

23  
m



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

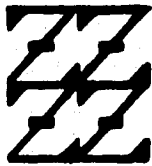
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO  
ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE ZINC  
SERICO EN UNA POBLACION DE UNA ZONA  
CONURBADA AL D. F., MEXICO, 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 :  
ALMA DELIA GUTIERREZ MEDINA

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



LO USAMOS EN  
SU INSTITUCION ORIGINAL

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. A. LOURDES CASTILLO GRANADA

MEXICO, D. F.

1998

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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 EL LABORATORIO L-314 DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA", CAMPO II. UNAM.**

**ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN EL "XXIX CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS FARMACEUTICAS", EFECTUADO DEL 27 AL 31 DE OCTUBRE DE 1996 EN ACAPULCO, GRO.**

## **DEDICATORIAS**

**A mis padres:  
Silvestre y María  
Por apoyarme y alentarme,  
por corregir mis errores y  
por darme la mayor herencia  
que se puede recibir... una  
profesión, pero sobre todo  
por darme la vida.**

**A mis hermanos:  
Bertha, Armando y José Antonio  
Por el cariño y estímulo que me  
proporcionaron durante todas las  
etapas de mi vida.**

**A mis abuelitos:  
Pedro, Florencia, Benito y Lucina  
Por el cariño y sus consejos que  
alguna vez me dieron.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi asesora:**

**M. en C. Lourdes Castillo G.**

**Por transmitirme sus conocimientos,  
por darme la confianza para realizar  
este trabajo y por hacer que lograra  
una de mis más grandes metas.**

**A la Biol. Maricela Arteaga  
y al M. en C. Miguel Castillo:  
Por el apoyo que recibí de ustedes  
durante el desarrollo de este  
trabajo.**

**A Esther Gutiérrez:  
Por su apoyo durante la  
realización de este trabajo.**

**A una gran amiga:  
Antonia Carrillo T.  
Por que siempre me brindó su  
apoyo, su cariño y su amistad  
desinteresadamente y por que  
me alentó a seguir adelante  
en los momentos difíciles.**

**A un gran amigo:  
Edmundo Martínez E.  
Por su forma tan singular de  
dar su amistad y su apoyo en  
los momentos más críticos.**

**A mis amigos:  
Alicia, Irene, Lucía, Rosalba,  
Jorge, Cusauhtemoc, Eduardo  
y Jorge S., quienes siempre  
estuvieron conmigo.**

**INDICE**

	PAG.
<b>RESUMEN</b>	
<b>I. INTRODUCCION</b>	1
<b>II. FUNDAMENTACION DEL TEMA</b>	2
1. ANTECEDENTES	2
2. VIAS DE INGRESO AL ORGANISMO	3
2.1. Vía oral	3
2.2. Vía respiratoria	3
2.3. Vía cutánea	3
3. REQUERIMIENTOS FISIOLÓGICOS DE ZINC	4
3.1. Alimentos que contienen zinc	5
4. METABOLISMO	6
4.1. Absorción	6
4.2. Distribución	6
4.3. Excreción	9
5. EFECTOS GENERALES	10
5.1. Funciones biológicas	10
5.2. Deficiencia	10
5.3. Toxicidad	11
5.4. Sinergismo y antagonismo	13
5.5. Teratogenicidad y mutagenicidad	13
5.6. Carcinogenicidad	13
6. METODOS PARA CUANTIFICAR ZINC	14
6.1. Técnicas de cuantificación	14
7. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA	17
7.1. Fuente de radiación	19
7.2. Sistemas de atomización	20
8. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS	22
8.1. Definiciones	22
8.2. Determinaciones	27
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	30

<b>IV. OBJETIVOS</b>	31
1. OBJETIVO GENERAL	31
2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	31
<b>V. HIPOTESIS</b>	32
<b>VI. MATERIAL Y METODO</b>	33
1. MATERIAL	33
2. INSTRUMENTOS	33
3. EQUIPO	33
4. REACTIVOS	34
5. METODO GENERAL	34
6. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE VALIDACION	35
6.1. Limite de detección y cuantificación	35
6.2. Linealidad del sistema	35
6.3. Precisión del sistema	35
6.4. Linealidad del método	35
6.5. Exactitud y repetibilidad al 100%	35
6.6. Precisión	35
6.7. Estabilidad de la muestra analítica	36
6.8. Especificidad	36
<b>VII. RESULTADOS</b>	37
1. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION	37
2. LINEALIDAD DEL SISTEMA	38
3. PRECISION DEL SISTEMA	38
4. LINEALIDAD DEL METODO	41
5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	43
6. PRECISION	44
7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA	46
8. NIVELES DE ZINC EN LA POBLACION ESTUDIADA	49
<b>VIII. ANALISIS DE RESULTADOS</b>	69
<b>IX. CONCLUSIONES</b>	72
<b>X. BIBLIOGRAFIA</b>	74
<b>ANEXO</b>	



## INDICE DE TABLAS

	PAG
TABLA 1. Niveles normales de zinc en tejido	8
TABLA 2. Nivel de zinc en suero en diversas patologías	9
TABLA 3. Rangos normales según diferentes métodos y autores	16
TABLA 4. Llamas comunes en absorción atómica	21
TABLA 5. Condiciones para la determinación de zinc en suero	34
TABLA 6. Datos para los límites de cuantificación y detección	37
TABLA 7. Resultados de los límites de cuantificación y detección	37
TABLA 8. Datos para la Linealidad del sistema	38
TABLA 9. Resultados de la Linealidad del sistema	38
TABLA 10. Datos para la precisión del sistema	40
TABLA 11. Resultados de la precisión del sistema	40
TABLA 12. Datos para la Linealidad del método	41
TABLA 13. Resultados de la Linealidad del método	41
TABLA 14. Datos para exactitud y repetibilidad	43
TABLA 15. Resultados de exactitud y repetibilidad	43
TABLA 16. Datos para la precisión	44
TABLA 17. Análisis de Varianza para la precisión	44
TABLA 18. Resultados para precisión	45
TABLA 19. Datos para la estabilidad a temperatura ambiente	46
TABLA 20. Resultados para la estabilidad a temperatura ambiente	46
TABLA 21. Datos para la estabilidad a 4°C	47
TABLA 22. Resultados de la estabilidad a 4°C	47
TABLA 23. Resultados de la validación	48
TABLA 24. Población masculina con intervalo de edad entre 0 - 10 años	49
TABLA 25. Población masculina con intervalo de edad entre 11 - 20 años	49
TABLA 26. Población masculina con intervalo de edad entre 21 - 30 años	50
TABLA 27. Población masculina con intervalo de edad entre 31 - 40 años	51
TABLA 28. Población masculina con intervalo de edad entre 41 - 50 años	51
TABLA 29. Población masculina con intervalo de edad entre 51 - 60 años	52

<b>TABLA 30.</b> Población masculina con intervalo de edad entre 61 - 70 años	52
<b>TABLA 31.</b> Población masculina con edad mayor de 70 años	53
<b>TABLA 32.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 0 - 10 años	53
<b>TABLA 33.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 11 - 20 años	54
<b>TABLA 34.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 21 - 30 años	55
<b>TABLA 35.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 31 - 40 años	57
<b>TABLA 36.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 41 - 50 años	58
<b>TABLA 37.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 51 - 60 años	59
<b>TABLA 38.</b> Población femenina con intervalo de edad entre 61 - 70 años	60
<b>TABLA 39.</b> Población femenina con edad mayor de 70 años	61
<b>TABLA 40.</b> Medias de los grupos etarios masculinos	62
<b>TABLA 41.</b> Medias de los grupos etarios femeninos	62
<b>TABLA 42.</b> Análisis de varianza para la población masculina	65
<b>TABLA 43.</b> Análisis de varianza para la población femenina	66
<b>TABLA 44.</b> Análisis de varianza para la población total	67

## RESUMEN

El zinc es un elemento que tiene diversas funciones biológicas, una cantidad en exceso o en deficiencia puede causar molestias o daños a la salud, por lo que es conveniente determinar los niveles de zinc en el organismo.

En este trabajo el objetivo principal fue la evaluación en suero de los niveles de este elemento en una población de una zona conurbada al D.F., además de conocer si hay diferencia significativa entre sexo y edad con respecto a la concentración de este elemento.

En la cuantificación de zinc en suero se utilizó la espectrofotometría de Absorción Atómica, por ser una técnica muy eficiente para la determinación de metales. Para tener la seguridad de que el método era confiable, se procedió a realizar la validación. La cual determinó que el método es lineal, preciso, reproducible, específico y la muestra no es estable en condiciones ambientales y en refrigeración por 24 y 48 horas, por lo que es conveniente efectuar el análisis inmediatamente después de preparar la muestra.

Las muestras de suero analizadas fueron 506: 125 del sexo masculino y 381 del femenino. Se determinó una concentración promedio de  $94.38 \pm 20.01$   $\mu\text{g/dl}$  de zinc para la población en general. El análisis estadístico no precisó diferencias significativas entre los grupos de edad y sexo, por lo tanto, no hay ninguna relación de tipo funcional entre las concentraciones de zinc, el sexo y la edad de los sujetos.

## I. INTRODUCCION

Los minerales son indispensables para el organismo, intervienen en la constitución de los tejidos, en la regulación hídrica y en la función de los sistemas enzimáticos.

Es evidente que una nutrición deficiente en vitaminas y minerales, facilita el desarrollo de enfermedades infecciosas e incluso aumenta los efectos de productos químicos y metales tóxicos (Gossel, 1990).

El zinc es importante porque está implicado en el metabolismo del hierro, es necesario en la reproducción y crecimiento, mantiene una buena circulación sanguínea y evita el endurecimiento de las arterias.

Se ha observado deficiencia de zinc en mujeres embarazadas, alcohólicos, en pacientes que sufren infecciones, úlceras en las piernas, ataques cardíacos, mongolismo y pérdida del sentido del gusto. La mayoría de estos pacientes mejoran cuando se les administra este elemento.

Estas alteraciones han llevado a los investigadores a realizar trabajos con el objetivo de evaluar el zinc, utilizando diversas técnicas para su cuantificación (Prasad, 1991).

La técnica que con mayor frecuencia se utiliza para la cuantificación de zinc en muestras biológicas es la espectrofotometría de Absorción Atómica, los fluidos biológicos más importantes para su evaluación desde el punto de vista clínico son el suero y el plasma (Reinhold, 1975).

En este trabajo se desarrolló y validó un método de análisis cuantitativo para la determinación de zinc en suero por Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama. Este método se aplicó a muestras de una población de Cd. Nezahualcoyotl, de diferente edad y sexo.

## II. FUNDAMENTACION DEL TEMA

### 1. ANTECEDENTES

El hombre ha adquirido los minerales por herencia natural, han sido parte de todos los seres vivos desde que comenzó la vida en los océanos. El cambio producido en la atmósfera hizo que las plantas forjaran estructuras con calcio, magnesio y silicio; los animales los imitaron. Las plantas se diseminaron por la tierra y entonces tomaron del suelo lo que antes tomaban del mar y el dióxido de carbono pasaron a tomarlo del aire. Hoy se sabe que las plantas normalmente utilizan para su metabolismo Boro (B), Calcio (Ca), Cloro (Cl), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Potasio (K), Manganeso (Mn), Magnesio (Mg), Molibdeno (Mb), Silicio (Si) y Zinc (Zn), en ocasiones Cobalto (Co), Sodio (Na), Selenio (Se), Vanadio (V), Cromo (Cr), y Yodo (I) (Martínez, 1978).

Erasmus Ebener dijo ser el primer europeo en reconocer el zinc metálico cuando producía latón con glóbulos de este metal recuperados directamente de las menas, sin embargo, los chinos ya lo conocían desde mucho antes. La invención y difusión de las máquinas para pulir el arroz en el siglo pasado, ocasionaron daños en la salud, debido a que en el procedimiento se eliminaba el salvado y junto con este la vitamina B 12, el zinc y otros micronutrientes (Martínez, 1978; Berman, 1980).

En 1934, Todd comprobó que este elemento es un factor esencial ya que observó algunos daños en ratas cuando se les dejó de suministrar zinc. Posteriormente en 1954, Tucker y Salmon observaron que un aumento de éste en la dieta para cerdos corrige la paraqueratosis. Por otro lado Valle describió que en casos de cirrosis hepática el zinc no es metabolizado correctamente (Reinhold, 1975).

Debido a la necesidad de conocer la cantidad adecuada de este elemento en el organismo humano para prevenir daños por deficiencia o exceso, algunos investigadores propusieron diversos métodos analíticos para su cuantificación. En 1965, Fuwa publicó el primer método para determinarlo en suero por Absorción Atómica con llama, usando un instrumento de diseño especial. La preparación de la muestra incluye una simple dilución de suero con agua. Un año más tarde Prasad publicó un método para utilizar un instrumento comercial, este método involucra una desproteínización (Kelson, 1978).

## 2. VIAS DE INGRESO AL ORGANISMO

El zinc está presente en agua, aire y en todos los organismos vivos. Casi siempre está acompañado de Cadmio. La proporción zinc:cadmio juega un papel vital en el efecto que el zinc tiene en los organismos vivos (Klaassen, 1980; Curtis, 1986).

### 2.1. VIA ORAL

Según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) el criterio actual para la cantidad de zinc presente en agua para beber es de 5mg/l. Usualmente, está presente en concentraciones mucho menores, las aguas blandas pueden tener concentraciones semejantes a causa de los materiales usados en los sistemas de distribución y a la tubería doméstica. Se puede encontrar en los alimentos, en concentraciones variables (Klaassen, 1980).

### 2.2. VIA RESPIRATORIA

Se recomienda un límite de exposición al vapor de Cloruro de zinc en el aire de  $1\text{mg}/\text{m}^3$ , en un tiempo promedio de 8 horas y un límite de exposición al mismo vapor de  $2\text{mg}/\text{m}^3$ , en un período corto.

### 2.3. VIA CUTANEA

La piel está expuesta al zinc por el uso de preparaciones tópicas a base principalmente de óxido de zinc, o por exposición laboral (Carson, 1986).

### 3. REQUERIMIENTOS FISIOLÓGICOS DE ZINC

Los elementos que son necesarios para el funcionamiento adecuado del organismo se encuentran clasificados en tres grupos: En el primero se encuentran el zinc y el hierro principalmente, de los que se requieren aproximadamente unos 15 mg/día; en el segundo grupo, están el cobre y el manganeso de los que se necesitan de 2 a 5 mg/día y finalmente en el tercer grupo se incluyen el cromo, molibdeno, selenio, etc., de los cuales son necesarias cantidades menores de 0.5 mg/día (Bowman, 1986).

La ingestión de zinc en adultos es aproximadamente de 13 a 20 mg/día. Snyder proporcionó un balance del zinc ingerido para un hombre de 70 Kg, en el cual menciona que en alimentos y bebidas se ingieren 13 mg/día y se inhala menos de 0.1 mg/día (Carson, 1986; Menéndez, 1990).

Este elemento es necesario para todos los seres vivos. Existen mecanismos que mantienen constante su nivel en el cuerpo durante la vida, a menos que la dieta sea deficiente. Este metal no se acumula en el cuerpo humano (Martínez, 1978).

Hace tiempo se viene procurando que las dietas resulten equilibradas en lo que a valor calórico se refiere y con una distribución adecuada entre proteínas, hidratos de carbono, grasas y elementos minerales (Kelson, 1978).

El zinc representa aproximadamente 2g en un individuo adulto. Los requerimientos diarios para niños y adultos son de 10 y 15 mg respectivamente (Derache, 1990).

En la actualidad las fórmulas lácteas infantiles comerciales contienen una concentración de zinc por arriba de 13.5 mg/l (Hamblidge, 1989).

