



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

*DESARROLLO DE METODOLOGÍA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE PLOMO Y NÍQUEL
EN ESPECIES MARINAS, MEDIANTE ICP-MS.*

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA

PRESENTA:

GUIANELLI BERENICE TORRES DÍAZ



MÉXICO, D.F.

2013



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora. Lilitiana Virginia Raquel Saldívar y Osorio

VOCAL: Profesor: Ciro Eliseo Márquez Herrera

SECRETARIO: Profesora: María Guadalupe Espejel Maya

1er. SUPLENTE: Profesora: María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar

2° SUPLENTE: Profesora: Gloria García Ramírez

EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO 103, LABORATORIO DE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA UBICADO EN LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, EDIFICIO B DE LA FACULTAD DE QUÍMICA UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Lilitiana Virginia Raquel Saldívar y Osorio _____

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dra. María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar _____

SUSTENTANTE:

Guianelli Berenice Torres Díaz _____

Gracias:

A la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, por permitir mi formación profesional en sus estancias.

A la Facultad de Química, UNAM, por haberme abierto sus puertas para formarme profesionalmente, estaré eternamente agradecida.

A mi jurado la Doctora Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio, el Ingeniero Ciro Eliseo Márquez Herrera y a la QFB María Guadalupe Espejel Maya, por su valioso tiempo en la revisión y corrección de este trabajo. Gracias por su paciencia y sus aportaciones académicas.

A mi asesora de tesis la Doctora Liliana Saldívar, por permitirme realizar éste proyecto en su laboratorio. Gracias por su amistad y por su apoyo académico.

A mi coasesora la Doctora María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar, por su amistad, apoyo técnico y académico en mi trabajo. Mil gracias Mayte.

A la Q.F.B. Guadalupe Espejel, por su asesoría técnica y académica y además de su amistad. Mil gracias Lupita.

A mis profesores de la Facultad, por haber compartido sus conocimientos y por la formación que me dieron, en especial a la QFB Carmen Sansón Ortega quien despertó en mí interés por esta área, Química Analítica Experimental y al Ing. Domingo Alarcón Ortiz por el apoyo estadístico en el desarrollo del presente trabajo.

A mis compañeros del laboratorio 103: Laura, Rafael, Juan Alberto, Olga y Hebe y al equipo del Dr. Nuñez del ICMYL.

A los proyectos PAPIIT No IN229911 y PAPIME No PE201211, por el financiamiento en la realización de este proyecto.

Dedicado:

A mi Dios, por haberme dado vida, salud y perseverancia para llegar a la conclusión de mis estudios universitarios.

A mis padres Alicia Díaz y Filiberto Torres, por haberme dado la vida, por su apoyo incondicional en todo momento, por sus valores, motivación y consejos enseñándome a ser una persona de bien. Pero sobre todo gracias por su ejemplo de entrega y dedicación en sus labores y además de su infinito amor, ésta tesis también es suya. Los amo papis.

A mis hermanos Alan y Edgar, por su amor, compañía, amistad, apoyo, paciencia, por sus consejos y motivaciones desde que tengo memoria y con quienes comparto y dedico este logro tan importante en mi vida. Los amo hermanitos.

A mis amigos y compañeros de carrera: Claudia, Abraham, Rafa, Carlos, Iliana, Elihud, Aldo, Isaac, Luz, Nadia, Octavia, Zianya, Tania, etc.

A mi Amigo Jorge Ibarra, amigo gracias por todo, por tu apoyo incondicional, amistad, confianza, ánimos y compañía. Gracias por haber estado conmigo a lo largo de la carrera. Te quiero.

A Vian e Irma, amigas gracias por su amistad, apoyo y compañía durante la mayor parte de la carrera. Gracias por ser mis confidentes. Las quiero. Vian sin ti me hubiera muerto de tristeza viviendo sola, gracias por todo lo que vivimos y sé que seguiremos viviendo juntas. Te quiero hermanita.

A mis amigas Lucy, Mony y Ale, por sus ánimos, apoyo, consejos y sobre todo por su amistad durante estos 10 años. Las quiero.

A mi amiga de carrera y compañera de tesis Laura Hernández, por su apoyo y perseverancia para así llegar a la culminación de este trabajo.

