



12
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

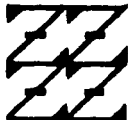
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO
ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE PLOMO
EN SANGRE POR ESPECTROFOTOMETRIA
DE ABSORCION ATOMICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ANTONIA MARTIN CARRILLO TORRES

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



LO HUBIERO EN
DE NUESTRA DEFENSION

ASESOR: M. EN C. LOURDES A. CASTILLO GRANADA

MEXICO, D. F.

FEBRERO 1995

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.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN:
EL LABORATORIO DE ESPECTROSCOPIA L-328

Y LABORATORIO L-314

FES ZARAGOZA

CAMPUS II

U N A M

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR:

M. en C. LOURDES A. CASTILLO GRANADA

Por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

AL QUIMICO:

CARLOS SALVADOR SANCHEZ VALADEZ

Por su apoyo y confianza proporcionados durante mi formación profesional.

AL LICENCIADO:

JESUS ANGEL DELGADO RAMIREZ

Por su confianza y estímulo durante la elaboración de este trabajo.

AL Sr. Y Sra.:

SILVESTRE GUTIERREZ RAMIREZ

MARIA MEDINA BACA

Por su apoyo y confianza.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

GUILLERMO Y ANTONIA

De quienes la comprensión y aliento hicieron posible mi formación.

A MIS HERMANOS:

VERONICA, ERICKA Y GUILLERMO

Por su motivación y apoyo.

A MI HIJO:

YAN CARLO

Por su paciencia, cariño y comprensión.

A UNA GRAN AMIGA:

ALMA DELIA

Por su apoyo y cariño.

INDICE

	Pag.
I. INTRODUCCION	1
II. FUNDAMENTACION DEL TEMA	3
1. ANTECEDENTES	3
2. TOXICOCINETICA	6
2.1. ABSORCION Y DISTRIBUCION	6
2.2. ELIMINACION	8
3. CLINICA	9
3.1. EFECTOS GENERALES	9
3.2. SISTEMA HEMATOPOYETICO	9
3.3. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	11
3.4. SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO	11
3.5. SISTEMA URINARIO	12
3.6. SISTEMA GASTROINTESTINAL	12
3.7. SISTEMA CARDIOVASCULAR	12
3.8. SISTEMA REPRODUCTOR	13
3.9. SISTEMA ENDOCRINO	13
3.10. ARTICULACIONES	13
3.11. CARCINOGENICIDAD Y TERATOGENICIDAD	13
3.12. DESARROLLO Y CRECIMIENTO	14
4. DETERMINACIONES DE LABORATORIO	15
5. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA	16
5.1. FUENTES DE LUZ	18
5.2. SISTEMA DE ATOMIZACION	19
6. ELIMINACION DE INTERFERENCIAS Y CONCENTRACION	21
6.1. EVAPORACION	21
6.2. COPRECIPITACION	21
6.3. INTERCAMBIO IONICO	21
6.4. QUELACION-EXTRACCION	21
7. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS	24
7.1. DEFINICIONES	24
7.1.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA	24
7.1.2. LINEALIDAD DEL METODO	26

7.1.3. EXACTITUD	27
7.1.4. PRECISION	28
7.1.5. LIMITE DE DETECCION	29
7.1.6. LIMITE DE CUANTIFICACION	30
7.1.7. PERFIL DE LLAMA	31
7.1.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	31
7.2. DETERMINACIONES	31
7.2.1. PERFIL DE LLAMA	31
7.2.2. LIMITE DE CUANTIFICACION Y DETECCION	32
7.2.3. LINEALIDAD DEL SISTEMA	32
7.2.4. PRECISION DEL SISTEMA	32
7.2.5. LINEALIDAD DEL METODO	33
7.2.6. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	33
7.2.7. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	34
7.2.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	34
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	35
IV. OBJETIVOS	37
V. HIPOTESIS	38
VI. MATERIAL Y METODO	39
1. MATERIAL	39
2. INSTRUMENTOS	39
3. REACTIVOS	39
4. METODO GENERAL	40
4.1. PERFIL DE LLAMA	40
4.2. TIEMPO DE AGITACION	40
4.3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION	41
4.4. LINEALIDAD DEL SISTEMA	41
4.5. PRECISION DEL SISTEMA	41
4.6. LINEALIDAD DEL METODO	41
4.7. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	42
4.8. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	42

4.9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	42
4.10. ESPECIFICIDAD	42
VII. RESULTADOS	43
1. PERFIL DE LLAMA	43
2. TIEMPO DE AGITACION	45
3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION	47
4. LINEALIDAD DEL SISTEMA	50
5. PRECISION DEL SISTEMA	54
6. LINEALIDAD DEL METODO	55
7. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	60
8. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	63
9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	65
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS	71
IX. CONCLUSIONES	73
X. ANEXO	75
XI. BIBLIOGRAFIA	90

I. INTRODUCCION

La contaminación química es quizá uno de los aspectos de la contaminación ambiental que mayor difusión ha tenido durante la época actual, sus causas fundamentales se encuentran en los modelos económicos que han regido los procesos de industrialización y en las ciudades que se han convertido en núcleos en los que se concentran las actividades productivas.

Dentro de estos contaminantes químicos se encuentran los metales pesados entre los que destaca el plomo, cuyos efectos en la salud han sido estudiados en forma amplia debido a la antigüedad de su utilización, a la variedad de sus aplicaciones y a su gran toxicidad.

El plomo es un metal tóxico para los organismos vivientes, sin funciones fisiológicas benéficas conocidas. En los seres humanos produce efectos dañinos sobre los sistemas hematopoyético, hepático, renal, reproductor, gastrointestinal y nervioso.

Aunque desde la antigüedad se han descrito este tipo de alteraciones a causa del plomo, no ha sido sino hasta los últimos años que se han descrito en la literatura trabajos cuyo objetivo ha sido la evaluación de plomo como un parámetro de exposición a este elemento, en los que se han manejado diversas técnicas para su cuantificación.

Las técnicas más utilizadas para cuantificar plomo en muestras biológicas y ambientales son: la complejométrica con ditizona, la espectrofotometría de Absorción Atómica y la electroquímica, entre otros.

La elección de una metodología para la determinación de plomo en un laboratorio, depende de la disponibilidad del equipo,

número de muestras a analizar por día, propósito del análisis y experiencia de los analistas.

Existen diferentes indicadores biológicos para evaluar la exposición de una población a plomo. De todos éstos el más importante desde el punto de vista clínico es la determinación de plomo en sangre. Para este fin la espectrofotometría de Absorción Atómica con llama es una técnica de elección, por ser altamente específica, precisa y casi libre de interferencias.

En esta técnica, por lo general, se conocen las interferencias y es posible disminuirlas a través de diversos métodos. Un método que ofrece amplias ventajas es la formación de quelatos orgánicos con plomo para su análisis posterior por Absorción Atómica con llama.

Cuando se inicia el desarrollo de un nuevo método analítico se requiere de parámetros que permitan la selección de la técnica y método más apropiados para el análisis de un compuesto determinado, así como la seguridad y confiabilidad de la misma. Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, que generalmente incluye una evaluación de la especificidad, linealidad, exactitud y precisión, proporcionando una medida del comportamiento del método.

En el presente trabajo se desarrolló un método de análisis y su validación para la determinación de plomo en sangre por espectrofotometría de Absorción Atómica con llama. El método consiste en la formación de un quelato con Pirrolidín Ditiocarbamato de Amonio (APDC) y extracción con disolvente orgánico (Metil Isobutil Cetona, MIBK), empleando la técnica de espectrofotometría de Absorción Atómica con llama. El método resultó ser exacto, preciso y lineal bajo las condiciones que fueron establecidas.

II. FUNDAMENTACION DEL TEMA

1. ANTECEDENTES

El envenenamiento por plomo no es una enfermedad moderna. Sus síntomas fueron descritos ampliamente por los médicos griegos y romanos. Al plomo como metal se le menciona desde que se conoce la civilización euroasiática. Existe evidencia arqueológica de que el metal ya era usado en el siglo XV AC. Fue usado por los egipcios para hacer figuras de animales y humanas, amuletos, monedas, para elaborar utensilios de cocina y pinturas para los párpados.

Durante el desarrollo del Imperio Romano, el plomo adquirió un papel muy importante en su tecnología. Se le traía de diferentes regiones como la actual Alemania, Gran Bretaña y España para ser utilizado en el recubrimiento de los acueductos, en la fabricación de las tuberías domésticas, algunos artículos de uso doméstico hechos de bronce contenían plomo, que le daba un sabor dulce a los alimentos, es obvio que estos usos dieron lugar a una contaminación considerable. Se ha planteado la hipótesis de que la caída del Imperio Romano se debió a intoxicación saturnina de tipo endémico.

Después de la caída del Imperio Romano, en el siglo V, el uso de plomo disminuyó y por cerca de 600 años se mantuvo a un nivel bajo. Después del siglo IX empezó a ser extraído nuevamente de las minas Alemanas. La práctica de preservar el vino con plomo y sus sales se extendió hasta que una ley en el siglo XV lo prohibió. A pesar de esto su uso continuó y se mencionan frecuentemente cólicos de tipo saturnínico; Baker en el siglo XVIII hace incluso una lista de procesos patológicos de tipo endémico y McCord habla de una alta incidencia de cólicos saturnínicos en la América Colonial.(1,2)

Aunque los metales han sido desde siempre contaminantes habituales del ambiente, su importancia como tales es reciente y deriva del creciente desarrollo industrial que ha provocado que, con mayor frecuencia, éstos sean causa de contaminación ambiental.(3)

Los metales más comunes que ofrecen riesgos para la salud son: plomo, mercurio, arsénico, berilio, cromo, cadmio, antimonio y sus compuestos. Como regla general se puede decir que los compuestos son más tóxicos que los propios metales excepto en el caso de los humos y vapores.(4)

La exposición crónica al plomo es un problema de salud. De manera general las fuentes de exposición al plomo son:

OCUPACIONAL. El plomo y sus sales son usados en una gran variedad de procesos. La mayoría de las exposiciones ocupacionales ocurren en la manufactura de municiones, latón, bronce, tubería, acumuladores, escudos de plomo, pigmentos, y metales procesados.(5)

DOMESTICA. El agua para beber contaminada con plomo contenida en la tubería, la ingestión de alimentos que lo contienen, las hierbas medicinales y la loza vidriada a bajas temperaturas.(5.0)

AMBIENTAL. Los alquil-compuestos de plomo son adicionados al combustible para mejorar el octanaje en las máquinas de combustión interna. Después de la combustión, éstos compuestos son oxidados y emitidos como una mezcla de sales de plomo.(7).

OTRO TIPO DE EXPOSICIONES. Aunque los casos de envenenamiento por balas de plomo son raramente reportados, éstos pueden representar reacciones que amenazan la vida. Algunas

municiones de plomo para disparo y balas calibre 22 pueden provocar una gran área de disolución y absorción de plomo. (6)

Se ha comprobado que los no fumadores tienen un 10% menos de plomo en el organismo que los fumadores. Cada cigarro puede contener de 2 a 12 μg de plomo. Gran parte de éste se elimina con la combustión, pero se inhala un 2%, lo que equivale a una absorción diaria de 5 μg de plomo en el organismo fumando 20 cigarros al día. (6)

EXPOSICION RELACIONADA CON LA EDAD. En general la población infantil es la más expuesta a los efectos adversos del plomo. Entre otras causas esto se debe a que el sistema nervioso de los niños es inmaduro, más susceptible a un daño irreversible, cuyo resultado puede expresarse en desórdenes de la conducta, dificultad para el aprendizaje, retraso mental y conducta antisocial.

Por otro lado, la absorción de plomo a través del tracto gastro-intestinal en los niños es del 50% de lo ingerido, mientras que en los adultos dicha absorción es sólo del 5 al 15%. Si a esto agregamos que los niños son propensos a chupar juguetes y otros objetos, es fácil ver que se trata de un grupo expuesto al plomo de diversos orígenes y especialmente susceptible a sus efectos adversos. (10, 11)

2. TOXICOCINETICA

2.1. ABSORCION Y DISTRIBUCION

El plomo es absorbido por inhalación, por ingestión y a través de la piel. La vía de ingreso, tamaño de partícula y tipo de compuesto de plomo (orgánico ó inorgánico), determina la concentración y la posibilidad de distribución del plomo hacia el organismo. La absorción de plomo depende de factores propios del organismo, como la edad, estado fisiológico e integridad de los tejidos.

