBERTAD | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA DE CUADRADOS | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| ANALISTA<br>α       | gla= 1             | SCA =<br>0.00214  | MCA =<br>0.00214   | Fa =<br>0.0024   | 18.51             |
| DIA<br>σ            | gld= 2             | SCd =<br>1.7654   | MCD =<br>0.88273   | Fd =<br>0.8138   | 4.41              |
| ERROR<br>ε          | gle= 8             | SCe =<br>22.4990  | MCE =<br>2.8123    |                  |                   |

$F_a < F_{0.05}$  El método analítico es reproducible por los analistas.

$F_d < F_{0.05}$  El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

### VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Antes de iniciar la validación del método se llevaron a cabo diferentes pruebas con solución estándar, con objeto de dejar establecido el método para la cuantificación de plomo en dientes. Se determinó el perfil de flama, ya que éste varía dependiendo del elemento del que se trate, del disolvente en el que se encuentre y de los gases que se usan para la flama en absorción atómica. Encontrándose que la altura del quemador a la que se obtenía una mayor lectura de absorbancia era de 10 mm, por lo que se mantuvo constante ésta altura en todas las determinaciones.

Se determinó también el tiempo de agitación y el pH al cual se obtenía una mayor lectura de absorbancia. Los resultados de las absorbancias obtenidas en los diferentes tiempos de agitación de las muestras, son muy parecidas, por lo que se puede decir que el quelato se forma inmediatamente después de la reacción entre el plomo y la pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y esto no depende del tiempo de agitación de las muestras. Con lo que respecta al pH, se encontró que a pH ácido se obtenía una mayor lectura de absorbancia que a pH básico, siendo el rango de pH de 2 a 3 donde se obtuvo una lectura mayor de absorbancia.

Los límites de detección y de cuantificación que se obtuvieron fueron de 0.0040 y 0.012 respectivamente.

Los resultados obtenidos en la validación del método para la cuantificación de plomo en dientes; muestran que el sistema resultó ser lineal a las concentraciones utilizadas, es decir se obtuvo una respuesta proporcional con respecto a la concentración de plomo en la muestra. El sistema resultó también ser preciso ya que se obtuvo un coeficiente de variación menor a 1.5 % .

Dado que el sistema resultó ser lineal y preciso se procedió a la validación del método, para ello fué necesario utilizar cantidades adicionadas, en este caso la solución que se utilizó para hacer las determinaciones fué; los dientes diluidos en ácido nítrico concentrado y agua, por lo que para las diferentes determinaciones se consideró el plomo inicial presente en las muestras. Estadísticamente los resultados demuestran que el método es lineal y exacto, con esto se asegura que la influencia de las variables como son analista, reactivos equipo, no influyen en la medición de la absorbancia.

El método analítico es reproducible por dos analistas y en distintos días por un mismo analista, lo cual garantiza que bajo diferentes condiciones de análisis, se obtienen resultados confiables, aún cuando no se pueda controlar variables tales como reactivos empleados, material utilizado, analista o día de la determinación.

## IX. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio de validación para el método de cuantificación de plomo en dientes demuestran que éste es específico, lineal, exacto, preciso (repetible y reproducible). Por lo que se concluye que el efecto de las variables físicas, químicas e instrumentales sobre el método, no afectan la capacidad del mismo para proporcionar resultados confiables. Es decir aún cuando no se puedan controlar variables tales como; reactivos empleados, material utilizado, equipo analista o día del análisis se obtienen resultados consistentes.

Por todo lo anterior el método puede ser empleado con un alto grado de confiabilidad en el laboratorio de Espectroscopía de Absorción Atómica en la FES zaragoza Campus II, para cuantificar plomo en dientes.

## X. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

Los parámetros de validación que no fueron determinados en este trabajo y que se proponen que se realicen son los siguientes:

**TOLERANCIA:** La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones normales de operación tales como diferentes lotes de reactivos, proveedores.

**ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.** Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés después de almacenarse durante un tiempo determinado antes de su lectura.

## X I . A N E X O

### A. CALCULOS ESTADISTICOS

#### 1. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION.

DESVIACION ESTANDAR:

$$s = \left[ \frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$$

Donde:

s = desviación estándar.

x = cada una de las lecturas  
individuales.