A mi familia materna: A mis abuelos Paula y José; a mis tíos: Rosalba, José, Teresa, Martín, Ricardo, Lety y Araceli. A mis primos y primas. Quienes me apoyaron directa o indirectamente en el proceso de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mi familia paterna: A mi abuelo Raúl, a mis tíos: Lety, Gerardo, Jaime y Raúl y a mi prima Brindia que a pesar de estar lejos siempre me han apoyado.

A Mario, mi amor mil gracias por apoyarme siempre incondicionalmente, gracias por tu amistad, cariño, compañía, confianza, paciencia, aliento, tiempo y amor. Te amo.

“La paciencia es un árbol de raíz amarga pero de frutos muy dulces”

Proverbio persa

Contribuciones

El presente trabajo se presentó en:

1. El **XXV Congreso Nacional de Química Analítica** (AMQA), XV Simposio estudiantil. Facultad de Química UNAM, México D.F., 25-29 de Junio 2012. Con el título "*Optimización de metodología analítica para la determinación de níquel en especies marinas, mediante ICP-QMS*", obteniendo el **segundo lugar** en el concurso de carteles estudiantiles.
2. El **Colloquium Spectroscopium Internationale XXXVII** (CSI). Rio de Janeiro Brasil, 28 agosto-2 Septiembre 2011. Poster con el título "*A preliminary study on analytical methodology for determination of heavy metal on shrimp samples from samples from the Gulf of Mexico, by ICP-QMS*".
3. El **Seminario Especial de Investigación y Docencia** en Espectrometrías Atómicas. Facultad de Química UNAM, México D.F., 7 de Octubre 2011. Con el título "*Validación de metodología analítica para la determinación de níquel en camarón, mediante ICP-QMS*".
4. El **II Seminario especial de Investigación y docencia en Espectrometrías Atómicas**. Facultad de Química UNAM, México D.F., 5 de Octubre 2012. Con el título "*Desarrollo de metodología analítica para la determinación de níquel y plomo en especies marinas, mediante ICP-MS*"

Otros productos académicos generados del presente trabajo fueron:

5. Dos prácticas de laboratorio con título "*Determinación de níquel en muestras de camarón mediante Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo, (ICP-MS)*" y "*Determinación de plomo en muestras de camarón mediante Espectrometría de Masas con fuente de*

Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo, (ICP-MS)” que forman parte del manual de prácticas de laboratorio con el nombre **Manual de prácticas con técnicas espectroscópicas atómicas aplicado a alimentos y material biológico**, mismo que está en revisión para su posterior publicación.

| | Página |
|--|---------------|
| Contribuciones | VI |
| Abreviaturas y siglas | XIII |
| Unidades | XV |
| Índice de figuras | XVI |
| Índice de gráficas | XVII |
| Índice de tablas | XVIII |
| Resumen | XX |
| Capítulo 1: Objetivos | |
| 1.1. Objetivo general | 1 |
| 1.2. Objetivos particulares | 1 |
| Capítulo 2: Introducción | |
| 2.1. Producción de productos acuícolas en el Golfo de México | 3 |
| 2.1.1. Contaminación del Golfo de México | 4 |
| 2.2. Metales pesados | 5 |
| 2.2.1. Níquel | 5 |
| 2.2.1.1. Generalidades | 5 |
| 2.2.1.2. Función y toxicidad en el organismo | 6 |
| 2.2.1.3. Normatividad en productos acuícolas | 6 |
| 2.2.2. Plomo | 6 |
| 2.2.2.1. Generalidades | 6 |
| 2.2.2.2. Toxicidad en el organismo humano | 7 |
| 2.2.2.3. Normatividad en productos acuícolas | 9 |
| 2.3. Mercado “La nueva Viga” | 9 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.4. | Muestreo | 10 |
| 2.5. | Parámetros de desempeño analítico | 11 |
| 2.5.1. | Sensibilidad y límite de detección instrumental | 11 |
| 2.5.2. | Límite de cuantificación instrumental (LoQI) | 12 |
| 2.5.3. | Intervalo lineal y de trabajo | 12 |
| 2.5.4. | Exactitud | 13 |
| 2.5.5. | Precisión | 13 |
| 2.6. | Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo | 14 |
| 2.6.1. | Generalidades | 14 |
| 2.6.1.1. | Introducción de la muestra | 15 |
| 2.6.1.2. | Ionización de la muestra (ICP) | 18 |
| 2.6.1.3. | Separación de masas y detección (MS) | 22 |
| 2.6.2. | Ventajas y desventajas de ICP-MS | 24 |
| 2.6.2.1. | Ventajas | 24 |
| 2.6.2.2. | Desventajas | 25 |
| 2.6.2.2.1. | Interferencias espectrales y no espectrales | 26 |
| 2.6.2.2.1.1. | Interferencias espectrales | 26 |
| 2.6.2.2.1.2. | interferencias no espectrales | 27 |
| Capítulo 3: Hipótesis | | 29 |
| Capítulo 4: Desarrollo experimental | | |
| 4.1. | Equipo, reactivos y material | 30 |
| 4.1.1. | Equipo | 30 |
| 4.1.2. | Reactivos y soluciones | 30 |
| 4.1.3. | Material | 31 |