En la inhalación de plomo ambiental, de acuerdo a un modelo de dinámica pulmonar, un 35% del total de plomo inhalado se deposita en las vías aéreas. Después de la deposición del plomo en la nasofaringe, tráquea, bronquios y alvéolos, parte de las partículas inhaladas asciende por acción de los cilios, pasa al esófago y se absorbe parcialmente en el tracto gastrointestinal. Las partículas restantes que llegan hasta los alvéolos, son absorbidas y pasan a la sangre. La absorción del plomo depositado en las vías respiratorias terminales es rápida, extensiva y prácticamente total y es un proceso independiente de la forma química de este metal. El daño en la mucosa y en los alvéolos producidos por el hábito prolongado de fumar, facilita el paso de plomo hacia la sangre. Se estima que una concentración de $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de plomo en el aire inhalado determina una concentración de 1 a 2 $\mu\text{g}/\text{dl}$ en la corriente sanguínea. Sólo entre un 35 a 50% de plomo que alcanza el tracto respiratorio inferior es absorbido y pasa al torrente sanguíneo.

La absorción gastrointestinal en adultos representa menos del 10% del plomo ingerido. La tasa de absorción a nivel intestinal es independiente de la forma química del compuesto de plomo. En niños, principalmente lactantes, la contribución del plomo ingerido al plomo sanguíneo es más elevada que en adultos,

llegando a ser la absorción del plomo ingerido del orden del 50%. Estos porcentajes pueden incrementarse tanto en adultos como en niños debido a una dieta pobre en calcio, hierro o proteínas.

Se estima que la absorción total diaria de plomo en la población no ocupacionalmente expuesta varía de 150 a 300 μg . Sólo un pequeño porcentaje de estas cantidades es inhalado por aire y el restante es ingerido en los alimentos.

La cinética de la distribución y acumulación de este elemento en el hombre se ha establecido a partir de datos de autopsia. Se sabe que el plomo tiene una tendencia a acumularse en los huesos, los cuales reflejan la exposición crónica. La concentración de plomo en los huesos representa aproximadamente el 90% del contenido total corporal del metal, estimado entre 100 a 400 mg. Este porcentaje de depósito es algo menor en niños debido al intenso recambio metabólico del tejido óseo en ellos, actualmente se han descrito trabajos en los que se señala la evaluación de plomo en diente total.

Los tejidos blandos y la sangre, que después de un tiempo establece un rápido equilibrio respecto al plomo, reflejan una exposición reciente.

El mecanismo tóxico del plomo está dado por tres modalidades:

- a) Competiendo con los metales esenciales -especialmente calcio y zinc- en sus sitios de inserción.
- b) Mediante su afinidad por los grupos sulfhidrilos (-SH) de las proteínas y enzimas, lo que significa alteración de la forma y función de ellas, originando alteraciones fisiológicas en el organismo.
- c) Alterando el transporte de iones esenciales.

El plomo traspasa fácilmente la placenta y su concentración en la sangre del recién nacido es similar a la de la madre. También traspasa la barrera cerebral, pero el cerebro no acumula plomo de manera significativa.

El plomo inorgánico se acumula en el organismo humano preferentemente en los huesos, luego se encuentra especialmente en hígado, riñones y músculos estriados. Los compuestos orgánicos tales como el tetrametilo y el tetraetilo de plomo, tienden a acumularse en el hígado.^(12,13)

2.2. ELIMINACION

La eliminación del plomo ingerido se hace por las heces, como reflejo de la pobre absorción intestinal. En cambio, la eliminación de plomo absorbido por el organismo se hace principalmente a través de la orina (75%), por las secreciones gastrointestinales (16%) y por cabello, uñas y sudor (8%). El plomo es también excretado a través de la leche materna, en una concentración similar a la del plasma; si bien los valores frecuentes encontrados no sobrepasan los 12 µg/l de leche, se han encontrado valores de hasta 115 µg/l de leche.⁽¹⁴⁾

La vida media del plomo en el organismo es larga y variable según los tejidos; se conocen valores de vida media del plomo en la sangre de aproximadamente 3 a 4 semanas, en tejidos blandos de 4 semanas y en huesos de 20-27 años.⁽¹⁵⁾

3. CLINICA

El plomo es inhibidor de numerosas enzimas y esto constituye el fundamento de los efectos tóxicos que se reflejan en la clínica y laboratorio.

El plomo es un agente tóxico que se acumula progresivamente en el organismo humano, lo que condiciona que el cuadro clínico de intoxicación plúmbica sea, en la mayoría de los casos, de instalación lenta.

La clínica de las intoxicaciones por plomo es variable según la vía de ingreso, cantidad absorbida, tiempo y tipo de exposición y características propias del individuo expuesto.

El plomo puede causar disfunciones del sistema gastrointestinal (cólicos de plomo), en el sistema hematopoyético (anemia), en el sistema nervioso central (encefalopatía por plomo), en el sistema endocrino y otros sistemas. (10,17,18)

3.1. EFECTOS GENERALES

Se ha descrito una serie heterogénea de signos y síntomas generales e inespecíficos para la intoxicación por plomo, tales como decaimiento, fatiga, dolores articulares, tos, impotencia sexual, palidez y temblor. (10)

3.2. SISTEMA HEMATOPOYETICO

Uno de los más importantes efectos del plomo en el organismo humano es la alteración de la biosíntesis del grupo hemo.

Esta alteración se manifiesta con la aparición en la sangre y la orina de concentraciones anormales de sus precursores y por una palidez acentuada (anemia). Es característica la palidez facial (fascies saturnina), especialmente peribucal.

De este modo, los eritrocitos constituyen el componente crítico de la acción tóxica del plomo y son los primeros afectados a dosis tóxicas bajas.

La interferencia por el plomo se presenta en algunas etapas enzimáticas de la biosíntesis del hemo, en la utilización del hierro y en la síntesis de globulina en los eritrocitos. La inhibición de la enzima deshidratasa del ácido delta aminolevulínico (AAL-D), de la hemosintetasa y de la enzima sintetasa provocan una alteración en la producción de la hemoglobina y una estimulación de la eritropoyesis.

En el laboratorio la observación de estos efectos puede realizarse en orina y sangre. En el suero sanguíneo se observa un aumento del contenido del ácido δ -aminolevulínico, aumento en la concentración de hierro y aumento en las porfirinas.

En los eritrocitos se observa aumento en la concentración de protoporfirina IX, aumento en la concentración de hierro no unido a la hemoglobina, disminución de la hemoglobina, disminución en el número de eritrocitos, disminución de enzimas relacionadas con la síntesis de la hemoglobina, presencia de punteado basófilo, siderocitos y reticulocitos así como disminución del tiempo de vida de los eritrocitos.

Clinicamente se observa anemia, que generalmente se presenta como signo relativamente precoz de la intoxicación por plomo. Aparentemente los niños son más propensos a desarrollar esta anemia que los adultos. (19,20,21,22,23)

3.3. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

Los efectos del plomo sobre el encéfalo están mucho más relacionados con el saturnismo infantil que con las intoxicaciones en los adultos. Actualmente existe preocupación por evaluar en los niños en detalle el daño neuropsicológico producido por concentraciones bajas de plomo en el organismo. Factores del orden genético, nutricional, económico, social y familiar interfieren en la correcta interpretación de los efectos psicológicos, conductuales y de aprendizaje en niños, causados por concentraciones de plomo en sangre tan bajas como 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

En la exposición prolongada al plomo pueden observarse efectos importantes sobre el SNC; causando un cuadro llamado encefalopatía saturnina, cuyos síntomas y signos varían desde cambios psicológicos o conductuales sutiles hasta alteraciones neurológicas graves. Es importante tener presente que, una vez efectuado el tratamiento quelante de una intoxicación con síndrome neurológico, no siempre es reversible. Los niños con encefalopatía plúmbica habitualmente quedan con secuelas.(24,25)

3.4. SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO

El plomo produce efectos adversos en el sistema nervioso periférico, tanto en la estructura como en la actividad colinérgica del nervio. El hecho más característico a este nivel es el daño de los nervios motores, que se expresa clínicamente con la parálisis saturnina, cuya manifestación principal es la debilidad de los músculos extensores, en especial los más utilizados por el individuo (falta de fuerza en las manos), comienza a detectarse a partir de una concentración de plomo en sangre de 30 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Se han descrito también otros síntomas, como hiperestesia, analgesia, dolores musculares, calambres, anestesia de zonas afectadas.(24,25)

2.5 SISTEMA URINARIO

Se ha observado lesión tubular renal caracterizada por aminoaciduria generalizada, hipofosfatemia con hiperfosfatemia relativa y glucosuria. En estudios hechos en trabajadores con larga exposición al plomo se encontró fibrosis peritubular e intersticial difusa en algunos de ellos. Se ha descrito que exposiciones prolongadas que originen una concentración habitual de plomo en la sangre superior a 70 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ puede provocar nefropatía irreversible.²⁶

3.6. SISTEMA GASTROINTESTINAL

El síntoma más característico del saturnismo en este sistema es el cólico. El cólico se produce incluso en exposiciones a concentraciones bajas de plomo. En la mayoría de los casos suele aparecer junto con los otros síntomas y signos de la intoxicación.

Otras manifestaciones son pérdida de apetito, constipación, diarrea, náuseas, vómitos, sabor metálico en la boca, dolor abdominal e ictericia. La aparición de una línea en las encías, de aproximadamente 1 mm de espesor y de color gris-azulado llamada "Ribete de Burton", fue por mucho tiempo considerado como signo de importancia, para el diagnóstico de la intoxicación. Actualmente su importancia es relativa por la frecuente confusión con la hiperpigmentación melánica de las encías en la raza negra y con el depósito de residuos por mala higiene bucal.^{26,27}

3.7. SISTEMA CARDIOVASCULAR

De los efectos en este sistema asociados a la exposición al plomo, la hipertensión arterial es el que ha recibido mayor atención. Estudios recientes han aportado evidencias consistentes respecto a que la presión arterial elevada se encuentra asociada a

altos niveles de plomo en el organismo humano de adultos. No obstante, a la fecha, parece que la contribución del plomo al fenómeno general de la hipertensión arterial sería menor en comparación con otros factores hipertensógenos tradicionalmente reconocidos. (29,30)

3.8. SISTEMA REPRODUCTOR

Se han descrito en la mujer efectos como abortos, disfunción ovulatoria, mortinatos, partos prematuros y esterilidad y en el hombre, astenospermia, hipospermia y teratospermia, aunque en estos casos no se tienen datos concluyentes sobre el efecto del plomo. (30,31)

3.9. SISTEMA ENDOCRINO

Hay evidencias de que el saturnismo puede determinar deterioro de las funciones de la tiroides y de las suprarrenales, aunque faltan estudios concluyentes a este respecto. (30,31)

3.10. ARTICULACIONES

Las artralgias que se llegan a presentar en la intoxicación con plomo se deben a una gota secundaria, a la interferencia del plomo en la enzima aminohidrolasa de guanina lo que eleva las concentraciones de ésta en el organismo, cristalizándose y depositándose en las articulaciones. (32)

3.11. CARCINOGENICIDAD Y TERATOGENICIDAD

Ciertos estudios han descrito aberraciones cromosómicas en linfocitos circulantes en poblaciones humanas expuestas al plomo, con niveles sanguíneos del metal tan bajos como 10 µg/100 ml de sangre. (32)

3.12. DESARROLLO Y CRECIMIENTO

Se han descrito efectos tales como reducción del período gestacional, bajo peso al nacer, mortinatos, alteraciones del desarrollo neuroconductual, retardo en el crecimiento y menor estatura. (22,34,35)

4. DETERMINACIONES DE LABORATORIO

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

1. **Métodos Directos.** Se basan en la medición del metal en tejidos y líquidos corporales (hueso, sangre, orina, etc.)
2. **Métodos Indirectos.** Miden elevaciones de metabolitos producidos por la acción de plomo presente en el organismo.

Entre los métodos directos el nivel de concentración de plomo en sangre es la medida más usual para evaluar una exposición, crónica o aguda. En general la determinación de plomo en sangre, es aceptado como el método más confiable de la absorción excesiva y reciente de plomo. Para este fin la espectroscopía de absorción atómica es la técnica de elección por sus características de precisión y reproducibilidad. (20,20)

5. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

La espectrofotometría de absorción atómica con llama es una técnica de análisis cuantitativo. Es útil para determinar trazas de 64 elementos. Es una técnica muy sensible y puede cuantificar los elementos en concentraciones del orden de ppm (mg/l, $\mu\text{g/ml}$), es altamente específica, precisa y casi libre de interferencias.