Los requerimientos de zinc aumentan en los periodos de crecimiento y de reproducción. Por otra parte, los mismos pueden ser influenciados por el régimen dietético, la ingesta de proteínas y las infecciones parasitarias (Moncada, 1989).

### 3.1. ALIMENTOS QUE CONTIENEN ZINC

El zinc lo encontramos en la carne de res (1.5 mg/100g), caballo (6 mg/100g), temera (3.5 mg/100g) y cerdo (2.5 mg/100g). La leche y los huevos también lo contienen aunque en menor cantidad, en cambio, en verduras y frutas es muy escaso, en el pescado sólo se encuentra esporádicamente. Por otro lado, en las ostras hay una gran concentración que va desde 20 hasta 100 mg/100g. Las nueces, almendras, avellanas y cereales contienen cantidades adecuadas e incluso exceso (Klaassen, 1980; Menéndez, 1990).



## 4. METABOLISMO

### 4.1. ABSORCION

El zinc se absorbe por vía respiratoria y gastrointestinal. La inhalación de vapores de óxido de zinc es la causa principal de toxicidad en situaciones ocupacionales, pero no hay datos disponibles sobre el porcentaje absorbido (Lauwerys, 1993).

Bajo condiciones normales se absorbe sólo del 20 al 30% del ingerido diariamente. El mecanismo está previsto para ser controlado homeostáticamente. (Taylor, 1991).

En lo que se refiere a la absorción gastrointestinal ésta ocurre principalmente en el duodeno. El zinc entra al tracto gastrointestinal como un componente de la metalotioleína, que es una sustancia secretada por las glándulas salivales. Esta sustancia junto con el zinc pasa a la mucosa intestinal, de aquí se transporta al páncreas y posteriormente al hígado (Klaassen, 1980; Curtis, 1986).

Los niños muestran un aumento en la eficiencia de la absorción desde un 16.8 hasta un 41.4%. Aunque el porcentaje se incrementa no es suficiente para compensar la baja ingestión de zinc (Couzy, 1993).

Los niños en condiciones normales son capaces de mantener un balance positivo, esta extraordinaria adaptación involucra la eficiencia en la absorción desde la dieta y el porcentaje de excreción del mismo (Ziegler, 1989; Egan, 1991).

Las dietas vegetarianas incluyen cereales, legumbres y vegetales, que son ricos en fibras y oxalatos, los cuales causan un impedimento considerable en la biodisponibilidad del zinc durante la absorción. (Agté, 1994).

### 4.2. DISTRIBUCION

Normalmente el cuerpo humano contiene entre 1.4 y 2.3 g de zinc, presente dentro de todas las células corporales (Klaassen, 1980).

## □ SANGRE

En la sangre, el zinc es un constituyente del plasma, suero, eritrocitos y leucocitos. El contenido en sangre total va de 650 a 1000 mg/dl, del cual el suero contiene cerca de 12%, los leucocitos 3% y los eritrocitos 85%. El zinc está asociado especialmente con los eosinófilos, quienes lo contienen diez veces más que otros leucocitos.

En el plasma cerca de la tercera parte de zinc está unido firmemente a la albúmina y en el suero aproximadamente dos terceras partes se encuentran unidas a la 1- $\alpha$ -macroglobulina y aminoácidos (Harris, 1989; Browning, 1969).

El zinc contenido en la sangre se encuentra principalmente como componente de la metaloenzima anhidrasa carbónica. Una pequeña fracción está contenida en otras enzimas, tales como la fosfatasa alcalina (Berman, 1980).

Los niveles normales en plasma están en un rango de 100 a 124  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . En suero de 70 a 140  $\mu\text{g}/\text{dl}$ , estos valores son aproximadamente un 16% más altos que en plasma, esto se atribuye a la liberación de zinc de las plaquetas durante el proceso de coagulación.

No existen reportes sobre la concentración de zinc en suero de una población mexicana, sin embargo, se tiene conocimiento de este tipo de datos en otras latitudes, por ejemplo, la concentración sérica en sujetos normales de Venezuela es de 84-120  $\mu\text{g}/\text{dl}$  de zinc y de 70 a 110  $\mu\text{g}/\text{dl}$  en personas inglesas (Wei-Jei, 1986).

## □ TEJIDOS

El zinc está presente en las fracciones nuclear y mitocondrial de todas las células (Reinhold, 1975).

Normalmente el músculo y órganos como el hígado, riñón, corazón, piel y páncreas contienen grandes cantidades de este elemento. Sin embargo, las concentraciones más altas se encuentran en ojos, piel, uñas y próstata. Los niveles en tejidos descritos en la literatura se muestran en la tabla 1 (Agté, 1994; Han, 1994).

**TABLA 1.  
NIVELES NORMALES DE ZINC EN TEJIDOS.**

TEJIDO	CONCENTRACION ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
CEREBRO	14
OJO	281
RIÑON	55
CORAZON	33
HIGADO	55
PULMON	15
MUSCULO	54
PANCREAS	29
PROSTATA	102
PIEL, UÑAS	151
BAZO	21
TESTICULO	17

**□ CABELLO Y UÑAS**

Se conoce que la piel, cabello y uñas son ricos en zinc. Los niveles se ven afectados por la nutrición. El promedio de concentración en cabello de niños aparentemente normales, con edades entre 3 y 12 meses es de  $74 \mu\text{g}/\text{g}$  y en adultos de  $180 \mu\text{g}/\text{g}$ . En cabellos de recién nacido  $174 \mu\text{g}/\text{g}$ . En uñas de sujetos normales es de  $151 \mu\text{g}/\text{g}$  (Berman, 1980; Lockitch, 1988).

El zinc contenido en cabello también está considerado como favorito para evaluar la deficiencia crónica del metal en el cuerpo (Perrone, 1985).

**□ CONCENTRACION DE ZINC EN PATOLOGIAS**

Diversos estados patológicos parecen ejercer influencia sobre la concentración de este elemento. Las afecciones inflamatorias agudas se caracterizan por presentar bajo nivel sérico. En la arteriosclerosis, anemias perniciosas, sarcomas y leucemias se puede evidenciar este fenómeno. El nivel de zinc en suero encontrado en varias condiciones patológicas se muestran en la tabla 2 (Berman, 1980; Moncada, 1989).

**TABLA 2.**  
**NIVEL DE ZINC EN SUERO EN DIVERSAS PATOLOGIAS.**

<b>PATOLOGIA</b>	<b>CONCENTRACION (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>
QUEMADURA	47
TRAUMA QUIRURGICO	55
INFECCION SUPURATIVA	61
INFECCION AGUDA	68
INFARTO AL MIOCARDIO	56-68
HEPATITIS VIRAL AGUDA	25

#### 4.3. EXCRECION

La principal ruta de excreción es el tracto gastrointestinal. Una cantidad relativamente pequeña se excreta por la orina. La excreción urinaria normal en adultos varía entre 0.4 y 0.7 mg/día. La excreción de zinc en la orina aumenta en ciertos estados patológicos, tales como, cirrosis hepática y post-alcohólica (Wallock, 1993).

La excreción urinaria de este mineral no varía con la cantidad administrada y es dependiente del volumen de la orina (Browning, 1969).

Cuando hay altas temperaturas o cuando el individuo hace ejercicio se pierde una gran cantidad de zinc en el sudor. Otras rutas de excreción son el cabello, la leche materna, la descamación de la piel, durante la menstruación y a través de las uñas (Carson, 1986; Turull, 1994).

## 5. EFECTOS GENERALES

### 5.1. FUNCIONES BIOLÓGICAS

El zinc se ha considerado como un elemento esencial, es un nutriente indispensable para los humanos, es uno de los más importantes debido a su participación en varias funciones moleculares básicas (Savory, 1992).

La importancia del zinc para el organismo humano se basa, en el papel que desempeña como cofactor de aproximadamente 120 metaloenzimas. Es necesario para la actividad de deshidrogenasas, aldolasas, peptidasas y fosfatasas. Es un constituyente de la DNA-polimerasa, RNA-polimerasa y RNA sintetasa. También es esencial en la síntesis de DNA, RNA y proteínas, en el metabolismo de carbohidratos, en la utilización de nitrógeno y azufre, así como, en el crecimiento y división celular. Es importante en la espermatogénesis y en la nutrición fetal, de igual manera se ve involucrado en el metabolismo de las glándulas pituitaria y suprarrenal (Klaassen, 1980; Gossel, 1990).

El zinc ejerce un efecto regulatorio sobre varios procesos fisiológicos, también puede acelerar o retrasar el crecimiento de tumores. Es un componente de biomembranas y es importante en la estabilización de la estructura de la membrana, así como, en el mantenimiento de la integridad de la célula y de la respuesta inmune (Johanning, 1989; Brandao-Neto, 1994).

### 5.2. DEFICIENCIA

La deficiencia se refleja en un amplio espectro de efectos clínicos dependientes de la edad y de la etapa de desarrollo. La deficiencia de zinc en el recién nacido puede estar manifestada por dermatitis, pérdida de cabello, susceptibilidad a infecciones y anomalías neuropsicológicas (Curtis, 1986; Kuhnert, 1992).

Cuando hay deficiencia de zinc en la infancia, se observa que hay retardo en el crecimiento (Amaud, 1993).

La deficiencia de zinc en adultos se manifiesta con anorexia, lesiones en piel y apéndice, deterioro en el funcionamiento de los órganos reproductores,

mala cicatrización de heridas y susceptibilidad a infecciones, altera la estructura de los ácidos grasos de fosfolípidos en varios tejidos y suero. Se reportó que el zinc está asociado con la fracción de lípidos de la membrana de los eritrocitos, pero la naturaleza de la asociación se desconoce y el efecto en esta membrana aún no ha sido estudiada (Purcell, 1986; Prasad, 1991).

Otra consecuencia que trae la falta de este mineral es la paraqueratosis del tracto digestivo. La severidad del daño depende del grado de deficiencia de zinc. La escases del metal también está asociada con la pérdida de sabor y con la depresión del sistema inmune (Johanning, 1989).

La carne particularmente es buena fuente de zinc y las personas de edad avanzada son quienes consumen menos este tipo de alimento, por lo que el riesgo de la deficiencia puede aumentar. Algunos datos han revelado que el 3% de personas con edad entre 65 y 74 años tienen un bajo nivel de zinc en suero (Cassel, 1984).

El envejecimiento está asociado con una alteración progresiva de la competencia inmune afectando principalmente pero no exclusivamente la función de los linfocitos T. La adición de zinc a la dieta de ancianos puede ser un camino efectivo y simple, para mejorar su función inmune. El hecho de que este mineral no se acumule en el cuerpo, explica el porque de la rapidez de los efectos fisiológicos cuando hay deficiencia en la dieta (Duchateau, 1981).

### **5.3. TOXICIDAD**

#### **○ TOXICIDAD AGUDA**

El zinc en forma de ion se absorbe muy poco, por otro lado, el cloruro de zinc es una sal corrosiva a la piel y al tracto gastrointestinal. En bebidas ácidas hechas en contenedores galvanizados por la liberación de zinc da lugar a fiebre, náusea, vómito, calambres estomacales y diarrea. Estos síntomas se desarrollan en un período de 3 a 12 horas después de la ingestión. Las sales inorgánicas son altamente tóxicas por rutas parenterales (Carson, 1986; Greist, 1990).

En humanos, la concentración tóxica por inhalación de cloruro de zinc en polvo es de 4800 mg/m durante 5 horas. Los síntomas aparecen de 4 a 12 horas después de la exposición a los vapores formados, incluyendo sabor

metálico, irritación y sequedad de la garganta, tos, dificultad para respirar, dolor en el pecho, debilidad, fatiga, dolor muscular, fiebre y escalofrío. El restablecimiento aparece en un período de 24 a 48 horas (Fairhall, 1957).

### **⊙ TOXICIDAD CRONICA**

Los pacientes que han tomado zinc durante meses y años no han mostrado ninguna reacción adversa. Sin embargo, cantidades excesivas pueden inhibir la absorción de cobre (Fairhall, 1957; Frambach, 1991).

La inhalación durante un período prolongado ocasiona fiebre, disturbios gastrointestinales y daños al hígado. Se ha reportado que ocurre una aparente reducción en la absorción cuando hay un incremento en la cantidad de zinc. La cianosis gris, dermatosis y ulceración de los pasajes nasales son el resultado de la inhalación de cloruro de zinc (Klaassen, 1980; Browning, 1969).

### **⊙ TOXICIDAD EN ORGANOS ESPECIFICOS Y SINTOMAS**

A. PULMON. La inhalación excesiva de óxido de zinc puede ocasionar fibrosis pulmonar (Carson, 1986).

B. SANGRE. La leucocitosis polimorfonuclear ocurre durante el ataque agudo de la fiebre ocasionada por la inhalación de vapores que lo contienen. La cantidad de células blancas aumenta (Pourcell, 1986).

C. TRACTO GASTROINTESTINAL. Los síntomas son presión en la región estomacal, náusea y debilidad, éstos síntomas sugieren la presencia de una ulcera gástrica o duodenal. Esto ha ocurrido en trabajadores expuestos al zinc durante la soldadura y recorte de fierro y acero galvanizado (Curtis, 1986).

D. PIEL. La exposición al óxido de zinc combinado con la falta de higiene contribuye a una dermatitis ocupacional causada por el bloqueo de las glándulas sebáceas. Sin embargo, generalmente el óxido de zinc tiene un bajo potencial para la irritación de la piel. Es un ingrediente de varias preparaciones dermatológicas (Lund, 1971).

E. OJOS. El daño ocular que causan las sales de zinc, varía dependiendo de la sal. El cloruro de zinc se utiliza como astringente en gotas para los ojos con una concentración de 0.2 a 0.5%, si se utilizan concentraciones más altas éstas pueden causar daño. Por otro lado, el sulfato de zinc que se

aplica a la córnea para fines terapéuticos se utiliza en una concentración hasta de un 20% (Klaassen, 1982).

#### **5.4. SINERGISMO Y ANTAGONISMO**

El exceso de zinc se libera del hueso y se acompaña de una cantidad de calcio. Las dietas altas en zinc y bajas en calcio ocasionan daños en el crecimiento. Las dietas altas en zinc y en plomo causan anemia. El zinc administrado simultáneamente con cadmio previene malformaciones causadas por el cadmio sólo. El zinc actúa para reducir los efectos tóxicos del cadmio (Lauwerys, 1993).

#### **5.5. TERATOGENICIDAD Y MUTAGENICIDAD**

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) no ha reportado información concerniente a que el consumo de cantidades excesivas de zinc cause deformaciones, por el contrario la deficiencia del metal puede causar malformaciones.

La Agencia de protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) en 1980 no encontró información donde se mencione que el zinc es mutágeno mamífero.

#### **5.6. CARCINOGENICIDAD**

La inyección de sales de zinc en animales de laboratorio ha inducido tumores testiculares, pero no está directamente asociado con la oncogenicidad. La deficiencia no parece tener un papel etiológico en el desarrollo de cáncer en humanos, pero los tejidos neoplásicos pueden tener niveles bajos de zinc (Carson, 1986).



## 6. METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE ZINC

La necesidad de conocer el nivel de zinc presente en el organismo humano, lleva a buscar la mejor manera de cuantificar el metal en los diferentes fluidos biológicos y órganos. El zinc se ha determinado en suero y plasma mediante una variedad de técnicas, entre las cuales están la fluorometría, colorimetría, fluorescencia atómica, espectroscopia de emisión atómica por plasma y la espectrofotometría de absorción atómica con llama (Fairhall, 1957; Brief, 1969).