| | | |
|--|--|----|
| 4.1.4. | Material de Referencia Certificado | 31 |
| 4.1.5. | Programa de computo utilizado | 31 |
| 4.2. | Lavado de material | 31 |
| 4.3. | Muestreo | 32 |
| 4.3.1. | Muestreo en el Golfo de México | 32 |
| 4.3.2. | Muestreo en el mercado “La Nueva Viga” | 34 |
| 4.4. | Tratamiento físico | 35 |
| 4.5. | Tratamiento químico | 36 |
| 4.6. | Diluciones gravimétricas | 37 |
| 4.7. | Introducción de las disoluciones al equipo | 38 |
| 4.8. | Condiciones analíticas e instrumentales | 38 |
| 4.8.1. | Condiciones instrumentales | 38 |
| 4.8.2. | Elección del isótopo analito | 39 |
| 4.8.2.1. | Interferencias poliatómicas e isobáricas en el equipo ICP-MS | 40 |
| 4.8.3. | Elección del estándar interno | 41 |
| 4.9. | Parámetros de desempeño analítico de la metodología | 42 |
| 4.9.1. | Límite de detección instrumental | 42 |
| 4.9.2. | Límite de cuantificación instrumental | 42 |
| 4.9.3. | Intervalo lineal y de trabajo | 43 |
| 4.9.4. | Exactitud y precisión | 44 |
| Capítulo 5: Resultados y análisis | | |
| 5.1. | Evaluación analítica del método por ICP-MS | 45 |
| 5.1.1. | Límites de detección y cuantificación instrumentales | 45 |
| 5.1.2. | Intervalo lineal | 45 |

| | | |
|------------|---|----|
| 5.1.3. | Intervalo de trabajo | 47 |
| 5.1.4. | Exactitud y precisión | 47 |
| 5.1.4.1. | Níquel | 48 |
| 5.1.4.1.1. | Análisis del isótopo estándar interno | 48 |
| 5.1.4.1.2. | Análisis del isótopo analito | 49 |
| 5.1.4.1.3. | Análisis del MRC | 49 |
| 5.1.4.2. | Plomo | 49 |
| 5.1.4.2.1. | Análisis del isótopo estándar interno | 49 |
| 5.1.4.2.2. | Análisis del isótopo analito | 50 |
| 5.1.4.2.3. | Análisis del MRC | 50 |
| 5.2. | Evaluación de las concentraciones de Ni y Pb en las muestras reales | 50 |
| 5.2.1. | Muestras del Golfo de México | 50 |
| 5.2.1.1. | Níquel | 50 |
| 5.2.1.2. | Plomo | 52 |
| 5.2.2. | Muestras del mercado “La nueva Viga” | 53 |
| 5.2.2.1. | Mojarra | 53 |
| 5.2.2.2. | Sierra | 54 |
| 5.2.3. | Comparación con las referencias de la literatura nacional e internacional | 54 |
| 5.2.3.1. | Níquel | 54 |
| 5.2.3.2. | Plomo | 56 |
| 5.2.4. | Comparación con las normas nacionales y/o internacionales | 57 |
| 5.2.4.1. | Muestras del Golfo de México | 58 |
| 5.2.4.1.1. | Níquel | 59 |
| 5.2.4.1.2. | Plomo | 60 |