La espectrofotometría de Absorción Atómica es una técnica que estudia la absorción de la energía radiante por átomos. En el proceso de absorción, el átomo está constituido por un núcleo rodeado por electrones. Cada elemento tiene un número específico de electrones que está directamente relacionado con su núcleo y que conjuntamente con él, da una estructura orbital, la cual es única para cada elemento. Los electrones ocupan posiciones orbitales en una forma predecible y ordenada. La configuración más estable y de más bajo contenido energético es conocida como estado basal.

Si a un átomo se le aplica energía de una magnitud apropiada, ésta será absorbida por él e inducirá que el electrón exterior sea promovido a un orbital menos estable o "estado excitado". Como este estado es inestable, el átomo inmediatamente retornará a su configuración basal. El electrón por lo tanto regresará a su orbital inicial estable y emitirá energía radiante equivalente a la cantidad de energía inicialmente absorbida en el proceso de excitación. Puesto que la energía de radiación en la región ultravioleta-visible origina interacciones a nivel electrónico, no se involucran cambios a nivel vibracional o rotacional de los átomos. Como resultado el espectro de absorción atómica consiste en líneas discretas de absorción muy finas.

El objetivo principal de la espectrofotometría de absorción atómica por llama es determinar la cantidad de un elemento en una muestra mediante su absorción dentro de una llama. Para fines cuantitativos es necesario convertir este dato en la concentración del elemento que se va a determinar. El grado de absorción depende de la concentración de los átomos. La relación entre la absorción de la radiación y la concentración del analito está dada por la ley de Lambert y Beer, que implica la relación directa entre la cantidad de energía absorbida y el número de especies absorbentes. La energía absorbida, tiene asociada una longitud de onda característica para cada elemento. La relación más empleada para la ley de Lambert y Beer está dada por la ecuación:

$$A = abc$$

Donde: A = absorbancia
 a = coeficiente de absorción
 b = longitud de la celda
 c = concentración de las especies absorbentes

De una manera simple nos relaciona directamente la absorbancia medida en el instrumento con la concentración de las especies absorbentes para una serie de condiciones constantes en la manipulación de las muestras y en el equipo. La aplicación práctica de esta relación consiste en determinar la absorbancia de una serie de soluciones patrón de concentración conocida (curva de calibración), para construir una gráfica que relacione estas dos variables e interpolar el valor de absorbancia de una muestra de concentración desconocida para obtener su valor. (27,28)

Los espectrofotómetros de absorción atómica que emplean llama están constituidos por tres componentes básicos:

FUENTE DE LUZ	CELDA DE MUESTRA	SISTEMA OPTICO Y ELECTRONICO
------------------	---------------------	---------------------------------

En absorción atómica, estas áreas funcionales son implementadas por los componentes ilustrados en la Fig 1. Se requiere de una fuente de luz la cual emita las líneas atómicas características del elemento que va a ser analizado. Una de las fuentes más ampliamente empleada es la lámpara de cátodo hueco. Estas lámparas son diseñadas para emitir el espectro atómico de un elemento, de esta forma se utiliza una lámpara específica para cada elemento a determinar.

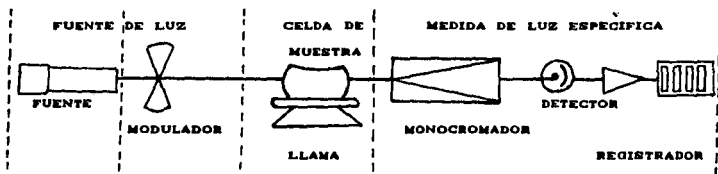


FIG 1. ESPECTROFOTOMETRO DE ABSORCION ATOMICA

5.1. FUENTES DE LUZ

La lámpara de cátodo hueco (HCL) es una fuente de energía discreta, Fig. 2.

El cátodo de la lámpara es un cilindro hueco construido del elemento que se va a determinar. El ánodo y el cátodo se encuentran en un cilindro de vidrio sellado y lleno de neón o argón.

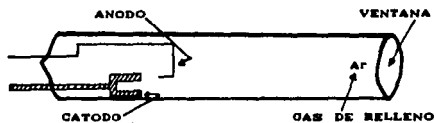


FIG 2. LAMPARA DE CATODO HUECO

Cuando se aplica un potencial eléctrico entre el ánodo y el cátodo, algunos de los átomos del gas de relleno se ionizan. Los iones cargados positivamente se aceleran a través del campo eléctrico y colisionan con el cátodo cargado negativamente, desalojando átomos metálicos individuales del mismo en un proceso llamado desalojo. Los átomos de metal desalojados son entonces excitados para la emisión, por los impactos subsecuentes que tienen con más iones del gas de relleno.

5.2. SISTEMAS DE ATOMIZACION

En el espectrofotómetro de absorción atómica el proceso de atomización debe generar en el paso óptico átomos en estado fundamental. La técnica más ampliamente utilizada es la aspiración directa de la solución de la muestra en una llama, ahí el disolvente se evapora, quedando un residuo sólido, que se descompone en átomos libres dentro de la llama. Estos átomos libres se oxidan formando óxidos del metal o alguna otra forma química más estable de la molécula en la parte superior de la llama.

Como parte del sistema de atomización se encuentran:

1. El Nebulizador que tiene como función aspirar la solución de la muestra a través de un capilar, utilizando un gas de soporte (oxidante) para efectuar la aspiración.
2. Quemador. En el quemador los gases combustibles y oxidantes se mezclan y queman en la parte superior del quemador. La solución con muestra en la corriente de gas de soporte (oxidante), se absorbe hacia la llama, en donde las moléculas son transformadas en átomos.
3. Celda. Dentro de la llama se lleva a cabo el evento de transformar el elemento a cuantificar en átomos en el estado basal y efectuar el proceso de absorción atómica. La celda de la muestra la constituye la llama.

Para obtener la máxima sensibilidad analítica se debe seleccionar la llama adecuada. Las más empleadas son:

Oxido nitroso-Acetileno: se utiliza para determinar elementos que forman compuestos refractarios.

Aire-Acetileno: se utiliza para determinar la mayoría de los elementos. (17,20)

6. ELIMINACION DE INTERFERENCIAS Y CONCENTRACION

Los métodos químicos para la evaluación de metales en donde se ha eliminado alguna interferencia o se ha hecho una concentración del elemento son varios, entre ellos se encuentran:

6.1. EVAPORACION

Es un procedimiento muy usado, es simple pero lento, en donde el tratamiento químico es mínimo, raramente ocasiona problemas de volatilidad de componentes o pérdida por adsorción en las paredes del recipiente.

6.2. COPRECIPITACION

Este método es poco usado, por ser un procedimiento largo y laborioso, con alto riesgo de contaminación y pérdidas.

6.3. INTERCAMBIO IONICO

Este método no es empleado con frecuencia aun cuando su potencial es bueno, pues presenta ventajas como: manejo mínimo de la muestra, posibilidad de altos factores de concentración. Las principales desventajas son que algunos elementos no se adsorben sobre las resinas y que otros no se eluyen completamente. El método es mucho más lento que la quelación, pero más rápido que la evaporación.

6.4. QUELACION-EXTRACCION

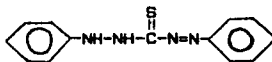
Es un método muy común en el caso de elementos presentes a baja concentración, tiene la ventaja de ser específico, cuando se utiliza disolvente orgánico en Absorción Atómica se aumenta la eficiencia de la nebulización y como consecuencia la eficiencia de las determinaciones, la sensibilidad analítica se

aumenta de 2 a 3 veces comparado contra un medio acuoso. La extracción es rápida y se logran factores de concentración de 20X a 50X, varios elementos se pueden extraer juntos eliminando la matriz.

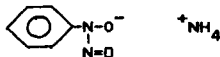
En el análisis cuantitativo de metales traza por espectrofotometría de absorción atómica es ampliamente usado el método de transferencia cuantitativa de un ión metálico a una fase orgánica mediante la formación de quelatos. La naturaleza de estos quelatos es principalmente orgánica por lo que son más solubles en disolventes orgánicos que en la fase acuosa. El metal se extrae desde la muestra acuosa al agregar una solución acuosa del reactivo quelante y extraer con disolvente orgánico el complejo metálico formado. La fase orgánica es empleada para el análisis por Absorción Atómica.

Dentro de los agentes quelantes más comunes empleados en Absorción Atómica se tienen:

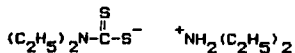
Difeniltiocarbazona (Ditizona)



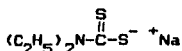
Cupferron



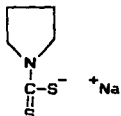
Diethylthiocarbamate de Diethyl Amonio (DDDC)



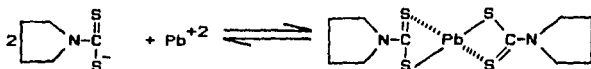
Dietilditiocarbamato de Sodio (DDC)



Pirrolidín Ditiocarbamato de Amonio (APDC)



Los complejos formados por un ión o átomo metálico y ligandos polidentados se conocen como "Quelatos" (del griego pinza). Para la formación del quelato de plomo con APDC se establece la siguiente reacción:



Los disolventes orgánicos más apropiados en Absorción Atómica son ésteres alifáticos de C-6 o C-7, cetonas y alcanos de C-10, los disolventes como metanol, etanol, acetona, dietil éter y alcanos inferiores no son recomendables porque tienden a evaporarse en el nebulizador dando resultados erróneos. Los disolventes más empleados son: Acetonitrilo, Metil Isobutil Cetona, Metil-n-amil Cetona, Isobutil Acetato, Xileno y cetonas de C-6 ó C-7. (20)

Aunque la espectrofotometría de Absorción Atómica es altamente específica, precisa y exacta es necesario asegurarse que el método analítico a desarrollar proporcione resultados confiables, lo cual sólo se puede garantizar con la validación del mismo. (40,41,42,43,44)

7. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación generalmente incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad, y proporciona una medida del comportamiento del método. (15)

La validación del método puede definirse como aquella actividad debidamente documentada que permite demostrar que un método analítico cumple con su objetivo. (16)

El proceso de validación de un método en particular está basado en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición. (15)

7.1. DEFINICIONES

7.1.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA

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

La determinación del analito en una muestra involucra en casi todos los métodos, el empleo de un sistema de medición. El sistema generalmente se basa en determinar la respuesta analítica ya sea física, química o biológica del analito; como por ejemplo los sistemas volumétricos que determinan el volumen consumido por el analito, los sistemas espectrofotométricos que determinan la luz absorbida por el analito, entre otros.

Este parámetro es caracterizado al estudiar la relación concentración vs respuesta analítica en un intervalo apropiado de concentración "UNICAMENTE DEL ANALITO", sin incluir los otros componentes de la muestra.

El modelo estadístico que puede ser empleado para describir ésta situación experimental se muestra a continuación:

$$Y = MX + B + E_a$$

Donde:

- Y = Respuesta analítica o un métmetro de ésta
- X = La concentración del analito
- M = Representa el cambio de Y con respecto a X
- B = Respuesta de Y cuando se tiene ausencia en X
- E_a = Error aleatorio del sistema.

En éste se asume que la relación entre "X" y "Y" es lineal, lo que en una gran variedad de métodos analíticos que empleen uno a más valores de X (estándar) es esencial para la determinación cuantitativa del analito en una muestra. La exactitud de la respuesta analítica depende de esta suposición, ya que el error aleatorio del sistema únicamente debe ser transmitido a la respuesta.

Para el diseño del estudio del parámetro se sugiere tomar en cuenta los siguientes lineamientos:

- La información del método analítico, que identifica el sistema de medición que se emplea.
- Únicamente trabajar con el analito.
- Determinar la concentración nominal del analito al cual se le aplica el sistema de medición, cuyo valor representa el 100%.
- Fijar como mínimo tres valores de concentración incluyendo el 100%.

- Es preferible generar concentraciones por dilución, que por pesadas independientes.
- Cada concentración debe ser generada como mínimo por triplicado. (47)

7.1.2. LINEALIDAD DEL METODO

Un método exacto es aquel que mide sin error la cantidad de analito presente en una muestra. No solamente el método debe medir sin error al analito a una cantidad constante, sino también a una cantidad variable; es decir, si la muestra contiene X cantidad de analito, el método debe medir Y cantidad de analito, donde $Y=X$.

Se sugiere tomar en cuenta los siguientes lineamientos en el diseño experimental:

- Generar el placebo analítico asociado al analito.
- Determinar la cantidad nominal del analito que está presente en la muestra según el método. Esta cantidad representa el 100%.
- Determinar la cantidad nominal del placebo analítico.
- Fijar como mínimo tres valores de cantidad de analito incluyendo el 100%.
- Preparar placebos analíticos independientes, adicionados de los niveles del analito elegidos.
- Cada nivel relativo del analito en el placebo analítico adicionado, como mínimo debe ser generada por triplicado.