$\bar{x}$  = promedio de las lecturas.

n = número de las lecturas.

Con la desviación estándar se calcula el límite de detección y cuantificación.

$$LD = \frac{3sc}{\bar{x}} \qquad LO = \frac{10sc}{\bar{x}}$$

Donde:

c = Concentración.

LD = límite de detección.

LO = límite de cuantificación.

## 2. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Los resultados se tabulan de acuerdo al siguiente formato:

| CONCENTRACION (X) | PROPIEDAD MEDIDA (Y)               |
|-------------------|------------------------------------|
| $X_1$             | $Y_{11} \ Y_{12} \ \dots \ Y_{1n}$ |
| $X_2$             | $Y_{21} \ Y_{22} \ \dots \ Y_{2n}$ |
| $\vdots$          | $\vdots$                           |
| $X_t$             | $Y_{t1} \ Y_{t2} \ \dots \ Y_{tn}$ |

t= número de diluciones

n= número de replicaciones (propiedad medida) de  
 cada dilución de la solución patrón.

NOTA: Para proceder a los siguientes cálculos es necesario que el número de muestras por dilución, sean equivalentes.

Cálculos preliminares para el coeficiente de correlación y de determinación:

$$\Sigma x = n (x_1 + x_2 + \dots + x_t)$$

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\Sigma x^2 = n (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_t^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 + y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\Sigma xy = x_1 (y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n}) + x_2 (y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n}) + \dots + x_t (y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn})$$

Cálculos finales para el coeficiente de correlación y de determinación.

$$r = \left[ \frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)\Sigma y]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right]^{1/2}$$

$$r^2 = (r)^2$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de variación. Calcular para cada punto de la linealidad del sistema el siguiente factor:

$$F = \frac{\text{propiedad medida (y)}}{\text{conc. de la dilución de la solución patrón (x)}}$$

$$F_{11} = \frac{Y_{11}}{X_1} \quad F_{12} = \frac{Y_{12}}{X_1} \quad F_{1n} = \frac{Y_{1n}}{X_1} \dots$$

$$F_{t1} = \frac{Y_{t1}}{X_t} \quad F_{t2} = \frac{Y_{t2}}{X_t} \quad F_{tn} = \frac{Y_{tn}}{X_t}$$

Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados de factores y la media de factores:

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \dots + F_{t1} + F_{t2} + F_{tn}$$

$$\Sigma F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{t1}^2 + F_{t2}^2 + F_{tn}^2$$

$$\bar{f} = \frac{\Sigma F}{N}$$

N = número de puntos de la linealidad del sistema.

Cálculos finales para el coeficiente de variación.

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

$$CV = \frac{DE}{\bar{F}} \times 100$$

PENDIENTE:

$$m = \frac{nt (\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

ORDENADA:

$$b = \frac{\Sigma y - m (\Sigma x)}{nt}$$

CRITERIO:

$$CV < 6 = 1.5 \%$$

$$r > 6 = 0.97, \quad r^2 > 6 = 0.98$$

$$m \cong 1.0, \quad b \cong 0.0$$

## 3. PRECISION DEL SISTEMA.

Tabular los resultados:

$$Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_N$$

Cálculos preliminares:

$$\Sigma y = y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_n$$

$$\Sigma y^2 = y_1^2 + y_2^2 + y_3^2 + \dots + y_n^2$$

$$y = \frac{\Sigma y}{N}$$

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

Cálculos finales para el coeficiente de variación:

$$CV = \frac{DE}{\bar{y}} \times 100$$

CRITERIO:

$$CV < \delta = 1.5 \%$$

#### 4. LINEALIDAD DEL METODO.

Tabular los resultados en base al siguiente formato:

| CANTIDAD ADICIONADA (X)         | CANTIDAD RECUPERADA (Y)         |
|---------------------------------|---------------------------------|
| $x_{11}, x_{12}, \dots, x_{1n}$ | $y_{11}, y_{12}, \dots, y_{1n}$ |
| $x_{21}, x_{22}, \dots, x_{2n}$ | $y_{21}, y_{22}, \dots, y_{2n}$ |
| $\vdots$                        | $\vdots$                        |
| $x_{t1}, x_{t2}, \dots, x_{tn}$ | $y_{t1}, y_{t2}, \dots, y_{tn}$ |

t = número de cantidades adicionadas

n = número de repeticiones (cantidad recuperada) por  
cantidad adicionada.