| | | |
|---------------------------------|--|-----------|
| 5.2.4.2. | Muestras del mercado “La nueva Viga” | 62 |
| 5.2.4.2.1. | Níquel | 63 |
| 5.2.4.2.2. | Plomo | 63 |
| Capítulo 6: Conclusiones | | 65 |
| Capítulo 7: Bibliografía | | 68 |
| Anexos | | |
| A. | Tabla de valores para el MRC utilizado en la evaluación de la precisión y exactitud del método | 76 |
| B. | Explicación de las ecuaciones de corrección | 76 |
| C. | Tratamiento de datos | 77 |

| | |
|------------|---|
| ATSDR | Agency for Toxic Substances & Disease Registry |
| <i>b</i> | Ordenada al origen |
| CCT | Collision Cell Technology |
| CFIA | Canadian Food Inspection Agency |
| cps | Cuentas por segundo |
| CRM | <i>Certified Reference Material</i> <i>(Material de Referencia Certificado MRC)</i> |
| dL | Decilitro |
| EPA | U.S. Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América) |
| FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura) |
| FDA | U.S. Food and Drug Administration (manejo de los alimentos y medicamentos de los Estados Unidos) |
| ICMyL | Instituto de Ciencias del Mar y Limnología |
| ICP-DRC-MS | Dynamic reaction cell ICP-MS (DRC) (Celda de Reacción dinámica) |
| ICP-MS | Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo) |
| IPN | Instituto Politécnico Nacional |
| JAAS | Journal of Analytical Atomic Spectrometry |
| LoDI | Límite de detección instrumental |
| LoQI | Límite de cuantificación instrumental |
| m/z | Relación masa/carga |

| | |
|----------|---|
| <i>n</i> | Número de réplicas |
| No | Número |
| NOM | Normas Oficiales Mexicanas |
| <i>s</i> | Desviación estándar |
| TORT-2 | Lobster Hepatopancreas Reference Material for Trace Metals (Hepatopáncreas de langosta, MRC para metales traza) |
| <i>x</i> | Promedio o media aritmética |

| | |
|-------|---|
| % RSD | Relative Standard Deviation (Porcentaje de Desviación Estándar Relativa por sus siglas en inglés) |
| % v/v | Porcentaje Volumen/Volumen |
| °C | Grado Celsius |
| g | Gramo |
| kg | Kilogramo |
| L | Litro |
| mg | Miligramo |
| min | Minuto |
| mL | Mililitro |
| mm | Milímetro |
| ppb | Partes por billón |
| ppm | Partes por millón |
| W | Watts |
| µg | Microgramos |

| | PÁGINA |
|--|--------|
| Figura 1.1. Pasillo del mercado "La nueva Viga" | 10 |
| Figura 1.2. Principales procesos del ICP-MS | 15 |
| Figura 1.3. Bomba peristáltica | 16 |
| Figura 1.4. Nebulizador de flujo cruzado | 16 |
| Figura 1.5. Nebulizador de flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott | 17 |
| Figura 1.6. Esquema de la introducción de muestra con un nebulizador de flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott | 18 |
| Figura 1.7. Representación de la antorcha de un ICP | 19 |
| Figura 1.8. Zonas del plasma con antorcha en posición axial | 20 |
| Figura 1.9. Interfase ICP-MS | 21 |
| Figura 1.10. Filtro de fotones y alineación de iones. | 22 |
| Figura 1.11. Analizador cuadrupolo electromagnético | 23 |
| Figura 1.12. Multiplicador de electrones secundarios | 24 |
| Figura 1.13. Elementos cuantificados en ICP-MS y sus límites de detección | 25 |
| Figura 1.14. Rangos aproximados de límites de detección en $\mu\text{g L}^{-1}$ de diferentes técnicas analíticas | 25 |
| Figura 4.1. Estaciones de muestreo en el Golfo de México | 32 |
| Figura 4.2. Diseño del muestreo estratificado en el mercado "La nueva Viga" | 34 |

