



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn
EN LECHE PREFERENTE DE LA CIUDAD DE
MEXICO



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
FACULTAD DE QUIMICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA

P R E S E N T A:

MARIA DEL CARMEN TORRES PEREZ

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.

Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, Facultad de Química
Noviembre de 1994.

El presente trabajo de tesis se desarrolló en los laboratorios del Departamento de Análisis Químicos, adscrito a la Gerencia de Servicios Técnicos Nucleares del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, en Salazar, Estado de México.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Prof. Pedro Valle Vega
VOCAL: Prof. Francisco Abascal Garrido
SECRETARIO: Prof. Zoila Nieto Villalobos
1er. SUPLENTE: Prof. Lucía Cornejo Barrera
2do. SUPLENTE: Prof. Lucía Gabriela Bascuñan Ternini

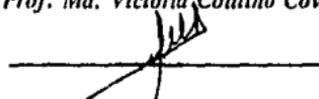
ASESOR DEL TEMA:

Prof. Francisco Abascal Garrido



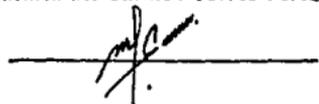
SUPERVISOR TECNICO:

Prof. Ma. Victoria Coutiño Covarrubias



SUSTENTANTE:

María del Carmen Torres Pérez



DEDICATORIAS

Tu, que me aguardabas con amor y paciencia en el amanecer, en el atardecer o en el anochecer,

tu, que durante todos estos años, has estado presente y pendiente de mis actos, aceptandolos o rechazandolos con resignación,

tu, que compartes mis alegrías y tristezas, pasando noches de desvelo por querer mejorar el mundo para tu hija,

tu, que te interesas y me apoyas, para alcanzar poco a poco mis metas establecidas, logrando con esto que no sólo sean mías, sino que también tuyas,

A esa persona tan especial e importante en mi vida,

TU MI MADRE

Gracias, por tu espacio espiritual y coporal, por todos tus invaluable consejos, tu tiempo y tu cariño.

A TI, CON AMOR, LUCIA PEREZ FORTIS

Gracias por tu ejemplo y tus esfuerzos, que han contribuido a mi formación.

A MI PADRE, FAUSTO TORRES FERRER

A mis hermanos, gracias por su cariño.

ESTEBAN y JUAN CARLOS

Con cariño y afecto MCTP.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal del Departamento de Análisis Químicos del ININ, que laboró durante mi estancia en el desarrollo del proyecto, agradezco su apoyo, que de alguna u otra forma hicieron posible la realización del mismo, principalmente a la Q.A. Laura A. Sanchez Paz, a la Tec. Ana María Benavidez M., al I. Q. Ricardo Soria J. y al Q. Francisco Abascal Garrido por su gran apoyo y orientación.

Al Dr. José Melgem Moctezuma y al M. en C., I.Q. José Luis Flores Luna, de la Secretaría de Salud, por haber aceptado la realización del proyecto.

A el Biol. Pedro Avila por sus oportunas observaciones al tema y al I.Q. Federico Galdeano B. quien asesoró, la parte relacionada con el análisis estadístico de los resultados.

De manera especial agradezco al Dr. José Luis Iurbe G., por el gran apoyo brindado, su incondicional ayuda y atención, para concluir con el proyecto de tesis. Así como también, a la I.B.Q. Zoila Nieto Villalobos, por sus oportunas y valiosas críticas al trabajo presentado.

Al M. en C. Ruperto Mazón R. por su amabilidad y atenciones brindadas durante mi estancia.

A todos mis amigos, amigas y familiares, que gracias a su afecto, atenciones, paciencia y comprensión, contribuyeron a que pudiera desarrollar y finalizar éste trabajo.

Al Honorable Jurado, a la Universidad Nacional Autónoma de México y a sus Maestros.

LAS ROSAS Y EL SENDERO DE LA VIDA

El sendero de la vida, es similar a un ramo de rosas blancas, porque cada botón representa un logro o meta, por alcanzar.

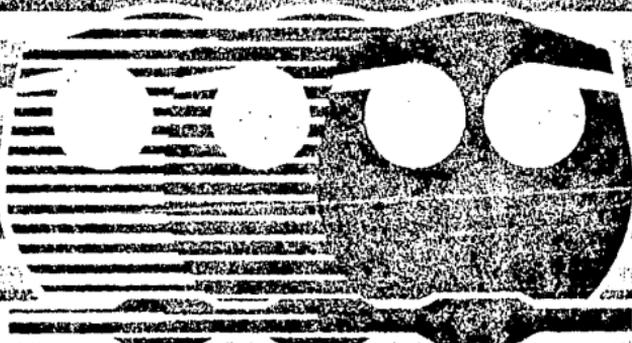
Para llegar a ellas es necesario salvar todos los obstáculos o espinas, sin cortarse o picarse y si ocurriera esto, saber por donde continuar hasta lograr las metas trazadas.

En el camino encontramos personas o sucesos que nos hacen pasar momentos agradables o desagradables, que favorecen o complican nuestro paso a través de la vida, pero afortunadamente esto, permite distinguir la felicidad de la tristeza, lo justo de lo injusto, lo correcto de lo incorrecto, es decir que, se aprende algo y este aprendizaje permite desarrollar hábitos, los cuales en conjunto conforman el carácter y se logra la madurez.

El madurar y cubrir los requisitos necesarios para el triunfo es, como saber cuantas hojas tiene cada rosa en su tallo.

Algunas de las rosas serán más grandes que otras y tendrán un tallo más largo o más corto, un número mayor o menor de hojas, pero en sí, llegar a ellas, acariciar cada una, cada pétalo, percibir su aroma, será tan agradable y satisfactorio, como llegar a cada una de las metas que nos proponemos, durante el transcurso del enigmático camino de la vida.

MCTP



CONTENIDO

	<i>pag.</i>
INTRODUCCION	1
 CAPITULO I. ANTECEDENTES	
1.1. Valor Nutritivo de la Leche	3
1.1.1. Propiedades Físicas de la Leche	7
1.2. Procesamiento de la Leche	8
1.2.1. Contaminación del Producto durante el Procesado	11
1.3. Minerales Esenciales en el Cuerpo Humano.....	12
1.4. Fuentes de Contaminación en Alimentos por Metales Tóxicos	12
1.5. Elementos Metálicos Determinados en la Leche	13
1.6. Función Biológica de los Metales en el Organismo	14
<i>(absorción y excreción, toxicidad, requerimientos, deficiencia)</i>	
1.6.1. Cadmio	14
1.6.2. Cobre	15
1.6.3. Cromo	16
1.6.4. Niquel	17
1.6.5. Plomo	17
<i>(Efecto Toxicológico en el organismo, Factores que influyen en su toxicidad.)</i>	
1.6.6. Zinc	21

1.7. <i>Acción Biológica de las Metaloenzimas de:</i> <i>Cadmio, Cobre, Níquel, y Zinc</i>	22
1.8. <i>Técnicas Analíticas Espectroquímicas</i>	
1.8.1. <i>Técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica</i> <i>(E.A.A.)</i>	
<i>Fundamento</i>	24
<i>Análisis Cuantitativo</i>	25
<i>Horno de Grafito</i>	28
1.8.2. <i>Técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma</i> <i>(A.E.S. ICP.)</i>	
<i>Fundamento</i>	29
<i>Análisis Cuantitativo</i>	31

CAPITULO II. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. <i>Diseño del Método de Muestreo</i>	32
2.2. <i>Metodología</i>	35
2.3. <i>Preparación de la muestra</i>	35
2.3.1. <i>Para Espectrofotometría de Absorción Atómica</i>	38
2.3.2. <i>Para Espectrometría de Emisión por Plasma</i>	38
2.4. <i>Determinación Cuantitativa de los Metales por la</i> <i>Técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica</i> <i>(con Horno de Grafito y con Flama)</i>	
2.4.1. <i>Condiciones del Equipo para Horno de Grafito</i>	41
2.4.2. <i>Condiciones del Equipo con Flama</i>	44
2.5. <i>Espectrometría de Emisión por Plasma Secuencial</i> <i>(A,E,S, ICP.)</i>	
2.5.1. <i>Condiciones del Equipo</i>	47
2.6. <i>Porcentaje de Recuperación</i>	53

CAPITULO III. RESULTADOS

<i>3.1. Resultados</i>	<i>54</i>
<i>3.2. Análisis Estadístico</i>	<i>62</i>
<i>3.2.1. Resultados del Análisis entre Técnicas.....</i>	<i>62</i>
<i>3.2.2. Resultados del Análisis entre Marcas de Leche.....</i>	<i>65</i>

<i>CAPITULO IV. DISCUSION DE RESULTADOS.....</i>	<i>71</i>
--	-----------

<i>CAPITULO V. CONCLUSIONES</i>	<i>78</i>
---------------------------------------	-----------

<i>CAPITULO VI. SUGERENCIAS.....</i>	<i>80</i>
--------------------------------------	-----------

<i>BIBLIOGRAFIA.....</i>	<i>81</i>
--------------------------	-----------

<i>APENDICE A</i>	<i>A1</i>
-------------------------	-----------

<i>APENDICE B</i>	<i>B1</i>
-------------------------	-----------

INDICE DE TABLAS

TABLA NUM.	PAG.
I. 1. <i>Concentración de los Componentes de la Leche.</i>	6
I. 2. <i>Propiedades Físicas de la Leche.</i>	7
I. 3. <i>Propiedades Físico-Químicas de los Metales.</i>	14
II. 1. <i>Condiciones del Equipo para la determinación de los metales, por Absorción Atómica (Horno de Grafito).</i>	41
II. 2. <i>Condiciones del Equipo para la determinación de los metales, por Absorción Atómica (Flama).</i>	44
II. 3. <i>Concentración obtenida experimentalmente de los metales mayoritarios en las muestras de leche.</i>	48
II. 4. <i>Programa Analítico para la determinación de los metales mediante la técnica de ICP (secuencial).</i>	49
III.1. <i>Resultados de los porcentajes de recuperación para cada uno de los metales.</i>	55
III.2. <i>Concentraciones de cadmio obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (H.G.).</i>	56
III.3. <i>Concentraciones de cobre obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (F).</i>	57
III.4. <i>Concentraciones de cromo obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (F).</i>	58
III.5. <i>Concentraciones de níquel obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (H.G.).</i>	59
III.6. <i>Concentraciones de plomo obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (H.G.).</i>	60
III.7. <i>Concentraciones de zinc obtenidas mediante las técnicas: ICP, y A.A. (F).</i>	61
III.8. <i>Análisis Estadístico para cadmio.</i>	63
III.9. <i>Análisis Estadístico para cobre.</i>	63

III.10.	<i>Análisis Estadístico para cromo.</i>	63
III.11.	<i>Análisis Estadístico para níquel.</i>	64
III.12.	<i>Análisis Estadístico para plomo.</i>	64
III.13.	<i>Análisis Estadístico para zinc.</i>	64
III.14.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: cadmio.</i>	65
III.15.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: cobre.</i>	66
III.16.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: cromo.</i>	67
III.17.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: níquel.</i>	68
III.18.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: plomo.</i>	69
III.19.	<i>Resultados del análisis de varianza entre marcas para: zinc.</i>	70
IV.1.	<i>Concentraciones promedio de los metales por marca.</i>	72
IV.2.	<i>Concentraciones Promedio Determinadas.</i>	74
IV.3.	<i>Dosis Máximas de Contaminantes Recomendadas por: La Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius.</i>	74
IV.4.	<i>Ingesta Diaria de Leche.</i>	75
IV.5.	<i>Tabla Comparativa de Dosis Equivalentes y Datos Experimentales para Niños.</i>	76
IV.6.	<i>Tabla Comparativa de Dosis Equivalentes y Datos Experimentales para Niñas.</i>	76

INDICE DE DIAGRAMAS, FIGURAS Y GRAFICAS

DIAG. NUM.

I. 1.	<i>Procesamiento de la Leche Pasteurizada.</i>	10
II. 1.	<i>Preparación de la muestra.</i>	37
II. 2.	<i>Preparación de la muestra para el análisis por la Técnica de Absorción Atómica (Flama y Horno de Grafito)</i>	39
II. 3.	<i>Preparación de la muestra para el análisis por la Técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma Secuencial.</i>	46
AB. 1.	<i>Diagrama de un Espectrómetro de Emisión por Plasma (Secuencial).</i>	85

FIGURA NUM.

I. 1.	<i>Fundamento del Proceso de Absorción Atómica.</i>	25
I. 2.	<i>Mecanismo del Proceso de Absorción Atómica.</i>	26
I. 3.	<i>Fuente de Energía del Espectrómetro de Emisión por Plasma</i>	30
II. 1.	<i>Ubicación de las zonas de muestreo.</i>	34

GRAFICAS NUM.

I. 1.	<i>Comportamiento entre Absorbancia y Concentración de un Elemento Absorbente.</i>	28
II. 1.	<i>Curva de Calibración para Cd (AA. HG.).</i>	42

<i>II. 2. Curva de Calibración para Ni (AA. HG.).</i>	43
<i>II. 3. Curva de Calibración para Pb (AA. HG.).</i>	43
<i>II. 4. Curva de Calibración para Cu (AA. F.).</i>	45
<i>II. 5. Curva de Calibración para Cr (AA. F.).</i>	46
<i>II. 6. Curva de Calibración para Zn (AA. F.).</i>	46
<i>II. 7. Curva de Calibración para Cd (ICP).</i>	50
<i>II. 8. Curva de Calibración para Cu (ICP).</i>	50
<i>II. 9. Curva de Calibración para Cr (ICP).</i>	51
<i>II. 10. Curva de Calibración para Ni (ICP).</i>	51
<i>II. 11. Curva de Calibración para Pb (ICP).</i>	52
<i>II. 12. Curva de Calibración para Zn (ICP).</i>	52

INTRODUCCION

Paralelamente al constante incremento poblacional, en la Ciudad de México, la contaminación ambiental (en suelo, aire, agua, etc.), ha aumentado de manera considerable.

Con esto también aumenta la posibilidad de que los alimentos contengan una concentración de elementos minerales, tóxicos para el organismo humano, mayor a lo establecido en las normas.

En el análisis de alimentos, el determinar la concentración de elementos tóxicos para el organismo humano como son los metales pesados, hoy en día es una tarea que ha cobrado mayor importancia.

Al observar esta problemática, y considerando que la LECHE es uno de los alimentos que más se consumen por el sector infantil, quien abarca un elevado porcentaje de la población, se presenta la necesidad de verificar su calidad nutritiva.

El objetivo del presente trabajo fueron cuantificar seis metales como son: cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo, y zinc, en leche. Y al mismo tiempo comparar, los resultados con los valores de los límites máximos permisibles para el consumo humano.

Así como también establecer si existe algún tipo de riesgo toxicológico, por la ingesta diaria de este alimento, en función de las concentraciones determinadas.

Para realizar los objetivos y verificar la calidad nutritiva de la leche, se emplearon las técnicas analíticas espectroquímicas:

- ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA CON ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (A.E.S. ICP) y,
- ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (E.A.A.)

El tipo de leche elegida para ser analizada, fue la leche fluida pasteurizada, calidad preferente (según especificaciones dadas por la Secretaría de Salud), que se consume con mayor frecuencia en la Ciudad de México, se consideraron tres marcas distintas: Alpura, Boreal y Lala, denominadas A, B y C, respectivamente.

En este trabajo se proporciona información sobre los metales en estudio: algunas propiedades fisico-químicas, la función biológica de los mismos y su toxicidad dentro del organismo humano.

Además se describe el desarrollo experimental empleado, incluyendo las condiciones técnicas necesarias para determinar los elementos con los equipos indicados.

Los resultados de las concentraciones obtenidas de cada uno de los metales en las treinta muestras analizadas, se proporcionan en forma de tablas. El análisis estadístico utilizado para el tratamiento de los mismos fue: pruebas de hipótesis para saber si hay diferencia significativa entre los métodos empleados y un análisis de varianza para saber si existe diferencia significativa entre las distintas marcas de leche, en cuanto al contenido de los metales.

CAPITULO I. ANTECEDENTES

A continuación se mencionarán algunas características de la leche, sobre el procesado de la misma y sus posibles fuentes de contaminación. En cuanto a los metales en estudio se dan algunas propiedades físico-químicas y su función dentro del organismo humano.

También se mencionan aspectos sobre las dos técnicas analíticas utilizadas para el análisis de las muestras.

1.1. VALOR NUTRITIVO DE LA LECHE

La leche, se ha considerado como uno de los mejores alimentos que existen, porque satisface las necesidades nutritivas humanas a nivel infantil e incluso a nivel adulto.

Se le ha llamado el alimento casi perfecto por el elevado valor nutritivo que posee. Para cualquier alimento el valor nutritivo se establece en función de su contenido de nutrientes esenciales como son: ácidos grasos, carbohidratos, aminoácidos y minerales. Además también se considera, la energía que proporciona, el grado de digestión, su contenido de inhibidores proteásicos y de toxinas.

Debido a lo anterior se ha comprobado que la leche reúne positivamente todos estos requisitos, y por lo tanto se conoce como el alimento principal dentro de la dieta infantil.

Al analizar sus componentes y poder interpretar como se comporta en el crecimiento, en la retención de los nutrientes y como actúa ante la salud del humano, se puede evaluar la calidad nutritiva.

La energía que proporciona la leche, proviene de las grasas, la lactosa y las proteínas, (contienen aproximadamente 38.5, 25 y 17.3 KJ/g respectivamente).

Dentro de los carbohidratos, la lactosa es la fuente más importante de energía, proporciona 16.8 KJ/g, y gracias a la presencia de la enzima β -galactosidasa (lactasa), se facilita su digestión y absorción.