El analista debe registrar la cantidad de analito adicionado a cada placebo. Ya aplicado el método, el analista debe registrar el ensayo en términos de cantidad del analito. Ya que el analista conoce la cantidad que adiciona al placebo (X) y la cantidad del analito al aplicar el método (Y), se procede a efectuar el análisis de la información. (48)

7.1.3. EXACTITUD

En una gran variedad de métodos analíticos, se tiene como propósito determinar cuantitativamente un analito presente en una muestra. Una característica importante del método es la exactitud en la medición.⁽⁴⁰⁾

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.⁽⁴¹⁾

La exactitud mide la concordancia entre el contenido del analito obtenido al aplicar el método a la muestra y su valor verdadero en la muestra. Se puede establecer que un método analítico es un procedimiento operativo sistemático, que emplea en la mayoría de los casos técnicas de análisis instrumental, con el objeto de medir correctamente a un analito en una muestra. Si el método mide de manera correcta al analito, se dice que el método es exacto. Una gran cantidad de métodos analíticos emplea una respuesta analítica o variable indicadora del contenido del analito en la muestra; esta respuesta es influenciada por una serie de factores intrínsecos del método, por lo que se espera que estos factores gobiernen su exactitud.

Entre aquellos factores intrínsecos que pueden causar inexactitud del método se tienen:

- Factores instrumentales.
- Factores de método (Asociados principalmente a aspectos de diseño del método, como extracciones no cuantitativas, indicadores no adecuados, temperaturas inadecuadas, etc.)
- Factores operativos.

Este análisis debe efectuarse bajo las mismas condiciones de operación, debe ser interpretado por un mismo analista. El analista debe registrar la cantidad de analito adicionado a cada placebo. Ya aplicado el método se debe registrar en términos de cantidad del analito, sin considerar la cantidad del placebo.

Ya que se conoce la cantidad de placebo cargado (CA) y la cantidad recuperada (CR), se procede a calcular el porcentaje recuperado en el placebo (Y) con la siguiente fórmula:

$$Y = \frac{CR}{CA} \cdot 100$$

7.1.4. PRECISION

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar o de Coeficiente de Variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

a) Repetibilidad. Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.).

b) Reproducibilidad. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos).⁽⁴⁵⁾

Un concepto importante en ambas definiciones es "MEDIDA DE CONCORDANCIA RELATIVA"; lo que da a entender que la precisión tiene carácter relativo y por lo tanto es necesario como mínimo dos mediciones, ya que con una sola medición no es posible establecer precisión.

Un método analítico debe reunir atributos deseables tanto de repetibilidad como de reproducibilidad y al no ser adecuada una de ellas, da lugar a un método con una incertidumbre no aceptable, lo que dificulta la toma de decisiones en relación al material analizado.

Dada la característica relativa de la precisión, es necesario establecer un límite para la variación permitida ya sea como reproducibilidad o como repetibilidad, además de obtener un estimado correcto de esa variación. El procedimiento que cumple con el propósito anterior, se le denomina estudio de precisión.⁽⁵⁰⁾

7.1.5. LIMITE DE DETECCION

El límite de detección se define como la mínima concentración de un analito que puede ser detectada analíticamente pero no necesariamente cuantificada.⁽⁴⁵⁾

Esta definición incorpora consideraciones tanto del tamaño de la señal como del ruido de la línea base. De esta manera, obtener una indicación de la más baja concentración del elemento que puede ser medida. Se define el límite de detección

como la concentración que haga el cociente señal-ruido igual a 3.

El límite de detección describe la señal-ruido para el instrumento. Este término es de gran importancia analítica ya que describe la capacidad del instrumento y suministra una forma de estimar el valor mínimo de detección.(37)

El límite de detección de un analito dado es frecuentemente una de las más importantes decisiones en un análisis de nivel de concentración bajo.

Sea S_t el valor total medido para la muestra, S_b el valor del blanco y σ la desviación estándar medida. Puede ser demostrado que distribuciones normales $S_t - S_b > 0$ tienen un alto nivel de confiabilidad cercano al 99% cuando la diferencia $S_t - S_b > 3\sigma$. El valor recomendable del límite de detección es 3σ y el valor para S_b debe aproximarse a cero.(51,52)

7.1.6. LIMITE DE CUANTIFICACION

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.(45)

La certeza en la cuantificación del analito se incrementa en tanto que la señal del analito rebasa la señal del límite de detección.

El valor recomendable para el límite de cuantificación es de 10σ , con una incertidumbre del 30% en el valor medido ($10\sigma \pm 3\sigma$) con una certeza del 99%.

El límite de cuantificación es útil para definir el límite más bajo de rango útil para el método seleccionado. Este valor proporciona el límite de la linealidad, es decir, en donde

como la concentración que haga el cociente señal-ruido igual a 3.

El límite de detección describe la señal-ruido para el instrumento. Este término es de gran importancia analítica ya que describe la capacidad del instrumento y suministra una forma de estimar el valor mínimo de detección.⁽⁵⁷⁾

El límite de detección de un analito dado es frecuentemente una de las más importantes decisiones en un análisis de nivel de concentración bajo.

Sea S_t el valor total medido para la muestra, S_b el valor del blanco y σ la desviación estándar medida. Puede ser demostrado que distribuciones normales $S_t - S_b > 0$ tienen un alto nivel de confiabilidad cercano al 99% cuando la diferencia $S_t - S_b > 3\sigma$. El valor recomendable del límite de detección es 3σ y el valor para S_b debe aproximarse a cero.^(51,52)

7.1.6. LIMITE DE CUANTIFICACION

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.⁽⁴⁹⁾

La certeza en la cuantificación del analito se incrementa en tanto que la señal del analito rebasa la señal del límite de detección.

El valor recomendable para el límite de cuantificación es de 10σ , con una incertidumbre del 30% en el valor medido ($10\sigma \pm 3\sigma$) con una certeza del 99%.

El límite de cuantificación es útil para definir el límite más bajo de rango útil para el método seleccionado. Este valor proporciona el límite de la linealidad, es decir, en donde

la concentración del analito deja de ser proporcional a la respuesta medida.

Debe enfatizarse que el límite de cuantificación y de detección no son constantes intrínsecas en la metodología. Valores del límite de detección publicados pueden ser considerados sólo como típicos o comunes. Cada laboratorio debe evaluar su propia precisión y estimar sus propios valores de límite de cuantificación y detección. (32,53,54)

7.1.7. PERFIL DE LLAMA

Se conoce como perfil de llama a la curva que se obtiene al graficar los valores de absorbancia (de una dilución), en función de la altura a la que se encuentra el quemador. El perfil de llama varía dependiendo del elemento de que se trate, del disolvente en el que se encuentre y de los gases empleados.

7.1.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Es la propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y de la concentración de la sustancia en interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas. (45)

7.2. DETERMINACIONES

7.2.1. PERFIL DE LLAMA

Se prepara una disolución de concentración conocida del elemento que se va a analizar en el disolvente de extracción.

Se procede a variar la altura del quemador y se obtienen las lecturas de absorbancia.

7.2.2. LIMITE DE CUANTIFICACION Y DETECCION

Para efectuar la determinación del límite de detección (LD) se preparan cuatro disoluciones, dos con una concentración del triple de lo señalado en el manual de equipo como límite de detección y otras dos del quintuple. Se toman 20 lecturas de cada una de las cuatro disoluciones.

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

7.2.3 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se determina construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado de cada dilución.

CRITERIO DE ACEPTACION: $CV < \delta = 1.5\%$
 $r > \delta = 0.99$
 $r^2 > \delta = 0.98$

7.2.4. PRECISION DEL SISTEMA

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

CRITERIO DE ACEPTACION: $CV < \delta = 1.5\%$

7.2.5. LINEALIDAD DEL METODO

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos tres diferentes cantidades de la sustancia de interés (placebos cargados), cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado.

Las concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo la correspondiente al 100%.

La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método y deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

CRITERIO DE ACEPTACION: $m = 1$
 $b = 0$
 $r^2 = 0.98$
 $CV < \delta = 3\%$
Recobro 97-100%

7.2.6. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

Se determina de cuando menos 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100% utilizando el método propuesto. Haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

CRITERIO DE ACEPTACION: El porcentaje recuperado y el CV deberán estar de acuerdo con el criterio de la linealidad del método.

7.2.7. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

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

CRITERIO DE ACEPTACION: CV = 3%

7.2.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de tres muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones.

Almacenar las muestras analizadas bajo distintas condiciones (por ejemplo: temperatura ambiente, refrigeración, protegidas de la luz, etc.), durante un tiempo preestablecido por el analista dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia. Reanalizarlas bajo las mismas condiciones de operación, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, para cada tiempo, de acuerdo a lo establecido en el método analítico. La determinación debe ser efectuada por un mismo analista. (45)

CRITERIO DE ACEPTACION: IC \pm 3%

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con el paso de los años se ha observado que el nivel de algunos metales en sangre ha ido aumentando paulatinamente. Tal es el caso del plomo, el cual se puede encontrar en concentraciones relativamente altas.

El plomo es un metal tóxico para los organismos vivientes, sin funciones fisiológicas benéficas conocidas. En los seres humanos produce efectos dañinos sobre los sistemas hematopoyético, hepático, renal, reproductor, gastrointestinal y el sistema nervioso central en desarrollo.

Aunque desde la antigüedad se han registrado este tipo de alteraciones a causa del plomo, no ha sido sino hasta en fechas recientes que se ha descrito y discutido el problema de salud ambiental de las poblaciones que están expuestas de manera continua.

La población del Valle de México está expuesta crónicamente a ciertas concentraciones de plomo presentes en su dieta diaria, en el aire que se respira, en el polvo y en varias fuentes más.

Existen diferentes pruebas de laboratorio para evaluar plomo, de todas ellas la más importante desde el punto de vista clínico son las determinaciones de plomo en sangre. El plomo sanguíneo ha sido considerado como índice de primera elección para diagnosticar intoxicación o absorción del metal y, aunque actualmente se cuestiona esta primacía, de ninguna manera puede negarse su utilidad. Para este fin la espectrofotometría de Absorción Atómica es una técnica de elección por sus características de precisión, reproducibilidad y bajos límites de detección, además de ser ampliamente específica.

En el presente trabajo se desarrolla un método analítico para la evaluación de plomo en sangre, empleando la técnica de espectrofotometría de Absorción Atómica con llama, con el método de quelación de plomo con pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y extracción del quelato de plomo con metil isobutil cetona (MIBK) para su posterior análisis. Aunque esta técnica es altamente específica, precisa y exacta es necesario asegurarse de que el método analítico desarrollado para la determinación de plomo en sangre proporcione resultados confiables, lo cual sólo se puede garantizar con la validación del mismo.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Desarrollar y validar un método analítico para la evaluación de plomo en sangre, formando un quelato con pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y extracción con metil isobutil cetona (MIBK), para su análisis posterior por espectrofotometría de Absorción Atómica con llama.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- * Desarrollar un método analítico para determinar plomo en sangre.
- * Determinar los tiempos de agitación óptimos para la extracción del quelato con disolvente orgánico.
- * Establecer el perfil de llama.
- * Establecer la linealidad y precisión del sistema.
- * Establecer la linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y especificidad del método.
- * Establecer el límite de detección, límite de cuantificación y estabilidad de la muestra.

V. HIPOTESIS

Dado que el plomo entra en el torrente sanguíneo a través del tracto gastrointestinal y respiratorio, es posible cuantificar la cantidad del metal presente en la sangre, mediante la formación de un quelato con pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y posterior extracción con metil isobutil cetona (MIBK) para evaluarlo por espectrofotometría de Absorción Atómica con llama.

Para confirmar la veracidad de los resultados es necesario validar el método analítico.

VI. MATERIAL Y METODO

1. MATERIAL

1. Vasos de precipitado de 50, 100 ml. Pyrex.
2. Matraces aforados de 25, 50 y 100 ml. Pyrex.
3. Pipetas volumétricas de 1, 2, 3 y 5 ml. Pyrex.
4. Pipetas Pasteur.
5. Tubos para centrifuga de 15 ml. Pyrex.
6. Tubos de ensayo de 10 ml. Pyrex.
7. Espátula
8. Perilla
9. Gradilla
10. Piseta.