| | PÁGINA |
|---|---------------|
| Gráfica 5.1. Curva de calibración para el plomo | 46 |
| Gráfica 5.2. Curva de calibración para el níquel | 47 |
| Gráfica 5.3. Intervalos de concentración de níquel en tejidos de camarón del Golfo de México | 59 |
| Gráfica 5.4. Intervalos de concentración de níquel en tejidos de pescado del Golfo de México | 60 |
| Gráfica 5.5. Intervalos de concentración de plomo en tejidos de camarón del Golfo de México | 61 |
| Gráfica 5.6. Intervalos de concentración de plomo en tejidos de pescado del Golfo de México | 62 |
| Gráfica 5.7. Intervalos de concentración de níquel en músculo de pescado de “La nueva Viga” | 63 |
| Gráfica 5.8. Intervalos de concentración de plomo en músculo de pescado de “La nueva Viga” | 64 |

| | PÁGINA |
|--|--------|
| Tabla 1.1. Límites permisibles de plomo en camarón y pescado | 9 |
| Tabla 4.1. Organismos recolectados en el Golfo de México | 33 |
| Tabla 4.2. Muestreo en el mercado “La nueva Viga” | 35 |
| Tabla 4.3. Programa de digestión empleando microondas | 37 |
| Tabla 4.4. Preparación de diluciones gravimétricas | 37 |
| Tabla 4.5. Condiciones y parámetros de operación del equipo ICP-MS. | 39 |
| Tabla 4.6. Isótopos de níquel y su porcentaje de abundancia | 39 |
| Tabla 4.7. Isótopos de plomo y su porcentaje de abundancia | 40 |
| Tabla 4.8. Interferencias poliatómicas de Ni y Pb en el equipo ICP-MS | 40 |
| Tabla 4.9. Energías de ionización y porcentajes de abundancia natural de los posibles estándares internos para la cuantificación de níquel y plomo. | 41 |
| Tabla 4.10. Preparación de blancos muestra. | 42 |
| Tabla 5.1. Límites de detección y cuantificación obtenidos experimentalmente. | 45 |
| Tabla 5.2. Resultados de Ni en el MRC. | 48 |
| Tabla 5.3. Resultados de Pb en MRC. | 48 |
| Tabla 5.4. Concentraciones de Ni en especies marinas del Golfo de México (en peso seco). | 51 |
| Tabla 5.5. Concentraciones de Pb en especies marinas del Golfo de México (en peso seco) | 52 |
| Tabla 5.6. Concentración de Ni y Pb en pescado Mojarra por zonas (en peso seco). | 53 |
| Tabla 5.7. Concentración de Ni y Pb en pescado Sierra por zonas (en peso seco). | 54 |
| Tabla 5.8. Concentraciones de Ni reportadas en pescado y camarón en referencias bibliografía | 55 |

| | |
|---|----|
| Tabla 5.9. Concentraciones de Pb reportadas en pescado y camarón en referencias bibliográficas | 56 |
| Tabla 5.10. Límites máximos permisibles de Pb y Ni en pescado y camarón | 58 |
| Tabla 5.11. Intervalos de concentraciones de Ni y Pb en los tejidos analizados de las especies del Golfo de México | 58 |
| Tabla 5.12. Intervalos de concentraciones de Ni y Pb en músculo de pescado del mercado “La nueva Viga” | 62 |
| Tabla 6.1. Parámetros de desempeño analíticos de la metodología | 65 |

RESUMEN

Hoy en día la Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) es la técnica más adecuada para el análisis de ultra trazas elemental, debido a su alta sensibilidad y selectividad.

Actualmente las zonas pesqueras han sido afectadas por descargas de desechos tóxicos, derrames de petróleo y de desechos urbanos, provocando bioacumulación de metales pesados en las especies marinas. Por lo que en la actualidad hay mayor interés en el estudio del grado de contaminación en las especies comestibles que habitan dichas zonas, ya que al consumir alimentos contaminados provocarían problemas de salud a la población.