Para proceder a los siguientes cálculos es  
necesario que el número de cantidades recuperadas de  
cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

Cálculos preliminares:

$$\Sigma x = (t) (x_{11} + x_{12} + \dots + x_{1n} + x_{21} + x_{22} + \dots + x_{2n} + \dots + x_{t1} +$$

$$x_{t2} + \dots + x_{tn})$$

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} +$$

$$y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\Sigma x^2 = (t) (x_{11}^2 + x_{12}^2 + \dots + x_{1n}^2 + x_{21}^2 + x_{22}^2 + \dots + x_{2n}^2 + \dots + x_{t1}^2 +$$

$$x_{t2}^2 + \dots + x_{tn}^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 +$$

$$y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\Sigma xy = x_{11}y_{11} + x_{12}y_{12} + \dots + x_{1n}y_{1n} + x_{21}y_{21} + x_{22}y_{22} + \dots +$$

$$x_{zn}y_{zn} + \dots + x_{t1}y_{t1} + x_{t2}y_{t2} + \dots + x_{tn}y_{tn}$$

Cálculos finales:

PENDIENTE:

$$m = \frac{nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y)}{nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

ORDENADA:

$$b = \frac{\Sigma y - m (\Sigma x)}{nt}$$

$$r^2 = \frac{\left[ nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y) \right]^2}{\left[ nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2 \right] \left[ nt (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2 \right]}$$

$$r = [r^2]$$

Calcular el porcentaje recuperado (R) para cada cantidad recuperada, con la siguiente ecuación:

$$R = (y / x) 100$$

Tabular los resultados:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

Cálculos preliminares:

$$\Sigma R = R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_n$$

$$\Sigma R^2 = R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + \dots + R_n^2$$

$$\bar{r} = (\Sigma R) / N$$

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

Coefficiente de variación:

$$CV = ( DE / \bar{x} ) 100$$

CRITERIO:

$$m \approx 1, \quad b \approx 0, \quad r^2 > \delta = 0.98$$

$$\bar{x} = 97 - 103 \%, \quad CV < \delta = 3 \%$$

Contraste de hipótesis para la pendiente.

$$H_0 : m = 1.0$$

$$H_a : m = 1.0$$

Estadístico de contraste:

$$t_{cal} = \frac{(m - m_0) S_x (n - 1)^{1/2}}{\hat{S}_{y/x}}$$

Error típico:

$$S_{y/x} = \left[ \frac{(\Sigma y^2) - b(\Sigma y) - m(\Sigma xy)}{n} \right]^{1/2}$$

Error típico modificado:

$$\hat{S}_{y/x} = \left[ \frac{n}{n-2} \right]^{1/2} (S_{y/x})$$

Contraste de hipótesis para la ordenada:

$$H_0 : b = 0.0$$

$$H_a : b \neq 0.0$$

Estadístico de contraste:

$$t_{cal} = \frac{b_{cal} - b_0}{\hat{S}_{y/x} \left[ \frac{\sum x^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2} \right]^{1/2}}$$

CRITERIO:

$$\text{Si } t_{-\alpha/2} < t_{cal} < t_{\alpha/2} \quad . \text{ Se acepta } H_0.$$

Intervalo de confianza:

a) INTERCEPTO:

$$b \pm t_{\alpha/2} \hat{S}_{y/x} \left[ \frac{\sum x^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2} \right]^{1/2}$$

b) PENDIENTE:

$$m \pm t_{\alpha/2} \frac{\hat{S}_{y/x}}{S_x (n-1)^{1/2}}$$

### 5. PRECISION (REPETIBILIDAD).

Tabular los resultados del porcentaje recuperados:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_N$$

Cálculos preliminares:

$$\Sigma R = R_1, R_2, R_3, \dots, R_N$$

$$\Sigma R^2 = R_1^2, R_2^2, R_3^2, \dots, R_N^2$$

$$\bar{R} = \frac{\Sigma R}{N}$$

Desviación estándar:

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

Cálculos finales: Coeficiente de variación.

$$CV = ( DE / \bar{R} ) 100$$

#### 6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

El siguiente procedimiento únicamente es aplicable cuando se utilicen dos días, dos analistas y tres determinaciones.