2. INSTRUMENTOS

1. Balanza Analítica. AINSWORTH. MODEL 100A.
2. Centrifuga. BECKMAN. MODEL TJ-6.
3. Espectrofotómetro de Absorción Atómica. PYE UNICAM SP-192.

3. REACTIVOS

1. Pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC). Aldrich.
2. Metil isobutil cetona (MIBK). J. T. BAKER
3. Tritón X-100
4. Estándar de plomo. TRITISOL MERCK
5. Acido nítrico. J. T. BAKER
6. Agua desionizada
7. Aire comprimido (Presión de 2.8 Kg/cm)
8. Acetileno (Presión 0.8 Kg/cm)

4. METODO GENERAL

Adicionar 3 ml de sangre en un tubo para centrifuga, inmediatamente después agregar 1 ml de Tritón X-100, 1 ml de pirrolidin ditiocarbamato de amonio (APDC), 3 ml de metil isobutil cetona (MIBK). El tubo es sellado y agitado; se centrifuga. Se separa la fase orgánica y se somete a análisis por espectrofotometría de Absorción Atómica con llama.

TABLA 1. CONDICIONES PARA LA DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE

ELEMENTO	PLOMO
LONG. DE ONDA	217 nm
GASES	AIRE/ACETILENO
SISTEMA	NEBULIZADOR - QUEMADOR
	FLUJO LAMINAR

4.1. PERFIL DE LLAMA

De una solución de 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se realizó el método general para la formación del quelato. Las lecturas de absorbancia se efectuaron a diferentes alturas del quemador (4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 nm).

4.2. TIEMPO DE AGITACION

Se preparó una solución de 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de Pb en agua. De esta solución se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se colocaron en tubos de centrifuga; se adicionó pirrolidin ditiocarbamato de amonio y se agitó por 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 minutos. El quelato se extrajo con metil isobutil cetona y se analizó mediante Absorción Atómica. El análisis de cada una de las muestras se hizo por duplicado para obtener los datos de absorbancia.

4.3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

Se prepararon dos soluciones por duplicado de 0.1 y 0.2 ppm. Se tomaron alícuotas de 5.0 ml de estas soluciones y se les realizó el procedimiento general para cada una de las concentraciones con el objeto de determinar el límite de detección y cuantificación.

4.4. LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando las siguientes concentraciones: 5, 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de plomo. De estas soluciones se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se les realizó el método general para la formación del quelato. El análisis de cada dilución se hizo por duplicado.

4.5. PRECISION DEL SISTEMA

Se determinó por análisis sextuplicado de una misma solución de 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$, se tomaron alícuotas de 5.0 ml y se les realizó el método general para la formación del quelato de plomo con pirrolidín ditiocarbamato de amonio.

4.6. LINEALIDAD DEL METODO

Se determinó a partir de cantidades adicionadas de plomo a muestras de sangre total correspondientes al 50, 100 y 150% (tomando como 100% la concentración de 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$), cada una de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado.

4.7. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

Se determinó a partir de 6 muestras de sangre, adicionando de manera independiente 20 $\mu\text{g/dl}$ de plomo (correspondiente al 100%), utilizando el método general para la obtención del quelato de plomo con pirrolidín ditiocarbamato de amonio. El análisis se hizo bajo las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

4.8. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

Se determinó a partir de una muestra homogénea de sangre adicionando una concentración de plomo al 100% (20 $\mu\text{g/dl}$), se realizó el método general para la quelación-extracción, se analizó por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

4.9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se determinó mediante la comparación de los análisis iniciales de tres muestras de sangre a las que se les adicionó una concentración de plomo del 100% (20 $\mu\text{g/dl}$), se realizó el método general para el proceso de quelación-extracción, se obtuvieron las absorbancias de las mismas muestras después de permanecer 24 y 48 horas a 4°C y a temperatura ambiente. El análisis se realizó por el mismo analista.

4.10. ESPECIFICIDAD

Este parámetro no se determinó, debido a que la técnica de absorción atómica con llama es altamente específica, ya que el único elemento que es leído a una longitud de onda de 217 nm es el plomo. Esto se debe a que la fuente de radiación es una lámpara de cátodo hueco para plomo y dicha fuente sólo emite las líneas espectrales propias para este elemento, lo que hace que la técnica sea específica. (97,98)

VII. RESULTADOS

1. PERFIL DE LLAMA

TABLA 2. VALORES DE LA ABSORBANCIA A LAS DIFERENTES ALTURAS DEL QUEMADOR.

ALTURA (mm)	ABSORBANCIA
4.0	0.008
6.0	0.007
8.0	0.010
10.0	0.010
12.0	0.010
14.0	0.010
16.0	0.008
18.0	0.008
20.0	0.006

Según los resultados obtenidos la altura óptima del quemador para realizar lecturas de Plomo en sangre utilizando el sistema APDC-MIBK es de 8.0 a 14.0 mm para el instrumento empleado.

Se establece una altura de 10 mm para todas las lecturas de absorbancia.

PERFIL DE LLAMA PARA Pb

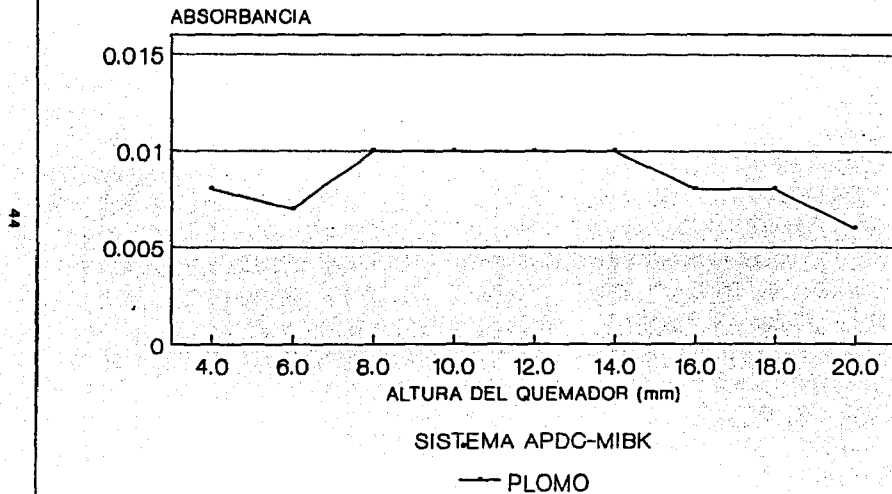


FIG. 3 PERFIL DE LLAMA PARA Pb EN SANGRE
POR ABSORCION ATOMICA

2. TIEMPO DE AGITACION

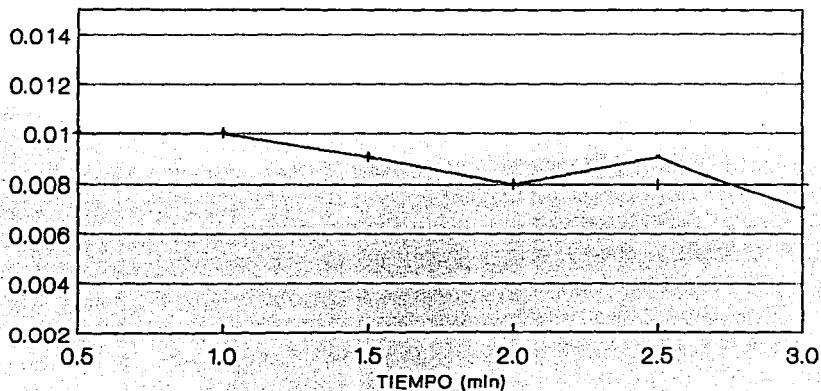
TABLA 3. LECTURAS DE ABSORBANCIA A DIFERENTES TIEMPOS DE AGITACION.

TIEMPO (min)	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA
0.5	0.010	0.010
1.0	0.010	0.010
1.5	0.009	0.009
2.0	0.008	0.008
2.5	0.009	0.008
3.0	0.007	0.008

Según los resultados obtenidos el tiempo de agitación óptimo para la formación del quelato APDC-Pb y su posterior extracción con MIBK es de 0.5 a 1 minuto.

Se establece un tiempo de agitación para el método general de un minuto.

TIEMPO DE AGITACION PARA FORMAR EL QUELATO APDC-Pb



SISTEMA APDC-MIBK

— A + B

FIG. 4. TIEMPO DE AGITACION OPTIMO PARA FORMAR EL QUELATO APDC-Pb

3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

TABLA 4. ABSORBANCIAS DE DOS SOLUCIONES DE PLOMO A 0.01 ppm.

MUESTRA	ABSORBANCIA () 0.01 ppm	ABSORBANCIA () 0.01 ppm
1	0.002	0.004
2	0.002	0.005
3	0.002	0.004
4	0.002	0.004
5	0.002	0.004
6	0.002	0.004
7	0.004	0.005
8	0.002	0.003
9	0.004	0.004
10	0.002	0.005
11	0.002	0.003
12	0.002	0.004
13	0.002	0.005
14	0.002	0.003
15	0.002	0.004
16	0.002	0.005
17	0.003	0.005
18	0.003	0.004
19	0.003	0.005
20	0.003	0.003

TABLA 5. ABSORBANCIA DE DOS SOLUCIONES DE PLOMO A 0,02 ppm.

MUESTRA	ABSORBANCIA { } 0.02 ppm	ABSORBANCIA { } 0.02 ppm
1	0.004	0.008
2	0.004	0.000
3	0.004	0.010
4	0.005	0.009
5	0.005	0.010
6	0.004	0.009
7	0.004	0.008
8	0.005	0.009
9	0.004	0.009
10	0.004	0.010
11	0.005	0.011
12	0.005	0.009
13	0.004	0.011
14	0.005	0.011
15	0.005	0.010
16	0.005	0.009
17	0.005	0.011
18	0.004	0.010
19	0.006	0.011
20	0.005	0.011

Concentración = 0.01 ppm

$X = 2.4 \times 10^{-8}$
S = 0.0104613
LD = 0.130766 $\mu\text{g/dl}$
LQ = 0.435887 $\mu\text{g/dl}$

$X = 4.2 \times 10^{-8}$
S = 0.0183073
LD = 0.1307 $\mu\text{g/dl}$
LQ = 0.435888 $\mu\text{g/dl}$

Concentración = 0.02 ppm

$X = 4.6 \times 10^{-8}$
S = 0.0200050
LD = 0.2608695 $\mu\text{g/dl}$
LQ = 0.8695652 $\mu\text{g/dl}$

$X = 9.73 \times 10^{-8}$
S = 0.0424992
LD = 0.2615339 $\mu\text{g/dl}$
LQ = 0.8717789 $\mu\text{g/dl}$

4. LINEALIDAD DEL SISTEMA

TABLA 4. LINEALIDAD DEL SISTEMA PARA PLOMO EMPLEANDO EL SISTEMA APDC-NIKK.

CONCENTRACION ($\mu\text{g/dl}$)	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA
5	0.006	0.006
10	0.012	0.012
20	0.024	0.024
30	0.036	0.036
40	0.047	0.046
50	0.060	0.060

$$\Sigma x = 310$$

$$\Sigma y = 0.369$$

$$\Sigma x^2 = 11050$$

$$\Sigma y^2 = 0.015629$$

$$\Sigma xy = 13.40$$

COEFICIENTE DE CORRELACION:

$$r = \left[\frac{[(6)(2)(13.40) - (310)(0.369)]^2}{[(6)(2)(11050) - (310)^2][(6)(2)(0.015629) - (0.369)^2]} \right]^{1/2}$$

$$r = 0.999573$$

COEFICIENTE DE DETERMINACION:

$$r^2 = 0.9991462$$

DESVIACION ESTANDAR:

$$DE = \frac{(12) (1.7103125 \times 10^{-5}) - (0.019325)^2}{12 (12 - 1)}$$

$$DE = 1.5539539 \times 10^{-5}$$

COEFICIENTE DE VARIACION:

$$CV = \frac{1.5539539 \times 10^{-5}}{1.19375 \times 10^{-8}} \times 100$$

$$CV = 1.3017415 \%$$

PENDIENTE:

$$m = \frac{(6) (2) (13.14) - (310) (0.369)}{(6) (2) (11050) - (310)^2}$$

$$m = 0.001186027$$

ORDENADA:

$$b = \frac{(0.369) - (0.0118) (310)}{(6) (2)}$$

$$b = 0.00016666$$

CRITERIO DE ACEPTACION:

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

$$r > \delta = 0.99$$

$$r^2 > \delta = 0.98$$

El sistema es lineal ya que:

$$CV = 1.3 \%$$

$$r = 0.99 \%$$

$$r^2 = 0.99 \%$$

El sistema cumple con los criterios para linealidad; por lo tanto, el sistema es lineal.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

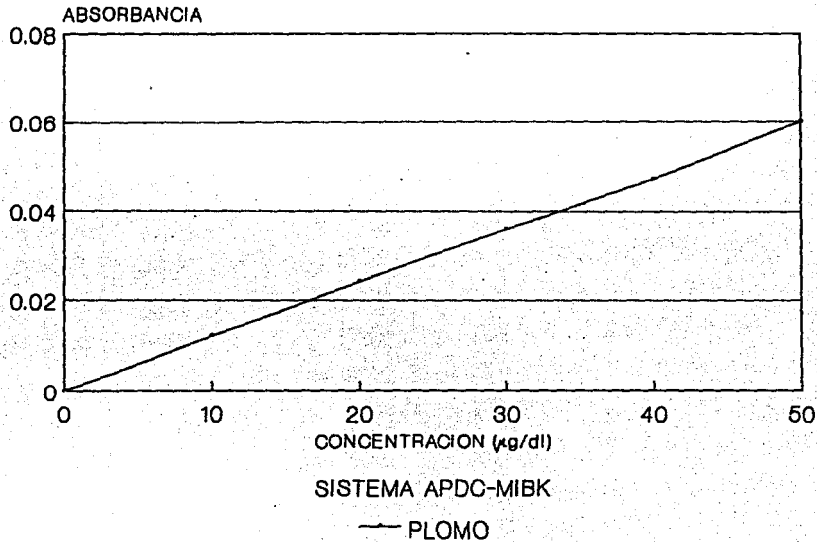


FIG. 5. LINEALIDAD DEL SISTEMA PARA Pb EN SANGRE.