El níquel en el organismo humano es un oligoelemento relacionado con la producción de glóbulos rojos, el funcionamiento del sistema hepático y con la fijación y metabolismo de la glucosa. Al ingerir una dosis diaria mayor a la recomendada provoca: anemia, problemas hepáticos y cáncer en riñón e hígado.

El plomo es un metal altamente tóxico y peligroso para la salud humana ya que interfiere con varios procesos que van desde efectos neurológicos, renales, endocrinos, hematológicos, de reproducción y de desarrollo.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos principales la optimización de las condiciones analíticas e instrumentales: La selección del isótopo analito y del isótopo estándar interno, la identificación, corrección y minimización de interferencias poliatómicas e isobáricas, el límite de detección y cuantificación, la evaluación del intervalo lineal y de trabajo así como la evaluación de la precisión y la exactitud.

Una vez que se optimizó la metodología, se aplicó a muestras reales procedentes del Golfo de México y del mercado “La nueva Viga”.

El tratamiento químico se realizó mediante digestión por vía húmeda empleando microondas, utilizando como reactivos: HNO_3 (conc.) y H_2O_2 (30%).

La concentración de níquel encontrada en el MRC fue de $2.62 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$, obteniendo un % de error relativo de 4.64 y un % RSD de 5.34. Con base en el desarrollo de la metodología, el isótopo analito seleccionado fue ^{58}Ni y el isótopo estándar interno fue ^{74}Ge , el intervalo lineal $[0.12-300.5] \mu\text{g L}^{-1}$ y el intervalo de trabajo $[0.40-240] \mu\text{g L}^{-1}$. Las interferencias isobáricas se corrigieron con la ecuación: $I(^{58}\text{Ni}) = I(m/z 58) - 0.003073 * I(^{56}\text{Fe})$ y las poliatómicas se minimizaron al introducir la solución “daily” y verificando que las relaciones CeO/Ce y Ba^{++}/Ba fueran menores a 0.03.

La concentración de plomo en el MRC fue de $0.37 \pm 0.04 \text{ mg kg}^{-1}$, obteniendo un % de error relativo de 5.70 y un % RSD de 10.81. El isótopo estándar interno seleccionado fue ^{203}Tl y el isótopo analito ^{208}Pb . El intervalo lineal $[0.10-300.5] \mu\text{g L}^{-1}$ y el intervalo de trabajo $[0.33-40] \mu\text{g L}^{-1}$.

La metodología resultó ser exacta y precisa debido a que se obtuvieron valores aceptables de % de error relativo ($\pm 20\%$) y de porcentaje de desviación estándar relativa ($< 20\%$) para ambos analitos, al analizar el Material de Referencia Certificado (TORT-2).

Se encontraron los siguientes resultados:

Con respecto a las muestras del Golfo de México.

Las concentraciones de Ni en pescado fueron: en músculo $[0.2-2.9] \text{ mg kg}^{-1}$, en hígado $[0.6-4.6] \text{ mg kg}^{-1}$ y en abdomen 1.9 mg kg^{-1} . Para camarón fueron: en abdomen $[0.3-1.6] \text{ mg kg}^{-1}$ y en caparazón $[1.5-3.5] \text{ mg kg}^{-1}$.

Las concentraciones de Pb en pescado fueron: en músculo $[0.10-0.43] \text{ mg kg}^{-1}$, en hígado $[0.02-6.10] \text{ mg kg}^{-1}$ y en abdomen 0.38 mg kg^{-1} . Para camarón: en abdomen $[0.08-0.18] \text{ mg kg}^{-1}$ y en caparazón $[0.10-0.39] \text{ mg kg}^{-1}$.

Con respecto a las muestras de “La nueva Viga”.

El intervalo de las concentraciones de Ni en mojarra tilapia fue $[0.2-1.2] \text{ mg kg}^{-1}$ y en sierra de $[0.2-0.3] \text{ mg kg}^{-1}$. El intervalo de concentraciones de plomo en mojarra fue $[0.02-0.17] \text{ mg kg}^{-1}$ y en sierra $[0.02-0.18] \text{ mg kg}^{-1}$.