Tabular los resultados en base al siguiente formato:

|             |   | ANALISTA  |           |
|-------------|---|-----------|-----------|
|             |   | 1         | 2         |
| D<br>I<br>A | 1 | $Y_{111}$ | $X_{211}$ |
|             |   | $Y_{112}$ | $X_{212}$ |
|             |   | $Y_{113}$ | $X_{213}$ |
|             | 2 | $Y_{121}$ | $X_{221}$ |
|             |   | $Y_{122}$ | $X_{222}$ |
|             |   | $Y_{123}$ | $X_{223}$ |

Cálculos preliminares:

$$\Sigma y = y_{111} + y_{112} + y_{113} + y_{121} + \dots + y_{223}$$

$$\Sigma y^2 = y_{111}^2 + y_{112}^2 + y_{113}^2 + y_{121}^2 + \dots + y_{223}^2$$

$$\bar{y} = \frac{\Sigma y}{N}$$

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma y^2) - (\Sigma y \dots)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

N = número total de determinaciones ( en este caso específico N = 12 )

Cálculos finales: Coeficiente de variación.

$$CV = ( DE / \bar{y} ) 100$$

CRITERIO:

$$CV < \delta = 3 \%$$

Una prueba estadística adicional para la prueba de precisión específicamente de la reproducibilidad es la siguiente:

Calcular la suma de las combinaciones analista-día ( $y_{ij}$ ):

$$Y_{11.} = y_{111} + y_{112} + y_{113}$$

$$Y_{12.} = y_{121} + y_{122} + y_{123}$$

$$y_{21.} = y_{211} + y_{212} + y_{213}$$

$$y_{22.} = y_{221} + y_{222} + y_{223}$$

Calcular la suma para cada analista ( $y_{i..}$ ):

$$y_{1..} = y_{111} + y_{112} + y_{113} + y_{121} + y_{122} + y_{123}$$

$$y_{2..} = y_{211} + y_{212} + y_{213} + y_{221} + y_{222} + y_{223}$$

Calcular la suma total ( $y_{...}$ ):

$$y_{...} = y_{1..} + y_{2..}$$

Calcular la suma del cuadrado de cada analista en cada día :

$$\sum y_{ij}^2 = (y_{11.})^2 + (y_{12.})^2 + (y_{21.})^2 + (y_{22.})^2 \dots$$

Calcular las sumas del cuadrado de cada analista en los dos días:

$$(\sum y_{i..})^2 = (y_{1..})^2 + (y_{2..})^2 \dots$$

Calcular la suma de cada dato elevado al cuadrado:

$$\sum \sum y_{ijk}^2 = (y_{111})^2 + (y_{112})^2 + (y_{113})^2 + \dots + (y_{221})^2 + (y_{222})^2 + (y_{223})^2$$

Calcular la suma de cuadrados del analista (SCa), efecto del factor analista, con la siguiente fórmula:

$$SCa = \frac{\sum y_{t...}^2}{dr} - \frac{y^2}{adr}$$

Calcular la suma de cuadrados del día y el analista (SCd), con la siguiente fórmula:

$$SCd = \frac{\sum y_{tj.}^2}{r} - \frac{\sum y_{t..}^2}{dr}$$

Calcular la suma de cuadrados del error (SCe) con la siguiente fórmula:

$$SCe = \sum \sum y_{ijk}^2 - \frac{\sum y_{tj.}^2}{r}$$

Con los datos anteriores construir la tabla de Análisis de Varianza (ANAEVA):