5. PRECISION DEL SISTEMA

TABLA 7. ABSORBANCIAS OBTENIDAS DE SEIS MUESTRAS DE UNA SOLUCION ESTANDAR DE PLOMO AL 100%.

CONCENTRACION ($\mu\text{g/dl}$)	ABSORBANCIA
20	0.030
20	0.030
20	0.029
20	0.030
20	0.030
20	0.030

$$\Sigma y = 0.179$$

$$\Sigma y^2 = 5.341 \times 10^{-3}$$

$$\bar{y} = 0.0298333$$

DESVIACION ESTANDAR.

$$DE = \left[\frac{(6)(5.341 \times 10^{-3}) - (0.179)^2}{6(6-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 4.0824829 \times 10^{-4}$$

COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV = \frac{4.0824829 \times 10^{-4}}{0.0298333} \times 100$$

$$CV = 1.36844316 \%$$

CRITERIO DE ACEPTACION.

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

El sistema es preciso ya que cumple con el criterio de aceptación, ya que el CV obtenido es de 1.36 %.

6. LINEALIDAD DEL METODO

TABLA 8. LINEALIDAD DEL METODO, CANTIDADES RECUPERADAS DE PLOMO EN SANGRE TOTAL.

CANT. ADICIONADA ($\mu\text{g/dl}$)	CANT. RECUPERADA ($\mu\text{g/dl}$)	% RECOBRO
10	9.71	97.12
10	10.00	100.00
10	10.00	100.00
20	20.00	100.00
20	20.00	100.00
20	20.00	100.00
30	29.28	97.62
30	30.00	100.00
30	30.00	100.00

$$\Sigma x = 180$$

$$\Sigma y = 178.99$$

$$\Sigma x^2 = 4200$$

$$\Sigma y^2 = 4151.60$$

$$\Sigma xy = 4175.5$$

PENDIENTE:

$$m = \frac{(3)(3)(4175.5) - (180)(178.99)}{(9)(4200) - (180)^2}$$

$$m = 0.9928332$$

ORDENADA AL ORIGEN:

$$b = \frac{(178.99) - (0.9928333) (180)}{9}$$

$$b = 0.0877$$

COEFICIENTE DE DETERMINACION:

$$r^2 = \frac{[(9) (4175.5) - (180) (178.99)]^2}{[(9) (4200) - (180)^2] [(9) (4151.6025) - (178.99)^2]}$$

$$r^2 = 0.9992256$$

$$r = 0.999612725$$

$$\Sigma R = 894.74$$

$$\Sigma R^2 = 88961.959$$

$$\bar{R} = 99.415556$$

DESVIACION ESTANDAR:

$$DE = \left[\frac{(9) (88961.959) - (894.74)^2}{9 (9 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 1.1664381$$

COEFICIENTE DE VARIACION:

$$CV = \frac{1.1664381}{99.415586}$$

$$CV = 1.17322953 \%$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

ERROR TIPICO:

$$S_{Y/X} = \left[\frac{(4151.6025) - [(0.0877)(178.991) - (0.992833)(4175.5)]}{9} \right]^{1/2}$$

$$S_{Y/X} = 0.4910$$

$$\hat{S}_{Y/X} = \left[\frac{9}{9-2} \right]^{1/2} (0.4910)$$

$$\hat{S}_{Y/X} = 0.5566958$$

$$T_{cal} = \frac{(0.9928332 - 1) (8.6015199) (8)^{1/2}}{0.5566958}$$

$$T_{cal} = -0.31322041$$

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

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

$-2.602 < -0.3132 < 2.602$. Por lo tanto se acepta H_0 . La pendiente es igual a 1.

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA:

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

ESTADIGRAFO DE PRUEBA:

$$T_{cal} = \frac{0.0877 - 0}{0.5566958 \left[\frac{4200}{9 (0.17)^2} \right]^{1/2}}$$

$$T_{cal} = 1.2397302 \times 10^{-8}$$

$-2.602 < 1.2397302 \times 10^{-8} < 2.602$ Por lo tanto se acepta H_0 . La ordenada es igual a cero.

CRITERIO DE ACEPTACION:

$$m = 1$$

$$b = 0$$

$$r^2 = 0.98$$

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

Recobro 97-100%

Ya que:

$$m = 0.9928$$

$$b = 0.087$$

$$r^2 = 0.999$$

$$CV = 1.17\%$$

Recobro 97.12-100%

El método cumple con los criterios para linealidad, por lo tanto, el método es lineal.

INTERVALO DE CONFIANZA:

a) PENDIENTE

$$0.99283 \pm (2.602) \frac{0.556695}{8.66 (9 - 1)^{1/2}}$$

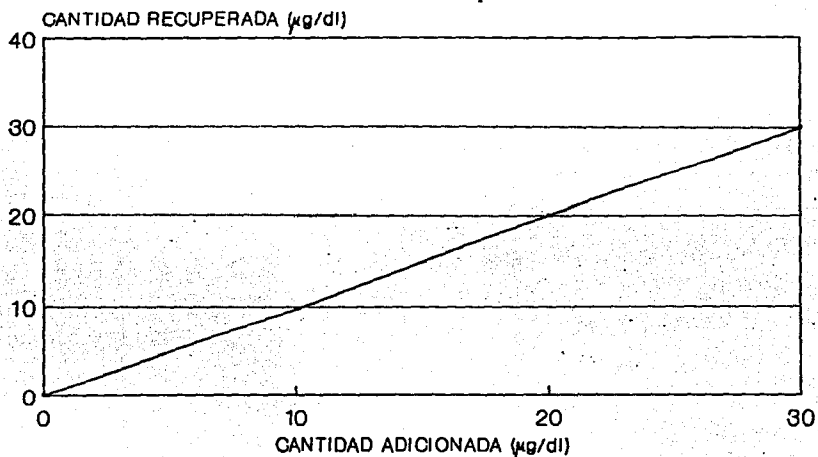
$$IC = (0.93371 \text{ a } 1.05195)$$

b) ORDENADA

$$0.0877 \pm (2.602) (0.2003989)$$

$$IC = (0.4337379 \text{ a } 0.6091379)$$

LINEALIDAD DEL METODO



SISTEMA APDC-MIBK

— PLOMO

FIG. 6. LINEALIDAD DEL METODO PARA Pb
EN SANGRE

7. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

TABLA 9. PORCIENTO DE RECOBRO DE PLOMO EN SANGRE DE CANTIDADES ADICIONADAS.

CANT. ADICIONADA ($\mu\text{g/dl}$)	CANT. RECUPERADA ($\mu\text{g/dl}$)	% RECOBRO
20	20.00	100.00
20	20.00	100.00
20	20.00	100.00
20	20.00	100.00
20	19.53	97.67
20	20.00	100.00

$$\Sigma R = 597.67$$

$$\Sigma R^2 = 59539.429$$

$$\bar{R} = 99.61$$

DESVIACION ESTANDAR:

$$DE = \left[\frac{6 (59539.429) - (597.67)^2}{6 (6 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 0.9512185$$

COEFICIENTE DE VARIACION:

$$CV = \frac{0.9512185}{99.61} \times 100$$

$$CV = 0.9549427 \%$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA EXACTITUD:

$$H_0 : \mu = 0$$

$$H_a : \mu \neq 0$$

$$t_{cal} = \frac{99.61 - 100}{\frac{0.9512185}{(6)^{1/2}}}$$

$$t_{cal} = -1.0042919$$

INTERVALO DE CONFIANZA:

$$T_{tab} (4, 0.05) = 2.0150$$

$$IC = 99.61 \pm (2.0150) \frac{0.9512185}{(6)^{1/2}}$$

$$IC = (98.8245 \text{ a } 100.3955)$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA REPETIBILIDAD:

$$H_0 : \sigma^2 < \sigma = 2$$

$$H_a : \sigma^2 > 2$$

$$DE = 0.9512185$$

$$\chi^2 = \frac{(5) (0.9512185)}{2}$$

$$\chi^2 = 2.2780$$

$$\chi_{tab}^2 \text{ o.05} = 11.070$$

$$\chi_{tab}^2 \text{ o.005} = 1.145$$

CRITERIO DE ACEPTACION

Se acepta H_0 , ya que $t_{cal} < t_{tab}$. Por lo tanto, el método es exacto, es decir, existe una concordancia de los resultados obtenidos en el análisis experimental con respecto al valor de referencia.

Se acepta H_0 ya que $\chi_{cal}^2 < \chi_{tab}^2$. Por lo tanto el método es repetible por un mismo analista, entre determinaciones independientes.

Ya que $CV < 3$, y $\bar{R} = 99.61$ el método es exacto y repetible.

8. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

TABLA 10. PORCENTAJE DE RECORNO DE PLOMO OBTENIDO POR DOS ANALISTAS EN DOS DIAS DIFERENTES.

DIA	ANALISTA 1	ANALISTA 2
1	100.00	100.00
1	100.00	100.00
1	100.00	100.00
2	100.00	100.00
2	97.67	100.00
2	100.00	100.00

$$\Sigma y = 1197.67$$

$$\Sigma y^2 = 119539.43$$

$$\bar{y} = 99.80$$

DESVIACION ESTANDAR:

$$DE = \left[\frac{12 (119539.43) - (1197.67)^2}{12 (12 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 0.672613$$

COEFICIENTE DE VARIACION:

$$CV = \frac{0.672613}{99.80} \times 100$$

$$CV = 0.6740354 \%$$

TABLA II. ANALISIS DE VARIANZA (ANALISIS DE VARIANZA)

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	F0.05
ANALISTA (a)	gla = 1	SCa = 0.4526	MCa = 0.4526	Fa = 1.0	18.5
DIA (d)	gld = 2	SCd = 0.905	MCd = 0.4525	Fd = 1.0	4.41
ERROR (e)	gle = 8	SCe = 3.62	MCE = 0.4525		

$$Y_{11} = 300..$$

$$Y_{21} = 297.67$$

$$Y_{12} = 300$$

$$Y_{22} = 300$$

$$Y_1 = 597.67$$

$$Y_2 = 600$$

$$\sum X_{ij}^2 = 358607.43$$

$$(\sum Y_i)^2 = 717209.43$$

$$\sum \sum Y_{ijk}^2 = 119539.43$$

$$SCa = 0.4526$$

$$SCd = 0.905$$

$$SCe = 3.62$$

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

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

9. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

TABLA 12. PORCIENTO DE RECORRO DE PLOMO, EN SANGRE TOTAL, DE CANTIDADES ADICIONADAS, A TEMPERATURA AMBIENTE EN DIFERENTES DIAS.