Los métodos se han clasificado en cuatro diferentes grupos, de acuerdo al tratamiento de las muestras y de los estándares.

⇒ Métodos que involucran desproteinización.

⇒ Métodos basados en dilución con agua desionizada y adición de algunos reactivos a un estándar acuoso para obtener características físicas similares en las muestras diluidas y los estándares.

⇒ Métodos basados en dilución con agua desionizada y uso de estándares acuosos.

⇒ Métodos que involucran extracción líquido-líquido de un complejo de zinc y un análisis posterior por Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama (Soriano, 1984).

### 6.1. TECNICAS DE CUANTIFICACION

#### → COLORIMETRIA

La ditizona es el reactivo primario que ha sido empleado en la determinación colorimétrica de zinc en materiales biológicos. La ditizona tiene como inconveniente, el que varios metales pueden formar complejos coloridos bajo condiciones similares. Otros reactivos que son utilizados en los análisis colorimétricos de zinc son el naranja de xilenol, el ácido 2-naftol-4-sulfónico y el eriocromo negro-azul (Fairhall, 1957).

#### † FLUOROMETRIA

Los complejos fluorescentes de zinc se han empleado en determinaciones del metal en materiales biológicos. La mayoría de las técnicas involucran la formación de complejos fluorescentes con reactivos como la 8-hidroxiquinolina o con el ácido 8-hidroxiquinolin-5-sulfónico (Soriano, 1984).

#### † CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO

Las técnicas cromatográficas se han empleado solas o en conjunción con otras técnicas en la determinación de zinc en varios materiales. Por ejemplo, el metal se aísla por cromatografía de intercambio iónico y se determina colorimétricamente.

Otra forma de separar el zinc es por cromatografía de gases. Las separaciones favorables y los tiempos de retención se llevan a cabo con trifluoroacetilacetato (Berman, 1980).

#### † POLAROGRAFIA

Se han descrito varias aplicaciones de la polarografía para determinar la concentración de zinc en plantas, tierra, sangre y productos farmacéuticos (Brief, 1969).

#### † ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X

Esta técnica no es destructiva y es ampliamente útil en la medida directa de elementos en materiales biológicos, sin embargo, no proporciona exactitud y precisión.

La técnica se ha utilizado en el análisis de agua en conjunción con diferentes métodos de separación, incluyendo resinas y membranas de intercambio iónico, así como, procedimientos de quelación-extracción. También se ha empleado en la evaluación de zinc en partículas atmosféricas (Soriano, 1984).

En la tabla 2 se presentan los rangos normales de zinc en suero de acuerdo a diferentes métodos y autores (Brief, 1969).

**TABLA 3.**  
**RANGOS NORMALES DE ZINC SERICO**  
**SEGUN DIFERENTES METODOS Y AUTORES**

RANGO NORMAL ( $\mu\text{g/dl}$ )	METODO	AUTOR	AÑO
108 - 140	DITIZONA	VIKBLADH	1950
150 - 250	DITIZONA	WOLFF	1950
80 - 170	DITIZONA	VALLEE	1956
89 - 115	ABSORCION ATOMICA	PRASAD	1963
54 - 114	ABSORCION ATOMICA	KAHN	1965
89 - 131	ABSORCION ATOMICA	DAVIES	1968
76 - 125	ABSORCION ATOMICA	WITHERS	1968

De estas técnicas la espectrofotometría de absorción atómica es la más completa debido a su precisión, sensibilidad y es casi libre de interferencias (Walsh, 1989).

## 7. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

La espectrofotometría de absorción atómica con llama es una técnica para el análisis cuantitativo de aproximadamente 64 elementos. La técnica es muy sensible y puede detectar concentraciones del orden de ppm. Es muy importante debido a su alta sensibilidad y especificidad; determina un elemento en presencia de otros (Dawson, 1969).

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica que estudia la absorción de la energía radiante por átomos. En el proceso de absorción, se hace pasar por la llama que contiene los átomos del elemento a cuantificar, la radiación de una fuente de luz, que emite la línea espectral correspondiente a la energía necesaria para una transición electrónica de un nivel de baja energía (estado basal) a uno de alta energía (estado excitado) (Skoog, 1987; Smith, 1979).

Debido a que el estado excitado es inestable, el electrón retoma de inmediato de manera espontánea a su estado basal. Cuando el electrón regresa emite energía radiante (Beaty, 1979).

Puesto que la energía de la radiación UV-Visible es únicamente capaz de interactuar a nivel electrónico, no se involucran cambios a nivel vibracional ó rotacional de los átomos; como resultado de esto, el espectro de absorción atómico consiste en líneas discretas (Rodríguez, 1989).

Puesto que un elemento dado tiene una estructura electrónica única que lo caracteriza; la longitud de onda de la luz absorbida es una propiedad específica y característica de cada elemento (Beaty, 1979).

El análisis cuantitativo por absorción atómica sigue 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 esta ley esta dada por la ecuación:

$$A = abc$$

**Donde:**

- A = Absorbancia**
- a = Coeficiente de absorción, constante para un mismo elemento**
- b = Longitud de la celda (constante)**
- 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), construir una gráfica que nos relacione estas dos variables y en esta gráfica interpolar el valor de absorbancia de una muestra de concentración desconocida para obtener su valor (Beatty, 1979).

Cualquier espectrofotómetro de Absorción Atómica está constituido por 3 componentes básicos:

- ① FUENTE DE RADIACION
- ② CELDA DE MUESTREO
- ③ 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 radiación la cual emita las líneas atómicas características del elemento a ser analizado (Beatty, 1979).

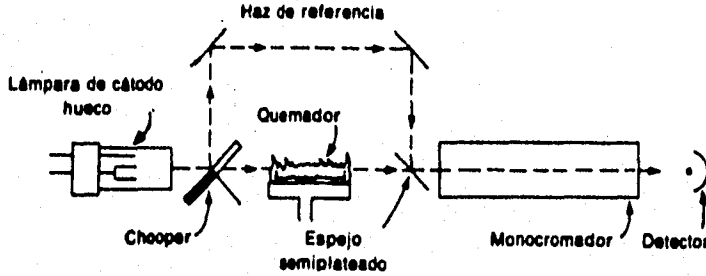


FIGURA No.1 ESPECTROFOTOMETRO DE ABSORCION ATOMICA

7.1. FUENTES DE RADIACION

Un átomo absorbe luz a longitudes de onda muy discretas. Para poder medir esta absorción de bandas tan angostas con la máxima sensibilidad, es necesario usar una fuente que emita longitudes de onda específicas que puedan ser absorbidas por el átomo.

La lámpara de cátodo hueco (HCL) es una excelente fuente de energía discreta para la mayoría de los elementos que se determinan por Absorción Atómica. Estas lámparas están diseñadas para emitir el espectro atómico de cada elemento en particular, de esta forma se utilizan lámparas específicas que dependen del elemento que se va a determinar. La fig. 2 muestra como está construida una lámpara de cátodo hueco.

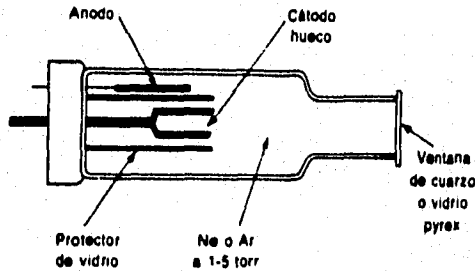


FIGURA No.2 LAMPARA DE CATODO HUECO

El cátodo de la lámpara es un cilindro hueco fabricado del elemento a cuantificar y junto con el ánodo se encuentran en un cilindro de vidrio sellado y lleno de gas inerte, el extremo del cilindro es una ventana transparente a la radiación emitida.

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 del metal desalojados colisionan y se excitan para una posterior emisión de la radiación (Beaty, 1979).

## 7.2. SISTEMAS DE ATOMIZACION

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

El sistema de atomización consta de las siguientes partes:

\* **NEBULIZADOR.** Su función es aspirar la solución de la muestra a través de un capilar, utilizando un gas de soporte (oxidante) para efectuar la aspiración.

\* **QUEMADOR.** En el quemador los gases combustible y oxidante junto con la solución con muestra se mezclan y queman en la parte superior del quemador.

\* **CELDA.** La celda de la muestra la constituye la llama, dentro de ella 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 eficiencia de la atomización depende de la energía de la llama (Skoog, 1987; Beaty, 1979).

Para obtener la máxima sensibilidad analítica se debe seleccionar la mezcla de gases que proporcionen la llama adecuada, por lo que es necesario tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

• **OXIDO NITROSO-ACETILENO.** Se utiliza para determinar elementos que forman compuestos refractarios. La medición en esta llama se hace generalmente en la zona secundaria roja, la cual está prácticamente desprovista de oxígeno.

• **AIRE-ACETILENO.** Se utiliza para determinar la mayoría de los elementos, excepto para algunos elementos como el Molibdeno, Estaño y algunos alcalino térreos que se atomizan parcialmente en la llama.

Otras mezclas de gases que existen pero que ya no son muy usuales son Aire-Propano, Aire-Hidrógeno, Oxígeno-Acetileno, Oxígeno-Propano, Oxígeno-Hidrógeno y Gas natural-Aire (Beaty, 1979).

**TABLA 4.**  
**LLAMAS COMUNES EN ABSORCION ATOMICA.**

OXIDANTE	COMBUSTIBLE	TEMPERATURA °C
OXIDO NITROSO	ACETILENO	2955
AIRE	ACETILENO	2300



## 8. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

La validación del método analítico se define como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. El proceso de validación de un método en particular está basado en principios adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

### 8.1. DEFINICIONES

#### ✦ 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 definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado (Castañeda, 1991).

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 del titulante consumido por el analito, los sistemas espectrofotométricos determinan la luz absorbida o emitida por el analito.

Este parámetro se caracteriza por estudiar la relación concentración contra respuesta analítica en un intervalo apropiado de concentración del analito, sin incluir los otros componentes de la muestra.

El modelo estadístico que puede ser empleado para describir esta situación experimental es la siguiente:

$$Y = MX + B + E_a$$

Donde:

**Y** = Respuesta analítica

**X** = Concentración del analito

**M** = Cambio de Y con respecto a X

**B** = Respuesta de Y cuando se tiene ausencia en X

**E<sub>a</sub>** = Error aleatorio del sistema

En éste se asume que la relación entre X y Y es lineal. En una gran variedad de métodos analíticos emplean uno o más valores de X (estándar) 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 preparada como mínimo por triplicado (Lual, 1993).

#### ◆ LINEALIDAD DEL METODO

Un método exacto, es aquel que mide sin error la cantidad de analito presente en una muestra, en una cantidad constante o variable; es decir, si la muestra contiene x cantidad de analito, el método debe medir también Y cantidad de analito, donde  $Y \approx X$ .

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 generado 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 el placebo (X) y la cantidad del analito al aplicar el método (Y), se procede a efectuar el análisis de la información (Lual, 1993).

#### ✦ EXACTITUD

En una gran variedad de métodos analíticos, se tiene como propósito, determinar cuantitativamente el analito presente en una muestra. Una característica importante del método, es la exactitud en la medición (Lual, 1993).

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas del analito (Castañeda, 1991).

La exactitud mide la concordancia entre el contenido del analito obtenido al aplicar el método a la muestra y su valor verdadero. Se puede establecer que un método analítico es un procedimiento operativo sistemático, que emplea en la mayoría de los casos técnicas instrumentales. Si el método mide de manera correcta el analito, se dice que el método es exacto. Una gran cantidad de métodos emplean una respuesta variable indicadora del contenido del analito en la muestra; ésta respuesta es influenciada por una serie de factores intrínsecos, por lo que se espera que éstos 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; (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 adicionado (CA) y la cantidad recuperada (CR), se procede a calcular el porcentaje recuperado en el placebo (Y) con la siguiente fórmula (Lual, 1993):

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

#### ◆ 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. 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.

#### ✱ 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.).

#### \* 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 instrumentos) (Castañeda, 1991).

Un concepto importante en ambas definiciones es la "Medida de concordancia relativa"; por lo que la precisión tiene carácter relativo y por lo tanto es necesario como mínimo dos mediciones.

Un método analítico debe ser tanto repetible como reproducible, en caso contrario da lugar a 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, además de obtener un estimado correcto de esa variación. El procedimiento que cumple con el propósito anterior, se le denomina estudio de precisión (Lual, 1993).

#### ✦ LIMITE DE DETECCION (LD)

El límite de detección se define como la mínima concentración de un analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas (Castañeda, 1991).

Esta definición incorpora consideraciones tanto del tamaño de la señal como del ruido de la línea base, de ésta manera obtener una indicación de la más baja concentración del elemento que puede ser medida. El límite de detección es la concentración que haga el cociente señal-ruido igual a 3.

El límite de detección describe la señal-ruido, es de gran importancia ya que indica la capacidad del instrumento y suministra una forma de estimar el valor mínimo de detección (Beaty, 1979).

Sea  $S_t$  el valor total medido para la muestra,  $S_b$  el valor del blanco y  $\sigma$  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 recomendado del límite de

detección es  $3\sigma$  y el valor para  $S_b$  debe aproximarse a cero (Long, 1980; McDougall, 1980).

#### ❖ LIMITE DE CUANTIFICACION (LC)

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 (Castañeda, 1991).

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  $10\sigma$ .

Se debe enfatizar que el límite de cuantificación y de detección no son constantes intrínsecas en la metodología.

#### ❖ ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

Es la propiedad de una muestra analítica, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad físicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas (Lual, 1993).

## 8.2. DETERMINACIONES

#### ❖ LIMITE DE 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 del instrumento como límite de detección y otras dos del quintuple. Se toman 20 lecturas de cada una de las cuatro disoluciones.

#### ❖ LIMITE DE CUANTIFICACION

El límite de cuantificación (LC) se toma como 10 veces la desviación estándar y es la cantidad mínima que se puede cuantificar y para tener la certeza de que la señal es debida al elemento medido.

Los cálculos se realizan a partir de los datos obtenidos para el límite de detección.

❖ 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 para cada dilución.

Criterio de Aceptación:  $CV \leq 1.5\%$   
 $r \geq 0.99$   
 $r^2 \geq 0.98$

❖ PRECISION DEL SISTEMA

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

Criterio de Aceptación:  $CV \leq 1.5\%$

❖ LINEALIDAD DEL METODO

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos 3 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 finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100%.

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

Criterio de Aceptación:  $CV \leq 3\%$   
 $m \approx 1$   
 $b \approx 0$   
 $r^2 \geq 0.98$   
Recobro = 97 - 103%

❖ **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 Aceptación:  $CV \leq 3\%$

❖ **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 Aceptación:  $CV \leq 3\%$

❖ **ESTABILIDAD DE LA MUESTRA**

Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis Iniciales de tres muestras con los obtenidos en las mismas 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 (Castañeda, 1991).

Criterio de aceptación: IC = Debe incluir el valor cero  
I = 97 - 103%



### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad se tiene un amplio conocimiento acerca del requerimiento que tienen los organismos vivos de los minerales y la manera de como deben ser suministrados.

La deficiencia o exceso de los minerales en los alimentos consumidos por el ser humano se manifiestan cuando se presenta algún malestar o enfermedad crónica.

Aunque los elementos minerales están presentes en una cantidad relativamente pequeña en los tejidos del organismo total, son esenciales en muchos fenómenos vitales.