Los ácidos grasos que contiene la leche son los siguientes:

Cadena corta: el ác. butírico, caproico, caprílico y capríco.

Sustitutos de cadena larga: el ácido láurico, mirístico, palmítico, esteárico y araquídico.

Mono insaturados: el ác. palmitoleico y el ác. oleico.

Poli insaturados: el ác. linoléico, linolénico y araquidónico.

Estos últimos ácidos grasos son precursores esenciales de las prostaglandinas y tromboxanos. Se sabe que el 1% del total de la energía de la dieta debe ser aportada por estos ácidos y en lactantes se recomienda un 4%.

La leche aporta todos los minerales mayoritarios y minoritarios que necesita el organismo humano. Los minerales tienen un papel biológico importante, porque contribuyen al mantenimiento del pH fisiológico y regulan la presión osmótica de los líquidos y tejidos corporales.

El calcio y el fósforo tienen funciones estructurales en los huesos y dientes, otros

• Kilo Joules (Unidades de Energía)

como: el Zn, Mg, Fe, Cu, Mn y Mo actúan como activadores metálicos en muchas enzimas. Del zinc se sabe que está unido predominantemente al fosfato cálcico de las micelas en la caseína.

El valor nutritivo de las proteínas que contiene la leche depende del contenido de los nueve aminoácidos esenciales que no puede sintetizar el organismo humano (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano y valina).

Las proteínas que conforman la leche son las siguientes: la caseína, β -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, membrana del glóbulo graso, albúmina sanguínea, inmunoglobulinas, lactoferrina y la lisozima.

Debido a que la digestión de dichas proteínas y absorción de los aminoácidos es eficiente, cubren las necesidades esenciales en los niños lactantes.

La leche contiene todas las vitaminas, excepto la vitamina K; siendo con esto, la fuente principal de estos compuestos orgánicos esenciales para el humano ya que no puede sintetizarlos. Las vitaminas A, D, y E, se localizan en los glóbulos grasos y las restantes en el plasma de la leche.

Otros nutrientes son: la colina, la carnitina, el mioinositol, el ácido para-aminobenzoico y la taurina. [1,2,3,15,22]

El resumen de los componentes de este alimento está representado en la Tabla I.1.

TABLA 1. 1.

CONCENTRACION DE LOS COMPONENTES QUE INTEGRAN LA LECHE
EN FORMA GLOBAL, DADO EN g/l. [1,2]

COMPONENTES	CONCENTRACION (g/l)
Agua	905
Glúcidos:	
Lactosa	49
Lípidos:	
Lípidos	35
Fosfolípidos	34
Elementos Insaponificables.	0.5
Proteínas:	
Caseína	27
Albúminas	5.5
Compuestos nitrogenados no proteicos	1.5
Sales de:	
ácido cítrico	2
ácido fosfórico	2.6
ácido clorhídrico	1.7
Diversas componentes: (vitaminas, enzimas, etc)	trazas
Extracto seco	127
Extracto seco (desgrasado)	92

1.1.1. PROPIEDADES FISICAS DE LA LECHE

A continuación en la Tabla 1. 2. se indican algunas propiedades físicas de la leche:

TABLA 1. 2.
PROPIEDADES FISICAS DE LA LECHE

PROPIEDADES FISICAS	
Densidad (leche entera) [g/l]	1.032
Poder Calórico [cal/l]	700
pH	6.6-6.8
Conductividad Eléctrica [mhos]	45 E10 ⁴
Tensión Superficial [dinas/cm/150 °C]	53
Viscosidad Relativa [Pu]	1.6-2.15
Índice de Refracción	3.7 - 3.9
Punto de Congelación [°C]	-0.55
Calor Específico [Cal]	0.93

Según "Las Categorías Sanitarias de Leche", descritas en el reglamento de la Secretaría de Salud(6), en el artículo 255. La leche fluida pasteurizada, de calidad preferente tiene las siguientes especificaciones:

ARTICULO 255:

Grasa	> 33 g/l
Proteínas	> 33 g/l
Sólidos no grasos	> 84 g/l
Mesófilos Aerobios	< 30,000 col/ml
Organismos Coliformes	< 10 col/ml

Además de reunir las características del artículo 249, correspondiente al Reglamento de la Secretaría de Salud (ver tabla AB.1. del Apéndice B).

1.2. PROCESAMIENTO DE LA LECHE

El procesamiento de la leche comienza en la granja con la ordeña de las vacas, esta puede ser manual o mecánica, recolectándola en bidones, posteriormente es filtrada y refrigerada (temperatura $< 5^{\circ}\text{C}$) hasta la llegada de las pipas o carros tanque refrigerados que la transportan hasta la planta de procesamiento.

Al llegar a la planta, se transfiere desde la pipa a los silos de almacenamiento refrigerados a una temperatura menor de 5°C . En ese momento comienza el procesamiento de la leche cruda dentro de la planta.

Primero se normaliza el contenido de grasa, adicionando vitamina D, crema y leche descremada según se requiera, o bien por medio de un descremado apropiado de tal forma que cumpla con las especificaciones de la Leche Fluida Pasteurizada Calidad Preferente.

La leche entera normalizada pasa por una clarificación o limpieza, teniendo como fin la eliminación de las impurezas macroscópicas (leucocitos entre otros) y grumos; utilizando para esto los siguientes dos métodos físicos:

FILTRACION a través de una capa de celulosa, procedimiento que se realiza a temperatura ambiente.

CENTRIFUGACION, en este caso la leche es introducida en un rotor que gira a una velocidad elevada provocando que las impurezas se depositen en el fondo del rotor.

La Homogeneización es la siguiente etapa, sirve para estabilizar los lípidos y evitar una separación de fases; la leche se pasa a través de una válvula con una abertura muy pequeña, las partículas pueden alcanzar velocidades de 250 m/seg o mayores. Las presiones utilizadas varían desde 50 Kg/cm^2 (Homogeneización a presión baja) hasta 300 Kg/cm^2 (Homogeneización a presión alta). La leche requiere un calentamiento previo para disminuir su viscosidad y licuar la grasa facilitando el rompimiento de los glóbulos, de un diámetro de 1 a 10 micras, se desintegran durante la homogeneización para formar una gran cantidad de glóbulos de 0.5 a 2 micras de diámetro aproximadamente.

Después de este tratamiento la leche presenta nuevas propiedades, como la de reducirse la tendencia al cremado y aumenta la estabilidad de la fase lípida. Además de reducir el tamaño de los glóbulos y romper sus membranas, la homogeneización induce la formación de una nueva membrana que no tiene tendencia a reaccionar.

La Pasteurización es el siguiente paso, 71.8°C durante 15 seg., se efectúa por medio de intercambiadores de calor, donde la leche circula a través de placas metálicas que separan los fluidos de líquido caliente y frío, los cuales circulan en sentido opuesto volviendo más eficiente el proceso.

Esta etapa tiene como objetivo destruir todos los microorganismos vegetativos incluyendo esporas, inactiva la mayoría de las enzimas (fosfatasa alcalina y al lipasa), insolubiliza parte de las proteínas del suero (debido a la desnaturalización de las inmunoglobulinas) y los grupos-SH quedan al descubierto proporcionando un sabor a cocido. Se inhibe la formación de la crema. [8,15]

En algunos aparatos la homogeneizadora esta unida a la pasteurizadora por los que ambos pasos son simultáneos. Con estos cambios lo que se persigue es dar mayor vida de anaquel a dicho alimento.

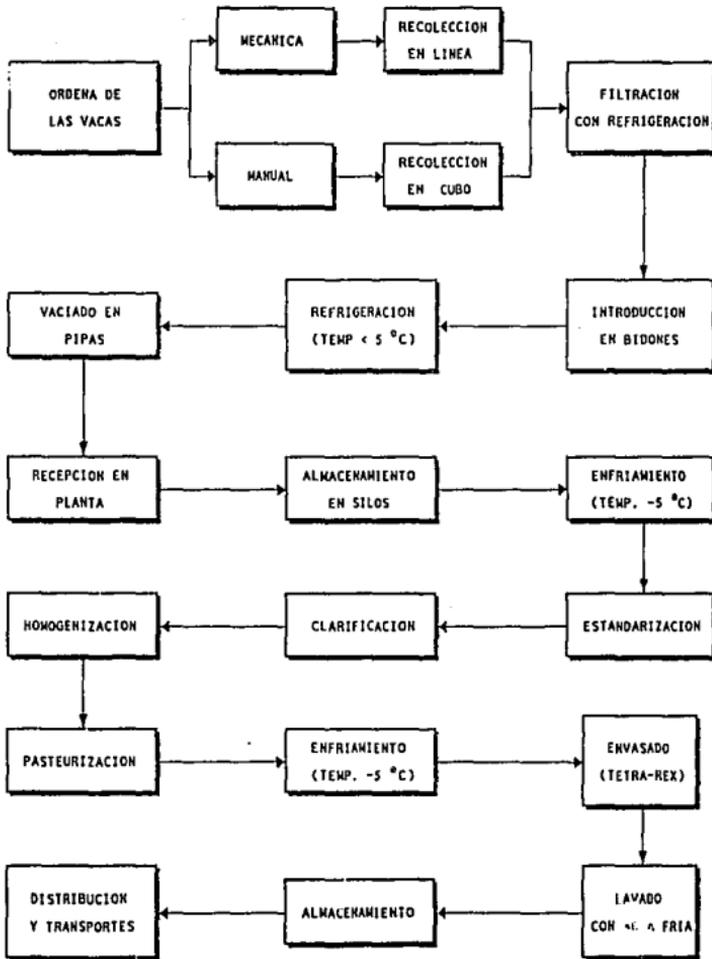
Enseguida de la pasteurización sigue el envasado; la leche pasa a una maquina donde se envasa la leche en recipientes de cartón bajo el sistema de envase TETRA-PACK, en este caso se trata del envase, TETRA-REX, este último está constituido por tres capas: polietileno, cartón (papel especial para impresión) y polietileno o cera.

Después de esto los envases pasan por un baño de agua fría, el cual tiene como objetivo; lavar perfectamente bien el envase y reducir más la temperatura final del producto (temperatura menor de 5°C).

Una vez que esta envasada, pasa a un cuarto de refrigeración en donde permanece por espacio de unas horas mientras se llena el camión donde van a ser transportadas a los lugares de destino (Ver Diagrama No. 1. 1.).

DIAGRAMA 1.1.

PROCESAMIENTO DE LA LECHE PREFERENTE ENTERA
PASTEURIZADA Y HOMOGENEIZADA.



1.2.1. CONTAMINACION DEL PRODUCTO DURANTE EL PROCESADO

La leche por su naturaleza tiende a ser ligeramente ácida presentando un pH de 6.6-6.7 debido a esto y otros factores, este alimento puede interactuar con los metales que esta en contacto directo.

Durante el procesamiento de la leche desde la ordeña hasta el envasado, existe el problema de la disolución de trazas de los elementos en estudio: Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn.

CORROSION DE LOS METALES

La corrosión de los metales es una de las fuentes de contaminación, que se puede presentar durante el procesado de la leche. La corrosión se origina por la reacción química o electroquímica entre un metal y aquellas sustancias que lo rodean.

La corrosión por humedad o electrolítica es la más frecuente. Un ejemplo de corrosión húmeda, es la lixiviación o dilución de los metales donde estén, debido a un proceso de oxidación, cambia su carga del estado metálico a una carga positiva, provocando con esto la introducción de este en una solución.

Los metales de los materiales usados en las lecherías deben reunir las siguientes características: deben tener conductibilidad, durables, no deben proporcionar sabores extraños a la leche, ser resistentes al ataque del agua (corrosión), leche, sustancias alcalinas de lavado y las sustancias esterilizantes o desinfectantes.

El acero más recomendado para este tipo de industrias procesadoras de leche son los austeníticos "18-18", son aceros de cromo-níquel que son inoxidables.

También es recomendable que los contenedores y otras superficies de contacto sean de una sola pieza, evitando con esto puntos de contaminación por presencia de soldaduras que generalmente son aleaciones de estaño y plomo, las cuales no permiten la entrada o salida de líquidos y gases.

Durante la primera recolección, en los ranchos, si la leche permanece expuesta al ambiente, la concentración de plomo puede aumentar, al depositarse el que se encuentra suspendido en la atmósfera.

1.3. MINERALES ESENCIALES EN EL CUERPO HUMANO

El cuerpo humano, necesita de la ingesta diaria de alimentos, fuente de elementos químicos en forma inorgánica (o nutrimentos), los minerales; los cuales no pueden ser sintetizados por el organismo, este, los utiliza para desarrollar su función metabólica y tener un crecimiento adecuado, por tal motivo se han considerado como esenciales.

Los minerales esenciales se distribuyen en dos grupos: los macrominerales y los microminerales. Tal denominación está en función de la concentración que requiere el organismo, ya que, estos elementos desempeñan papeles diferentes, se requieren en diversas formas y por lo tanto sus concentraciones son distintas.

Entre los macrominerales se encuentran los siguientes: calcio, sodio, potasio, fósforo, magnesio, cloro y azufre, de los cuales se requiere más de 100 mg/Kg. Los microminerales o elementos traza comprenden: cobalto, cobre, yodo, hierro, manganeso, molibdeno, selenio, zinc y cromo, su concentración es menor que los anteriores 50 mg/Kg.[4,5,6]

Muchos minerales actúan como cofactores de complejos enzimáticos, otros sirven para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y el pH, o bien forman parte constitutiva de algunas macromoléculas.

Cualquier mineral esencial puede ser tóxico, en función de la concentración en que se encuentre en el cuerpo humano (es decir una concentración elevada o por debajo de la requerida puede provocar trastornos en el metabolismo).

Existen algunos metales que por no poseer una función metabólica conocida se consideran tóxicos, el organismo humano los adquiere principalmente a través de los alimentos, como lo son el plomo y el arsénico.

1.4. FUENTES DE CONTAMINACION EN ALIMENTOS POR METALES TOXICOS

Para el ser humano, los metales tóxicos son peligrosos aún en concentraciones bajas, por tal motivo es necesario regular el contenido de estos en los alimentos. Uno de los factores que influye en el contenido de dichos metales son: la fisiología de las plantas y animales considerando principalmente el aspecto de la edad y la especie.

Las fuentes principales de contaminación por metales tóxicos son:

A. FUENTES NATURALES GEOLOGICAS.

Dentro de este punto se considera el ambiente integrado por: agua, suelo y aire, así como también las cadenas alimenticias.

En el agua se pueden encontrar una serie de metales disueltos en concentración variable. El agua al ser consumida directamente por animales, humanos y plantas, estos elementos se depositan en ellos.

Otra alternativa es el consumo indirecto, cuando se riegan sembradíos dichos elementos son absorbidos por las plantas, quienes son la fuente principal de nutrientes minerales para los animales y el hombre. El estado de oxidación de los elementos metálicos y el pH del suelo determinan el grado de absorción de los mismos. Si además se considera el aire, este es un medio de transporte de las partículas suspendidas incluyendo a la metales.

B. FUENTES ARTIFICIALES

Los fertilizantes y los plaguicidas son otro factor que afecta directamente a las plantas, por ser compuestos que pueden contener algunos metales tóxicos, como son el cadmio y los fosfatos en el caso del primero y arsénico en los plaguicidas.

Durante el procesamiento de los alimentos también se corre el riesgo de una contaminación por contacto directo, con el uso de utensilios y equipos, que se pueden presentar en su estructura elementos metálicos dañinos a la salud. También por los aditivos que se utilizan en la elaboración de los alimentos. [8,15,23,28]

1.5. ELEMENTOS METALICOS DETERMINADOS EN LA LECHE

Los elementos metálicos considerados para el análisis de la leche fueron: cadmio, cromo, cobre, níquel, plomo y zinc. En la tabla 1.3. se encuentran algunas propiedades físico- químicas de dichos metales.

TABLA 1. 3.

PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS METALES EN ESTUDIO

CARACTERISTICAS DE LOS METALES						
PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS	CADMIO	COBRE	CROMO	NIQUEL	PLOMO	ZINC
<i>Símbolo</i>	<i>Cd</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Ni</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
<i>Color</i>	<i>blanco plata</i>	<i>rojo</i>	<i>blanco azulino brillante</i>	<i>blanco de plata azul</i>	<i>blanco grisáceo</i>	<i>blanco azulino</i>
<i>Número Atómico</i>	<i>48</i>	<i>29</i>	<i>24</i>	<i>28</i>	<i>82</i>	<i>38</i>
<i>Peso Atómico [g/mol]</i>	<i>112.4</i>	<i>63.54</i>	<i>52.01</i>	<i>58.71</i>	<i>207.21</i>	<i>65.37</i>
<i>Peso Específico</i>	<i>8.64</i>	<i>8.94</i>	<i>7.14</i>	<i>8.90</i>	<i>11.34</i>	<i>7.13</i>

1.6. FUNCION BIOLOGICA DE LOS METALES EN EL ORGANISMO

1.6.1. CADMIO.

Su función en el organismo es actuar como cofactor enzimático en la enzima llamada metalotionina.

ABSORCION Y EXCRECION. *Debido a que no existe un mecanismo que controle el nivel de este metal en el cuerpo humano, se sabe que el cadmio se acumula en los riñones, hígado y vasos sanguíneos teniendo una vida media biológica de 10 a 30 años.[11]*

REQUERIMIENTOS. *No se han realizado estudios para establecer la concentración diaria permitida. Se supone que es baja por su papel biológico en la enzima.*

TOXICIDAD. Lo que se sabe es que, su presencia implica enlaces con residuos de cisteína, aun teniendo baja afinidad por el azufre, tiende a enlazarse con los grupos cloratos, inhibiendo con esto la absorción del aminoácido.