| FUENTE DE VARIACION | GRADOS DE LIBERTAD      | SUMA DE CUADRADOS | MEDIA DE CUADRADOS      | $F_{cal}$              | $F_{0.05}$          |
|---------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|
| ANALISTA<br>(a)     | $gl = a - 1$<br>a       | SCa               | $MCa = \frac{SCa}{gla}$ | $Fa = \frac{MCa}{Mcd}$ | $F \frac{gla}{gld}$ |
| D I A<br>(d)        | $gl = (d - 1)$<br>d (a) | SCd               | $Mcd = \frac{SCd}{gld}$ | $Fd = \frac{Mcd}{Mce}$ | $F \frac{gld}{gle}$ |
| ERROR<br>(e)        | $gl = (r - 1)$<br>ad    | SCe               | $Mce = \frac{SCe}{gle}$ | -----                  | -----               |

**CRITERIO:**

Si  $Fa < F_{gla, gld; 0.05}$  .El método analítico es reproducibile por los analistas.

Si  $Fa > F_{gla, gld; 0.05}$  . El método analítico no es reproducibile por los analistas.

Si  $Fd < F_{gld, gle; 0.05}$  . El método analítico es reproducibile en distintos días por un mismo analista.

Si  $F_d > F_{gld,gle;0.05}$ . El método analítico no es reproducible en distintos días por un mismo analista.

### 7. EXACTITUD AL 100 %.

Tabular los resultados del porcentaje recuperado (R), en base al siguiente formato.

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_N$$

Cálculos preliminares:

$$\Sigma R = R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_N$$

$$\Sigma R^2 = R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + \dots + R_N^2$$

$$\bar{R} = \frac{\Sigma R}{N}$$

$$DE = \left[ \frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N - 1)} \right]^{1/2}$$

Cálculos finales: Coeficiente de variación.

$$CV = ( DE / R ) 100$$

CRITERIO:

$$\bar{x} = 97 - 103 \% , \quad CV < 6 = 3 \%$$

Contraste de hipótesis:

$$H_0 : \mu = 0$$

$$H_a : \mu \neq 0$$

Estadígrafo de contraste:

$$t_{\text{calc}} = \frac{\bar{x} - 100}{\frac{DE}{[N]^{1/2}}}$$

Intervalo de confianza para la media:

$$IC = \bar{x} \pm t_{(g.l., n-2, 0.95)} \frac{DE}{[N]^{1/2}}$$

CRITERIO:

$$t_{\text{calc}} < 6 = t_{(g.l., n-2, 0.95)}$$

## B. G L O S A R I O

- b = ordenada
- r = coeficiente de correlación
- $r^2$  = coeficiente de determinación
- CV = coeficiente de variación
- IC = intervalo de confianza
- m = pendiente
- n = número de replicaciones
- t = número de diluciones o número de cantidades  
adicionadas
- $\bar{y}$  = media aritmética.
- N = número total de determinaciones
- $S^2$  = varianza
- DE = desviación estándar
- x = dilución o cantidad adicionada
- y = propiedad medida o cantidad recuperada
- R = por ciento recuperado
- $\bar{a}$  = promedio aritmético del por ciento recuperado
- a = analista
- d = día
- gl = grados de libertad
- MC = media de cuadrados
- F = valor de la distribución F de Fisher
- SC = suma de cuadrados
- $\Sigma$  = sumatoria

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. Hamilton and Hardy's. "Industrial Toxicology". Fourth Edition. PSG. Publishing Company, Inc. Littleton, Massachusett. (1983).
2. Sephen J. Rothenberg, Lourdes Schnaas-Arrieta. "Evaluación del riesgo potencial de la exposición perinatal al plomo en el Valle de México". Perinatal Reproduction Human. 3.48-61. (1989).
3. Frederik H. Meyers, Ernest Jawetz, Alan Goldfien. "Farmacología Clínica". Quinta Edición. El Manual Moderno. (1982).
4. H.L. Needlenman, D. C. Tuncay, I. M. Shapiro. "Lead levels in deciduous teeth of urban and suburban american children". Nature. 235.111. (1972).
5. Claire B. Ernhart, Ph. D., Tom Greene, Ph. D. "Low level lead exposure in the prenatal and early preschool periods: language development". Archives of Environmental Health. 45:6: 342-354. (1990).