El zinc es un elemento constituyente de varias enzimas y participa como cofactor en diversos procesos enzimáticos. Está involucrado en un rango amplio de actividades celulares, es de vital importancia en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

La determinación de zinc en fluidos biológicos como suero y plasma es importante para proporcionar datos y diagnosticar enfermedades ya que se sabe que cuando se presentan daños fisiológicos, éstos causan disturbios en el metabolismo del zinc, dando como resultado un aumento o una disminución de la concentración de este elemento; para esta evaluación la espectrofotometría de absorción atómica es una técnica que proporciona precisión, reproducibilidad, bajos límites de detección y especificidad.

En este trabajo se desarrolló un método analítico para la evaluación de los niveles de zinc en suero, utilizando la espectrofotometría de Absorción Atómica con llama. Esta técnica es específica, precisa y exacta, pero es necesario tener la seguridad de que el método analítico utilizado para la determinación de zinc en suero arroje resultados confiables, para esto se requiere la validación del método.

El desarrollo de este trabajo es importante pues permite determinar los valores de la concentración sérica de zinc, de un grupo de individuos aparentemente sanos de diferente edad y sexo de una zona conurbada al Distrito Federal.

Este trabajo es interesante desde el punto de vista de que no existen datos que indiquen los niveles de zinc en suero de una población mexicana.

## **IV. OBJETIVOS**

### **1. OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar y validar un método analítico para la evaluación del nivel de zinc en suero y su aplicación a una población de individuos de diferente edad y sexo en Ciudad Nezahualcoyotl.

### **2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Desarrollar un método analítico para determinar zinc en suero.
- Determinar la Linealidad y Precisión del Sistema.
- Determinar la Linealidad, Exactitud y Precisión del Método.
- Establecer el Límite de Detección y el Límite de Cuantificación.
- Determinar la Estabilidad de la muestra.
- Establecer el rango de concentración sérica de zinc de la población estudiada.
- Establecer si existe diferencia significativa según la edad y sexo, con respecto a la concentración de zinc en suero.

**V. HIPOTESIS**

Dado que el zinc entra al torrente sanguíneo por medio del tracto gastrointestinal principalmente y este se encuentra en el suero unido a la  $\alpha$ -macroglobulina y a los aminoácidos, entonces será posible evaluar su concentración sérica por Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama, después de obtener el suero de la sangre total.

## VI. MATERIAL Y METODO

### 1. MATERIAL

- ❖ Tubos de ensayo de 10 ml (Pyrex)
- ❖ Pipetas volumétricas de 1, 2, y 5 ml (Pyrex)
- ❖ Matraces aforados de 50 y 100 ml (Pyrex)
- ❖ Pipetas pasteur
- ❖ Embudo (Pyrex)
- ❖ Gradilla
- ❖ Perilla
- ❖ Piseta
- ❖ Jeringas

### 2. INSTRUMENTOS

- Ⓜ) Balanza analítica. (AINSWORTH. MODEL 100A)
- Ⓜ) Espectrofotómetro de Absorción Atómica. (PYE UNICAM SP-192)

### 3. EQUIPO

- ⊗ Centrífuga. (BECKMAN. MODEL TJ-6)
- ⊗ Lámpara de cátodo hueco para zinc. (PYE UNICAM)

#### 4. REACTIVOS

- ↳ Estándar de zinc. (Titrisol, Merck)
- ↳ Zn Atomic Absorption. Standard solution 1000 µg Zn/ml en 1% HCl. (Sigma)
- ↳ Agua desionizada.
- ↳ Aire comprimido (Presión de 2.8 Kg/cm)
- ↳ Acetileno (Presión de 0.8 Kg/cm)

#### 5. METODO GENERAL

Las muestras de sangre se toman de una población de diferente edad y sexo. Las muestras son tomadas al azar.

Se obtiene la sangre por punción en vena con jeringa (no utilizar Vacutainer), se deposita en tubos de ensayo para centrifuga y se separa el suero. Posteriormente se realiza una dilución del suero con agua desionizada, en una proporción de 1:1, se agita. Finalmente la muestra es sometida a un análisis por Espectrofotometría de Absorción atómica a una longitud de onda de 213.9 nm. Se prepara una curva de calibración de 20, 50 y 100 µg/dl con una solución estándar de zinc.

**TABLA 5.**  
**CONDICIONES PARA LA DETERMINACION DE ZINC EN SUERO.**

<b>ELEMENTO</b>	<b>ZINC</b>
<b>LONGITUD DE ONDA (λ)</b>	<b>213.9 nm</b>
<b>MEZCLA DE GASES</b>	<b>AIRE-ACETILENO</b>
<b>SISTEMA</b>	<b>NEBULIZADOR-QUEMADOR FLUJO LAMINAR</b>

## **6. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE VALIDACION**

### **6.1. LIMITES DE DETECCION Y CUANTIFICACION**

Se determinaron preparando una solución de 20  $\mu\text{g/dl}$ , posteriormente se realizaron 20 lecturas de absorbancia.

### **6.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA**

Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración vs absorbancia) utilizando las siguientes concentraciones: 10, 20, 50, 100, 150  $\mu\text{g/dl}$  de zinc. El análisis de cada dilución se hizo por duplicado.

### **6.3. PRECISION DEL SISTEMA**

Se determinó por el análisis sextuplicado de una misma solución con concentración de 50  $\mu\text{g/dl}$ .

### **6.4. LINEALIDAD DEL METODO**

Se determinó a partir de cantidades adicionadas de zinc correspondiente al 40, 100 y 150%, cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado. Tomando la concentración de 50  $\mu\text{g/dl}$  como el 100%.

### **6.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%**

Se determinó a partir de seis muestras, a cada una se les adicionó 50  $\mu\text{g/dl}$  de zinc (correspondiente al 100%). El análisis se hizo bajo las mismas condiciones de operación y por un analista.

### **6.6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)**

Se determinó a partir de una muestra homogénea de suero, adicionando una concentración de zinc correspondiente al 100% (50  $\mu\text{g/dl}$ ). Se analizó por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

### **6.7. ESTABILIDAD**

Se determinó mediante la comparación de los análisis iniciales con los obtenidos en 3 muestras después de permanecer 24 y 48 horas a temperatura ambiente y a 4°C. A las muestras iniciales se les adicionó una concentración de zinc que corresponde al 100% (50 µg/dl). Este análisis fue realizado por el mismo analista.

### **6.8. ESPECIFICIDAD**

Este parámetro no se determinó debido a que la técnica de absorción atómica con llama es altamente específica. La fuente de radiación es una lámpara de cátodo hueco para zinc, dicha fuente sólo emite las líneas espectrales propias para este elemento.

**VII. RESULTADOS**

**1. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION**

**TABLA 6.  
DATOS PARA LOS LIMITES DE DETECCION Y CUANTIFICACION.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>VALOR DE ABSORBANCIA</b>
1	0.022
2	0.022
3	0.022
4	0.022
5	0.022
6	0.023
7	0.022
8	0.022
9	0.022
10	0.022
11	0.023
12	0.022
13	0.022
14	0.022
15	0.021
16	0.023
17	0.022
18	0.022
19	0.022
20	0.021

**TABLA 7.  
LIMITES DE DETECCION Y CUANTIFICACION.**

<b>LIMITE DE DETECCION (LD)</b>	<b>LIMITE DE CUANTIFICACION (LC)</b>
LD = 1.3888 µg/dl	LC = 4.6294 µg/dl



**2. LINEALIDAD DEL SISTEMA**

**TABLA 8.  
DATOS PARA LA LINEALIDAD DEL SISTEMA.**

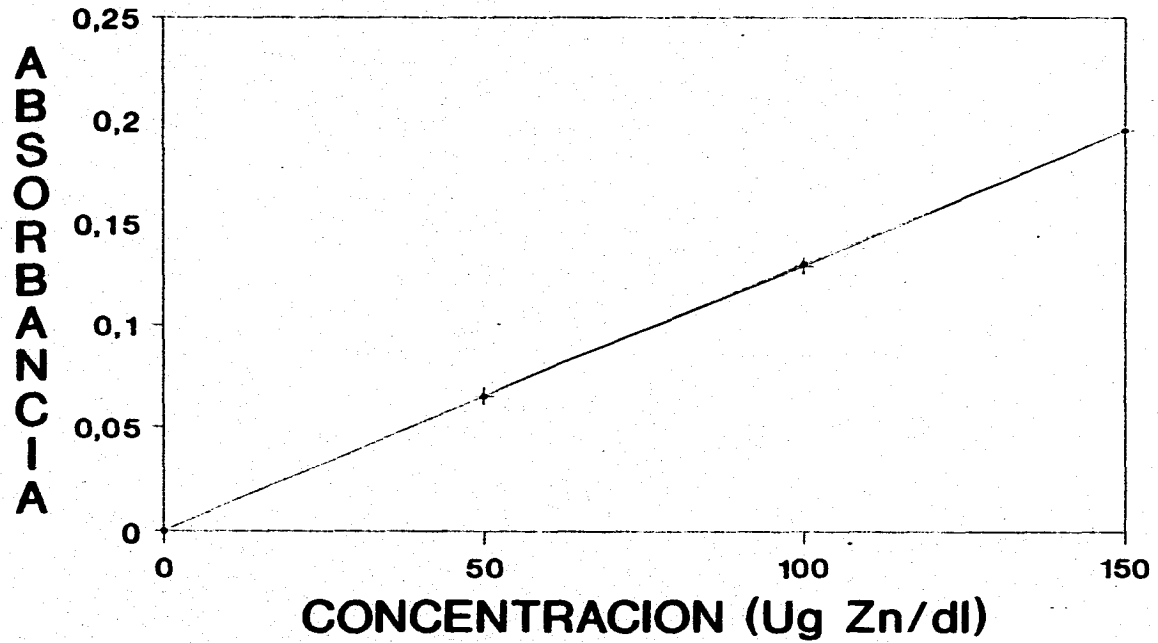
<b>CONC. (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>	<b>VALOR DE ABSORBANCIA</b>	<b>VALOR DE ABSORBANCIA</b>
10	0.013	0.013
20	0.026	0.026
50	0.065	0.064
100	0.130	0.139
150	0.196	0.194

**TABLA 9.  
RESULTADOS DE LA LINEALIDAD DEL SISTEMA.**

<b>CRITERIO DE ACEPTACION</b>	<b>VALOR EXPERIMENTAL</b>
$CV \leq 1.5\%$	$CV = 0.0013\%$
$r \geq 0.99$	$r = 0.9999$
$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9999$

∴ El sistema es lineal ya que cumple con los criterios de aceptación.

# LINEALIDAD DEL SISTEMA



GRAFICA No. 1. LINEALIDAD DEL SISTEMA  
PARA ZINC EN SUERO.

**3. PRECISION DEL SISTEMA**

**TABLA 10.  
DATOS PARA LA PRECISION DEL SISTEMA.**

<b>CONC. (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>	<b>VALOR DE ABSORBANCIA</b>
50	0.063
50	0.063
50	0.063
50	0.062
50	0.063
50	0.062

**TABLA 11.  
RESULTADOS DE LA PRECISION DEL SISTEMA.**

<b>CRITERIO DE ACEPTACION</b>	<b>VALOR EXPERIMENTAL</b>
$\text{CV} \leq 1.5\%$	$\text{CV} = 0.8249\%$

∴ El sistema es preciso ya que cumple con los criterios de aceptación.

4. LINEALIDAD DEL METODO

TABLA 12.  
DATOS PARA LA LINEALIDAD DEL METODO.

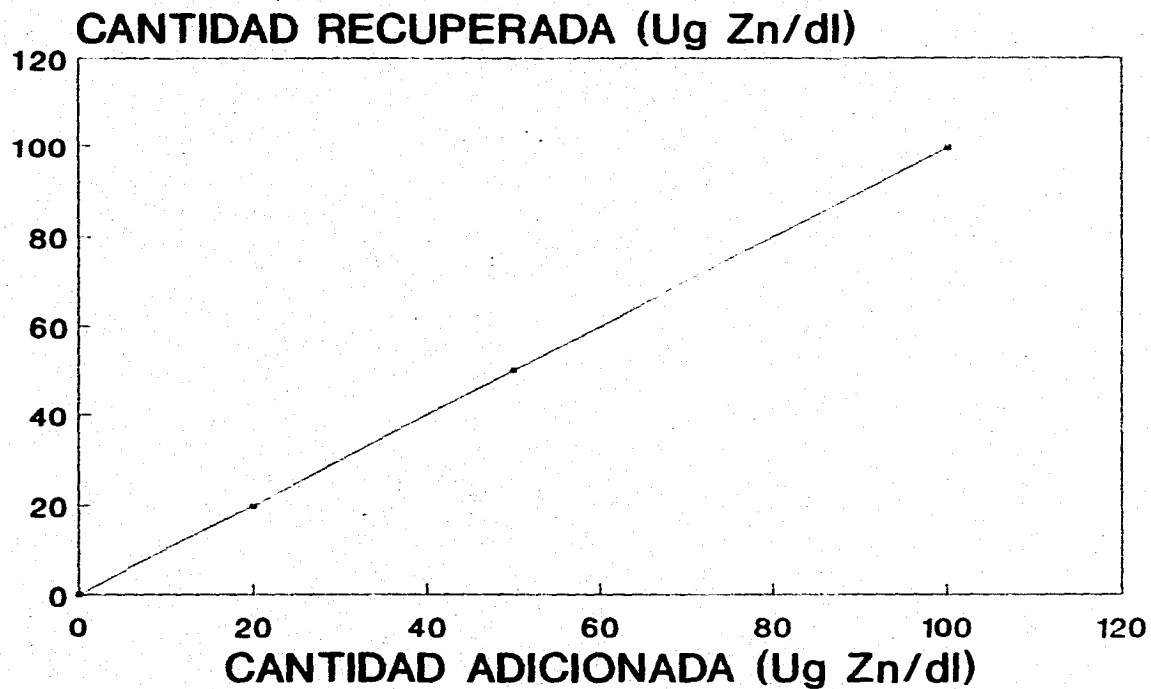
CANT. ADICIONADA ( $\mu\text{g/dl}$ )	CANT. RECUPERADA ( $\mu\text{g/dl}$ )	% RECOBRO
20	19.84	99.20
20	20.00	100.00
20	19.84	99.20
50	50.25	100.50
50	49.75	99.50
50	49.75	99.50
100	99.25	99.25
100	99.62	99.62
100	100.37	100.37

TABLA 13.  
RESULTADOS DE LA LINEALIDAD DEL METODO.

CRITERIO DE ACEPTACION	VALOR EXPERIMENTAL
$m = 1$	$m = 0.9980$
$b = 0$	$b = -0.0188$
$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 1.0011$
$CV \leq 3\%$	$CV = 0.4967\%$
$\%R = 97-100\%$	$\%R = 99.80\%$
$t_{-\alpha/2} < t_{cal} < t_{\alpha/2} (m)$	$-1.8595 < -0.1361 < 1.8595$
$t_{-\alpha/2} < t_{cal} < t_{\alpha/2} (b)$	$-1.8595 < -0.0004 < 1.8595$

- El método es lineal ya que cumple con los criterios de aceptación.
- Se acepta  $H_0$ . La pendiente es igual a uno.
- Se acepta  $H_0$ . La ordenada es igual a cero.

# LINEALIDAD DEL METODO



GRAFICA No. 2. LINEALIDAD DEL METODO  
PARA ZINC EN SUERO

5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

TABLA 14.  
DATOS PARA EXACTITUD Y REPETIBILIDAD.

CANT. ADICIONADA (µg/dl)	CANT. RECUPERADA (µg/dl)	% RECOBRO
50	49.47	98.94
50	49.47	98.94
50	49.47	98.94
50	48.94	97.88
50	49.47	98.94
50	48.94	97.88

TABLA 15.  
RESULTADOS DE EXACTITUD Y REPETIBILIDAD.