1.6.2. COBRE

El cobre es uno de los metales más abundantes ocupando el tercer lugar, dentro del cuerpo humano. Debido a esto existen mecanismos homeostáticos para regular su absorción, transporte, utilización y eliminación del mismo.

El cobre tiene un papel esencial en la maduración de las células rojas (hemoglobina). El 90% del cobre en la sangre existe en forma de un complejo protéico azul de cobre llamado ceruloplastina que contiene 8 átomos de cobre, el restante se localiza enlazado a la albúmina.

Se presenta en los tejidos generalmente en forma de una asociación llamada metaloenzima. Se le ha asociado con los pigmentos de los tejidos, llamados melaninas, el cual está unido aniónicamente a dicha proteína. Está distribuido principalmente en el hígado, músculos y en los huesos.[6,11]

ABSORCIÓN Y EXCRECIÓN. La absorción de este metal no se ha estudiado mucho pero está relacionada con la absorción del hierro; probablemente la absorción del metal se realiza en la parte superior del intestino delgado donde ocurre una reacción ácida pronunciada, también influye el contenido de calcio en la dieta y el carácter de las secreciones intestinales.

Algunos elementos que intervienen son: el zinc, el hierro y el níquel, para poder realizar la absorción en el hígado. Otros elementos como el molibdeno, el tungsteno, el magnesio y el cromo reducen la absorción del metal (estudios realizados en roedores).[12]

En el caso de la excreción, por medio de experimentos con cobre radiactivo se ha demostrado que más del 90% del metal ingerido en la dieta, se elimina por medio de las heces, debido a la actividad de la excreción de la bilis y posiblemente a través de la pared intestinal.

El líquido biliar es relativamente rico en cobre temporalmente porque es una vía de excreción, esto se comprobó con los enfermos de cirrosis hepática que presentan una obstrucción biliar y existe una elevada concentración de cobre en la orina.

En la enfermedad de Wilson-Uzman existe una excreción excesiva del elemento, 1500 $\mu\text{g}/\text{día}$, además no se dializan las proteínas, provocando con esto la formación de un complejo cupro-proteínas el cual se elimina por medio de la orina.

DEFICIENCIA. Los padecimientos clínicos reportados a causa de una dieta deficiente de cobre son principalmente: la anemia, disminución en el crecimiento, alteraciones en los huesos, depigmentación del cabello, fibrosis del miocardio, alteraciones gastrointestinales (diarrea). Tales padecimientos se previenen o alivian por medio de una administración adecuada de este metal.

Los síntomas dependen de la especie (en el caso de animales), de la edad y de la deficiencia.

TOXICIDAD. Las enfermedades por falta de cobre no se conocen, sin embargo, al cobre se le considera como un veneno acumulativo y por lo tanto se tiene información sobre hipercupremias. Se conocen los trastornos hereditarios y mortales por el mal metabolismo del cobre como son: la enfermedad de Wilson-Uzman (degeneración hepatolenticular) y el Síndrome de Menkes (del pelo ensortijado), la hicomatosis, la anemia mediterránea, la atrofia amarilla del hígado y otras enfermedades crónicas acompañadas de anemia.

FUENTES ALIMENTICIAS. Entre los alimentos que contienen al cobre se encuentran las vísceras de animales (hígado, corazón, etc.), mariscos, cereales de grano (cocoa, nueces, etc.), queso, mantequilla y leche.

1.6.3. CROMO

La función biológica que presenta este metal dentro del organismo humano, es actuar en la regulación del metabolismo de la glucosa, formando parte esencial del factor de tolerancia de glucosa (GTF), que junto con la insulina controla la eliminación de esta, en la sangre. La forma química trivalente, puede mejorar la tolerancia a la glucosa en individuos que sufren de desnutrición proteica-calórica. Actúa en el metabolismo de proteínas y lípidos.

ABSORCION Y EXCRECION. El cromo se absorbe en el intestino delgado, es transportado a los tejidos, va unido a la transferina, microsomas y citosol del hepatocito. La eliminación del metal se realiza principalmente a través de la orina.

TOXICIDAD. La información que se tiene, es que a una exposición prolongada de polvo de cromato, provoca un incremento en el riesgo del cáncer pulmonar. El cromo hexavalente es más tóxico que el trivalente.[11]

Niveles de 50 mg Cr/Kg de masa seca, han causado disminución del crecimiento y lesiones en el hígado y en el riñón de las ratas.[6]

1.6.4. NIQUEL

Estudios sobre el efecto de este metal en varios sistemas biológicos, indican que el Ni^{2+} activa algunas enzimas: la arginasa, la carboxilasa y la tripsina in vitro. En el organismo aún no se tienen muchos datos, en 1929 se supo que formaba parte de los huesos.[13]

ABSORCION Y EXCRESION. No se sabe con seguridad si existen medios que permitan la absorción del metal, sólo se habla de la inabsorción porque en experimentos se ha encontrado que la mayoría del metal ingerido se elimina por medio de las heces y la orina. Su absorción depende de la forma química en que se ingiera

TOXICIDAD. El níquel es un elemento atóxico cuando se ingiere, pero se tienen datos sobre trabajadores de las refineras de níquel que presentan frecuentemente, una neoplasia en el tracto respiratorio aunque no se han realizado pruebas para confirmar su origen.

FUENTES ALIMENTICIAS. El níquel es un componente inevitable en la dieta para el humano porque este se encuentra en concentraciones variables en alimentos, vegetales verdes, tubérculos y cereales.[21]

1.6.5. PLOMO

FUENTES Y VIAS DE EXPOSICION.

Las fuentes de plomo son las industriales, las cuales se distribuyen en el medio ambiente, su aplicación en forma de derivados alquilicos en el combustible de los automóviles donde actúa como antidetonante, esta es una utilización en forma dispersiva e irrecuperable del mismo.

Hoy en día, apesar de las modificaciones tecnológicas automotrices que implican el uso de catalizadores lo cual impide usar gasolina con plomo, aún persiste la fuente de emisión porque todavía hay un gran número de automóviles que utilizan gasolina con plomo.

El aire es uno de los medios de transporte y distribución del plomo que proviene de fuentes fijas o móviles, depositándolo en el suelo y en el agua.

Las partículas de plomo se transfieren del suelo a las plantas (la concentración de plomo en la plantas varía de 0.1 a 2.5 mg/kg base seca) y de esta a los animales, o por acumulación superficial de la mismas, la biomasa tiende a absorber al metal.

Los alimentos contienen en forma variable al plomo. En estudios recientes en EUA se ha estimado que la ingesta oral diaria en alimentos y bebidas es aproximadamente del orden de 100 µg. Recientemente en Suecia el valor que reportaron fue de 20 µg/día.[28]

La leche elaborada, contiene más plomo que la leche fresca y la humana, en estas dos últimas la concentración es muy similar.

METABOLISMO. Debido a que el plomo es un metal que no forma parte de los tejidos y organos se ha considerado como un metal altamente tóxico. Por lo tanto, la presencia de este en el organismo humano toma una gran importancia.

ABSORCION Y EXCRECION. Se ha reportado que el 35% del plomo inhalado se deposita principalmente en pulmones (en el lecho alveolar), en las regiones más profundas del sistema traqueobranquial.

El metabolismo del plomo ingerido a través de los alimentos y las bebidas, aproximadamente el 10% es absorbido, la absorción aumenta cuando se presenta una deficiencia de: vitamina D, hierro y calcio.

El plomo absorbido pasa al torrente sanguíneo, el cual lo transporta a los huesos y a los tejidos blandos. La acumulación se realiza principalmente en los huesos donde su renovación es lenta de tal forma que aumenta durante la vida, y en menor concentración en tejidos blandos (sangre), aquí la renovación es rápida, y es hasta la edad adulta cuando se incrementa.

La Organización Mundial de la Salud ha establecido que una ingesta diaria de plomo de 100 µg contribuye al nivel del metal en sangre de hombres y mujeres (con 5.4-18.3 µg y 4.4-13 µg respectivamente).[26,28]

El plomo se excreta gradualmente a través de la bilis, pasando al intestino delgado para su posterior eliminación, por la vía urinaria es aproximadamente del 76%, por medio del tracto gastrointestinal el 16%, el resto (8%) se elimina por medio de las vías del sudor, pérdida de cabello y exfoliación cutánea.

Los derivados alquilicos del plomo se desalquilan para convertirse en derivados trialquilicos y plomo inorgánico.

EFFECTO TOXICOLOGICO EN EL ORGANISMO

SISTEMA HEMATOPOYETICO

El plomo altera la síntesis del precursor de la hemoglobina (el Hem), puede ocasionar anemia debido a que altera la síntesis de globina en los eritrocitos y en la utilización del hierro.

SISTEMA NERVIOSO

A nivel de sistema nervioso central las dosis elevadas de plomo (en forma de tetraetilo de plomo), producen encefalopatía plúmbica, caracterizada por temblor muscular, alucinaciones, irritabilidad pasando a delirio, convulsiones, parálisis y coma. En caso de llegar a la muerte las lesiones observables son: edema cerebral y alteración en los vasos sanguíneos cerebrales. En la neuropatía plúmbica, hay una desmielinación y una degeneración axónica.

El plomo inhibe la transmisión sináptica en el sistema nervioso periférico, reflejándose en una debilidad de los músculos extensores, los efectos pueden ser reversibles con la administración de calcio.

SISTEMA RENAL

A una concentración elevada de plomo en el sistema renal, se generan efectos tubulares reversibles, aparecen complejos de plomo-proteína insolubles en solución fisiológica. Del total del plomo existente en el riñón, 90% se puede encontrar en esa forma.

Otras anomalías que se presentan ante este padecimiento son la aminoaciduria, glucosuria e hiperfosfatúria. Si la concentración del metal aumenta se refleja en el epitelio tubular renal con una hiperplasia y alteraciones císticas.

SISTEMA CARDIOVASCULAR

Se sabe que a una exposición intensa de plomo puede producir hipertensión arterial. En animales también se ha observado un cambio gradual en la permeabilidad de los vasos sanguíneos.

SISTEMA REPRODUCTIVO

Los lactantes y recién nacidos presentan deficiencias de comportamiento y aprendizaje, por una exposición intrauterina de plomo en la madre; ocasionado con esto que los niños sean más susceptibles a la intoxicación.

En los hombres puede alterar la espermatogénesis aún con concentraciones pequeñas, es decir que se presenta un efecto tóxico en las gónadas.

CARCINOGENICIDAD

Aún no se tienen informes sobre tumores carcinógenos en humanos debido a una exposición continua del metal.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TOXICIDAD

Dentro de los factores que influyen en la toxicidad del plomo se encuentran:

A) Las variaciones estacionales, las incidencias aumentan a temperaturas altas del medio ambiente y disminuye a temperaturas bajas.

B) El sexo, en ratas se ha visto que, las hembras requieren una dosis letal inferior en comparación a la que necesitan los machos.

C) La nutrición es otro factor que influye en el grado de toxicidad del plomo. Esto se refleja directamente, porque su absorción varía en relación con diversos elementos químicos que forman la dieta, a concentraciones bajas de calcio, fósforo, hierro y una concentración elevada de vitamina D, aumentan la absorción del metal, así como también una dieta con bajo contenido de proteínas incrementa la susceptibilidad al saturnismo o plumbismo.

Esta enfermedad bioquímicamente se caracteriza por: pigmentación en glóbulo rojo, un retraso en la maduración de glóbulos rojos en la médula ósea e inhibición en la síntesis de hemoglobina, se afectan las enzimas responsables de la formación de protoporfirina IX, así como las de la incorporación de hierro en la protoporfirina IX. Los síntomas de intoxicación comprenden además de lo anterior, problemas gastrointestinales extendiéndose al sistema nervioso, riñón y corazón.

Durante la etapa inicial los padecimientos son: anemia, debilidad, cansancio, estreñimiento, dolor muscular, de cabeza, de estómago y abdomen, y pesantanas náuseas.[14]

1.6.6. ZINC

El zinc es un metal indispensable para el desarrollo de las plantas y animales, porque forma parte del grupo prostético de varias enzimas. Las cantidades diarias recomendadas son de 10-15 miligramos.[36]

Debido a que existe un mecanismo regulador de este metal en el organismo humano, no se han realizado estudios profundos para establecer concentraciones máximas permisibles en los alimentos.

ABSORCION Y EXCRECION. La absorción del metal se realiza a nivel intestinal gracias a la presencia de un factor o proteína fijadora secretada por el páncreas, de ahí pasa a la molécula de albúmina. La absorción disminuye en presencia de concentraciones altas de ión fosfato, calcio, y con los fitatos tiende a formar complejos insolubles, a concentraciones elevadas de cobre puede presentarse una competencia con este metal, por los sitios de unión de la proteína receptora. El zinc se acumula preferentemente en el hueso, en la piel y el pelo se encuentra en concentraciones elevadas.

La excreción del metal (más del 50% del ingerido), se realiza principalmente por las heces, otro porcentaje se elimina por medio del sudor.

DEFICIENCIAS. La deficiencia de zinc provoca, la acrodermatitis enterohéptica cuyos síntomas son: signos dermatológicos, gastrointestinales, oftálmicos, retardo del crecimiento e hipogonadismo. Las personas con deficiencia del metal presentan mala cicatrización de las heridas.

TOXICIDAD. El zinc presenta poca toxicidad en los mamíferos porque presentan un gran margen de seguridad para el metal, pero si las concentraciones de cobre aumentan se presenta una anemia de zinc y biceverza.

FUENTES ALIMENTICIAS. El metal se encuentra en el salvado, en el germen de los cereales y en las levaduras.[6]Otras fuentes del metal son la proteína animal, los cítricos y los vegetales.

1.7. ACCION BIOLOGICA DE LAS METALOENZIMAS DE: Cadmio, Cobre, Níquel, y Zinc.

CADMIO

La enzima en la que se haya es la metalotionina pero aún no se sabe bien su función biológica.

COBRE

Las enzimas son:

La LACASA que cataliza la oxidación de ciertas diaminas, difenoles y la hidroquinona. Durante la reacción, los cuatro átomos de cobre se reducen a Cu^{1+} y se oxida a Cu^{2+} con el oxígeno.

La CERUPLAMINA localizada en el plasma sanguíneo, contiene dos cadenas de péptidos, con 7 más, menos un átomo de cobre además de nueve o diez cadenas de heterosacáridos por molécula, actúa similar a la lacasa.

La OXIDASA DEL CITOCROMO, contiene además de cobre, hierro en relación 1:1, actúa en el paso final de la cadena de oxido-reducción de una molécula de oxígeno.

La OXIDASA DE LA GALACTOSA, esta integrada por un átomo de cobre y una cadena de polipéptidos, en este caso el Cu^{2+} tiene una función específica dentro del mecanismo de reacción. La presencia de este se basa en su química de coordinación.

La DISMUTASA DEL SUPEROXIDO O ERITROCUPRINA, fue hallada en los eritrocitos, esta compuesta por Zn-Cu, su función es catalizar la desproporción del ión superóxido O_2^- , el cual no puede permanecer mucho tiempo en la célula debido a su gran reactividad.

NIQUEL

UREASA. Esta proteína se encontró primero en el hombre, y después en una variedad de frijol. La enzima posee aproximadamente dos átomos del metal por cada 105000 daltones de enzima, anteriormente no se había encontrado por su concentración tan baja y su débil espectro, la función de estos iones en la enzima, aún no se sabe con exactitud.

ZINC

Se ha demostrado que el zinc forma parte de varias enzimas las cuales son: las peptidasas, deshidrogenasas, transfosforilasas, fosfatasa, una transcarbamilasa y polimerasas de DNA y RNA.

De las que se tiene mayor información, sobre la función de este metal en las reacciones que catalizan esas enzimas son, la carboxipeptidasa y la anhidrasa carbónica.

CARBOXIPEPTIDASA A (CPA). Actúa como catalizador en la hidrólisis del enlace péptido terminal en el extremo carboxilo de las proteínas y otras cadenas de péptidos. En la CPA bovina el ión zinc está coordinado por medio de dos átomos de nitrógeno de la histidina con un átomo de oxígeno de la cadena lateral de carboxilos, con un residuo de glutamato, y con una molécula de agua.

ANHIDRASA CARBONICA. posee un peso molecular de 30.000 g/mol en el ser humano, se presenta en dos formas muy similares, sus estructuras se conocen por métodos cristalográficos. El zinc esta localizado en una cavidad profunda, coordinado a tres átomos de nitrógeno, del imidazol de la histidina.

La presencia de esta enzima provoca que se equilibre el CO_2 , de manera más rápida con el HCO_3 y el H_2CO_3 a pH fisiológico, ya que se cataliza la reacción de hidratación en cualquier sentido, según lo requiera el organismo.

METALOTIONEINAS. Esta es una proteína del zinc, posee un contenido elevado del mismo, además contiene: Cu, Cd, Fe, y Hg; se ha encontrado en la capa cortical renal del hígado humano.

La función fisiológica que se le atribuye a dichas proteínas hasta el momento es la detoxificación metálica y el control del metabolismo, a causa del elevado número de cisteínas que poseen, las cuales tienen gran facilidad de enlazar metales.

1.8. TECNICAS ANALITICAS ESPECTROQUIMICAS

A continuación se describe el fundamento y aspectos del análisis cuantitativo de cada una de las técnicas seleccionadas para la determinación de los metales en estudio, la parte concerniente a la instrumentación, sensibilidad y límite de detección de estas se describe en el Apéndice A.

1.8.1. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (E.A.A.) FUNDAMENTO.