6. Tom Greene, Claire B. Ernhart. "Prenatal and preschool age lead exposure: relationship with size". *Neurotoxicology and Teratology*. 13.417-427. (1990).
7. Auram Goldstein M.D., Lewis Aronow, Ph. D., Summer M. Kalman, M.D. "Farmacología". Limusa. México. (1979).
8. Norman M, Trieff. "Environment and Health". Editor Ann Arbor Science. Michigan. (1980).
9. Lawrence A. Kaplan, Amadeo J. Pesce. "Química Clínica. Técnicas de laboratorio fisiopatología-método de análisis". Ed. Médico Panamericana S.A. Argentina. Buenos Aires. (1986).
10. Pedro Castañeda, Carmen Giral Barnes. "Validación de Métodos Analíticos" Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de Control de Insumos para la Salud. SSA. (1991).
11. Lawrence H. Keith. Chairman, Warren Crummett, Jonh Deegan Jr. "Principles of environmental analysis". *Anal. Chem.* 55:14:2210-2218. (1983).
12. Daniel MacDougall Chairman, Francis J. Amore. "Guidlines for data acquisition and data quality

evaluation in environmental chemistry" Anal. Chem. 52:14:2242-2249. (1980).

13. John K. Taylor. "Validation of Analytical Methods". Anal. Chem. 55:6:600 A-608 A. (1983).

14. B.L. Carson, H.V. Ellis III, J.L. McCann. "Toxicology and biological monitoring of metals in humans". Lewis Publishes Inc. USA. (1986).

15. A.L. Page and T.J. Ganje. "Acumulation of lead in soils for regions of high and low motor vehicle traffic density". Environmental Science and Technology. 4:2:140-142. (1970).

16. David A. Peel. "Is lead pollution of the atmosphere a global problem". Nature. 323:18:200. (1986).

17. Gilberto Molina Ballesteros, Miguel Angel Zóñiga-Charles. "Plomo: sus implicaciones sociales y efectos sobre la salud". Gaceta Médica de México. 115:2:48-60. (1979).

18. Douglas W. Kononen, Ph. D. "Air lead exposure and blood lead levels within a large automobile manufacturing workforce 1980-1985". Archives of Environmental Health. 43:3:247-251. (1988).

19. Desmond Fanning FFDM. "A mortality study of lead workers 1926-1985". Archives of Environmental Health. 43:3:247-251. (1988).

20. John H. Duffus. "Toxicología Ambiental". Ediciones Omega. S.A. Barcelona. (1983).

21. D. Weiss, B. Whitten. "Lead content of human hair (1871-1971)". Science. 178:4056-57:69-70. (1972).

22. Josef Eisinger. "Our daily lead". Nature. 322:14:601-602. (1986).

23. M.V. Stack A.J. Burkitt.G. Nickless. "Lead in children's teeth". Nature. 255:8:169. (1975).

24. Alfred Goodman Gilman, Louis S. Goodman ,Alfred Gilman. "Las bases Farmacológicas de la Terapéutica". Sexta Edición. Editorial Médica Panamericana. S. A. México (1982).

25. Bertram G. Katzung. "Farmacología Básica y Clínica". Segunda Edición. Editorial El Manual Moderno. S.A. de C.V. México D.F. (1986).

26. U. Nilsson, R. Attewell, J.O. Christofferson. "Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure". *Pharmacology and Toxicology*. 69:477-484. (1991).
27. Lorentz E. Wittmers, Jr. Ph. D. Agnes Alich, Ph. D. "Lead in bone IV. Distribution of lead in the human skeleton". *Archives of Environmental Health*. 43:6:381-391. (1988).
28. Nick H. Proctor; Ph. D. James P. Hughes, M.D. "Chemical hazard of the workplace". J. B. Lippincott Company. Philadelphia Taranta. (1978).
29. Joel Schwartz, Ph. D., David Otto, Ph. D. "Lead and minor hearing impairment". *Archives of Environmental Health*. 46:5:(1991).
30. J.P. Day, M. Hart, M.S. Robinson. "Lead in urban street dust". *Nature*. 253. (1975).
31. Z. A. Khammas and M.H. Farhan, Mahmood M. Barboot. "Determination of lead in tooth pastes by electrothermal atomic absorption spectrophotometry with platform atomization". *Talanta*. 36:10:1027-1030. (1989).