CRITERIO DE ACEPTACION	VALOR EXPERIMENTAL
CV ≤ 3%	CV = 0.4189%
%R = 97-103%	%R = 100.86%
$t_{cal} \leq t_{tab}$ (Exactitud)	-6.2720 < 2.1318
$\chi^2_{cal} < \chi^2_{tab}$ (Repetibilidad)	1.0215 < 11.070

∞ El método es exacto y repetible ya que cumple con los criterios de aceptación.

∞ 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  $\chi^2_{cal} < \chi^2_{tab}$ . Por lo tanto, el método es repetible por un mismo analista, entre determinaciones independientes.

6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

TABLA 16.  
DATOS PARA PRECISION.

DIA	ANALISTA 1	ANALISTA 2
1	0.094	0.094
1	0.093	0.094
1	0.093	0.093
2	0.093	0.094
2	0.094	0.094
2	0.094	0.094

TABLA 17.  
ANALISIS DE VARIANZA PARA PRECISION.

FUENTE DE VARIACION	ANALISTA (a)	DIA (d)	ERROR (e)
GRADOS DE LIBERTAD	g <sub>a</sub> = 1	g <sub>d</sub> = 1	g <sub>e</sub> = 11
SUMA DE CUADRADOS	SC <sub>a</sub> = 0.3745	SC <sub>d</sub> = 0.3745	SC <sub>e</sub> = 2.6218
MEDIA DE CUADRADOS	MC <sub>a</sub> = 0.3745	MC <sub>d</sub> = 0.3745	MC <sub>e</sub> = 0.2383
F <sub>cal</sub>	F <sub>a</sub> = 1.0000	F <sub>d</sub> = 1.5715	
F <sub>tab</sub>	F <sub>a</sub> = 161.4	F <sub>d</sub> = 4.84	

**TABLA 18.  
RESULTADOS DE PRECISION.**

<b>CRITERIO DE ACEPTACION</b>	<b>VALOR EXPERIMENTAL</b>
$CV \leq 3\%$	$CV = 0.4050\%$
$F_a < F_{tab}(a)$	$1 < 161.4$
$F_d < F_{tab}(d)$	$1.5715 < 4.84$

- ✧ El método es reproducible ya que cumple con el criterio de aceptación.
- ✧ El método analítico es reproducible por dos analistas.
- ✧ El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.



7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

TABLA 19.  
DATOS PARA LA ESTABILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE.

INICIAL (µg/dl)	TEMP. AMB./24 HRS. (µg/dl)	TEMP. AMB./48 HRS. (µg/dl)
100.00	95.78	73.68
100.00	95.78	73.68
98.92	94.72	72.62

TABLA 20.  
RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE.

CONDICIONES	CRITERIO DE ACEPTACION	VALOR EXPERIMENTAL
TA/24 HRS.	INTERVALO DE CONFIANZA (IC) Debe incluir el valor cero.	IC = -27.0410 a -3.0355
TA/24 HRS.	FACTOR I = 97-103%	I = 95.77%
TA/48 HRS.	INTERVALO DE CONFIANZA (IC) Debe incluir el valor cero.	IC = -27.0410 a -25.5858
TA/48 HRS.	FACTOR I = 97-103%	I = 73.59%

∴ La muestra no es estable en condiciones ambientales por 24 horas, ya que en el intervalo de confianza no se incluye el valor cero, además el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97 y 103%.

∴ La muestra no es estable en condiciones ambientales por 48 horas, ya que en el intervalo de confianza no se incluye el valor cero, además el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97 y 103%.

**TABLA 21.**  
**DATOS PARA LA ESTABILIDAD A 4°C**

INICIAL (µg/dl)	4°C/24 HRS. (µg/dl)	4°C/48 HRS. (µg/dl)
98.92	95.78	74.72
98.92	95.78	74.72
98.92	94.72	73.68

**TABLA 22.**  
**RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD A 4°C.**

CONDICIONES	CRITERIO DE ACEPTACION	VALOR EXPERIMENTAL
4°C/24 HRS.	INTERVALO DE CONFIANZA (IC) Debe incluir el valor cero.	IC = -5.0312 a -2.6755
4°C/24 HRS.	FACTOR I = 97-103%	I = 96.11%
4°C/48 HRS.	INTERVALO DE CONFIANZA (IC) Debe incluir el valor cero.	IC = -26.0735 a -23.7398
4°C/48 HRS.	FACTOR I = 97-103%	I = 74.91%

∞ La muestra no es estable en condiciones de refrigeración por 24 horas, ya que en el intervalo de confianza no se incluye el valor cero, además el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97 y 103%.

∞ La muestra no es estable en condiciones de refrigeración por 48 horas, ya que en el intervalo de confianza no se incluye el valor cero, además el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97 y 103%.

TABLA 23.  
RESULTADOS DE LA VALIDACION.

PARAMETRO	VALOR EXPERIMENTAL	CRITERIO DE ACEPTACION
LIMITE DE DETECCION	1.3888 µg/dl	
LIMITE DE CUANTIFICACION	4.6294 µg/dl	
LINEALIDAD DEL SISTEMA	CV = 0.0013 r = 0.9999 r <sup>2</sup> = 0.9999	CV ≤ 1.5% r ≥ 0.99 r <sup>2</sup> ≥ 0.98
PRECISION DEL SISTEMA	CV = 0.8249	CV ≤ 1.5%
LINEALIDAD DEL METODO	m = 0.9980 b = -0.0188 r <sup>2</sup> = 1.0011 CV = 0.4967% %R = 99.68% Para m: -1.8595 < -0.1361 < 1.8595 Para b: -1.8595 < -0.0004 < 1.8595	m = 1 b = 0 r <sup>2</sup> ≥ 0.98 CV ≤ 3% %R = 97 - 103% Para m y b: t-α/2 < tcal < tα/2 (m) t-α/2 < tcal < tα/2 (b)
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	CV = 0.4189% %R = 100.86% Para exactitud: -6.2720 < 2.1318 Para repetibilidad: 1.0215 < 11.070	CV ≤ 3% %R = 97 - 103% Para exactitud: tcal ≤ tiab Para repetibilidad: χ <sup>2</sup> cal < χ <sup>2</sup> tab
PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	CV = 0.4050% Para el analista: 1 < 161.4 Para el día: 1.5715 < 4.84	CV ≤ 3% Para el analista: Fa < Ftab(a) Para el día: Fd < Ftab(d)
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA	Para TA/24 y 48 HRS.: IC = -27.0410 a -3.0355 I = 95.77 IC = -27.0410 a -25.5858 I = 73.59% Para 4°C/24 y 48 HRS.: IC = -5.0312 a -2.6755 I = 96.11% IC = -26.0735 a -23.7398 I = 74.91%	IC = Debe incluir el valor cero. I = 97 - 103%

**8. NIVELES DE ZINC EN LA POBLACION ESTUDIADA**

**TABLA 24.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 0 Y 10**  
**AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>
1	3	107.59	5	4	115.15
2	3	135.55	6	5	68.18
3	3	87.03	7	7	95.16
4	3	111.76	8	10	76.66

**TABLA 25.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 11 Y 20**  
**AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>
1	12	125.35	6	19	85.15
2	12	124.24	7	20	107.57
3	18	97.18	8	20	111.11
4	19	70.58	9	20	88.88
5	19	105.55			

**TABLA 26.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 21 Y 30**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	21	59.09	23	24	111.11
2	21	109.09	24	24	90.32
3	21	103.70	25	24	100.00
4	22	112.06	26	24	100.00
5	22	87.93	27	24	84.48
6	22	110.74	28	24	75.86
7	22	93.94	29	25	102.82
8	22	80.65	30	25	98.48
9	22	90.90	31	25	98.18
10	22	77.77	32	25	96.07
11	22	80.21	33	25	83.13
12	22	75.36	34	26	101.61
13	23	82.75	35	26	78.11
14	23	76.06	36	27	70.00
15	23	85.45	37	27	114.81
16	23	78.83	38	28	115.49
17	23	87.93	39	29	71.11
18	24	134.48	40	29	96.29
19	24	100.00	41	29	103.70
20	24	90.14	42	30	107.93
21	24	126.76	43	30	82.54
22	24	112.68			

**TABLA 27.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 31 Y 40**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	31	62.50	7	35	127.77
2	31	85.41	8	37	113.63
3	32	96.96	9	38	94.89
4	34	116.18	10	39	83.87
5	35	84.48	11	40	60.34
6	35	98.36			

**TABLA 28.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 41 Y 50**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	41	81.81	8	47	86.36
2	42	71.21	9	47	88.88
3	43	51.72	10	47	90.74
4	43	112.96	11	49	77.27
5	43	103.92	12	50	95.55
6	44	157.57	13	50	87.27
7	46	109.52			

**TABLA 29.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 51 Y 60**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
1	51	104.41	11	58	70.59
2	51	88.71	12	58	137.57
3	51	125.92	13	58	100.00
4	52	101.51	14	58	65.15
5	53	111.11	15	59	88.88
6	53	109.25	16	60	87.50
7	53	120.37	17	60	58.33
8	55	109.52	18	60	110.76
9	55	93.93	19	60	72.73
10	57	96.07	20	60	120.37

**TABLA 30.**  
**POBLACION MASCULINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 61 Y 70**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
1	63	83.33	10	65	83.63
2	64	85.29	11	65	78.18
3	64	84.84	12	65	114.81
4	64	86.66	13	65	112.96
5	64	111.11	14	66	72.72
6	65	104.61	15	67	69.70
7	65	133.10	16	69	120.20
8	65	138.09	17	69	98.48
9	65	132.38			

**TABLA 31.**  
**POBLACION MASCULINA CON EDAD MAYOR DE 70 AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>
1	74	124.61	3	83	107.69
2	74	83.33	4	84	81.08

**TABLA 32.**  
**POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 0 Y 10 AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>
1	4	105.20	7	7	109.90
2	5	61.45	8	8	90.90
3	5	107.40	9	9	119.70
4	6	62.07	10	9	117.77
5	7	90.74	11	10	77.77
6	7	116.54	12	10	95.10



**TABLA 33.**  
**POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 11 Y 20**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	11	71.43	20	18	72.72
2	15	118.75	21	18	78.18
3	16	81.81	22	18	83.33
4	18	84.12	23	18	120.37
5	17	122.22	24	19	128.05
6	17	72.72	25	19	131.70
7	17	114.90	26	19	119.70
8	17	100.00	27	19	145.09
9	17	95.55	28	19	72.72
10	17	80.00	29	20	114.08
11	17	88.88	30	20	88.73
12	17	100.00	31	20	80.33
13	17	107.84	32	20	78.78
14	18	110.79	33	20	76.36
15	18	123.95	34	20	112.73
16	18	115.38	35	20	92.59
17	18	102.86	36	20	116.66
18	18	100.00	37	20	100.00
19	18	63.64			

TABLA 34.  
POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 21 Y 30  
AÑOS.

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	21	52.94	38	23	81.81
2	21	59.09	39	23	77.77
3	21	51.58	40	23	114.81
4	21	100.00	41	23	125.47
5	21	95.16	42	23	81.81
6	21	85.45	43	24	122.41
7	21	90.74	44	24	56.90
8	21	125.92	45	24	66.67
9	21	125.92	46	24	121.21
10	21	111.11	47	24	121.96
11	21	112.96	48	24	71.21
12	21	107.40	49	24	56.06
13	21	88.88	50	24	65.15
14	21	83.83	51	24	80.95
15	22	115.32	52	24	102.22
16	22	63.63	53	24	109.68
17	22	60.34	54	24	118.51
18	22	80.30	55	24	125.52
19	22	54.54	56	24	112.96
20	22	63.64	57	24	125.17
21	22	74.24	58	24	72.87
22	22	95.45	59	25	83.21
23	22	69.69	60	25	68.61
24	22	108.06	61	25	80.30
25	22	85.45	62	25	100.00
26	22	94.49	63	25	81.81
27	22	83.33	64	25	65.15
28	22	111.11	65	26	122.22
29	23	102.15	66	26	55.55
30	23	132.41	67	26	89.09
31	23	83.33	68	26	72.72
32	23	90.90	69	27	129.49
33	23	115.49	70	27	96.40
34	23	65.15	71	27	92.59
35	23	77.77	72	27	95.08
36	23	74.54	73	27	72.73
37	23	81.81	74	27	120.37

**TABLA 34.  
(CONTINUACION)**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (<math>\mu\text{g}/\text{dl}</math>)</b>
75	28	125.35	84	29	84.48
76	28	91.55	85	30	127.00
77	28	70.42	86	30	82.35
78	28	71.72	87	30	75.55
79	28	84.31	88	30	111.29
80	29	119.86	89	30	85.16
81	29	83.33	90	30	77.77
82	29	71.66	91	30	86.36
83	29	79.62	92	30	125.92

**TABLA 35.**  
**POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 31 Y 40**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	31	100.00	31	36	122.22
2	31	75.41	32	36	77.77
3	31	77.05	33	36	109.25
4	32	133.33	34	36	96.29
5	32	98.27	35	36	90.74
6	32	96.55	36	37	128.57
7	32	68.67	37	37	93.55
8	32	77.42	38	37	78.18
9	32	79.62	39	37	112.96
10	32	94.44	40	37	101.85
11	32	100.00	41	38	87.87
12	33	103.59	42	38	129.58
13	33	83.09	43	38	83.87
14	33	115.15	44	38	78.18
15	33	79.03	45	38	88.23
16	33	85.16	46	38	116.66
17	33	94.44	47	39	118.96
18	33	120.37	48	40	72.99
19	34	114.28	49	40	87.50
20	34	104.84	50	40	90.72
21	34	111.11	51	40	90.90
22	35	122.22	52	40	63.64
23	35	97.87	53	40	101.48
24	35	53.03	54	40	98.41
25	35	88.33	55	40	138.01
26	35	122.22	56	40	100.00
27	35	100.00	57	40	90.90
28	36	119.70	58	40	75.75
29	36	96.77	59	40	81.48
30	36	81.48	60	40	112.96

**TABLA 36.**  
**POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 41 Y 50**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	41	137.14	29	47	105.03
2	41	80.30	30	47	90.51
3	41	98.03	31	47	91.18
4	41	70.96	32	47	69.79
5	41	85.18	33	47	88.23
6	41	77.77	34	47	84.85
7	42	108.02	35	47	118.31
8	42	108.33	36	47	93.55
9	42	126.15	37	48	82.01
10	42	89.23	38	48	94.89
11	42	106.15	39	48	98.52
12	42	85.71	40	48	95.08
13	42	107.40	41	48	99.31
14	43	74.24	42	48	109.52
15	43	77.46	43	48	76.36
16	43	82.53	44	48	87.03
17	43	71.21	45	48	100.00
18	43	83.87	46	49	73.23
19	43	90.74	47	49	57.58
20	43	96.29	48	49	95.45
21	44	76.65	49	49	95.23
22	44	113.64	50	49	105.54
23	44	77.77	51	49	93.23
24	44	65.18	52	49	101.61
25	44	85.16	53	49	76.66
26	45	112.96	54	49	120.37
27	46	74.82	55	49	83.33
28	46	90.62			