La Espectrofotometría de Absorción Atómica es una técnica que se basa en el estudio de la energía radiante, que es emitida por los átomos. Cuando se aplica una cantidad de energía de una intensidad apropiada a un átomo, este la absorbe y dentro de su configuración electrónica (entendiéndose configuración electrónica como el acomodo de los electrones ordenadamente en cada uno de los orbitales del elemento), un electrón de su capa u orbital es promovido a una configuración menos estable conocida como: estado excitado.

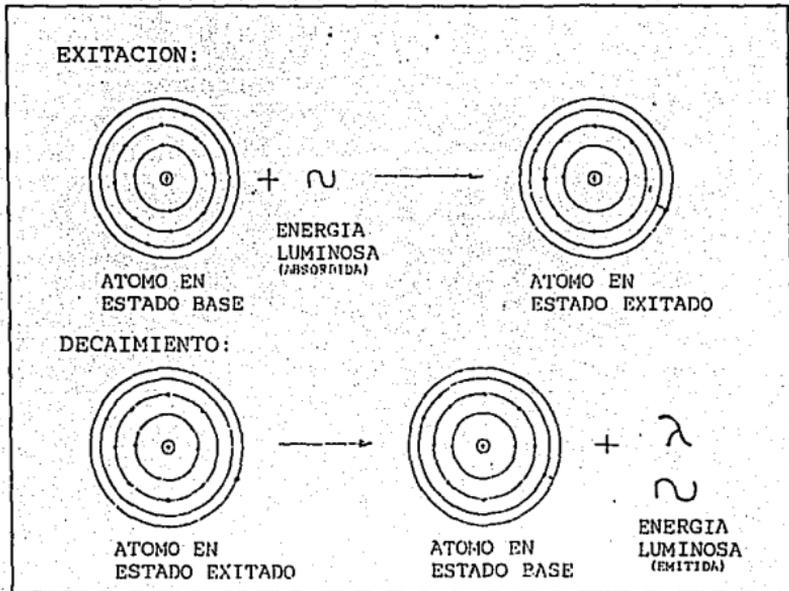
Debido a que este estado es inestable, el elemento, tiende a regresar a su estado basal y durante este proceso emite energía radiante equivalente a la energía que absorbió para llegar a dicho estado de excitación. La longitud de onda de la energía emitida esta relacionada directamente con la transición electrónica ocurrida y es propia de cada elemento.

La fuente de energía es una flama. El proceso de absorción atómica consiste en que si la luz de la longitud de onda precisa incide en un átomo libre, en estado base, el átomo puede absorber la luz a medida que entra en estado excitado.

Las determinaciones de concentración de un elemento en una muestra por Absorción Atómica, es la cantidad de luz absorbida por los átomos en estudio (ver Figura 1.1.)

FIGURA 1. 1.

FUNDAMENTO DEL PROCESO DE ABSORCION ATOMICA
ETAPAS DE EXITACION Y DECAIMIENTO

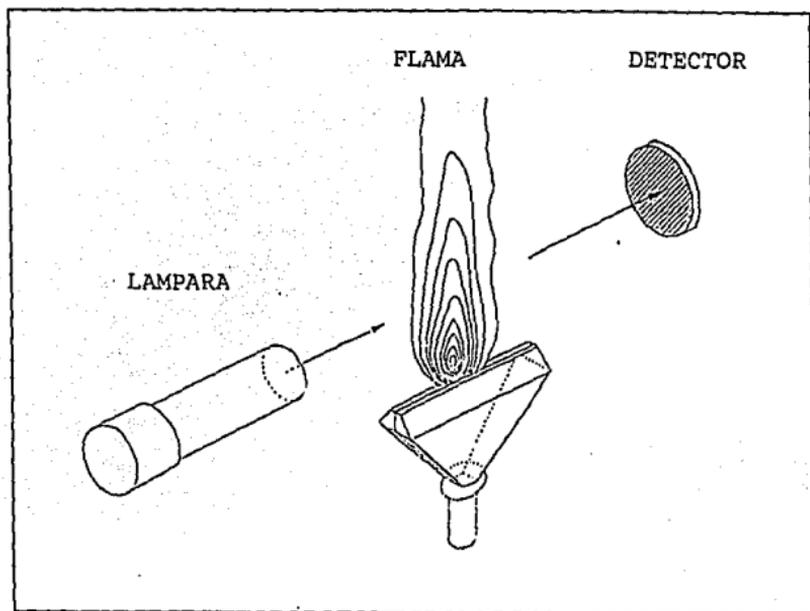


1.8.2. ANALISIS CUANTITATIVO

La figura número 1. 2., representa el proceso de absorción atómica donde intervienen: la fuente luminosa (lámpara de cátodo hueco), la flama del mechero y el detector.

FIGURA 1. 2.

MECANISMO DEL PROCESO DE ABSORCION ATOMICA



Sobre la llama o celda de flama que posee átomos en estado fundamental o basal, se enfoca la luz a la longitud de onda de resonancia, con una intensidad inicial denominada como I_0 . Debido a la concentración de átomos en la flama se provoca una disminución en la intensidad inicial de la luz, denominada como I , dependiendo de la concentración. El detector mide la intensidad disminuida (I) porque es ahí donde se dirige la luz.

Para determinar la cantidad de luz absorbida se comparan I e I_0 . La transmitancia (T), es uno de los términos que se utilizan para determinar la cantidad de luz absorbida y

se define como la razón de la intensidad disminuida y la intensidad inicial; es una indicación de la fracción de luz inicial que pasa a través de la flama para incidir en el detector.

$$T = I/I_0$$

El término más utilizado para definir la absorción de luz en la espectrofotometría de Absorción Atómica es "La Absorbancia", esta intensidad presenta una relación lineal o proporcional a la concentración del elemento a determinar en alguna muestra.

$$A = \log I_0/I$$

La ley que define esa relación es la de Lammer y Beer:

$$A = abc$$

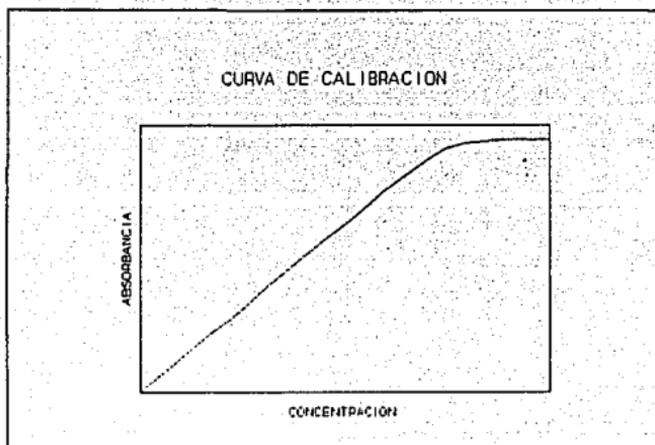
Donde A es la absorbancia, " a " es el coeficiente de absorción, constante característica de las especies absorbentes, " b " es la longitud de la trayectoria de la luz interceptada por la celda de absorción y " c " es la concentración de las especies absorbentes en la misma celda. La ecuación establece que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes según las condiciones instrumentales. En la Espectrofotometría de Absorción Atómica se observa el comportamiento entre la absorbancia y la concentración de algunos elementos en una solución.

Con esta relación, se pueden preparar curvas de calibración con soluciones de concentración conocida obteniendo una curva similar a la ilustrada en la Gráfica Número 1.1.

Esta curva de calibración sirve para poder calcular la concentración de elementos en soluciones, en base a la absorbancia que presenten. [34,37]

GRAFICA No. 1. 1.

COMPORTAMIENTO ENTRE ABSORBANCIA Y CONCENTRACION
DE UN ELEMENTO ABSORBENTE.



1.8.3. HORNO DE GRAFITO

Al utilizar este sistema para el análisis de trazas de elementos, existen algunas ventajas sobre el análisis con flama, y estas son:

- Una mayor sensibilidad
- Menor consumo de muestra (de 20 a 70 μ l)
- Destrucción completa de la matriz de la muestra
- y Determinaciones de concentraciones del orden de μ g/g

El análisis con Horno de Grafito esta formado por tres etapas de calentamiento de la muestra:

- Secado
- Mineralización o Formación de cenizas
- Atomización

Antes de llevar a cabo estas tres etapas, la muestra se suministra a un tubo de grafito (entre dos electrodos), con un agujero en el centro por donde se introduce la muestra, de 1 a 10 microlitros, por medio de una micropipeta.

SECADO

Para la etapa del secado es de gran importancia elegir los mejores parámetros de secado para alcanzar una precisión satisfactoria. La temperatura de secado debe ser 20% menos que la muestra. Siendo el tiempo de secado de dos a tres segundos por microlitro de muestra.

MINERALIZACION O FORMACION DE CENIZAS

Esta etapa consiste en eliminar la matriz de la muestra, sin pérdida del analito, considerando los siguientes parámetros: temperatura y flujo de gas.

Conduce a eliminar la señal no atómica previa a la atomización sin pérdida del elemento, minimizando la magnitud de absorción no atómica durante el período de atomización.

ATOMIZACION

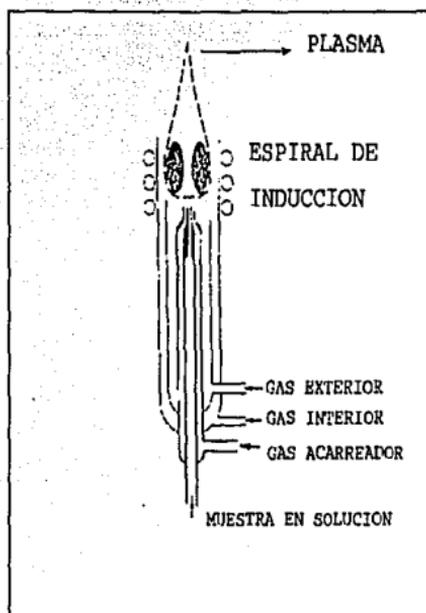
La atomización es la velocidad de calentamiento del atomizador desde la etapa de mineralización hasta la temperatura de atomización. Afecta la sensibilidad del análisis, por lo tanto es indispensable elegir adecuadamente las temperaturas de atomización que recomienda el manual "Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers".[35]

Normalmente el tiempo y la temperatura de atomización sostenida es de 2 a 3 segundos, sin circulación de gas. Al terminar la atomización, se mantiene la temperatura de ésta por 1 a 2 segundos con flujo de gas. El flujo de gas es sostenido por 20 segundos más para proteger el tubo de grafito durante el enfriamiento.

1.8.2. TECNICA DE ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP) FUNDAMENTO

Una alternativa que presenta la Espectrometría de Emisión Atómica es la de utilizar como fuente de energía, para poder excitar y/o ionizar los átomos de una serie de elementos, una fuente llamada plasma. (Ver Figura 1.3.)

FIGURA 1.3. ELEMENTOS DE LA FUENTE DE ENERGIA
DEL ESPECTROMETRO DE EMISION POR PLASMA



Este plasma esta formado de argón, parcialmente ionizado, eléctricamente neutro confinado en un campo electromagnético, no posee electrodos, su formación es a base de presión atmosférica y esta sostenido a los campos magnéticos de alta frecuencia por un acoplamiento inductivo; la temperatura máxima que alcanza el plasma es de diez mil grados Kelvin.

La Espectrometría de Emisión mide los átomos en estado excitado. Al momento en que un átomo en estado exitado regresa a su estado fundamental tiende a ceder una cantidad de energía igual a la cantidad de energía que se utilizó para su excitación en forma de radiaciones, a una determinada longitud de onda, especifica del elemento en

estudio. La intensidad de emisión de las radiaciones se puede representar en forma gráfica y se llama Espectro de Emisión.

Dicho fenómeno se representa por medio de la ecuación de Planck.

$$M_e \rightarrow M_e + h\nu_1 + h\nu_2 + h\nu_3, \dots\dots\dots$$

Según el equilibrio si la reacción se desplaza hacia la izquierda se trata de la Espectrofotometría de Absorción, y si es hacia la derecha se habla de la Espectrometría de Emisión. Es decir que la Emisión mide átomos en estado excitado y la Absorción de átomos en estado fundamental.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

La secuencia que lleva el análisis es: una vez que llega la muestra al plasma, los elementos que la componen se ionizan y se excitan, emiten radiaciones a una longitud de onda característica. El monocromador recibe la energía, la cual es dispersada por la rejilla de difracción.

Posteriormente pasan al tubo fotomultiplicador, después de obtener el espectro especificado por el analista, este dispositivo realiza el conteo de la intensidad de dicho espectro y las señales pasan finalmente a la computadora la cual reporta los resultados directamente.

La principal ventaja es: la versatilidad que presenta el instrumento, se pueden realizar análisis multielementales en un amplio intervalo de concentraciones, es decir, que puede realizar análisis simultáneos de macro y micro constituyentes incluyendo trazas, su poder de detección está en el orden de ng/g (partes por billón), utilizando un menor tiempo de análisis.

La Instrumentación, la Sensibilidad y el Límite de Detección del Espectrofotómetro se describen en el Apéndice A.

CAPITULO II. PARTE EXPERIMENTAL

Dentro de este capítulo se explica que pasos se siguieron para los análisis de las muestras, como son: dar las condiciones óptimas de trabajo para los equipos, tanto del espectrofotómetro como del espectrómetro y las condiciones en que se realizaron las curvas de calibración para las lectura de cada uno de los metales; también se describe qué tipo de análisis se utilizó para el cálculo de los resultados.

2.1. DISEÑO DEL METODO DE MUESTREO

Para elegir el método de muestreo se consideró que el alimento a analizar, la leche, tiene la propiedad de ser homogéneo debido al procesamiento al que esta sometido, por lo tanto las muestras (envases de un litro) son representativas del total del lote.

Otro factor fue el no conocer el número total de piezas por el lote de producción disponibles en el mercado de cada una de las marcas.

En base a esto, se eligió el muestreo aleatorio simple, distribuyendo cinco áreas de recolección de muestras, con las que se cubrió el total del área de la Ciudad de México, dichas áreas fueron: el área norte, el área sur, el área este, el área oeste y el área centro, (Ver Figura II.1.).

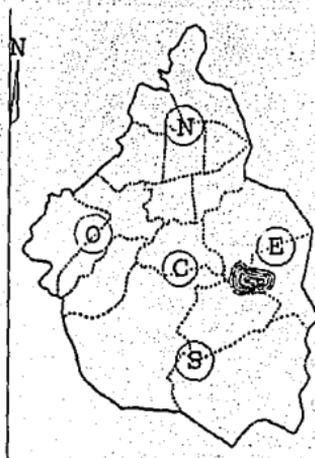
Los puntos de recolección dentro de estas zonas fueron: Centros Comerciales, Tiendas de Abarrotes y Expendios de Pan, es decir lugares de acceso inmediato para el consumidor.

Un número total de diez muestras de un litro, se consideró para cada una de las marcas utilizadas, suponiendo que el comportamiento de los valores provenientes de los análisis de las muestras estarían dentro de una distribución estadística normal y que tal número de muestras proporcionaría un intervalo de confianza.

Aunque es recomendable que el tamaño de muestras sea mayor para disminuir el error, ser más preciso y representativo.

El período de recolección de las muestras fue en los meses de Julio, Agosto y Septiembre de 1992 en diferentes días del mes.

FIGURA No. II. I.
UBICACION DE LAS ZONAS DE MUESTREO



2.2. METODOLOGIA

Para la determinación de elementos traza en alimentos, específicamente metales pesados en este caso, es necesario degradar la materia orgánica existente en estos. Los métodos conocidos para este fin son de dos tipos: Vía húmeda y Vía Seca.

La metodología utilizada para el tratamiento de las muestras fue la vía seca la cual consiste en someter la muestra a diferentes grados de temperatura en diferentes pasos: un secado, una precalcincación y finalmente una calcincación con el propósito de eliminar la materia orgánica presente.

2.3. PREPARACION DE LA MUESTRA.

Con el fin de evitar cualquier contaminación, debido a la baja concentración que podía contener la muestra, de los metales en estudio, fue necesario dejar en reposo un día el material en ácido nítrico al 10%, al siguiente día se lavó con ácido caliente en la misma concentración, después se le agregó agua bidestilada caliente y posteriormente se enjuagó dos veces con agua bidestilada fría.

La preparación de la muestra fue la siguiente:

A partir de las muestras recolectadas de cada litro, se tomaron tres alícuotas de 50 ml de cada una con el fin de trabajar cada muestra por duplicado y una muestra que se utilizó como patrón, se colocó en un vaso de precipitado de 250 ml y se sometió a una liofilización parcial; la cual se realizó de la siguiente manera:

Los vasos se colocaron en una charola, adicionando alrededor nitrógeno líquido, una vez congelada la muestra se colocaron dentro de la liofilizadora. En condiciones adecuadas de temperatura y presión, el proceso de secado duró un período de 24 horas; este paso se realizó con el objeto de controlar mejor el secado de la muestra evitando pérdidas porque de esta forma no se corría el riesgo de que existiera una proyección de la misma, una vez seca la muestra se sacó del dispositivo para proseguir su tratamiento.

El siguiente paso fue la precalcincación la cual se realizó en dos fases, la primera consistió en colocar la muestra seca en una cápsula de porcelana la cual se sometió al calor de una lámpara de luz infrarroja durante cuatro horas, esto con el fin de continuar el secado de la muestra y comenzar con la degradación de la materia orgánica.

También, es necesario mencionar que, en ese momento se colocó una cápsula adicional, en la cual se corrió un blanco de reactivos y se trabajó de manera simultánea durante el tratamiento de la muestra.