INICIAL	TA/24 HRS.	TA/48 HRS.
100.09	0.0	0.0
100.00	59.09	0.0
99.62	58.09	0.0

$$Y_0 = 102.90$$

$$S_0^2 = 28.74$$

$$Y_1 = 39.03$$

$$S_1^2 = 0.59405$$

$$\bar{Y}_2 = 0$$

$$S_2^2 = 0$$

VARIANZAS PONDERADAS:

$$S_{P1}^2 = \frac{2 (28.74) + 2 (0.594)}{(2) (2 + 1)} = 9.7780$$

$$S_{P2}^2 = \frac{2 (28.74) + 2 (0)}{(2) (2 + 1)} = 9.58$$

INTERVALO DE CONFIANZA:

Para TA/24 Hrs

$$IC = (39.03 - 102.90) \pm 2.86 [(9.7780) (2/3)]^{1/2}$$

$$IC = (-71.17 \text{ a } -56.56)$$

La muestra no es estable a condiciones ambientales por 24 Hrs, ya que en el IC no se incluye el valor cero.

Para TA/48 Hrs

$$IC = 0 - 102.90 \pm 286 [(9.58) (2/3)]^{1/2}$$

$$IC = (-110.12 \text{ a } -95.67)$$

La muestra no es estable a condiciones ambientales por 48 Hrs ya que en el IC no se incluye el valor cero.

TABLA 13. PORCIENTO DE RECORO EN PLOMO, EN SANGRE TOTAL, DE CANTIDADES ADICIONADAS A 4°C, EN DIFERENTES DIAS.

INICIAL	4° C/24 HRS.	4° C/48 HRS.
100.00	90.80	104.54
100.00	90.90	90.90
100.12	90.80	90.90

$$\bar{Y} = 100.04$$

$$S_0^2 = 0.0048$$

$$\bar{Y}_1 = 90.83$$

$$S_1^2 = 0.0033$$

$$\bar{Y}_2 = 95.44$$

$$S_2^2 = 62.016$$

VARIANZAS PONDERADAS:

$$S_{P1}^2 = \frac{2 (0.0048) + 2 (0.0033)}{6} = 0.0027$$

$$S_{P2}^2 = \frac{2 (0.0048) + 2 (62.016)}{6} = 20.67$$

INTERVALO DE CONFIANZA:

Para refrigeración/24 Hrs

$$IC = (90.83 - 100.04) \pm 2.86 [(0.0027) (2/3)]^{1/2}$$

$$IC = (-9.33 \text{ a } -9.088)$$

La muestra no es estable en condiciones de refrigeración por 24 Hrs, ya que en el IC no se incluye el valor de cero.

Para refrigeración/48 Hrs

$$IC = (95.44 - 100.04)^2 - 2.86 [(20.67) (3/2)]^{1/2}$$

$$IC = (20.52 \text{ a } 11.32)$$

La muestra no es estable en condiciones de refrigeración por 48 Hrs ya que en el IC no se incluye el valor cero.

FACTOR I

Para TA/24 Hrs

$$I_1 = \frac{0}{109.09} \times 100 = 0 \%$$

$$I_2 = \frac{59.09}{100} \times 100 = 59.09 \%$$

$$I_3 = \frac{58.00}{99.62} \times 100 = 58.22 \%$$

$$\bar{I} = \frac{0 + 59.09 + 58.22}{3} = 39.10 \%$$

La muestra no es estable a condiciones ambientales por 24 Hrs, ya que el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97-103 %.

Para TA/48 Hrs

$$I_4 = \frac{0}{109.09} \times 100 = 0 \%$$

$$I_5 = \frac{0}{100} \times 100 = 0 \%$$

$$I_6 = \frac{0}{100} \times 100 = 0 \%$$

$$\bar{I} = \frac{0 + 0 + 0}{3} = 0 \%$$

La muestra no es estable a condiciones ambientales por 48 Hrs ya que el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97-103 %.

Para 4°C/24 Hrs

$$I_7 = \frac{90.80}{100} \times 100 = 90.80 \%$$

$$I_8 = \frac{90.90}{100} \times 100 = 90.90 \%$$

$$I_9 = \frac{90.80}{100.12} \times 100 = 90.69 \%$$

$$\bar{I} = \frac{90.80 + 90.90 + 90.69}{3} = 90.79 \%$$

La muestra no es estable a 4°C por 24 Hrs, ya que el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97-103 %.

Para 4°C / 48 Hrs

$$I_{10} = \frac{104.54}{100} \times 100 = 104.54 \%$$

$$I_{11} = \frac{90.90}{100} \times 100 = 90.90\%$$

$$I_{12} = \frac{90.90}{100.12} \times 100 = 90.79 \%$$

$$\bar{I} = \frac{104.54 + 90.90 + 90.79}{3} = 95.45 \%$$

La muestra no es estable a 4°C por 48 Hrs ya que el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97-103 %.

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Antes de iniciar la validación del método se llevaron a cabo diferentes pruebas con solución estándar, con objeto de dejar establecido el método para la determinación de plomo en sangre. Se determinó el perfil de llama, ya que éste varía dependiendo del elemento de que se trate, del disolvente en el que se encuentre y de los gases que se usan para la llama en Absorción Atómica. El objetivo principal de conocer este parámetro es el de encontrar la máxima población de átomos del elemento de interés dentro de la llama; encontrándose que una altura adecuada para el quemador puede ser aquella comprendida entre 8 y 10 mm.

Se determinó el tiempo de agitación de donde se concluye que de 0.5 a 1 minuto de agitación, el complejo se ha formado, si se aumenta el tiempo hasta tres minutos éste es estable; es conocido en este tipo de procedimientos, que agitaciones bruscas y prolongadas destruyen el complejo formado.

Se conoce que los límites de detección y cuantificación en disolvente orgánico son aún más bajos que los obtenidos con soluciones acuosas debido a que la nebulización es mucho más efectiva trayendo como consecuencia un mayor número de átomos que llegan a la llama; en el presente trabajo se obtuvo un límite de detección de 0.1307 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y un límite de cuantificación de 0.4358 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

Los resultados obtenidos muestran que el sistema resultó ser lineal a las concentraciones utilizadas. El sistema también resultó ser preciso ya que se obtuvo un coeficiente de variación menor a 1.5 % (1.36%).

Dado que el sistema resultó ser lineal y preciso se procedió a la validación del método. Estadísticamente los resultados demuestran que el método es lineal y exacto, es decir,

la respuesta es proporcional a la concentración de plomo en la muestra.

El método analítico es reproducible por dos analistas y por un mismo analista en distintos días, lo cual garantiza que bajo diferentes condiciones de análisis, se obtienen resultados confiables.

La muestra no es estable a condiciones ambientales por 24 y 48 horas, así como, tampoco es estable a 4°C por 24 horas y 48 horas, por lo que se sugiere leer las muestras inmediatamente después de su preparación.

IX. CONCLUSIONES

1. La altura del quemador óptima en el perfil de llama para el instrumento de Absorción Atómica empleado en este trabajo se encuentra entre 8 y 14 mm.
2. El tiempo de agitación establecido determina que con 0.5-1 minuto de agitación se garantiza la formación del quelato y por lo tanto la eficiencia de la extracción.
3. El límite de detección obtenido para este método tiene un valor de 0.1307 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y el límite de cuantificación tiene un valor de 0.5348 $\mu\text{g}/\text{dl}$.
4. El sistema es lineal en un rango de 5 a 50 $\mu\text{g}/\text{dl}$.
5. El sistema es preciso ya que el coeficiente de variación es de 1.36%.
6. El método es lineal en el rango de concentración requerido para los niveles de plomo en sangre total.
7. El método es exacto para los niveles de plomo presentes en sangre total.
8. El método es preciso y reproducible por dos analistas.
9. El método es preciso y reproducible por un mismo analista en dos distintos días.
10. La muestra analítica no es estable a condiciones ambientales por 24 y 48 horas.
11. La muestra analítica no es estable a 4^oC por 24 y 48 horas.

Por todo lo anterior, el método puede ser empleado con un alto grado de confiabilidad en cualquier laboratorio de espectrofotometría de Absorción Atómica, para la evaluación de plomo en sangre.

X. ANEXO

1. CALCULOS ESTADISTICOS

1.1. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

DESVIACION ESTANDAR:

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

Donde:

S = Desviación Estándar

x = Cada una de las lecturas individuales

\bar{x} = Promedio de las lecturas

n = Número de las lecturas

$$LD = \frac{3sc}{\bar{x}}$$

$$LQ = \frac{10sc}{\bar{x}}$$

Donde:

s = Desviación estándar

c = Concentración

LD = Límite de detección

LQ = Límite de cuantificación

1.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA

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

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

$$\Sigma y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{l1} + y_{l2} + \dots + y_{ln}$$

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

$$\Sigma y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{l1}^2 + y_{l2}^2 + \dots + y_{ln}^2$$

$$\Sigma xy = x_1(y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n}) + x_2(y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n}) + \dots + x_l(y_{l1} + y_{l2} + \dots + y_{ln})$$

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

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

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

$$F = \frac{\text{Propiedad medida (y)}}{\text{Concentración de la dilución de la solución patrón (x)}}$$

$$F_{11} = \frac{y_{11}}{x_1} \quad F_{12} = \frac{y_{12}}{x_1} \quad F_{1n} = \frac{y_{1n}}{x_1} \quad \dots$$

$$F_{l1} = \frac{y_{l1}}{x_l} \quad F_{l2} = \frac{y_{l2}}{x_l} \quad F_{ln} = \frac{y_{ln}}{x_l}$$

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

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \dots + F_{l1} + F_{l2} + F_{ln}$$

$$\Sigma F = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{l1}^2 + F_{l2}^2 + F_{ln}^2$$

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

N = número de puntos de la linealidad del sistema.

Cálculos finales para el coeficiente de variación.

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

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

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

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

CRITERIO:

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

$$r > \delta = 0.99$$

$$r^2 > \delta = 0.98$$

$$m \approx 1.0$$

$$b \approx 0.0$$

1.3. PRECISION DEL SISTEMA

Cálculos preliminares:

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

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

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

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

Cálculos finales para el coeficiente de variación:

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

CRITERIO: $CV < 6 = 1.5\%$

1.4. LINEALIDAD DEL METODO

t = número de cantidades adicionadas

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

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

Cálculos preliminares:

$$\Sigma x = (t) (x_{11} + x_{12} + \dots + x_{1n} + x_{21} + x_{22} + \dots + x_{2n} + \dots + x_{t1} + x_{t2} + \dots + x_{tn})$$

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

$$\Sigma x^2 = (t) (x_{11}^2 + x_{12}^2 + \dots + x_{1n}^2 + x_{21}^2 + x_{22}^2 + \dots + x_{2n}^2 + \dots + x_{t1}^2 + x_{t2}^2 + \dots + x_{tn}^2)$$

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

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

Cálculos finales:

PENDIENTE

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

ORDENADA

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

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

$$r = [r^2]^{1/2}$$

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

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

Tabular los resultados:

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

Calculos preliminares:

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

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

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

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

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Coefficiente de variación:

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

CRITERIO:

$$\begin{aligned} m &\approx 1 \\ b &\approx 0 \\ r^2 &> \delta = 0.98 \\ \bar{R} &= 97 - 103\% \\ CV &< \delta = 3\% \end{aligned}$$

Estadígrafo de contraste para la pendiente:

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

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

Error típico modificados:

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

Estadígrafo de contraste para la ordenada:

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

CRITERIO:

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

ORDENADA

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

PENDIENTE

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

1.5. PRECISION (REPETIBILIDAD).

Tabular los resultados del porciento recuperado:

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

Calculos preliminares:

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

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

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

DESVIACION ESTANDAR

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

COEFICIENTE DE VARIACION

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

1.6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

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

Cálculos preliminares:

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

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

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

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

COEFICIENTE DE VARIACION

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

CRITERIO:

$$CV < 6 = 3\%$$

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

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

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

$$Y_{21} = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213}$$

$$Y_{22} = Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

Calcular la suma para cada analista:

$$Y_1 = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123}$$

$$Y_2 = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

Calcular la suma total de (y...):

$$y_{\dots} = Y_1 + Y_2$$

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

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

Calcular la suma del cuadrado de cada analista en los dos días:

$$(\sum y_{i\dots})^2 = (y_1)^2 + (y_2)^2$$

Calcular la suma de cada dato elevado al cuadrado:

$$\sum \sum \sum y_{ijk}^2 = (y_{111})^2 + (y_{112})^2 + (y_{113})^2 + (y_{121})^2 + (y_{122})^2 + (y_{123})^2 + (y_{211})^2 + (y_{212})^2 + (y_{213})^2 + (y_{221})^2 + (y_{222})^2 + (y_{223})^2$$