**TABLA 37.**  
**POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 51 Y 60**  
**AÑOS.**

No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)	No. DE MUESTRA	EDAD (AÑOS)	CONC. (µg/dl)
1	52	128.12	31	56	72.06
2	52	103.12	32	57	78.46
3	52	120.83	33	57	81.81
4	52	80.00	34	57	83.33
5	52	98.41	35	57	79.62
6	52	77.42	36	58	92.70
7	53	116.54	37	58	69.12
8	53	107.57	38	58	52.94
9	53	107.40	39	58	106.06
10	54	76.25	40	58	89.39
11	54	102.15	41	58	76.97
12	54	64.74	42	58	72.73
13	54	108.33	43	58	75.75
14	54	81.53	44	58	76.76
15	54	129.31	45	58	98.15
16	54	145.09	46	59	110.29
17	54	73.33	47	59	92.49
18	54	81.81	48	59	109.86
19	54	86.15	49	59	90.16
20	54	100.00	50	59	71.21
21	55	118.18	51	59	134.44
22	55	77.57	52	59	88.88
23	55	118.31	53	60	78.08
24	55	96.97	54	60	63.63
25	55	130.58	55	60	98.48
26	55	109.25	56	60	63.44
27	55	96.07	57	60	92.41
28	56	65.15	58	60	87.10
29	56	60.29	59	60	75.54
30	56	112.68	60	60	81.48

**TABLA 38.  
POBLACION FEMENINA CON INTERVALO DE EDAD ENTRE 61 Y 70  
AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>
1	61	134.28	23	66	68.19
2	61	105.55	24	66	96.74
3	61	98.41	25	67	106.06
4	62	80.00	26	67	111.11
5	62	67.84	27	67	90.74
6	62	81.81	28	68	86.15
7	62	62.12	29	68	113.51
8	62	127.77	30	68	91.38
9	62	90.74	31	68	84.70
10	63	107.29	32	68	61.76
11	63	109.37	33	68	78.43
12	63	109.86	34	68	74.54
13	63	101.41	35	68	85.16
14	63	81.48	36	68	81.48
15	64	131.27	37	68	124.61
16	65	127.08	38	69	100.69
17	65	130.20	39	69	134.92
18	65	107.04	40	69	124.07
19	65	115.68	41	69	91.72
20	65	85.45	42	69	81.48
21	65	87.03	43	69	88.33
22	66	58.82	44	69	85.18

**TABLA 39.**  
**POBLACION FEMENINA CON EDAD MAYOR DE 70 AÑOS.**

<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>	<b>No. DE MUESTRA</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>CONC. (µg/dl)</b>
1	71	77.08	10	81	101.85
2	71	94.12	11	82	88.88
3	71	90.74	12	85	97.91
4	73	105.20	13	85	105.97
5	74	87.03	14	85	54.54
6	75	61.45	15	86	88.88
7	76	66.66	16	88	88.71
8	79	127.77	17	90	94.44
9	80	68.18			



**TABLA 40.**  
**MEDIAS DE LOS GRUPOS ETARIOS MASCULINOS.**

No. DE GRUPO ETARIO	INTERVALO DE EDAD	MEDIA (X) (µg/dl)
1	0 - 10	99.635
2	11 - 20	101.734
3	21 - 30	93.989
4	31 - 40	93.126
5	41 - 50	93.444
6	51 - 60	98.634
7	61 - 70	100.518
8	> 70	98.177

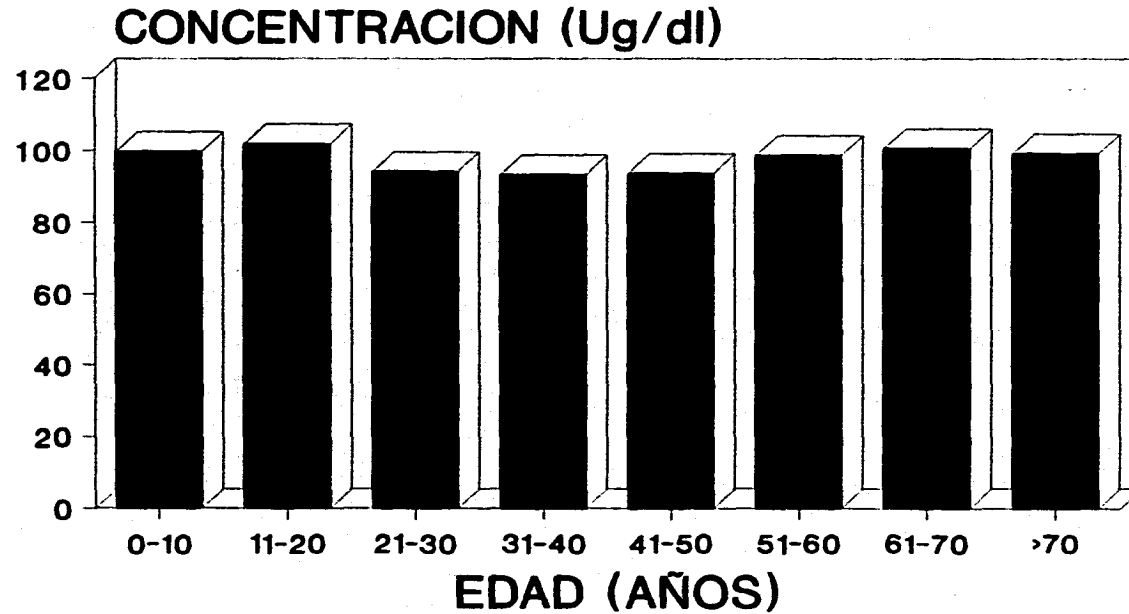
**TABLA 41.**  
**MEDIAS DE LOS GRUPOS ETARIOS FEMENINOS.**

No. DE GRUPO ETARIO	INTERVALO DE EDAD	MEDIA (X) (µg/dl)
1	0 - 10	96.212
2	11 - 20	99.917
3	21 - 30	88.850
4	31 - 40	96.881
5	41 - 50	91.636
6	51 - 60	92.265
7	61 - 70	97.840
8	> 70	88.292

Después de analizar las muestras, se encontró que la concentración media de zinc en el suero del total de los individuos estudiados fué de:

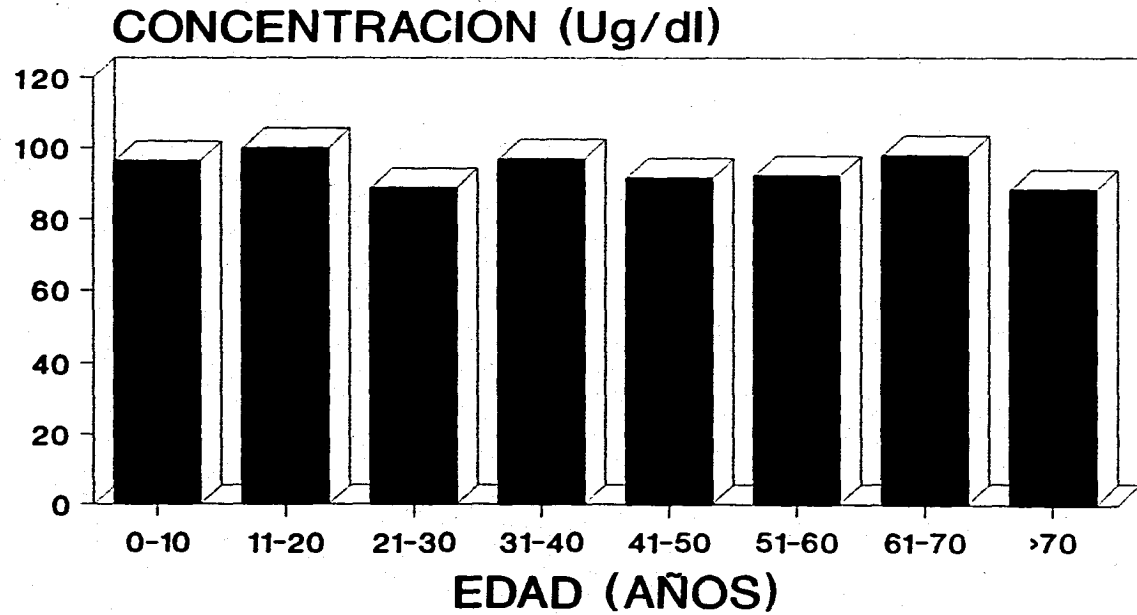
94.38 ± 20.01 µg/dl.

# CONCENTRACION MEDIA DE ZINC EN SUERO PARA LA POBLACION MASCULINA



GRAFICA No.3. CONCENTRACION MEDIA DE  
ZINC EN SUERO EN LOS DIFERENTES RANGOS  
DE EDAD.

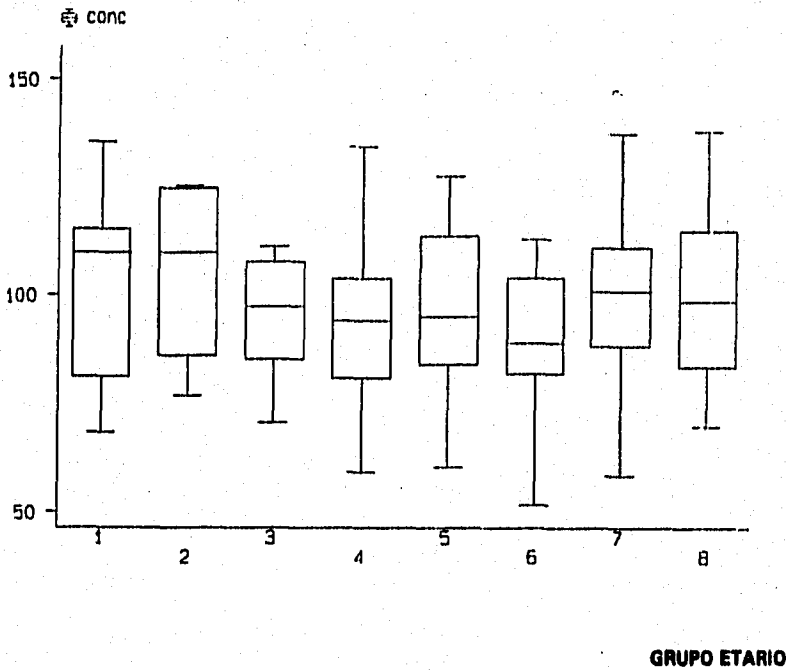
# CONCENTRACION MEDIA DE ZINC EN SUERO PARA LA POBLACION FEMENINA



GRAFICA No. 4. CONCENTRACION MEDIA DE  
ZINC EN SUERO EN LOS DIFERENTES RANGOS  
DE EDAD.

**TABLA 42.**  
**ANALISIS DE VARIANZA PARA LA POBLACION MASCULINA.**

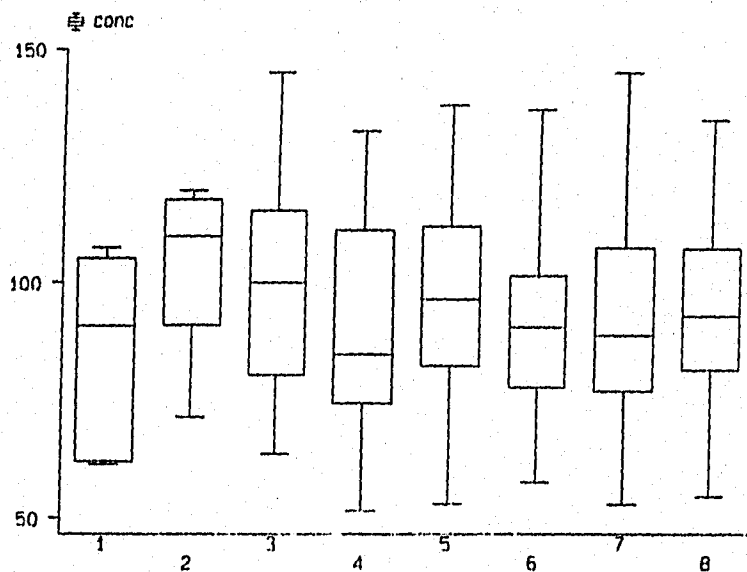
FUENTE DE VARIACION	GRUPOS POR EDADES	ERROR
GRADOS DE LIBERTAD	gl = 7	gl = 177
SUMA DE CUADRADOS	SC = 1510.4229	SC = 46242.9245
MEDIA DE CUADRADOS	MC = 215.7747	MC = 395.2386
Fcal	F = 0.7980	
Ftab	F = 0.55	



**GRAFICA No. 5. COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE ZINC EN LOS DIFERENTES RANGOS DE EDAD DE LA POBLACION MASCULINA.**

**TABLA 43.**  
**ANALISIS DE VARIANZA PARA LA POBLACION FEMENINA.**

FUENTE DE VARIACION	GRUPOS POR EDADES	ERROR
GRADOS DE LIBERTAD	gl = 7	gl = 373
SUMA DE CUADRADOS	SC = 3894.7130	SC = 149390.2420
MEDIA DE CUADRADOS	MC = 556.3875	MC = 400.5100
Fcal	F = 0.2084	
Ftab	F = 1.39	



GRUPO ETARIO

**GRAFICA No. 6. COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE ZINC EN LOS DIFERENTES RANGOS DE EDAD DE LA POBLACION FEMENINA.**

**TABLA 44.**  
**ANALISIS DE VARIANZA PARA LA POBLACION TOTAL**

FUENTE DE VARIACION	GRUPOS POR EDADES	GRUPOS POR SEXO	ERROR
GRADOS DE LIBERTAD	gl = 7	gl = 1	gl = 497
SUMA DE CUADRADOS	SC = 3800.7290	SC = 903.1570	SC = 197237.5700
MEDIA DE CUADRADOS	MC = 542.9614	MC = 903.1570	MC = 396.8562
F <sub>cal</sub>	F = 0.2166	F = 0.1320	
F <sub>tab</sub>	F = 1.37	F = 2.28	

Ho = F<sub>cal</sub> < F<sub>tab</sub>      No hay diferencia significativa  
 Ha = F<sub>cal</sub> > F<sub>tab</sub>      Si hay diferencia significativa

Para los grupos de edad del sexo masculino:

Ho = 0.7980 > 0.55  
 Ha = 0.7980 > 0.55

Decisión:

Como F<sub>cal</sub> es mayor que F<sub>tab</sub> se rechaza Ho, pero debido a que se trata de valores muy pequeños se considera que no hay diferencia significativa entre los grupos de edad del sexo masculino.

Para los grupos de edad del sexo femenino:

Ho = 0.2084 < 1.39  
 Ha = 0.2084 < 1.39

Decisión:

Como F<sub>cal</sub> es menor que F<sub>tab</sub> se acepta Ho por lo que se concluye que no hay diferencia significativa entre los grupos de edad del sexo femenino.

## **RESULTADOS**

---

**Para todos los grupos de edad (incluyendo masculinos y femeninos):**

$$H_0 = 0.2166 < 1.37$$

$$H_a = 0.2166 < 1.37$$

**Decisión:**

Como  $F_{cal}$  es menor que  $F_{tab}$  se acepta  $H_0$  por lo que se concluye que no hay diferencia significativa entre los grupos de edad de la población estudiada.

**Para ambos sexos:**

$$H_0 = 0.1320 < 2.28$$

$$H_a = 0.1320 < 2.28$$

**Decisión:**

Como  $F_{cal}$  es menor que  $F_{tab}$  se acepta  $H_0$  por lo que se concluye que no hay diferencia significativa entre el sexo masculino y el femenino.

**VII. ANALISIS DE RESULTADOS**

Para la determinación de zinc en suero se encontró que el Límite de Detección fue de 1.388  $\mu\text{g/dl}$ , este dato es de gran importancia analítica ya que describe la capacidad del instrumento y proporciona una forma de estimar el valor de la concentración mínima detectada del analito y que puede ser diferenciada de las variaciones instrumentales.

Para este método se determinó el valor del Límite de Cuantificación de 4.629  $\mu\text{g/dl}$ , este valor al igual que el anterior es característico del método en particular y se utiliza para definir el límite más bajo de rango útil para el método seleccionado e indica la mínima cantidad que puede ser cuantificada. La certeza en la cuantificación del analito aumenta en tanto que la señal del analito rebasa la señal del límite de detección.