La segunda parte de la precalcinación consistió en someter la muestra a un calentamiento con mechero (Fisher), a flama muy ligera, por un período de cuatro horas.

En este paso se producen humos blancos y densos, como producto de la oxidación de la materia orgánica, en el momento en que cesa el humo, la muestra esta lista para pasar a la calcinación.

Toda esta serie de pasos donde se va aumentando gradualmente la temperatura, fue con el objeto de evitar cualquier pérdida de los metales por volatilización a causa de una ignición violenta de la muestra.

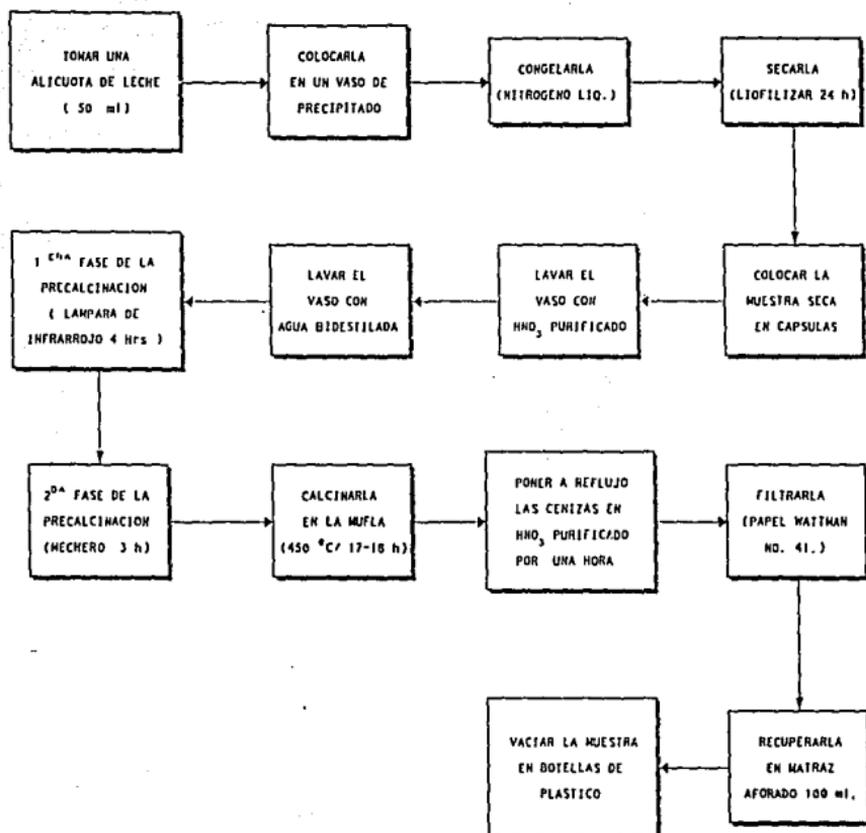
Posteriormente, la cápsula de porcelana se introdujo en la mufla (Thermolyne Mod. F. 6020), cuando el termostato marcaba 40 °C, la temperatura de esta, se programó para que llegara hasta los 450 °C, a esa temperatura las muestras permanecieron por un período de 18-19 horas hasta la obtención de cenizas blancas, libres de partículas de carbono.

Las cenizas se pusieron a reflujó sobre parrillas de calentamiento (Thermolyne Mod. F. 6020), durante una hora con 10 ml de ácido nítrico purificado, con el fin de asegurar la completa eliminación de alguna posible partícula de carbono.

Posteriormente la muestra se filtró, recogiendo el filtrado en un matraz aforado de 100 ml. La cápsula fue lavada tres veces con agua bidesulfada.

En seguida el contenido de los matraces, se pasaron a botellas de plástico (previamente lavadas con ácido y agua) hasta su análisis (ver diagrama II.1.).

DIAGRAMA II.1.
PREPARACION DE LA MUESTRA



2.3.1. PARA ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

Para el análisis de la muestra por la técnica de E. de Absorción Atómica utilizando el Horno de Grafito, se procedió a tomar una alícuota de 10 ml de la muestra indicada en el inciso anterior, colocándola en un vaso de precipitado de 30 ml, se evaporó a sequedad y se recuperó con ácido nítrico purificado en un matraz aforado de 10 ml, llevando a una concentración de 0.2% de ácido en el volumen final, el vaso se lavó con agua bidestilada las veces necesarias hasta aforar el matraz. De esta forma quedo preparada la muestra (ver diagrama 11.2.), también, al igual que en el caso anterior se corrió un blanco de reactivos simultaneamente.

Esta muestra también se utilizó para la determinación de: cadmio, plomo y níquel, por medio de la otra alternativa del Espectrofotómetro, (E.A.A. con flama).

2.3.2. PARA ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (AES. ICP.)

La preparación de la muestra para esta técnica fue la explicada en el inciso 2.4., (ver diagrama 11.3.).

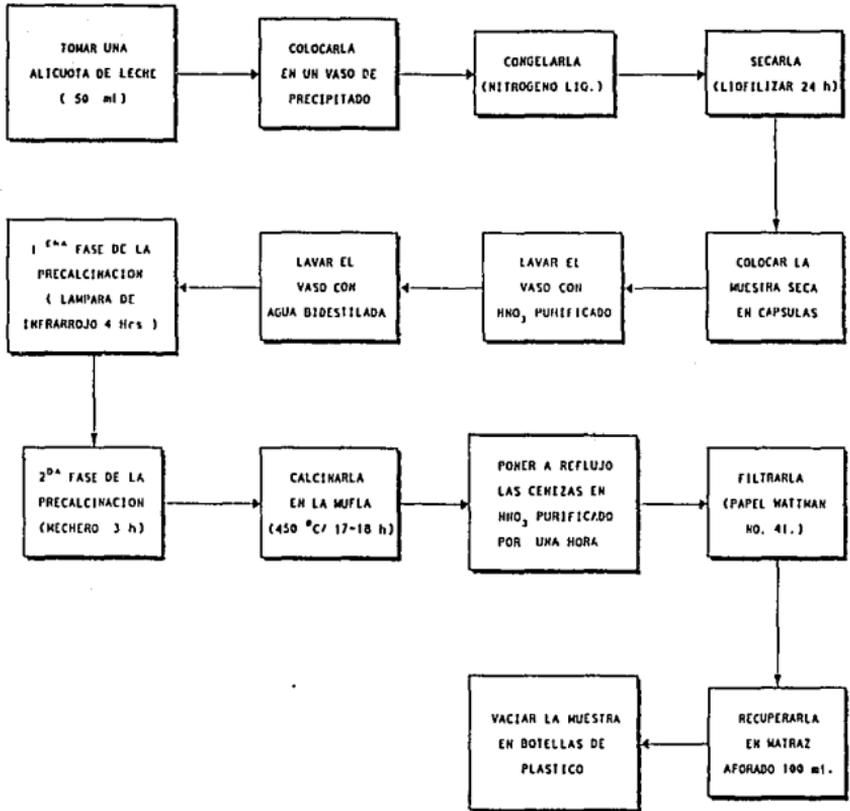
DIAGRAMA II.2.

PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA TECNICA DE: E.A.A.
CON HORNO DE GRAFITO Y CON FLAMA



DIAGRAMA II.3.

PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA TECNICA DE EMISION POR PLASMA
ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA
(AES. ICP)



2.4. DETERMINACION CUANTITATIVA DE LOS METALES POR LA TECNICA DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (CON HORNO DE GRAFITO Y CON FLAMA)

2.4.1. CONDICIONES DEL EQUIPO PARA HORNO DE GRAFITO

Para trabajar con el espectrofotómetro fue necesario establecer las condiciones óptimas, para el análisis de cada uno de los metales, los pasos que se siguieron fueron los que se mencionan a continuación:

1. Encender el equipo (Espectrofotómetro de Absorción Atómica Marca: Perkin Elmer, Modelo: 5000),
2. Dar longitud de onda,
3. Dar el valor de slit,
4. Dar el valor de miliamperaje,
5. Velocidad de aspiración de la muestra,
6. Abrir el paso de agua,
7. Abrir la llave de paso del óxido nítrico,
8. Programar los tiempos y temperaturas de los siguientes puntos: secado, mineralización y atomización (ver tabla II. 1.).

TABLA II. 1.

CONDICIONES OPTIMAS PARA EL ANALISIS DE: CADMIO, NIQUEL, y PLOMO, MEDIANTE E.A.A. CON HORNO DE GRAFITO

CONDICIONES	CADMIO	NIQUEL	PLOMO
LONGITUD DE ONDA	229.5	232.2	214.5
MILIAMPERAJE	8	25	15
SLIT H.	0.2	0.7	0.7
GASES: C.H ₄ - AIRE	50-50	50-50	50-50
ALTURA DE LA LAMPARA	7	3	7
FONDO DE LA LAMPARA	6	8	6

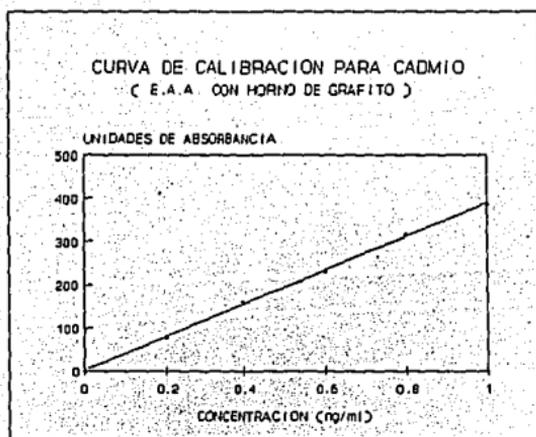
PREPARACION DE LA CURVA PATRON PARA E.A.A. HG.

Al trabajar con Horno de Grafito es indispensable preparar una serie de soluciones patrón de concentración conocida y creciente del elemento (metal o analito) a analizar, de tal manera que proporcione una curva de calibración, la cual se pueda usar para calcular la concentración del metal en las muestras problema.

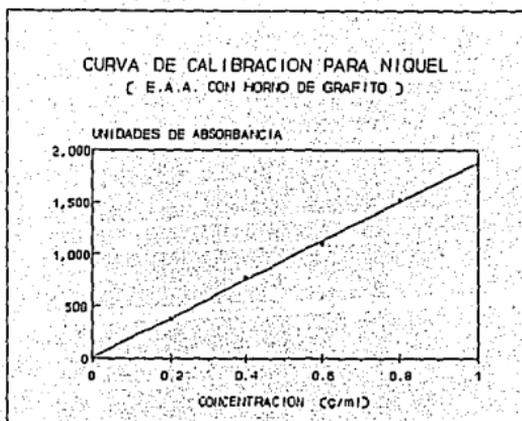
Se prepararon seis curvas de calibración correspondientes a cada uno de los metales: Cd, Ni, y Pb, a partir de soluciones Titrisol, cuyas concentraciones, para cada metal fueron de: 0.2, 0.4, 0.8 y 1.2 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados estan representados en las siguientes gráficas, de la II.1. a la II.3.

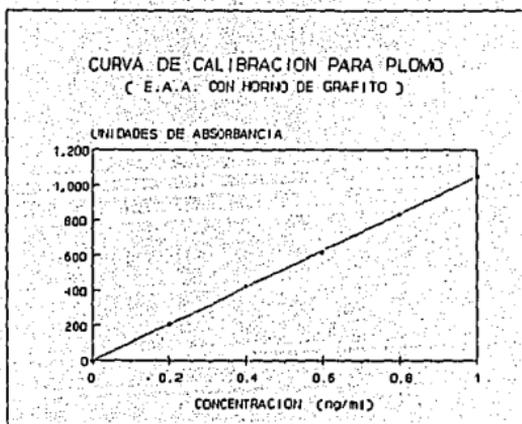
CURVAS DE CALIBRACION PARA: CADMIO, NIQUEL, Y PLOMO ANALIZADOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORSORCION ATOMICA CON HORNO DE GRAFITO



Gráfica II.1.



Gráfica II.2.



Gráfica II.3.

2.4.2. CONDICIONES DEL EQUIPO CON FLAMA

Para efectuar el análisis de los elementos restantes: cromo, cobre y zinc, mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con flama, es necesario primero, encender el aparato, después colocar las lámparas de cátodo hueco (de los metales antes mencionados) enfocándolas sobre la celda de muestreo, una vez realizado esto, se establecen las condiciones de operación del equipo indicadas en la tabla II. 2.

TABLA II. 2.

CONDICIONES OPTIMAS PARA EL ANALISIS DE: COBRE,
CROMO, y ZINC, MEDIANTE E.A.A. CON FLAMA

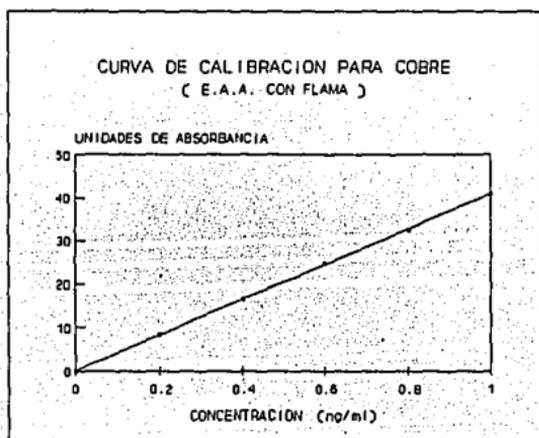
CONDICIONES	COBRE	CROMO	ZINC
LONGITUD DE ONDA (nanómetros)	325.6	357.9	213.6
FLAMA	aire/ acetileno	aire/ acetileno	aire/ acetileno
MILIAMPERAJE	15	10	12
ALTURA DEL MECHERO	6.5	6.8	7.1
FONDO DEL MECHERO	6.5	4.5	5.8
SLIT	0.7	0.7	0.7

PREPARACION DE LA CURVA PATRON PARA E.A.A. FLAMA

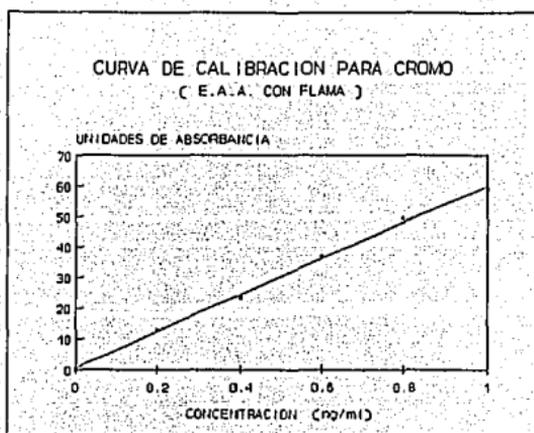
Como se mencionó en la técnica anterior, también al trabajar con Flama fue necesario preparar curvas de calibración, a partir de soluciones títisól con una concentración de 1000 $\mu\text{g/ml}$. Las concentraciones en este caso, al igual que las anteriores fueron de: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 $\mu\text{g/ml}$, para: cobre, cromo y zinc.

Los resultados estan representados en las gráficas, de la II.4. a la II.6.

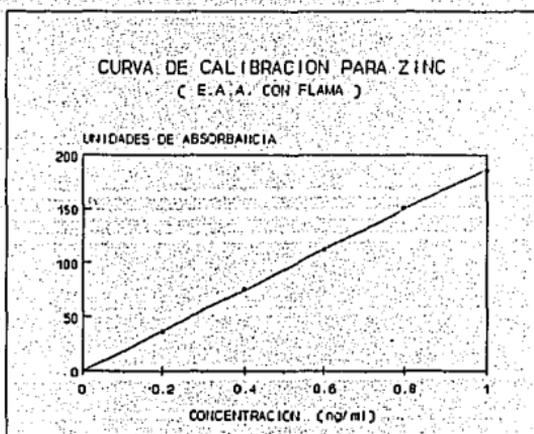
CURVAS DE CALIBRACION PARA: COBRE, CROMO Y ZINC ANALIZADOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORSORCIÓN ATOMICA CON FLAMA



Gráfica II.4.



Gráfica 11.5.



Gráfica 11.6.

2.5. ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA SECUENCIAL (A.E.S. ICP.)

2.5.1. CONDICIONES DEL EQUIPO

Para poder llevar acabo el análisis de las muestras por esta técnica fue necesario considerar ciertas condiciones específicas.

A continuación se menciona la secuencia del procedimiento:

1. Encender el espectrómetro (Espectrómetro de Emisión por Plasma. Marca: Applied Research Laboratories (ARL) Modelo: 35000),
2. Regular la temperatura ambiental ($< 18^{\circ}\text{C}$),
3. Correr un programa inicial, llamado ZERO, que tiene como objetivo comprobar la estabilidad y ubicar la longitud de onda de referencia que corresponde a la del elemento que compone el plasma (argón),
4. Después crear un programa (Ver Tabla II.4.), con las condiciones óptimas para el análisis de los metales, involucrando los siguientes parámetros:
 - Longitud de onda: Es la línea más sensible para cada elemento.
 - Tiempo de integración: Es el lapso de tiempo (segundos), durante el cual, el equipo realiza la medición.
 - Grado de atenuación: Medida que corrige la relación de intensidades entre el fondo del espectro y el pico proporcionado por el analito en cuestión.
 - Corrección de fondo: Corrección del efecto o intensidad creado por la matriz o por alguna ionización que afecta a la emisión provocada por el elemento a analizar.

Para la creación de este programa, se exploraron las principales longitudes de onda para cada uno de los metales en estudio que figuran en "Line Coincidence Tables for Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry" [32], se buscó el tiempo de integración óptimo y el grado de atenuación para las longitudes de onda seleccionadas, los cuales permitieron tener una mejor sensibilidad para la determinación de los elementos. El límite de detección para cada uno de los metales esta en función de la estabilidad del equipo, para cada una de las emisiones de los mismos.