32. Michael B. Rabinowitz, Ph. D., Jung-der Wang, M. D.  
"Dentine lead and child intelligence in Taiwan."  
Archives of Environmental Health. 46:4:351-360. (1991).

33. U.Ewers, A. Brockhaus, G. Winneke . "Lead in  
deciduous teeth of children living in a non-ferrous  
smelter area and a rural area of the FRG". Int.Arch.  
Occup. Environ. Health. 50:139-151. (1982)

34. Terry Surles. Jonh R. Tuschall. "Comparative atomic  
absorption spectroscopic study of trace metals in lake  
water". Environmental Science and Technology.  
9:12:1073-1075. (1975).

35. Jonh D. Kinrade and Jonh C. Van Lon "Solvent  
extraction for use with flame atomic absorption  
spectrometry". Analytical Chemical.  
46:13:1894-1898. (1974)

36. Lars-Göran Danielsson, Bertil Magnusson. "An  
improved metal extraction procedure for the  
determination of trace metals in sea water by atomic  
absorption spectrometry with electrothermal  
atomization". Analytica Chimica Acta. 98:47-57. (1978).

37. Sham L. Sachdev and Philip W. West. " Concentration of trace metals by solvent extraction and their determination by atomic absorption spectrophotometry". Environmental Science and Technology. 4:9:749-7512. (1982).

38. J. M. Lo, J. C. Yu, F. I. Hutchison, and C.M. Wal. "Solvent extraction of dithiocarbamate complexes and back-extraction with mercury (II) for determination of trace metals in sea water by atomic absorption spectrometry". Analytical Chemistry. 54:14:2536-2539. (1982).

39. Tsu Kal Jan and David R. Young ."Determination of microgram amount of some transition metals in sea water by methyl isobutyl ketone -nitric acid successive extraction and flameless atomic absorption spectrophotometry". Analytical Chemistry. 50:9:1250-1253. (1978)

40. K. Kremlin and H. Petersen ."APDC-MIBK extraction system for the determination of copper and iron in 1 cm<sup>3</sup> of sea water by flameless atomic-absorption spectrometry". Analytica Chimica Acta. 70.35-39. (1974).

41. Ikuo Atsuya Kohji Itoh, Kohichi Ariu. "Preconcentration by coprecipitation of lead and selenium with Ni/pyrrolidine dithiocarbamate by internal standard atomic absorption spectrometry with the solid sampling technique". Pure and Appl. Chem. 63:9:1221-1226. (1991).

42. Robert R, Brooks, Bob J. Presley and Issac R. Kaplan. "APDC-MIBK extraction system for the determination of trace elements in saline waters by atomic absorption spectrophotometry". Talanta. 14:809-816. (1967).

43. J. B. Willis. "Determination of lead in urine by atomic absorption spectroscopy". Nature. 4786:381-382. (1991).

44. A. Anttila. "Proton-Induced X-Ray Emission analysis of Zn, Sr and Pb in human deciduous tooth enamel and its relationship to dental caries scores". Archs. Oral Biol. 31:11:723-726. (1986).

45. Howard Hu, M. D. Sc. D., MPH. Fredric L. Milder. "X-Ray fluorescence measurement of lead burden in subjects with low-levels community lead exposure". Archives of Environmental Health. 45:6:335-341. (1990).

46. Richard D Wedeen , M.D. "In vivo tibial XFR measurement of bone lead". Archives of Environmental Health.45:2:69-71.(1990).

47. Jorge Alberto Hammerly, José María Marracino. "Curso de Química Analítica". Ed. Librería El Ateneo. Buenos Aires. (1984).

48. George H. Schenk, Richard B. Hahn. "Química Analítica Cuantitativa". Compañía Editorial Continental. S.A. de C.V. de México. (1977).

49. G.A. Lourdes Castillo Granada, Biol. Maricela Arteaga Mejía. "Espectrofotometría de Absorción Atómica Extracción e intercambio iónico". Notas de apoyo para el curso teórico práctico. Del 11 al 15 de mayo de 1992.