La validación de un método analítico proporciona la confianza para tener la certeza de que el método cumple con los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas y por lo tanto, tiene la capacidad de dar resultados adecuados y confiables.

El sistema se validó y se determinó que es lineal y preciso ya que los valores experimentales están de acuerdo con los criterios de aceptación. Lo que indica que la propiedad medida, en este caso la Absorbancia, es proporcional a la concentración del zinc dentro del intervalo de 10 a 150  $\mu\text{g/dl}$ .

Para la Linealidad del Método se obtuvo un valor del coeficiente de variación de 0.4967% ( $\leq 3\%$ ) y  $r^2$  1.0011 ( $\geq 0.98$ ). Los resultados obtenidos indican que el método es lineal para la determinación de la concentración de zinc presente en el suero y en presencia de otras sustancias y elementos típicos de la muestra, en un intervalo que va de 20 a 100  $\mu\text{g/dl}$ .

En la determinación de la Exactitud del Método se obtuvo un valor para el Coeficiente de Variación de 0.4189%, ( $\leq 3\%$ ) y el Porcentaje de Recobro de 100.86% (97-103%), estos resultados nos indican que el método resultó ser exacto, lo que da una idea de la concordancia que hay entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



El hecho de que los valores para la Repetibilidad esten de acuerdo con los criterios de aceptación, indica la capacidad del método para realizarlo cuantas veces sea necesario, siempre y cuando se lleve a cabo bajo las mismas condiciones. El método utilizado en este trabajo cumple con este parámetro.

El método analítico es reproducible por dos analistas y por un analista en dos días diferentes, esto se puede asegurar ya que el valor obtenido para la F calculada fue de 1.00 y el valor para la F de tablas fue de 161.4, estos valores están de acuerdo al criterio de aceptación establecido ( $F_{calc} < F_{tab}$ ), de igual manera el Coeficiente de Variación cumple con el criterio establecido ya que obtuvo un valor de 0.4050% ( $\leq 3\%$ ), lo que asegura que el método es reproducible bajo condiciones diferentes. Esto da una idea de la concordancia entre determinaciones independientes realizadas en diferentes días, laboratorios, analistas y equipo.

Los datos estadísticos para la determinación de la estabilidad de la muestra analítica bajo diferentes condiciones de almacenamiento, indicaron que esta, no es estable a condiciones ambientales por 24 y 48 horas, así como, tampoco a 4°C por 24 y 48 horas, los resultados muestran una variación con respecto a la primera evaluación bajo las condiciones establecidas.

Después de efectuar las determinaciones de los niveles de concentración de Zinc en muestras séricas procedentes de 506 individuos, entre los que se incluyen niños, adultos y ancianos todos de ambos sexos, se procedió a realizar un Análisis de Varianza para establecer si existía diferencia estadísticamente significativa entre las muestras provenientes de individuos del mismo sexo pero diferente grupo etario, en ambos casos tanto en el sexo femenino como el masculino después del análisis estadístico correspondiente no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa, finalmente se procedió a la comparación de todos los datos independientemente del sexo del individuo de donde procede la muestra, solo formando grupos por edades, y con base en el análisis estadístico aplicado se demuestra que los niveles de zinc analizados no presentan variaciones significativamente estadística con respecto a los grupos etarios y al sexo.

La concentración promedio de zinc en suero para la población procedente de la Zona conurbada de Ciudad Nezahualcoyotl, México, fue de  $94.38 \pm 20.01$   $\mu\text{g/dl}$ .

Los resultados en este trabajo independientemente del sexo y la edad demuestran que los niveles del zinc para los sujetos estudiados son comparables con los datos reportados por investigadores de otros países que emplearon esta misma técnica de Absorción Atómica. Se observan diferencias importantes con los datos reportados por investigadores de otros países que emplearon el método de la Dítizona.

Se considera que la data poblacional utilizada en este trabajo no difiere significativamente de lo realizado en otras latitudes, a pesar de las posibles diferencias dietéticas y ambientales que pudieran presentarse entre las poblaciones estudiadas.

**X. CONCLUSIONES**

- ★ El Límite de Detección que se obtuvo para éste Método fue de 1.3886  $\mu\text{g/dl}$ .
- ★ El Límite de Cuantificación tiene un valor de 4.6294  $\mu\text{g/dl}$ .
- ★ El Sistema es lineal en un intervalo de concentración de 10 a 150  $\mu\text{g/dl}$ .
- ★ El Sistema es preciso ya que el Coeficiente de Variación obtenido durante el análisis fue de 0.8299%.
- ★ El Método Analítico es lineal pues las variables medidas caen dentro del Criterio de Aceptación.
- ★ El Método es exacto ya que el Coeficiente de Variación está dentro del Criterio de Aceptación.
- ★ El Método es preciso y reproducible por dos analistas.
- ★ El Método es preciso y reproducible por un mismo analista en dos días diferentes.
- ★ La muestra analítica no es estable a temperatura ambiente por 24 y 48 horas.
- ★ La muestra analítica no es estable a 4°C por 24 y 48 horas.
- ★ No existe diferencia estadísticamente significativa en los niveles de zinc entre los grupos etarios.
- ★ No existe diferencia estadísticamente significativa en los niveles de zinc entre hombres y mujeres.

★ La concentración promedio de zinc para la población general fue de  $94.38 \pm 20.01 \mu\text{g/dl}$ .

★ De acuerdo a lo anterior, se concluye que este Método Analítico puede ser utilizado para la determinación de zinc en suero con la certeza de que proporcionará resultados confiables.

**X. BIBLIOGRAFIA**

1. Agte, V. APPARENT ABSORPTION OF COPPER AND ZINC FROM COMPOSITE VEGETARIAN DIETS IN YOUNG INDIAN MEN. Ann. Nutr. Metab. (1994). 38:13-19.
2. Araud, J. EFFECT OF IRON SUPPLEMENTATION DURING PREGNACY ON TRACE ELEMENT (Cu, Se, Zn) CONCENTRATIONS IN SERUM AND BREAST MILK FROM NIGERIEN WOMEN. Ann. Nutr. Metab. (1993). 37:262-271.
3. Beaty, R. B. ABSORCION ATOMICA. Perkin Elmer Corporation. (1979).
4. Beaty, R. B. CONCEPTOS, INSTRUMENTACION Y TECNICAS DE ESPECTROFOTOMETRIA POR ABSORCION ATOMICA. Perkin Elmer Corporation. U.S.A., 1979.
5. Berman, E. TOXIC METALS AND THEIR ANALYSIS. Ed. Heyden. Londres, 1980.
6. Bowman, W. C. TEXTBOOK OF PHARMACOLOGY. 2a. edición, Blackwell Scientific Publications. Londres, 1986.
7. Brandao-Neto, J. CHARACTERISTICS OF ZINC BINDING TO HUMAN RED BLOOD CELL MEMBRANES. Am. J. Hemat. (1994). 45:1-9.
8. Brief, N. NORMAL VALUES AND COMPARISON OF TWO SPECTROPHOTOMETRIC METHODS FOR DETERMINATION OF ZINC IN SERUM. Clin. Chim. Acta. (1969). 25:478-479.
9. Browning, E. TOXICITY OF INDUSTRIAL METALS. 2a. edición, Butterworth and Company. Londres, 1969.
10. Carson, E. M. TOXICOLOGY AND BIOLOGICAL MONITORING OF METAL IN HUMANS; INCLUDING FEASIBILITY AND NEED. Lewis Publishers. E.U.A., 1986.
11. Cassel, C. K. GERIATRIC MEDICINE. 2a. edición, Springer Verlag. E.U.A., 1984.

12. Castañeda, P. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de Control de Insumos Para la Salud. SSA, 1991.
13. Couzy, F. ZINC ABSORPTION IN HEALTHY ELDERLY HUMANS AND THE EFFECT OF DIET. Am. J. Clin. Nutr. (1993). 58:690-694.
14. Curtis, D. TOXICOLOGY. 3a. edición, McMillan Publishing Co. E.U.A., 1986.
15. Dawson, J. B. DIRECT DETERMINATION OF ZINC IN WHOLE BLOOD, PLASMA AND URINE BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. Clin. Chim. Acta. (1969). 26:465-475.
16. Derache, R. TOXICOLOGIA Y SEGURIDAD DE LOS ALIMENTOS. Omega, S. A. España, 1990.
17. Duchateau, J., et al. BENEFICIAL EFFECTS OF ORAL ZINC SUPPLEMENTATION ON THE IMMUNE RESPONSE OF OLD PEOPLE. Am. J. Med. (1981). 70:1001-1004.
18. Egan, B. C. ZINC ABSORPTION IN WOMEN: COMPARISON OF INTRINSIC AND EXTRINSIC STABLE ISOTOPE LABELS. Am. J. Clin. Nutr. (1991). 53:547-553.
19. Fairhall, L. T. INDUSTRIAL TOXICOLOGY. 2a. edición. The William & Wilkins Company. E.U.A., 1975. 376 pag.
20. Frambach, D. A., et al. ZINC SUPPLEMENTATION AND ANEMIA. JAMA. (1991). 265(7):869.
21. Gossel, T. A. PRINCIPLES OF CLINICAL TOXICOLOGY. 2a. edición, Raven Press. E.U.A., 1990.
22. Greist, A., et al. EXCESSIVE ZINC INGESTION. JAMA. (1990). 264:1441-1443.
23. Hambidge, M. K. UPPER LIMITS OF ZINC, COPPER AND MANGANESE IN INFANT FORMULAS. J. Nutr. (1989). 119:1861-1864.
24. Han, O. INOSITOL PHOSPHATES INHIBIT UPTAKE AND TRANSPORT OF IRON AND ZINC BY A HUMAN INTESTINAL CELL LINE. J. Nutr. (1994). 124:580-587.

25. Harris, W. CALCULATIONS OF THE DISTRIBUTION OF ZINC IN A COMPUTES MODEL OF HUMAN SERUM. J. Nutr. (1989). 119:1677-1682.
26. Johanning, G. L. EFFECT OF ZINC DEFICIENCY AND FOOD RESTRICTION IN RATS ON ERYTHROCYTE MEMBRANE ZINC, PHOSPHOLIPID AND PROTEIN CONTENT. J. Nutr. (1989). 119:1654-1660.
27. Kelson, R. J. METHODS COMPARED FOR DETERMINING ZINC IN SERUM BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. Clin. Chem. (1978). 24:240-244.
28. Klaassen, C. D. TOXICOLOGY. 2a. edición, McMillan Publishing Co. E.U.A., 1980.
29. Kuhnert, B. R., et al. SMOKING ALTERS THE RELATIONSHIP BETWEEN MATERNAL ZINC INTAKE AND BIOCHEMICAL INDICES OF FETAL ZINC STATUS. Am. J. Clin. Nutr. (1992). 55:981-984.
30. Lauwerys, R. R. INDUSTRIAL CHEMICAL EXPOSURE GUIDELINES FOR BIOLOGICAL MONITORING. 2a. edición, Lewis Publishers. E.U.A., 1993.
31. Lockitch, G. AGE AND SEXSPECIFIC PEDIATRIC REFERENCE INTERVALS AND CORRELATIONS FOR ZINC, COPPER, SELENIUM, IRON, VITAMINS A AND E, AND RELATED PROTEINS. Clin. Chem. (1988). 34(8):1625-1628.
32. 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 APPROACHES TO THE TERM "STATISTICALLY DIFFERENT". Anal. Chem. (1980). 52:2242-2248.
33. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:32-34.
34. Lual. MODELOS ESTDISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:24-25.

35. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:16-20.
36. Lual. MODELOS ESTADISTICOS Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. Pharma News. (1993). 4:24-28.
37. Lund, H. F. INDUSTRIAL POLLUTION CONTROL HANDBOOK. McGrawHill Book Company. E.U.A., 1971.
38. Martínez, F. B. LOS METALES Y NOSOTROS. Boletín de la Soc. Quim. del Perú. (1978). 44:201-207.
39. McDougall, D., et al. GUIDELINES FOR DATA ACQUISITION AND DATA QUALITY EVALUATION IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY. Anal. Chem. (1980). 52:2242-2248.
40. Menéndez, C. J. TRACE METALS. Clin. Chem. (1990). 45:157-162.
41. Moncada, N. P. CONCENTRACIONES SERICAS DE ZINC EN SUJETOS NORMALES. Inv. Clin. (1989). 30(2):101-109.
42. Perrone, L. ERYTHROCYTIC ZINC CONTENT DURING CHILDHOOD. Acta. Haemat. (1985). 73:114-116.
43. Prasad, A. DISCOVERY OF HUMAN ZINC DEFICIENCY AND STUDIES IN AN EXPERIMENTAL HUMAN MODEL. Am. J. Clin. Nutr. (1991). 53:403-412.
44. Purcell, S.K. ZINC CONCENTRATIONS IN MONONUCLEAR AND POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES. Clin. Chim. Acta. (1986). 155:179-184.
45. Reinhold, G. J. TRACE ELEMENTS. A SELECTIVE SURVEY. Clin. Chem. (1975). 21:476-500.
46. Rodríguez, P. M., et al. A SIMPLER METHOD FOR THE DETERMINATION OF ZINC HUMAN PLASMA LEVELS BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY. At. Spectroscopy. (1989). 10(2):68-70.
47. Savory, J. TRACE METALS: ESSENTIAL NUTRIENTS OR TOXINS. Clin. Chem. (1992). 38(8):1565-1573.



48. Serfass, R. E. INTRINSIC AND EXTRINSIC STABLE ISOTOPIC ZINC ABSORPTION BY INFANTS FROM FORMULAS. J. Nutr. (1989). 119:1661-1669.
49. Skoog, A. D., et al. ANALISIS INSTRUMENTAL. 2a. edición. Nueva Editorial Interamericana. México, 1987.
50. Smith, J. C., et al. DIRECT MEASUREMENT OF ZINC IN PLASMA BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. Clin. Chem. (1979). 25(8):1487-1491.
51. Soriano, M. J. A COMPARATIVE STUDY OF FLAME ATOMIC ABSORPTION METHODS FOR DETERMINATION OF ZINC IN SERUM AND BLOOD PLASMA. Talanta. (1984). 31(5):347-352.
52. Taylor, C. M. HOMEOSTATIC REGULATION OF ZINC ABSORPTION AND ENDOGENOUS LOSSES IN ZINC DEPRIVED MEN. Am. J. Clin. Nutr. (1991). 53:755-763.
53. Turull, M. R. EVALUATION OF SERUM ZINC BINDING CAPACITY DURING CHILBIRTH, IN NEWBORN INFANTS AND DURING THE MENSTRUAL CYCLE. Ann. Nutr. Metab. (1992). 38:20-27.
54. Walsh, A. THE DETERMINATION OF SERUM, COPPER AND ZINC. J. Nutr. (1989). 120:1525-1529.
55. Wei-jie, C. COMPARISON OF ZINC CONTENTS IN HUMANS SERUM AND PLASMA. Clin. Chim. Acta. (1986). 155:185-188.
56. Wolff, F. ZINC IN HAIR AND URINE OF PEADRIATIC PATIENTS. Clin. Chim. Acta. (1986). 155:77-82.
57. Wallock, L. M. MEAL INDUCED CHANGES IN PLASMA, ERYTHROCYTE, AND URINARY ZINC CONCENTRATIONS IN ADULT WOMEN. Am. J. Clin. Nutr. (1993). 58:695-701.
58. Ziegler, E. EFFECT OF LOW ZINC INTAKE ON ABSORPTION AND EXCRETION OF ZINC BY INFANTS STUDIED WITH <sup>70</sup>Zn AS EXTRINSIC TAG. J. Nutr. (1989). 119:1647-1653.