También se consideró la presencia de los elementos mayoritarios en la leche como: calcio, potasio, magnesio, fósforo, hierro y sodio; los cuales integran la matriz de la muestra y tienden a producir un incremento en la intensidad de fondo. Por lo tanto fue necesario buscar las posiciones adecuadas de corrección de fondo, con el fin de obtener resultados confiables.

Para lograr lo anterior se prepararon soluciones patrón de cada uno de los metales en estudio con una concentración de 10 µg/ml, así mismo se preparó una solución multielemental compuesta por los elementos mayoritarios (antes mencionados), primero en una concentración similar a la reportada en la literatura[21], para después calcular las concentraciones determinadas experimentalmente (ver Tabla 11.3.).

TABLA 11. 3.

CONCENTRACION OBTENIDA DE LOS METALES
MAYORITARIOS EN LAS MUESTRAS DE LECHE

ELEMENTO	CONCENTRACION (ppm)
Cu	600
K	710
Mg	52
P	450
Na	200
Fe	1.3

La solución multielemental, sirvió para darse una idea del efecto que tiene la matriz, observando que no presenta una interferencia capaz de alterar sensiblemente, las lecturas de cada uno de los metales en el análisis.

Finalmente, después del trabajo descrito anteriormente, se obtuvo un programa analítico que permitió realizar el análisis de las muestras, en las condiciones específicas para cada metal, dicho programa se presenta en la Tabla 11.4.

TABLA II. 4.

PROGRAMA ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE LOS METALES
 POR LA TECNICA DE ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA

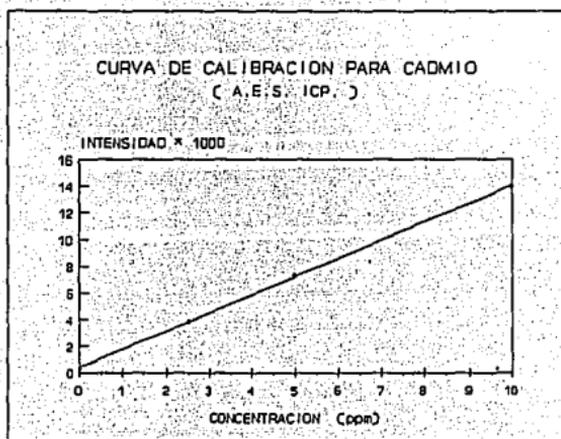
ELEMENTO	LONGITUD DE ONDA	LIMITE INFERIOR	ATENUADOR	INTEGRACION	BUO. COR. 1	BUO. COR. 2
Cd	2055.52	0.1	10	2	-10	0
Cu	2138.56	0.005	9	1	-9	0
Cr	2144.38	0.1	9	1.5	-9	0
Ni	2203.53	0.1	9	2	-12	0
Pb	2216.47	0.02	9	1.5	-13	0
Zn	3247.54	0.01	9	1	-11	0

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

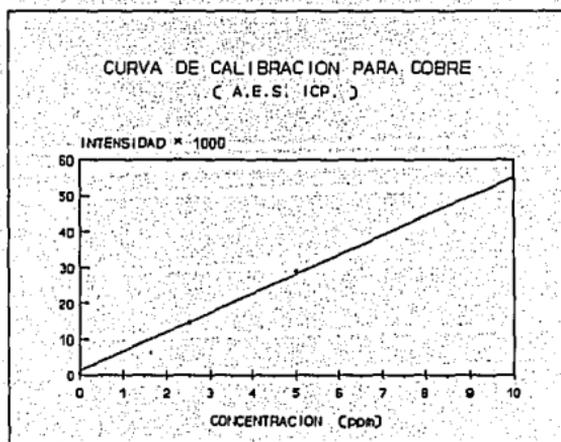
Para efectuar la curva de calibración, se prepararon una serie de soluciones de los metales en estudio, dichas concentraciones fueron de: 0, 2, 5 y 10 ppm.

Una vez obtenidas las seis curvas de calibración correspondientes a cada uno de los metales, la concentración de estos en las muestras se obtuvieron automáticamente, porque el espectrómetro tiene integrado un programa que realiza la calibración, es decir, que calcula la pendiente y la linealidad de cada una de las curvas correspondientes, proporcionando el % de error en la calibración para cada elemento (ver gráficas de la II. 7. a la II. 12.).

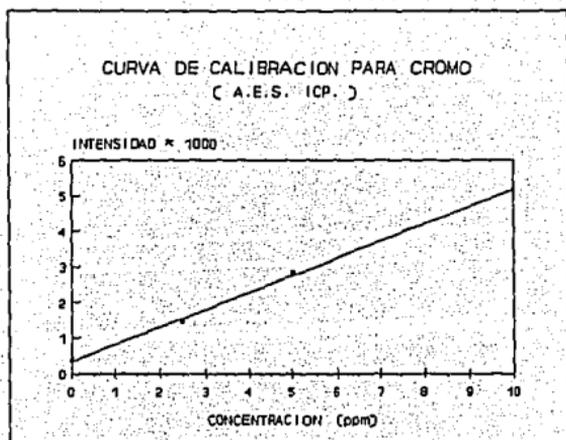
**CURVAS DE CALIBRACION PARA CADA UNO DE LOS METALES
ANALIZADOS POR ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA
(A.E.S. ICP.)**



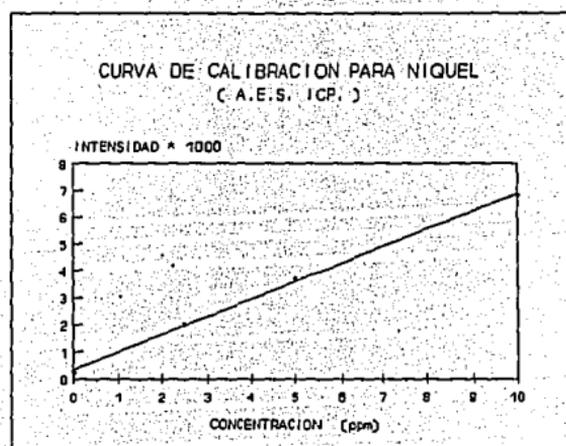
Gráfica II.7.



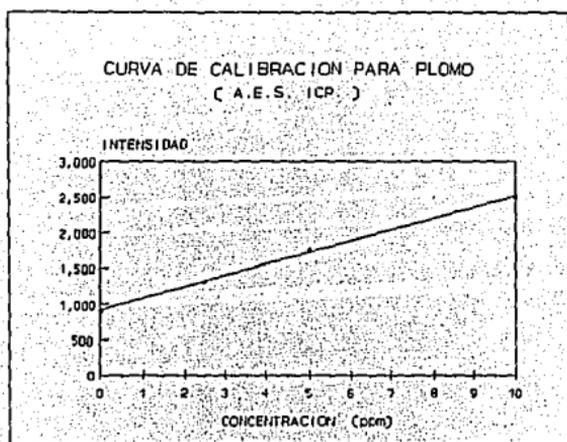
Gráfica II.8.



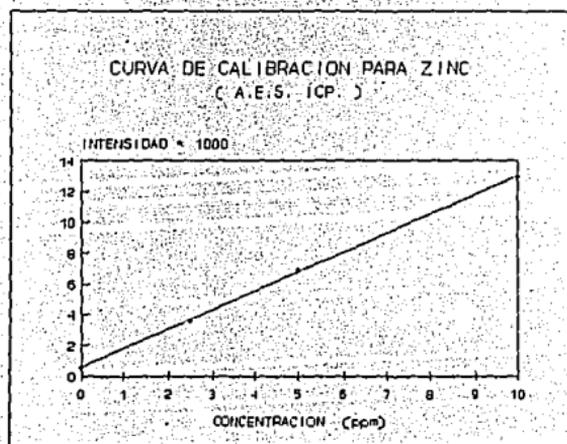
Gráfica 11.9.



Gráfica 11.10



Gráfica II.11.



Gráfica II.12.

2.6. PORCETAJE DE RECUPERACION

Para calcular el porcentaje de recuperación de los metales en estudio se trabajó con muestras de concentración conocida o muestras patrón.

Se consideraron tres muestras para realizar esta etapa, de cada una se tomaron tres alícuotas de 50 ml, a tres de estas alícuotas se les adicionó 0.5 µg/ml de cada uno de los metales y las tres restantes se trabajaron de una manera similar, con una concentración de 0.1 µg/ml, de tal forma que quedó una alícuota sin adición de metales. Dicha alícuota se tomó como referencia, que sirvió para poder calcular la cantidad de elemento recuperado, por diferencia de los valores de concentración.

Simultáneamente se corrió un blanco de reactivos y al igual que las muestras se les realizó el mismo tratamiento, (mencionado anteriormente en el inciso 2.3.).

Posteriormente se analizaron las muestras por medio de la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica; para calcular la concentración del metal adicionado y saber que porcentaje de recuperación se obtuvo, se realizaron los siguientes cálculos:

$$\begin{array}{r} \text{CONCENTRACION} \\ \text{DEL METAL EN LA} \\ \text{MUESTRA} \end{array} = \begin{array}{r} \text{LECTURA DE} \\ \text{LA MUESTRA} \\ \text{CON} \\ \text{ADICION} \end{array} - \begin{array}{r} \text{LECTURA DE} \\ \text{LA MUESTRA} \\ \text{DE} \\ \text{REFERENCIA} \end{array} - \begin{array}{r} \text{LECTURA} \\ \text{DEL BLANCO} \\ \text{DE} \\ \text{REACTIVOS} \end{array}$$

$$\% \text{ DE RECUPERACION} = \frac{\text{CONCENTRACION DEL METAL EN LA MUESTRA ADICIONADA}}{\text{CONCENTRACION DEL METAL EN LA MUESTRA ADICIONADA}} (x) 100$$

Los resultados obtenidos fueron los que se muestran en la tabla III.1.

CAPITULO III. RESULTADOS

Dentro de este capítulo se dan a conocer los resultados de las concentraciones que se obtuvieron para cada uno de los metales en estudio por ambas técnicas y se presenta el análisis de los mismos.

3.1. RESULTADOS

En las tablas, de la III.2. a la III.7., se muestran los resultados de la concentraciones obtenidas para los metales: cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo, y zinc, respectivamente.

Los resultados se presentan en tablas individuales por elemento, incluyen los resultados obtenidos mediante la técnica de Espectrometría de Absorción Atómica (Flama u Horno de Grafito, según el metal del que se trate), así mismo los obtenidos por la técnica de

Espectrometría de Emisión por plasma, para las tres marcas de leche analizadas. La concentración fue corregida con los valores obtenidos de los porcentajes de recuperación de cada uno de los metales (ver Tabla III.1.) y esta dada en mg del metal/litro de leche.

TABLA No. III.1.

RESULTADOS DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION DE CADA UNO DE LOS METALES:

METAL	CONCENTRACION	% DE RECUPERACION
CADMIO	0.1	88
	0.5	96
COBRE	0.1	90
	0.5	99
CROMO	0.1	89
	0.5	97
NIQUEL	0.1	92
	0.5	98
PLOMO	0.1	89
	0.5	96
ZINC	0.1	95
	0.5	98

Para cada una de las muestras se realizaron análisis por triplicado, teniendo como fin asegurar que no se presentara algún error experimental, se calculó el valor promedio, y es el que aparece en las tablas.

TABLA III.2. CONCENTRACIONES DE CADMIO OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP.)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON HORNO DE GRAFITO (E.A.A. HG.)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE Cd, REPORTADA EN mg/l	
		A.E.S. ICP	E.A.A. HG.
A	1	< 0.02	0.003
	2	< 0.02	0.002
	3	< 0.02	0.003
	4	< 0.02	0.002
	5	< 0.02	0.004
	6	< 0.02	0.002
	7	< 0.02	0.003
	8	< 0.02	0.003
	9	< 0.02	0.002
	10	< 0.02	0.002
B	1	< 0.02	0.004
	2	< 0.02	0.002
	3	< 0.02	0.003
	4	< 0.02	0.002
	5	< 0.02	0.002
	6	< 0.02	0.002
	7	< 0.02	0.003
	8	< 0.02	0.002
	9	< 0.02	0.003
	10	< 0.02	0.002
C	1	< 0.02	0.004
	2	< 0.02	0.002
	3	< 0.02	0.002
	4	< 0.02	0.003
	5	< 0.02	0.003
	6	< 0.02	0.002
	7	< 0.02	0.003
	8	< 0.02	0.004
	9	< 0.02	0.002
	10	< 0.02	0.002

TABLA III.3. CONCENTRACIONES DE COBRE OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP.)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON FLAMA (E.A.A. F.)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE Cu, REPORTADA EN mg/l	
		A.E.S. ICP.	E.A.A. F.
A	1	0.10	0.13
	2	0.10	0.12
	3	0.09	0.13
	4	0.09	0.12
	5	0.12	0.16
	6	0.13	0.17
	7	0.12	0.14
	8	0.13	0.17
	9	0.11	0.16
	10	0.11	0.12
B	1	0.10	0.12
	2	0.09	0.15
	3	0.13	0.17
	4	0.12	0.15
	5	0.13	0.15
	6	0.10	0.13
	7	0.10	0.14
	8	0.13	0.16
	9	0.09	0.13
	10	0.13	0.17
C	1	0.15	0.17
	2	0.16	0.19
	3	0.16	0.19
	4	0.13	0.16
	5	0.11	0.15
	6	0.10	0.14
	7	0.14	0.18
	8	0.13	0.15
	9	0.09	0.12
	10	0.10	0.14

TABLA No. III.4. CONCENTRACIONES DE CROMO OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON FLAMA (E.A.A. F.)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE Cr REPORTADA EN $\mu\text{g/ml}$	
		A.E.S. ICP.	E. A. A. F.
A	1	0.10	0.11
	2	0.08	0.09
	3	0.09	0.10
	4	0.10	0.11
	5	0.09	0.10
	6	0.09	0.10
	7	0.08	0.09
	8	0.10	0.10
	9	0.09	0.09
	10	0.08	0.09
B	1	0.09	0.09
	2	0.08	0.09
	3	0.09	0.11
	4	0.10	0.11
	5	0.09	0.10
	6	0.08	0.09
	7	0.09	0.10
	8	0.08	0.09
	9	0.09	0.10
	10	0.09	0.10
C	1	0.10	0.10
	2	0.09	0.10
	3	0.10	0.12
	4	0.09	0.09
	5	0.10	0.11
	6	0.10	0.12
	7	0.08	0.08
	8	0.08	0.09
	9	0.10	0.10
	10	0.09	0.09

TABLA III.5. CONCENTRACIONES DE NIQUEL OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP.)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON HORNO DE GRAFITO (E.A.A. HG.)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE NI, REPORTADA EN mg/l	
		A.E.S. ICP.	E.A.A. HG.
A	1	0.16	0.12
	2	0.14	0.10
	3	0.11	0.10
	4	0.15	0.10
	5	0.18	0.13
	6	0.13	0.10
	7	0.15	0.14
	8	0.15	0.13
	9	0.16	0.14
	10	0.17	0.13
B	1	0.12	0.09
	2	0.13	0.11
	3	0.12	0.08
	4	0.12	0.10
	5	0.14	0.11
	6	0.17	0.13
	7	0.11	0.10
	8	0.18	0.13
	9	0.17	0.14
	10	0.12	0.10
C	1	0.17	0.12
	2	0.13	0.10
	3	0.16	0.12
	4	0.14	0.10
	5	0.14	0.13
	6	0.13	0.09
	7	0.18	0.14
	8	0.14	0.12
	9	0.17	0.13
	10	0.13	0.10

TABLA III.6. CONCENTRACIONES DE PLOMO OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP.)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON HORNO DE GRAFITO (E.A.A. HG.)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE Pb, REPORTADA EN mg/l	
		A.E.S. ICP.	E.A.A. HG.
A	1	< 0.20	0.010
	2	< 0.20	0.011
	3	< 0.20	0.010
	4	< 0.20	0.009
	5	< 0.20	0.012
	6	< 0.20	0.014
	7	< 0.20	0.015
	8	< 0.20	0.008
	9	< 0.20	0.009
	10	< 0.20	0.011
B	1	< 0.20	0.013
	2	< 0.20	0.008
	3	< 0.20	0.007
	4	< 0.20	0.008
	5	< 0.20	0.007
	6	< 0.20	0.012
	7	< 0.20	0.009
	8	< 0.20	0.008
	9	< 0.20	0.010
	10	< 0.20	0.009
C	1	< 0.20	0.012
	2	< 0.20	0.008
	3	< 0.20	0.009
	4	< 0.20	0.005
	5	< 0.20	0.011
	6	< 0.20	0.007
	7	< 0.20	0.009
	8	< 0.20	0.008
	9	< 0.20	0.006
	10	< 0.20	0.007

TABLA III.7. CONCENTRACIONES DE ZINC OBTENIDAS POR:
 - ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (A.E.S. ICP.)
 - E. ABSORCION ATOMICA CON FLAMA (E.A.A. F)

MARCAS	MUESTRAS	CONCENTRACION DE Zn, REPORTADA EN mg/l	
		E.A.S. ICP	E.A.A. F.
A	1	4.1	4.3
	2	3.7	4.0
	3	4.1	4.5
	4	4.0	4.6
	5	3.3	3.6
	6	3.4	3.8
	7	4.1	4.3
	8	3.8	4.2
	9	4.0	4.5
	10	3.7	4.0
B	1	2.4	3.1
	2	2.6	3.3
	3	2.5	3.2
	4	2.3	3.3
	5	2.0	2.9
	6	2.2	2.6
	7	2.3	2.6
	8	2.0	2.5
	9	2.3	3.1
	10	2.1	3.0
C	1	3.7	4.2
	2	3.4	3.9
	3	4.0	4.5
	4	4.0	4.7
	5	3.9	4.5
	6	3.5	3.8
	7	4.0	4.2
	8	3.8	4.3
	9	3.6	3.9
	10	4.0	4.2

3.2. ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico aplicado a los valores de concentración, obtenidos para cada uno de los metales analizados en las tres marcas de leche, se realizó para poder conocer lo siguiente:

- *Sí entre las técnicas analíticas empleadas existía o no, diferencia significativa.*
- *Y sí, entre las tres marcas de leche estudiadas se presentaba diferencia significativa, en cuanto al contenido de cada uno de los metales en cuestión.*

Para el primer punto se utilizó una prueba de hipótesis, y para el segundo punto se utilizó un análisis de varianza, ambos procedimientos estadísticos se realizaron mediante un paquete estadístico para computadora, el "Stat Graphics".