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

$$SCa = \frac{\sum y_1^2}{dr} - \frac{y^2}{adr}$$

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

$$SCd = \frac{\sum \sum y_{tj}^2}{r} - \frac{\sum y_{tj}^2}{adr}$$

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

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

TABLA 14. ANALISIS DE VARIANZA (ANAVEVA)

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Ral	F _{0.05}
ANALISTA (a)	gla = a - 1	SCa	MCa = SCa/gla	Fa = MCa/MCd	F = gla/gl
DIA (d)	gld = (d - 1) (a)	SCd	MCd = SCd/gld	Fd = MCd/MCe	F = gld/gl
ERROR (e)	gle = (r - 1) (ad)	SCe	MCE = SCe/gle		

CRITERIO:

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

1.7. EXACTITUD AL 100%

Calculos preliminares:

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

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

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

DESVIACION ESTANDAR

$$DE = \frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N - 1)}$$

COEFICIENTE DE VARIACION

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

CRITERIO:

$$\bar{R} = 97 - 103\%$$

$$CV < 6 = 3\%$$

ESTADIGRAFO DE CONTRASTE

$$t_{cal} = \frac{\bar{R} - 100}{\frac{DE}{[N]^{1/2}}}$$

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA

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

CRITERIO:

$$t_{\text{cal}} < t_{\alpha} = t_{(gl, n-2, 0.05)}$$

1.8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA**1. Tabular los resultados con base al siguiente formato:**

Inicial	Condición/Tiempo	
	1	2
y_1	y_4	y_7
y_2	y_5	y_8
y_3	y_6	y_9

2. Calcular preliminares para el intervalo de confianza:

\bar{y}_0	\bar{y}_1	\bar{y}_2	Media
S_0^2	S_1^2	S_2^2	Varianza

Varianza Ponderada:

$$Sp_1^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_1^2}{2(C+1)}$$

$$Sp_2^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_2^2}{2(C+1)}$$

3. Intervalo de confianza.

$$IC = (\bar{y}_1 - \bar{y}_0) \pm t_{\alpha} [Sp_2^2 (2/3)]^{1/2}$$

4. Cálculos para el coeficiente de variación.

$$I_1 = \frac{y_4}{y_1} \times 100$$

$$I_2 = \frac{y_5}{y_2} \times 100$$

$$I_3 = \frac{y_6}{y_3} \times 100$$

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

La media del factor I debe tener un valor entre 97-103%, para que la muestra sea estable.

2. GLOSARIO

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

XI. BIBLIOGRAFIA

1. López A.D., González L.D. y Moreno S.A.R. LA SALUD AMBIENTAL EN MEXICO. Ed. Universo Veintiuno, México, (1987).
2. Rothenberg S.J. y col. EVALUACION DEL RIESGO POTENCIAL DE LA EXPOSICION PERINATAL AL PLOMO EN EL VALLE DE MEXICO. Perinatal Reproduction Human. (1989) 3:48-61.
3. Velázquez, L. FARMACOLOGIA Y SU PROYECCION A LA CLINICA. 15a. edición. Ed. Oteo. Madrid, España. (1987). 961-966 Pag.
4. Molina, G. PLOMO: SUS IMPLICACIONES SOCIALES Y EFECTOS SOBRE LA SALUD. Gaceta Médica de México. (1979). 2:57-64.
5. Pincus, D., Saccar, C. LEAD POISONING. Clinical Pharmacology. (1982). 5:45-92.
6. Ibels, L., Pollock, C. LEAD INTOXICATION. Medical Toxicology. (1986). 1:387-410.
7. Bushnell, P., Jaegen, R. HAZARDS TO HEALTH FROM ENVIRONMENTAL LEAD EXPOSURE. Toxicology. (1986). 28:255-261.
8. Cohen, G. LEAD POISONING FROM A GUNSHOT WOUND. Journal Medical. (1979). 66:509-514.
9. Albert, L. CURSO BASICO DE TOXICOLOGIA AMBIENTAL. México. MX:ECD/OPS; INIREB. (1985). 371 Pag.
10. Hammer, L. INCREASED LEAD ABSORPTION IN CHILDREN WITH ACCIDENTAL INGESTIONS. Journal the Emergency Medical. (1985). 3:301-304.

11. Martinez, D. y M. R. Garcia, M. METALES PESADOS I. PLOMO EN EL CABELLO DE NIÑOS MEXICANOS. Rev. Soc. Quim. Mex. (1986). 30:55-62.
12. Carson, B.L., Ellis, H.Y.; McCann, J.L. TOXICOLOGY AND BIOLOGICAL MONITORING OF METAL IN HUMANS; INCLUDING FEASIBILITY AND NEED. Michigan, MI. US:Lewis Publishers. (1986). Pp. 128-135.
13. Gossel, T.A., et al. PRINCIPLES OF CLINICAL TOXICOLOGY. 2a. edición. Ed. Raven Press. E.U. (1990).
14. Hayes, W.J. MANUAL CLINICO SOBRE SUSTANCIAS TOXICAS. Washington, D.C. US:OPS. (1966). 131 Pag.
15. Gillespie, R.S. LEAD AND ZINC IN LATIN AMERICA; ZINC PROCEEDINGIN: ZINC INSTITUTE ANNUAL MEETING, 64th AND LEAD INDUSTRIES ASSOC., 54th, St. Louis Mi, US:MARCH (1982). Pp. 105-123.
16. Oehme, F. MECHANISMS OF HEAVY METAL TOXICITES. Clinical Toxicology. (1972). 5:151-162.
17. Chisolm, J. TREATMENT OF ACUTE LEAD INTOXICATION CHOICE CHELATING AGENT AND SUPPORTIVE THERAPEUTIC MEASURES. Clinical Toxicology. (1970). 3:527-540.
18. Bryson Peter. COMPRESIVE REVIEW IN TOXICOLOGY. 2a. edición. An Aspen Publication. USA. (1984). Pp. 487-498.
19. Carson, B.L., et al. TOXICOLOGY AND BIOLOGICAL MONITORING OF METALS IN HUMANS. INCLUDING FEASIBILITY AND NEED. Lewis Publishers, INC. E.U. (1986).

20. Molina, B.G., et al. PLOMO: SUS IMPLICACIONES SOCIALES Y EFECTOS SOBRE LA SALUD. Gaceta Médica de México. (1979). 115:57-64
21. Dekort, W.L., Verschoor, M.A. OCUPATIONAL EXPOSURE TO LEAD AND BLOOD PRESSURE. A STUDY OF 105 WORKERS. Am. J. Ind. Med. (1986).
22. Moore, M.R., Meredith, P.A. A RETROSPECTIVE ANALYSIS OF BLOOD-LEAD IN MENTALLY RETARDED CHILDREN. Lancet. (1977) 1:717-719.
23. Landsdown, R. MODERATILY BLOOD LEAD LEVES IN CHILDREN. IntProc R. Soc. London. (1979). 205:145-151.
24. Lin Fu, S.J. CHILDREN AND LEAD. NEW FINDINGS AND CONCERNS. New England Journal of Medicine. (1982). 307:615-617.
25. Molina, G., et al. ALTERACIONES PSICOLOGICAS EN NIÑOS EXPUESTOS A AMBIENTES DOMESTICOS RICOS EN PLOMO. Biol. of Sanit. Panam. (1983). 3:239-247.
26. Lauwers R., et al. INDUSTRIAL CHEMICAL EXPOSURE GUIDELINES FOR BIOLOGICAL MONITORING. 2a. edición. Lewis publishers. E.U. (1993).
27. Garber, B.T., Wei, E. INFLUENCE OF DIETARY FACTORS ON THE GASTROINTESTINAL ABSORPTION OF LEAD TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY. (1974). Pp. 685.
28. Kirkby, H., Gyntelberg, F. BLOOD PRESSURE AND OTHER CARDIOVASCULAR RISK FACTORS OF LONG-TERM EXPOSURE TO LEAD. Scand. j. Work Environ Health. (1985). 11: 15-19.

29. Mierson, R.M., Einsenhauer, J.H. ATRIOVENTRICULAR CONDUCTION DEFECTS LEAD POISONING. Am. J. Cardiol. (1963). 11:402-412.
30. Needleman, H.L. Y Landrigan, P.J. THE HEALTH EFFECTS OF LOW LEVEL EXPOSURE TO LEAD. Ann. Rev. Public Health. (1981). 2:227-298.
31. Cullen M.R. ENDOCRINE AND REPRODUCTIVE DYSFUNCTION IN MEN ASSOCIATED WITH OCUPATIONAL INORGANIC LEAD INTOXICATION. Archives of Environmental Health. (1984). 39:431-440.
32. Calabrase E.J., et al. AIR TOXICS AND RISK ASSESSMENT. Ed. Lewis Publishers. E.U. (1991).
33. Rothenberg, J. EVALUACION DEL RIESGO POTENCIAL DE LA EXPOSICION PERINATAL AL PLOMO EN EL VALLE DE MEXICO. Perinatal Reprod. Ilum. (1989). 3:48-60.
34. Rothenberg, S.J., Perez, G.I.A. FUENTES DE PLOMO EN EMBARAZADAS EN LA CUENCA DE MEXICO. Salud Publica de Mexico. (1990). 32:633-643.
35. Rabinowitz, M., Needleman, H. LEAD IN UMBILICAL BLOOD, INDOOR AIR, TAP WATER AND GASOLINE IN BOSTON. Archives Environmental Healths. (1984). 39:299-301.
36. Versieck, J., Cornelis, R. NORMAL LEVELS OF TRACE ELEMENTS IN HUMAN BLOOD PLASMA OF SERUM. Analytica Chimica Acta. (1980). Pp. 217-248.
37. Beaty, R.B. CONCEPTOS, INSTRUMENTACION Y TECNICAS DE ESPECTROFOTOMETRIA POR ABSORCION ATOMICA. Perkin Elmer Corporation. (1979).

38. Castillo, G.L., Arteaga, M.M. NOTAS PARA EL CURSO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA. (1972). FES-ZARAGOZA.
39. Castillo, G. A. L. TESIS DE MAESTRIA. U. A. E. M. (1994)
40. Kinrad, J.D. , Van Loon, J.C. SOLVENT EXTRACTION FOR USE WITH FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. Analytical Chemistry. (1974). 46:1894-1898.
41. Kremling, K., Petersen, H. APDC-MIBK. EXTRACTION SYSTEM FOR THE DETERMINATION OF COPPER AND IRON IN 1cm OF SEA WATER BY FLAMELESS ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. Analytica Chimica Acta. (1974). 74:35-39.
42. Magnusson B., Westerlund, S. SOLVENT EXTRACTION PROCEDURES COMBINED WITH BACK EXTRACTION FOR TRACE METAL DETERMINATIONS BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. Analytica Chimica Acta. (1981). 131:63-72.
43. Danielsson, L.G., et al. AN IMPROVED METAL EXTRACTION PROCEDURE FOR THE DETERMINATION OF TRACE METALS IN SEA WATER BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY WITH ELECTROTHERMAL ATOMIZATION. Analytica Chimica Acta. (1978). 98:47-57.
44. Lo, J.M. SOLVENT EXTRACTION OF DITHIOCARBAMATE COMPLEXES AND BACK-EXTRACTION WITH MERCURY (II) FOR DETERMINATION OF TRACE METALS IN SEA WATER BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. Analytical Chemistry. (1982). 54:2536-2539.
45. Castañeda, P., Giral, C. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Comité de elaboración de guías oficiales de validación de control de insumos para la salud. SSA. (1991).

46. Lual. COMPONENTES PARA UN PROGRAMA DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:39-40.
47. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:32-34.
48. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:24-25.
49. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:16-20.
50. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:24-28.
51. Long, G.L., et al. THE LIMIT OF DETECTION IS THE LOWEST CONCENTRATION LEVEL THAT CAN BE DETERMINED TO BE STATISTICALLY DIFFERENT FROM AN ANALYTICAL BLANK. SIGNIFICANT PROBLEMS HAVE BEEN ENCOUNTERED IN EXPRESSING THESE VALUES BECAUSE OF THE VARIOUS APROACHES TO THE TERM "STATISTICALLY DIFFERENT". Analytical Chemistry. (1980). 52:152-160.
52. McDougall, D., et al. GUIDELINES FOR DATA ACQUISITION AND DATA QUALITY EVALUATION IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY. Analytical Chemistry. (1980). 52:2242-2248.
53. Keith, L.H., et-al. PRINCIPLES OF ENVIRONMENTAL ANALYSIS. Analytical Chemistry. (1983). 55:2210-2218.
54. Taylor, J.K. QUALITY ASSURANCE OF CHEMICAL MEASUREMENTS. Analytical Chemistry. (1981). 53:1589-1592.