**ANEXO****1. ABREVIATURAS**

**b** = Ordenada al origen.

**r** = Coeficiente de correlación

**r<sup>2</sup>** = Coeficiente de determinación

**CV** = Coeficiente de variación

**IC** = Intervalo de confianza

**m** = Pendiente

**n** = Número de determinaciones

**t** = Número de diluciones o número de cantidades adicionadas

**y** = Media aritmética

**N** = Número total de determinaciones

**s<sup>2</sup>** = Varianza

**DE** = Desviación estándar

**x** = Concentración de la solución o cantidad adicionada

**y** = Propiedad medida o cantidad recuperada

**%R** = Porcentaje de recobro

**t** = Valor de distribución "t" de Student con una probabilidad acumulada de 0.95

**tm** = Valor de distribución "t" de Student calculada para la pendiente

**tb** = Valor de distribución "t" de Student calculada para la ordenada al origen.

**F** = Valor de distribución "F" de Fischer con una probabilidad acumulada de 0.95

**gl** = Grados de libertad

**gla** = Grados de libertad del analista

**gld** = Grados de libertad del día

**F** = Factor para cálculos en la linealidad del sistema

**l** = Factor para cálculos en la estabilidad de la muestra

**TA** = Temperatura ambiente

**MC** = Media de cuadrados

**SC** = Suma de cuadrados

## 2. FORMULARIO ESTADISTICO

### 2.1. LIMITE DE DETECCION Y DE 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

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

$$LD = \frac{10sc}{x}$$

Donde:

s = Desviación estándar

c = Concentración

LD = Límite de detección

LQ = Límite de cuantificación

### 1.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA

**TABLA 45.**

**TABULACION DE LOS DATOS PARA LA LINEALIDAD DEL SISTEMA.**

CONCENTRACION (X)	PROPIEDAD MEDIDA (Y)
X <sub>1</sub>	Y <sub>11}, Y<sub>12}, ... Y<sub>1n}</sub></sub></sub>
X <sub>2</sub>	Y <sub>21}, Y<sub>22}, ... Y<sub>2n}</sub></sub></sub>
X <sub>3</sub>	Y <sub>31}, Y<sub>32}, ... Y<sub>3n}</sub></sub></sub>
.	...
.	...
X <sub>i</sub>	Y <sub>i1}, Y<sub>i2}, ... Y<sub>in}</sub></sub></sub>

t= número de diluciones

n=número de repeticiones (propiedad medida) de cada dilución.

### ⊕ CALCULOS PRELIMINARES

$$\sum X = X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_t$$

$$\sum Y = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + \dots + Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

$$\sum X^2 = X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \dots + X_t^2$$

$$\sum Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \dots + Y_{1n}^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \dots + Y_{2n}^2 + \dots + Y_{t1}^2 + Y_{t2}^2 + \dots + Y_{tn}^2$$

$$\sum XY = X_1(Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n}) + X_2(Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n}) + \dots + X_t(Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn})$$

### ⊕ PENDIENTE

$$m = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

### ⊕ ORDENADA AL ORIGEN:

$$b = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

### ⊕ COEFICIENTE DE DETERMINACION

$$r^2 = \frac{\{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)\}^2}{\{n(\sum X^2) - (\sum X)^2\}\{n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2\}}$$

### ⊙ CALCULOS PRELIMINARES

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

$$F_{21} = \frac{y_{21}}{x_2} \quad F_{22} = \frac{y_{22}}{x_2} \quad F_{2n} = \frac{y_{2n}}{x_2}$$

$$\sum F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \dots + F_{21} + F_{22} + F_{2n}$$

$$\sum F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{21}^2 + F_{22}^2 + F_{2n}^2$$

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

Donde:

N es el número de puntos de la linealidad del sistema

### ⊙ DESVIACION ESTANDAR

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

### ⊙ COEFICIENTE DE VARIACION

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

## 1.3. PRECISION DEL SISTEMA

### ⊙ CALCULOS PRELIMINARES

$$\sum Y = Y_1 + Y_2 + Y_3 + \dots + Y_n$$

$$\sum Y^2 = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + \dots + Y_n^2$$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{N}$$

⊙ DESVIACION ESTANDAR

$$DE = \left\{ \frac{N(\sum Y^2) - (\sum Y)^2}{N(N-1)} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

⊙ COEFICIENTE DE VARIACION

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

1.4. LINEALIDAD DEL METODO

TABLA 46.  
TABULACION DE LOS DATOS PARA LA LINEALIDAD DEL METODO.

CANTIDAD ADICIONADA (X)	CANTIDAD RECUPERADA (Y)
X <sub>1</sub>	Y <sub>11</sub> , Y <sub>12</sub> , ..., Y <sub>1n</sub>
X <sub>2</sub>	Y <sub>21</sub> , Y <sub>22</sub> , ..., Y <sub>2n</sub>
X <sub>3</sub>	Y <sub>31</sub> , Y <sub>32</sub> , ..., Y <sub>3n</sub>
.	. . . . .
.	. . . . .
X <sub>t</sub>	Y <sub>t1</sub> , Y <sub>t2</sub> , ..., Y <sub>tn</sub>

t = Número de cantidades adicionadas

n = número de repeticiones (cantidad recuperada)

⊙ CALCULOS PRELIMINARES

$$\sum X = X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_t$$

$$\begin{aligned}\sum Y &= Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + \dots + Y_{i1} + Y_{i2} + \dots + Y_{in} \\ \sum X^2 &= X^2_1 + X^2_2 + X^2_3 + \dots + X^2_n \\ \sum Y^2 &= Y^2_{11} + Y^2_{12} + \dots + Y^2_{1n} + Y^2_{21} + Y^2_{22} + \dots + Y^2_{2n} + \dots + Y^2_{i1} + Y^2_{i2} + \dots + Y^2_{in} \\ \sum XY &= X_1(Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n}) + X_2(Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n}) + \dots + X_i(Y_{i1} + Y_{i2} + \dots + Y_{in})\end{aligned}$$

### ❶ PENDIENTE

$$m = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

### ❷ ORDENADA AL ORIGEN

$$b = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} = \frac{(\sum Y) - m(\sum X)}{n}$$

### ❸ COEFICIENTE DE DETERMINACION

$$r^2 = \frac{\{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)\}^2}{\{n(\sum X^2) - (\sum X)^2\} \{n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2\}}$$

### ❹ PORCIENTO DE RECOBRO (R)

$$R = \frac{Y}{X} \times 100$$

### ❺ CALCULOS PRELIMINARES

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

$$\sum R^2 = R^2_1 + R^2_2 + R^2_3 + \dots + R^2_n$$

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

⊕ DESVIACION ESTANDAR

$$DE = \left\{ \frac{N(\sum R^2) - (\sum R)^2}{N(N-1)} \right\} \frac{1}{2}$$

⊕ COEFICIENTE DE VARIACION

$$CV = \frac{DE}{R} \times 100$$

⊕ Finalmente se determinan los valores de t de student, para evaluar la ordenada al origen y la pendiente estadísticamente

$$McErr Reg = \frac{\sum Y^2 - m(\sum XY) - b(\sum y)}{n-2}$$

$$Mc Reg = b(\sum Y) + m(\sum XY) - \left\{ \frac{\sum Y^2}{n} \right\}$$

$$Sm = \left\{ McErr Reg \left( \frac{Xp^2}{n(\sum X^2)} + \frac{1}{n} \right) \right\} \frac{1}{2}$$

$$Sb = \left\{ Mc Reg \left( \frac{1}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \right) \right\} \frac{1}{2}$$

Donde:

McErrReg = Media Cuadrática de Error de Regresión

McReg = Media Cuadrática de Regresión

Sm = desviación Estándar para la pendiente

Sb = desviación Estándar para la ordenada al origen

xp = Promedio de x

n = número de datos

$$t_{culom} = \frac{1-m}{Sm}$$



$$t_{\text{cal}} = \frac{a-b}{Sb}$$

⊛ La "t" de tablas se determina con n-1 grados de libertad y un nivel de significancia de 0.95.

### 1.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL METODO

⊛ PORCIENTO DE RECOBRO (R)

$$R = \frac{Y}{X} \times 100$$

⊛ CALCULOS PRELIMINARES

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

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

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

⊛ DESVIACION ESTANDAR

$$DE = \left\{ \frac{N(\sum R^2) - (\sum R)^2}{N(N-1)} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

⊛ COEFICIENTE DE VARIACION

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

⊛ CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA EXACTITUD

$$H_0 = m=0$$

$$H_0 = m \neq 0$$

### ⊕ "t" DE STUDENT

$$t_{\text{calc}} = \frac{\bar{R} - 100}{\frac{DE}{\sqrt{n}}}$$

### ⊕ INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA

$$IC = \bar{R} \pm t(g, n - 2, 0,95) \frac{DE}{\sqrt{n}}$$

Donde:

n = Número de recobros independientes

x = Cantidad adicionada

y = Cantidad recuperada

## 1.6. REPRODUCIBILIDAD

**TABLA 47.**  
**TABULACION DE LOS DATOS PARA LA REPRODUCIBILIDAD.**

ANALISTA			
		1	2
		Y11	Y211
	1	Y112	Y212
<b>DÍA</b>		Y113	Y213
		Y121	Y221
	2	Y122	Y222
		Y123	Y223

### ⊕ CALCULOS PRELIMINARES

$$\sum Y_{...} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

$$\sum Y^2 \dots = Y^2_{111} + Y^2_{112} + Y^2_{113} + Y^2_{121} + Y^2_{122} + Y^2_{123} + Y^2_{211} + Y^2_{212} + Y^2_{213} + Y^2_{221} + Y^2_{222} + Y^2_{223}$$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y \dots}{N}$$

#### ⊗ DESVIACION ESTANDAR

$$DE = \left\{ \frac{N(\sum Y^2) - (\sum Y \dots)^2}{N(N-1)} \right\}^{1/2}$$

N = número total de determinaciones

#### ⊗ COEFICIENTE DE VARIACION

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

⊗ Una prueba estadística adicional para conocer la reproducibilidad es utilizando un modelo anidado de efectos aleatorios de dos factores (A:analista, D:día) el cual se representa con la siguiente ecuación:

$$y_{ijk} = m + A_i + D_{j(i)} + E_{k(ij)}$$

Donde:

$y_{ijk}$  = Porcentaje cuantificado asociado a la K-ésima repetición el j-ésimo día para el i-ésimo analista.

$m$  = Cantidad de analito en la muestra.

$A_i$  = Efecto del analista en el porcentaje cuantificado.

$D_{j(i)}$  = Efecto del j-ésimo día en el i-ésimo analista sobre el porcentaje cuantificado.

$E_{k(ij)}$  = Error experimental.

$a$  = número de analistas.

$d$  = número de días.

$r$  = número de replicaciones.

⊕ CALCULOS PRELIMINARES ( $y_{ij}$ .)

$$Y_{1i} = Y_{1i1} + Y_{1i2} + Y_{1i3}$$

$$Y_{2i} = Y_{2i1} + Y_{2i2} + Y_{2i3}$$

$$Y_{2i} = Y_{2i1} + Y_{2i2} + Y_{2i3}$$

$$Y_{2i} = Y_{2i1} + Y_{2i2} + Y_{2i3}$$

⊕ CALCULOS PRELIMINARES ( $y_{i..}$ .)

$$Y_{1.} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213}$$

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

Cálculo de la suma total ( $y_{...}$ ):

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

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

$$\sum \sum Y_{ij}^2 = (Y_{11})^2 + (Y_{12})^2 + (Y_{13})^2 + (Y_{21})^2 + (Y_{22})^2 + (Y_{23})^2$$

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

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

Cálculo de la suma de cada dato elevado al cuadrado:

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

Cálculo de la suma de cuadrados del analista (Sca) efecto del factor analista.

$$Sca = \frac{\sum \sum \sum y_{ij}^2}{r} - \frac{\sum y_{i..}^2}{dr}$$

Cálculo de la suma de cuadrados del día anidado en el analista (Scd)

$$Sca = \frac{\sum \sum \sum y_{ij}^2}{r} - \frac{\sum y_{i..}^2}{dr}$$

Cálculo de la suma de cuadrados del error (Sce):

$$Fa = \frac{.Mca.}{Mcd}$$

**TABLA 48.**  
**ANALISIS DE VARIANZA.**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F <sub>cal</sub>	F <sub>9.99</sub>
<b>Analista (A)</b>	gla= a-1	Sca	$Mca = \frac{.Sca.}{gla}$	$Fa = \frac{.Mca}{Mcd}$	$\frac{Fgla}{gld}$
<b>Día (D)</b>	gld= (d-1)a	Scd	$Mcd = \frac{.Scd}{gld}$	$Fd = \frac{.Mcd}{Mce}$	$\frac{Fgld}{gle}$
<b>Error (E)</b>	gle= (r-1)ad	Sce	$Mce = \frac{.Sce}{gle}$	-	-

○ Los valores de F= 0.05\* se obtienen de la tabla de F localizando el cruce del valor de los grados de libertad (gl) del numerador horizontalmente y el valor de los grados de libertad del denominador.

## 1.7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

TABLA 49.  
TABULACION DE LOS DATOS PARA LA ESTABILIDAD.

Inicial	Condición/Tiempo		
	1	2	m
$Y_1$	$Y_4$	$Y_7$	$Y_{n-2}$
$Y_2$	$Y_5$	$Y_8$	$Y_{n-1}$
$Y_3$	$Y_6$	$Y_9$	$Y_n$

⊙ CALCULOS PRELIMINARES PARA EL INTERVALO DE CONFIANZA

Media  $\bar{Y}_0, \bar{Y}_1, \bar{Y}_2, \bar{Y}_m$

Varianza  $S_0^2, S_1^2, S_2^2, S_m^2$

Varianza Ponderada

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

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

$$Sp_m^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_m^2}{2(c+1)}$$

⊙ INTERVALO DE CONFIANZA

$$IC = (Y_1 - Y_0) \pm t^* \left[ Sp_1 2 \left( \frac{2}{3} \right) \right]^{\frac{1}{2}}$$

⊙ Donde  $t^*$  = valor de la "t" de Dunnett con C comparaciones y  $2(c+1)$  grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975.

### ● CALCULOS PRELIMINARES PARA EL COEFICIENTE DE VARIACION

Para cada condición/tiempo/muestra calcular el factor (I):

$$I = \frac{\text{Análisis * muestra / condición / tiempo}}{\text{Análisis * inicial}}$$

$$I_1 = \frac{Y_2}{Y_1} \times 100 \quad I_2 = \frac{Y_4}{Y_2} \times 100 \quad I_3 = \frac{Y_6}{Y_3} \times 100$$

$$I_4 = \frac{Y_7}{Y_1} \times 100 \quad I_5 = \frac{Y_8}{Y_2} \times 100 \quad I_6 = \frac{Y_9}{Y_3} \times 100$$

$$I_7 = \frac{Y_{n-2}}{Y_1} \times 100 \quad I_8 = \frac{Y_{n-1}}{Y_2} \times 100 \quad I_9 = \frac{Y_n}{Y_3} \times 100$$

### ○ MEDIA DEL FACTOR (I)

$$\bar{I} = \frac{\sum I(\text{condición / tiempo})}{N}$$

Donde:

N es el número de muestras por cada condición tiempo

$$I_1 = \frac{I_1 + I_2 + I_3}{3} \quad I_2 = \frac{I_4 + I_5 + I_6}{3} \quad I_3 = \frac{I_7 + I_8 + I_9}{3}$$