3.2.1. RESULTADOS DEL ANALISIS ENTRE TECNICAS

Los resultados obtenidos del análisis fueron los mostrados en la tablas, de la III.8. a la III.13.

Tabla III.8. Resultados Estadísticos para CADMIO

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS ANALITICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0026 ± 0,0006
B	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0025 ± 0,0007
C	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0027 ± 0,0008

Tabla. III.9. Resultados Estadísticos para COBRE

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS ANALITICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	0,110 ± 0,014
	10	E.A.A. (F)	0,142 ± 0,013
B	10	A.E.S. ICP	0,112 ± 0,017
	10	E.A.A. (F)	0,148 ± 0,016
C	10	A.E.S. ICP	0,127 ± 0,027
	10	E.A.A. (F)	0,159 ± 0,013

Tabla III.10. Resultados Estadísticos para CROMO

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS ANALITICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	0,078 ± 0,006
	10	E.A.A. (F)	0,148 ± 0,026
B	10	A.E.S. ICP	0,082 ± 0,006
	10	E.A.A. (F)	0,123 ± 0,014
C	10	A.E.S. ICP	0,101 ± 0,009
	10	E.A.A. (F)	0,126 ± 0,018

Tabla III.11. Resultados Estadísticos para NIQUEL

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	0,150 ± 0,026
	10	E.A.A. (HG)	0,123 ± 0,021
B	10	A.E.S. ICP	0,138 ± 0,025
	10	E.A.A. (HG)	0,109 ± 0,011
C	10	A.E.S. ICP	0,148 ± 0,019
	10	E.A.A. (HG)	0,115 ± 0,012

Tabla III.12. Resultados Estadísticos para PLOMO

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0026 ± 0,0009
B	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0025 ± 0,0007
C	10	A.E.S. ICP	< 0,02
	10	E.A.A. (HG)	0,0027 ± 0,0002

Tabla III.13. Resultados Estadísticos para ZINC

MARCA	OBSERVACIONES	TECNICAS	PROMEDIO DE LAS CONCENTRACIONES EN: mg/l
A	10	A.E.S. ICP	3,82 ± 0,28
	10	E.A.A. (F)	4,19 ± 0,27
B	10	A.E.S. ICP	2,27 ± 0,19
	10	E.A.A. (F)	2,98 ± 0,27
C	10	A.E.S. ICP	3,79 ± 0,22
	10	E.A.A. (F)	4,22 ± 0,29

3.2.2. RESULTADOS DEL ANALISIS ENTRE MARCAS DE LECHE

A continuación se presentan los resultados del análisis de varianza entre las tres marcas de leche. (Tablas de la III.14. a la III.19.):

TABLA III.14. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: CADMIO (E.A.A. H.G.)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	2.00E-007	2	1.00E-007	0.180	0.8363
DENTRO DE GRUPOS	1.50E-005	27	5.55E-007		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	0.0026	2.211E-004	0.0021	0.0030
B	10	0.0025	2.357E-004	0.0020	0.0029
C	10	0.0027	2.603E-004	0.0022	0.0031

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	0.0025	***
B	10	0.0026	***
C	10	0.0027	***

*** No hay diferencia significativa

TABLA III.15. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: CROMO (A.E.S. ICP.)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	0,002086	2	0,00104	3,99	0,0303
DENTRO DE GRUPOS	0,007060	27	0,00026		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	0,107	0,00448	0,096	0,117
B	10	0,123	0,0047	0,112	0,133
C	10	0,127	0,0060	0,115	0,137

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	0,107	***
B	10	0,123	***
C	10	0,127	***

*** No hay diferencia significativa

TABLA III.16. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: COBRE (E.A.A. F)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	0.00308	2	0.00154	3.639	0.0398
DENTRO DE GRUPOS	0.01145	27	0.00042		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	0.142	0.0064	0.130	0.161
B	10	0.148	0.061	0.135	0.162
C	10	0.159	0.058	0.144	0.173

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	0.142	***
B	10	0.148	***
C	10	0.159	***

*** No hay diferencia significativa

TABLA III.17. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: NIQUEL (A.E.S. ICP)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	0.0068	2	0.0034	1.638	0.2131
DENTRO DE GRUPOS	0.0056	27	0.0002		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	0.119	0.0062	0.1096	0.1283
B	10	0.108	0.0035	0.0987	0.1173
C	10	0.117	0.0033	0.1076	0.123

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	0.119	***
B	10	0.108	***
C	10	0.117	***

*** No hay diferencia significativa

**TABLA III.18. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: PLOMO (E.A.A. H.G.)**

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	10,008	2	5,00433	4.135	0,000
DENTRO DE GRUPOS	2.3610	27	0,08744		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	0,109	0,0007	0,009	0,012
B	10	0,009	0,0006	0,007	0,010
C	10	,008	0,0004	0,008	0,009

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	0,109	***
B	10	0,0091	***
C	10	0,0009	***

***** No hay Diferencia Significativa

TABLA III.19. RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MARCAS
PARA: ZINC (E.A.A. F.)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
ENTRE GRUPOS	10.0086	2	5.0043	57.229	0.000
DENTRO DE GRUPOS	2.3610	27	0.08744		

TABLA DE MEDIAS PARA LAS MARCAS: A, B, y C.

MARCA	No. DE MTRAS. POR MARCA	PROMEDIO	ERROR STD. INTERNO	95% DE CONFIANZA INTERVALOS PARA MEDIAS	
A	10	4.19	0.0993	3.98	4.38
B	10	2.98	0.0879	2.78	3.17
C	10	4.22	0.0926	4.02	4.41

ANALISIS DE RANGO MULTIPLE

METODO DE INTERVALOS CON UN 95% DE CONFIANZA			
MARCAS	NUMERO DE MUESTRAS POR MARCA	PROMEDIO	GRUPOS HOMOGENEOS
A	10	4.19	***
B	10	2.19	----
C	10	4.22	***

--- Hay Diferencia significativa

CAPITULO IV. DISCUSION DE RESULTADOS

Del análisis entre las técnicas analíticas empleadas se observó lo siguiente:

Que la técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma posee un límite de detección mayor a la concentración que presentaban las muestras, para el caso del cadmio y el plomo, es decir, que el equipo, debido a las condiciones de la muestra, no fue sensible a concentraciones de cadmio menores de 0.020 µg/ml y menores de 0.200 µg/ml para el caso del plomo en este tipo de muestras, a diferencia de la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito, en ésta si se logró determinar concentraciones menores a los anteriores.

A los datos de concentración de los elementos restantes: cromo, cobre, níquel y zinc, sí se les aplicó el análisis estadístico, y se observó que existe diferencia significativa entre ambas técnicas. A continuación se da una tabla comparativa de los valores promedio para cada uno de los metales (ver tabla IV.1.).

TABLA IV.1.

**CONCENTRACIONES PROMEDIO DE LOS METALES POR MARCAS
PARA: Cu, Cr, Ni, y Zn POR AMBAS TECNICAS
(TABLA COMPARATIVA)**

MAR CAS	CONCENTRACION DE COBRE EN mg/l de leche		CONCENTRACION DE CROMO EN mg/l de leche		CONCENTRACION DE NIQUEL EN mg/l de leche		CONCENTRACION DE ZINC EN mg/l de leche	
	AEE.F.	AES. ICP	AEE. F.	AES. ICP	EAA. IIG	AES. ICP	EAA. F	AES. ICP
A	0.14	0.11	0.10	0.08	0.12	0.15	4.2	4.0
B	0.15	0.11	0.12	0.08	0.11	0.14	3.0	2.4
C	0.16	0.12	0.13	0.10	0.11	0.15	4.2	4.0

**CONCENTRACIONES PROMEDIO DE: Cd y Pb POR MARCAS
POR AMBAS TECNICAS ANALITICAS
(TABLA COMPARATIVA)**

MARCAS	CONCENTRACION DE CADMIO EN mg/l de leche		CONCENTRACION DE PLOMO EN mg/l de leche	
	EAA. HG.	EAS. ICP.	EAA. HG.	EAS. ICP.
A	0.0026	< 0.020	0.010	< 0.20
B	0.0025	< 0.020	0.009	< 0.20
C	0.0027	< 0.020	0.008	< 0.20

Después de aplicar el análisis de varianza, se realizaron dos pruebas adicionales para corroborar la existencia de diferencia significativa, tales pruebas fueron:

- A. Una prueba de intervalos de medias entre las marcas, y*
- B. El análisis de rango múltiple.*

Ambos análisis permiten interpretar mejor los resultados del análisis de varianza y ver con mayor facilidad la presencia de diferencia significativa entre ellos.

En el primero proporciona los valores de las medias muestrales para cada una de las marcas de leche y se dan los tres intervalos de medias proporcionados para cada una de ellas, como los valores dentro de los rangos establecidos se pueden intercalar dentro de los tres, significa que no existe diferencia significativa, porque pertenecen estadísticamente al mismo grupo de datos, a excepción del zinc, que presentó una diferencia entre la marca B y las marcas A y C.

En el segundo análisis, denominado, Análisis de Rango Múltiple, indica cual de los grupos de datos (concentraciones para cada metal por marca), no se comporta homogéneamente, presentando alguna diferencia respecto a los demás.

El análisis se les aplicó a cada grupo de resultados por elemento de cada una de las dos técnicas, obteniéndose resultados semejantes, es decir, que no se presentó diferencia significativa en el contenido de los metales entre las tres marcas de leche, esto significa que son grupos homogéneos, para cada técnica.

A excepción del zinc, el cual tuvo el mismo comportamiento en las dos técnicas, la marca Boreal denominada como "B", la concentración determinada fue menor que en las otras dos: Alpura y Lala ("A" y "C" respectivamente).

Partiendo de lo explicado anteriormente que, entre las tres marcas de leche analizadas, el contenido determinado de cada uno de los metales (a excepción del zinc), no presentó diferencia significativa en ambas técnicas analíticas empleadas. Se consideró conveniente, el discutir sobre el contenido de cada uno de los metales en el alimento, como concentraciones promedio considerando las tres marcas elegidas. (Ver tabla IV.2.)

TABLA IV.2.
CONCENTRACIONES PROMEDIO DETERMINADAS

ELEMENTOS	CONCENTRACION PROMEDIO EN: mg/l
Cd	0,0026 +
Cu	0,150 ++
Cr	0,116 ++
Ni	0,146 *
Pb	0,094 +
Zn	4,2 ++

++ Resultados obtenidos de E.A.A. con FLAMA

+ Resultados obtenidos de E.A.A. con HORNO DE GRAFITO

* Resultados obtenidos de A.E.S. ICP

Para el níquel y el cromo, la FAO y la FDA aún no han establecido una concentración límite máxima, para este alimento. Hasta el momento sólo se tiene información de dosis máximas permisibles para el consumo humano de los metales que aparecen en la tabla IV.3.

TABLA IV.3.
DOSIS MAXIMAS DE CONTAMINANTES RECOMENDADAS POR:
LA COMISION MIXTA FAO/OMS DEL CODEX ALIMENTARIUS.[16,17]

ELEMENTO	DOSIS MAXIMA
Cadmio	Ingesta diaria tolerable provisional: 0,0010 - 0,0011 mg/kg de peso corporal
Cobre	Carga diaria máxima admisible para el hombre: 0,5 mg/kg peso corporal
Plomo	Ingesta diaria provisional admisible para el hombre: 0,071 mg/kg peso corporal
Zinc	Dosis diaria máxima admisible provisional: 0,3 - 1,0 mg/kg de peso corporal

Para poder comparar los resultados obtenidos fue necesario calcular las dosis equivalentes, utilizando datos proporcionados por el Instituto Nacional de Pediatría, sobre peso, edad e ingesta diaria de leche, para niños y niñas de 1 a 14 años. (Ver Tabla AB.2. del Apéndice B).

Para poder realizar el cálculo de la dosis se establecieron tres intervalos de ingesta de leche por edades ver tabla IV.4.

TABLA IV.4. INGESTA DIARIA DE LECHE

EDAD (años)	INGESTA DIARIA DE LECHE (litros)
1 a 5	1.0
6 a 10	0.750
11 a 14	0.500

El calculo se realiza de la siguiente forma:

Talla: 1 año

Peso: 10.0 Kg

Ingesta: 1 litro de leche/día

Si para el cadmio la dosis máxima es: 0.0011 mg/kg (el valor más alto tomado de la tabla IV.2.). El resultado es:

$$(0.0011 \text{ mg de Cd/kg} \cdot 10 \text{ kg}) / 1 \text{ l de leche} = 0.011 \text{ mg de Cd/l de leche}$$

Comparando este resultado con el obtenido experimentalmente de: 0.0026 mg/l, se observa claramente que esta por debajo de las normas establecidas por la FAO/OMS.

Realizando los mismos cálculos para cada metal se obtienen las tablas IV.5. y la IV.6.:

TABLA IV.5.

TABLA COMPARATIVA DE DOSIS EQUIVALENTES
Y DATOS EXPERIMENTALES PARA NIÑOS

NIÑOS				
EDAD (años)	DOSIS EQUIVALENTE EN mg/l			
	Cd	Cu	Pb	Zn
1	0,011	5	0,71	10,0
3	0,016	7,25	1,03	14,56
6	0,030	13,84	1,96	27,56
12	0,087	39,77	5,64	79,55
RESULTADOS EXPERIMENTALES	0,0026	0,15	0,094	4,2

TABLA IV.6.

TABLA COMPARATIVA DE DOSIS EQUIVALENTES
Y DATOS EXPERIMENTALES PARA NIÑAS

NIÑAS				
EDAD (años)	DOSIS EQUIVALENTE EN mg/l			
	Cd	Cu	Pb	Zn
1	0,010	4,8	0,68	9,60
3	0,015	7,12	1,01	14,25
6	0,029	13,55	1,92	27,10
12	0,097	44,15	6,26	88,30
RESULTADOS EXPERIMENTALES	0,0026	0,15	0,094	4,2

Como se puede observar en ambas tablas para los tres elementos en los cuales la FAO mantiene una regulación en cuanto a su contenido en los alimentos, las concentraciones determinadas en las muestras de leche, se encuentran por debajo de los límites establecidos.

Para el cromo y el níquel, como se mencionó anteriormente, aún no se tienen datos reportados sobre concentraciones máximas permisibles por parte de la Comisión Mixta, sin embargo, se encontró información sobre valores de ingesta diaria para humanos, a partir de estudios realizados por diferentes investigadores.

Para el cromo la ingesta diaria por el hombre se encuentra en un intervalo de 5 a 100 μg por día[18], para el níquel el encontrado fue de 300 a 500 μg por día[19].

Si, estos valores se comparan con los resultados obtenidos experimentalmente, para cromo 0.116 mg/l y de 0.146 mg/l para el níquel(ver tabla IV.1), y realizando la conversión de mg a μg del metal, se obtiene lo siguiente: para el cromo 116 μg /l de leche y para el níquel 146 μg /litro.

Considerando que se consumiera un litro por día, para el cromo se observa que la concentración determinada esta un poco por arriba del valor máximo del intervalo establecido, pero si se compara la concentración que se determinó por la otra técnica, AES. ICP. (86 μg /l), esta, se encuentra por debajo de ese valor (100 μg al día).

Para el níquel se observa que, el valor de: 146 μg /litro*día, está por debajo del intervalo establecido anteriormente (300 a 500 μg por día).

CAPITULO V. CONCLUSIONES

Las conclusiones a las que se llegaron después de haber realizado este trabajo de tesis son las siguientes:

I. Se puede decir que, a partir de los resultados obtenidos del estudio realizado a las marcas de leche, Alpura, Boreal y Lala, que se consumen en la Ciudad de México, se observa que las concentraciones detectadas para: cadmio, cobre, plomo y zinc; se presentan en concentraciones inferiores a las establecidas por la comisión mixta de FAO/OMS, como límites permisibles para el consumo humano.

II. Que en el intervalo de edades considerado (1 a 14 años), tomando cuatro puntos como referencia, 1,3,6 y 12 años de edad, todas las concentraciones determinadas experimentalmente en las muestras estan por debajo de las concentraciones o dosis equivalentes máximas permisibles y que por tal motivo no existe riesgo toxicológico por la ingesta de este alimento.

Incluso para el cromo y el níquel, que son elementos aún no regulados por la Comisión Mixta FAO/OMS, según los datos reportados por diferentes autores, los valores experimentales se encuentran dentro de un intervalo de ingesta diaria similar al de otros países, suponiendo que la contribución por otros alimentos no sea significativamente mayor.

III. Las muestras recolectadas de las tres marcas elegidas, durante los tres meses indicados en el trabajo, no presentaron diferencia significativa en el contenido de elementos metálicos, indicando con esto que su calidad es similar, debido a que todos sus componentes son los mismos y casi se encuentran en la misma concentración.

Cabe mencionar que para el caso del zinc, es recomendable profundizar cual es la fuente principal de contaminación porque a pesar de que no se tengan datos registrados sobre este elemento en alimentos, no implica que no sea riesgoso a largo plazo.

IV. En lo que se refiere a las técnicas utilizadas para la realización de esta tesis, se puede afirmar con una confiabilidad del 95%, que, para el caso del cromo, cobre, níquel y zinc existe diferencia significativa entre las técnicas, pero por otro lado al trabajar con el Horno de Grafito (aditamento del Espectrofotómetro), se pudo observar la presencia de una diferencia entre ellas al analizar el cadmio, el plomo, pero fué debido a que por medio de esta alternativa se obtiene una mejor sensibilidad para ambos elementos.

Si se pretenden analizar otras muestras similares (leche cruda, leche descremada, entera, etc.), es recomendable que se analicen por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito, para que de esta forma se trabaje con mayor sensibilidad.

V. Para la determinación de los metales en estudio, es recomendable utilizar cualquiera de las dos técnicas Espectroquímicas, a pesar de la variación que presentó la Técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma, en relación con los elementos antes nombrados (cadmio y plomo), y que en el caso del níquel la concentración determinada por esta fué mayor que la determinada por Horno de Grafito, se considera que presenta mejores ventajas la Técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma que la de Espectrofotometría de Absorción Atómica, debido a que por su gran versatilidad se pueden realizar una serie de determinaciones de manera secuencial, logrando una mayor eficiencia en los análisis, principalmente en aquellos multielementales.

VI. Ambas técnicas analíticas son eficientes para la determinación de elementos que se encuentren en concentraciones sumamente pequeñas dentro de una muestra, pero es muy recomendable concentrar la muestra lo más que se pueda, esto con el fin de incrementar el límite de detección.

CAPITULO VI. SUGERENCIAS

- I. Elaborar Normas Oficiales Mexicanas donde se establezcan los límites máximos permisibles en Leche fluida pasteurizada calidad preferente.*
- II. Fomentar la investigación sobre el contenido de metales en un mayor número de alimentos y no sólo estar limitado a los estudios realizados por la Comisión Mixta de FAO/OMS.*
- III. Implementar laboratorios que se encarguen exclusivamente de determinar concentraciones traza en alimentos, ya que se requiere de un riguroso tratamiento de la muestra, para evitar cualquier pérdida de estos o bien de alguna contaminación de los mismos.*
- IV. Dar mayor importancia a la investigación, de aquellas posibles fuentes de contaminación por metales tóxicos en los alimentos, tanto por contaminación directa (después de su procesado) como por la indirecta (contaminación de origen).*
- V. Continuar con el control de calidad durante todo el procesamiento de productos alimentarios, en cuanto al material y la materia prima que se utiliza, para que de esta forma se garantice, que el valor nutritivo de los alimentos no sea alterado por la presencia de elementos tóxicos para el organismo humano.*

BIBLIOGRAFIA

1. Alais Ch. "La Ciencia de la Leche", Comp. Ed. Continental S.A. México (1980)
2. Walstra P. Jenness R., "Química y Física Lactológica", Ed. Acribia (1986)
3. Pieter W., Robert J. "Dairy Chemistry and Physics". Ed. John Willey and Sons. Inc. New York.
4. Stryer L. "Biochemistry", New York. W. H. Freeman Ad. Co. Ed (1988).
5. Lehninger a. "Bioquímica", Ed. Omega México (1978).
6. Diario Oficial. Pub. Secretaría de Salud (1992).
7. Hulsingh D. H. J. "Factores que influyen en la toxicidad de los metales pesados en los alimentos", *Tecnol. Alim.* 10(4)(1975).
8. Desrosier N.M. "Conservación de Alimentos", Compañía Editorial Continental, S.A. (1981).
9. Brownsetl V. L., Griffith G. J. "La Ciencia aplicada al Estudio de los alimentos". Ed. Diana (1993).
10. Valkovic V. "Trace Element Analysis". 1th ed. Halsted Press. USA (1975).
11. Underwood E.J. "Trace Elements in Human and Animal Nutrition", Academic Press INC.
12. Berman E. "Toxic Metals and Their Analysis". Heyden & Son Ltd. (1980).
13. Lars F. Gunnar F. "Handbook of the Toxicology of Metals" Elvesier. North Holland.(1979)
14. Valle V.P. "Toxicología de Alimentos", OPS/OMS (1984).

15. Badui D.S. "Química de los alimentos" 5^{ta} reimpresión. Ed. Alhambra Méx. (1989)
16. FAO/OMS, "Lista de Dosis Máximas de Contaminantes Recomendados por la Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius" 1^{ra} Serie CAC/FA.2. (1973).
17. FAO/OMS, "Codex Alimentarius, Contaminantes", Volumen XVII, 1^{ra} Ed. Roma (1984).
18. W. M Mertz, Proc. Nutr. Soc., 33,307(1974)
19. M. Anke, M. Grun, G. Dittrich, B. Broppel and A. Henning, "Trace Element Metabolism in Animals", Ed. W. G. Hoekstra, University Park Press, Baltimore, MD, (1974)
20. Goodman G. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Ed. Médica Panamericana. 8^{va} Ed. (1993).
21. Riba S.M. Villa B.L. "Manual Práctico de Nutrición y Dietética", Ed. A. Madrid Vicente Ediciones, Madrid Esp., (1993).
22. Veisseyre R. "Lactología Técnica", Ed. Acribia. Zaragoza Esp. (1988).
23. Connor R. "Metal Contamination of Food", Applied Science Publishers. Ltd 1st Ed. London England (1980).
24. Cotton E.A., Kinson G.W. "Química Inorgánica Avanzada", Ed. Limusa (1986).
25. Partington J.R. "General and Inorganic Chemistry for University Students" Mc. Millan. London England (1958).
27. Bushnell P.J. "Lactose Facilitates the Intestinal Absorption of Lead in Weanling Rats". Science 211:4477-51-63(1981).
28. OMS "Criterios de Salud Ambiental 3. Plomo" Publicación Científica 388 (1979).
29. Somers E. "The Toxic Potential of Trace Elements in Foods", J. Food Science (1974).
30. Gross S.B. "Oral and Inhalation Lead, Exposures in Humana Subjects" New York. USA. Lead Industries Association (1979).

31. *Burriel H. "Química Analítica Cuantitativa". Ed. Prainfo S.A. Madrid (1989).*
32. *Bowmans P.W.M. "Line Coincidence Tables for Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". Vol. I. Second Ed. Pergamon Press. Gran Britain (1984).*
32. *"Standard Conditions for Atomic Absorption" Perkin Elmer (1976).*
33. *Perkin Elmer Nonwalk Connecticut USA Model 5000. Atomic Absorption Spectrophotometer (1976).*
34. *Capdevilla C. "Espectrometría de Emisión y Absorción Atómica y sus Aplicaciones al Análisis Químico" Comisión Nacional de Energía Atómica, México (1989).*
35. *Brodie K. G. "Practical Operation with the GTA-95 Graphite Tube Atomizer" Varian Techtron Pty. Multigrave. Victoria, Australia (1983).*
36. *Moore G. L. "Introduction to Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". Analytical Spectroscopy Library. Vol. 3. Elsevier (1989).*
37. *Cristian F. "Atomic Absorption Spectroscopy: Applications in Agriculture, Biology and Medicine" Wiley & Sons. USA (1970).*
38. *Fassel V.A. "Current and Potential Applications of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". Pure & Appl. Chem. Vol. 49 Pergamon Press. Great Britain (1980).*
39. *Espejo B. "Introducción a la Espectroscopia de Emisión Atómica por Plasma con Acoplamiento Inductivo", Serv. Nacional de Geología y Minería. Chile (1989).*
40. *Kreyszing E. "Introductory Mathematical Statistics Principles and Methods", John Wiley & Sons Inc. New York, (1970).*
41. *Mendenhall W. "Introducción a la Probabilidad y la Estadística", Wadsworth Inc. Iberoamericana (1982).*

APENDICE. A
TECNICAS ESPECTROMETRICAS

ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

INSTRUMENTACION

El espectrofotómetro de absorción Atómica esta formado por:

- Una fuente luminosa.
- Una celda para contener la muestra.
- Un medio para la medición de luz específica.

La lámpara de cátodo hueco es una de las fuentes luminosas más utilizadas. El diseño de estas, está adecuado para emitir el espectro atómico de un elemento, son independientes para cada uno.

El cátodo de la lámpara es un cilindro hueco del elemento que se va a determinar (el ánodo y el cátodo se encuentran en un cilindro de vidrio, sellado y lleno de un gas inerte).

Los componentes que se utilizan para medir la luz específica son:

Un Monocromador que dispersa las distintas longitudes de onda de la luz que es emitida por la fuente y separa la línea del elemento en cuestión. Esta longitud de onda aislada por el monocromador incide sobre el fotomultiplicador directamente. Este tubo, produce una corriente eléctrica que depende de la intensidad de luz incidente, esta es amplificada y procesada, produciendo una señal que se mide con el atenuador. La señal se procesa para obtenerse en unidades de concentración.

SENSIBILIDAD Y LIMITES DE DETECCION

Estos términos describen las dos características instrumentales de la calidad del equipo. La sensibilidad (concentración característica), se define como la pendiente que se obtiene en la calibración de absorbancia contra concentración para cada elemento. Está expresada en microgramos por mililitro, necesaria para producir una absorción de 1% y cuyo valor es 0.0044. La sensibilidad se calcula con la siguiente expresión:

$$\text{Sensibilidad} = (\text{Concent. del std.} * 0.0044) / \text{Abs. Media}$$

La sensibilidad del aparato sirve, para saber si todas las condiciones del equipo son las óptimas y si esta cumpliendo las especificaciones establecidas.

El concepto de límite de detección involucra consideraciones de dimensión de señal, como de ruido en la línea base para dar una indicación de la mínima concentración del elemento que se puede determinar. El límite de detección describe la relación característica de señal contra el ruido del instrumento y define la capacidad del instrumento.

ESPECTROMETRIA DE EMISION POR PLASMA (EAS. ICP.)

INSTRUMENTACION

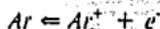
El espectrómetro esta formado por:

- Sistema de introducción de muestra
- Fuente de energía
- Sistema óptico
- Sistema de detección

- Generador de radiofrecuencia
- Sistema de gases

EL SISTEMA DE INTRODUCCION DE LA MUESTRA: Esta constituido por un nebulizador neumático, el cual atomiza o pulveriza la muestra líquida que entra a él a través de un capilar.

LA FUENTE DE ENERGIA. El Plasma, se define como un estado de equilibrio entre partículas cargadas y neutras de argón ionizado.



Debido a la acción de una corriente de alta frecuencia generada por un campo magnético se produce el plasma de acoplamiento inductivo. La temperatura máxima que alcanza el plasma es de 10000 °K, energía suficiente para excitar los elementos de la muestra.

El plasma está confinado en tres tubos concéntricos de cuarzo. El argón circula por dos de los tubos (el interno y el externo), en el primero se genera el plasma y el segundo actúa como refrigerante, por el tubo central pasa la muestra en forma de aerosol.

SISTEMA OPTICO. Este sistema está integrado por una ventana o rejilla de entrada primaria, donde se introduce la radiación policromática, un elemento dispersor el cual contiene una red de difracción móvil, que se mueve por medio de un motor de pasos, que ayuda a la determinación secuencial de elementos y la rejilla secundaria por la que las radiaciones monocromáticas llegan al detector.

Todos estos elementos en conjunto, tienen la función de separar cada una de las radiaciones monocromáticas provenientes de la radiación policromática, que corresponde a los elementos constitutivos de la muestra generada por la acción del plasma.

Si el equipo contara con un sistema policromador, éste podría medir simultáneamente un gran número de líneas espectrales fijas, a diferencia del sistema secuencial.

SISTEMA DE DETECCION. Está integrado por un fotomultiplicador que tiene como función convertir la señal óptica proveniente de la rejilla secundaria, en impulsos eléctricos (proporcionales a la concentración del elemento contenido en la muestra), amplificados y manejados para poder ser identificados y cuantificados.

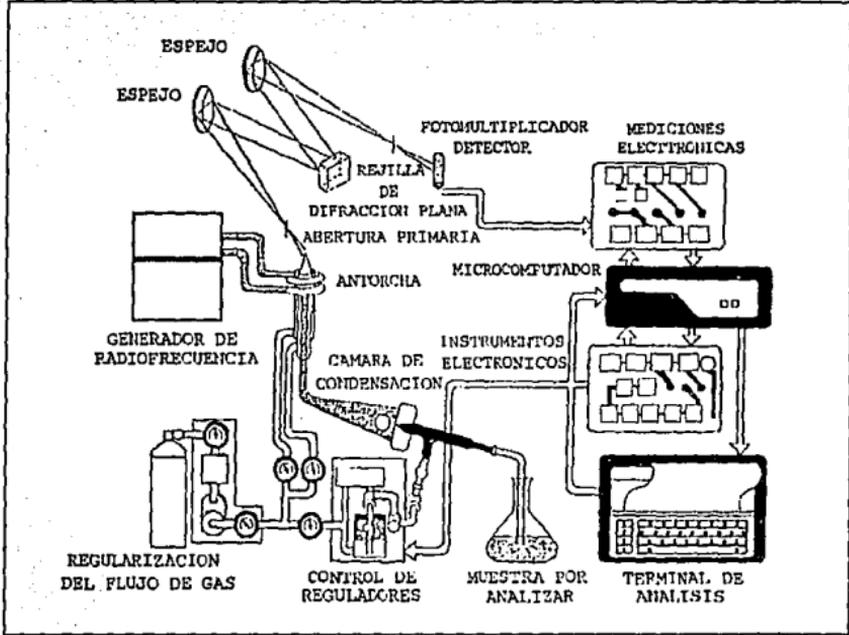
El procesamiento de los datos se realiza en forma computarizada, calcula las concentraciones de los elementos de la muestra, realiza curvas de calibración, aplica las correcciones de fondo, correcciones por matriz, por efecto del blanco, etc.

GENERADOR DE RADIOFRECUENCIA. Este dispositivo ayuda a sustentar y confinar el plasma, permite aplicar la energía necesaria para este efecto.

SISTEMA DE GASES. Este sistema cuenta con un control de caudal y presión del argón que se utiliza para generar el plasma, el que actúa como refrigerante y el que aporta la muestra en los sistemas de nebulización, utilizando para esto circuitos independientes. El flujo de gas que se requiere es de: 12 a 14 l/min (ver Diagrama No. 1. 2.)

DIAGRAMA No. AA.2.

DIAGRAMA DE UN ESPECTROMETRO DE EMISION POR PLASMA SECUENCIAL



APENDICE. B
DATOS EXTERNOS

TABLA AB.1. ARTICULO 249 DEL DIARIO OFICIAL
DE LA SECRETARIA DE SALUD

La leche para consumo humano debe satisfacer los requisitos del artículo 249:

1. *PROVENIR DE ANIMALES SANOS Y LIMPIOS*
2. *SER PURA, LIMPIA Y ESTAR EXCENTA DE MATERIAS ANTISEPTICAS, CONSERVADORES Y NEUTRALIZANTES*
3. *SER DE COLOR, OLOR Y SABOR CARACTERISTICOS*
4. *NO COAGULAR POR EBULLICION*
5. *NO CONTENER SANGRE NI PUS*
6. *DENSIDAD NO MENOR DE 1.029 A 15°C*
7. *CONTENER UNICAMENTE GRASA PROPIA DE LA LECHE*
8. *TENER GRADO DE REFRACCION A 20°C, NO MENOR DE 37 NI MAYOR DE 39 (METODO DE LITHGOE)*
9. *TENER ACIDEZ (EXPRESADA EN ACIDO LACTICO), NO MENOR DE 1.4, NI MAYOR DE 1.7 g/l*
10. *CONTENER NO MENOS DE 85 NI MAS DE 89 g/l DE SOLIDOS DE LECHE NO GRASOS*
11. *CONTENER NO MENOS DE 0.85 NI MAS DE 1.2 g/l DE CLORUROS (EXPRESADOS EN CLORO, METODO DE VOLHARD)*
12. *TENER UN PUNTO CRIOSCOPICO ENTRE -0.530 Y -0.560° (CORRECCION HORVERT)*
13. *TENER REACCION NEGATIVA A LA PRUEBA DE ALCOHOL AL 68%*
14. *TENER REACCION POSITIVA A LA PRUEBA DE ALCOHOL AL 96%*
15. *CONTENER LACTOSA DE 43 A 50 g/l (METODO POLARIMETRICO DE FEHLING)*
16. *CONTENER UNICAMENTE PROTEINAS PROPIAS DE LA LECHE EN UN MINIMO DE 30 g/l A EXCEPCION DE LA LECHE PASTERURIZADA DE ALTA CALIDAD QUE CONTenga COMO MINIMO 33%*
17. *SER NEGATIVA A LA PUEBA DE INHIBIDORES*

TABLA AB.2.

DATOS DE EDAD Y PESO PARA NIÑOS Y NIÑAS
(PROPORCIONADOS POR EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA)

EDAD	PESOS PROMEDIO EN Kg	
	NIÑOS	NIÑAS
1	10.0	10.730
2	12.550	12.280
3	14.560	14.250
4	16.640	16.240
5	18.460	18.250
6	20.640	20.330
7	23.140	22.625
8	25.720	25.350
9	28.700	28.340
10	31.850	32.070
11	35.375	37.300
12	39.775	44.150
13	45.010	49.290
14	51.100	52.850