Los tejidos de las especies de pescado analizados presentaron concentraciones de níquel permitidas según la EPA (5.0 mg kg^{-1}). Y de igual manera, concentraciones permitidas de plomo según las Normas Mexicanas NOM-242-SSA1-2005 y NOM-029-SSA1-1993 ($0.5\text{-}1.0 \text{ mg kg}^{-1}$) y también según las normas internacionales EPA, FDA y Canadian Food Inspection Agency ($0.5\text{-}4.0 \text{ mg kg}^{-1}$). La concentración de plomo en hígado de pescado rebasa los límites permisibles de las normas nacionales e internacionales, probablemente debido a que el hígado funciona como desintoxicante ayudando a eliminar las sustancias que puedan resultar nocivas para su organismo.

En cuanto a las especies marinas analizadas, los tejidos que se pueden consumir sin provocar daños a la salud son: Abdomen y músculo de pescado y abdomen y caparazón de camarón; ya que presentaron concentraciones de plomo y níquel menores a las concentraciones máximas permisibles según las normas nacionales e internacionales.

Capítulo 1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Desarrollo de metodología analítica para la determinación de níquel y plomo en especies marinas, mediante el método de Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo y posteriormente su aplicación a muestras reales procedentes del Golfo de México y del Mercado “La nueva Viga” ubicado en D.F.

1.2. Objetivos Particulares

1.2.1. Elección de las condiciones analíticas e instrumentales

- I. Condiciones de operación del equipo de ICP-MS
- II. Propuesta y selección del isótopo analito
 - a. Identificación de las interferencias poliatómicas e isobáricas, así como, la corrección y/o minimización de las mismas.
- III. Propuesta y selección del isótopo estándar interno

1.2.2. Evaluación de los parámetros de desempeño de la metodología

- I. Límite de detección instrumental (LoDI)
- II. Límite de cuantificación instrumental (LoQI)
- III. Determinación del intervalo lineal y de trabajo
- IV. Evaluación de la exactitud y precisión empleando un Material de Referencia Certificado (MRC)

1.2.3. Aplicación de la metodología desarrollada a muestras reales

- I. Del Golfo de México
- II. Del mercado “La nueva Viga” del Distrito Federal

1.2.4. *Comparar los resultados obtenidos de las muestras con literatura nacional e internacional.*

1.2.5. *Determinar si las concentraciones de Níquel y Plomo encontradas en las muestras, se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles según las normas nacionales y/o internacionales.*

Capítulo 2. Introducción

2.1. Producción de productos acuícolas en el Golfo de México

El Golfo de México está limitado al oeste, sur y sureste por 6 estados de México, al norte y noroeste por 5 estados de los Estados Unidos de Norteamérica y al este por la isla de Cuba. Tiene una extensión litoral aproximada de 5,400 kilómetros, desde la Florida hasta la extremidad de la península de Yucatán y cubre una superficie de agua de 1, 507,639 km², con una profundidad promedio de 1,615 m y un volumen de agua de 2, 434,000 km³ aproximadamente. Es calificado como el noveno cuerpo de agua más grande del mundo y considerado como un mar semi-cerrado parcialmente conectado con el Océano Atlántico a través del estrecho de Florida y con el Mar Caribe a través del canal de Yucatán (SEMARNAT, 2012).

México es un país que cuenta con zonas costeras muy importantes económicamente, una de ellas es el Golfo de México donde se capturan infinidad de peces, moluscos y crustáceos. Sin embargo, sólo contribuye con el 17.6 % del volumen total de la producción pesquera del país, en cambio el Litoral del Pacífico contribuye con el 80 % (INEGI, 2011). El camarón es el recurso más importante en esta zona ya que contribuye aproximadamente con el 30% de la producción pesquera nacional siendo la segunda flota camaronera del país. Las especies más importantes en cuanto a la producción son: camarón café (*Farfantepenaeus aztecus*), camarón blanco (*Litopenaeus setiferus*) y el camarón rosado (*F. duorarum*) (Gracia, 2004).

En cuanto a pescado, en esta zona se recolecta principalmente la mojarra tilapia (*Oreochromis sp.*), seguida del atún (*Thunnus Albacares*), la sierra (*Scomberomus sierra*), la lisa (*Mugil Cephalus*), el huachinango (*Lutjanus campechanus*), las truchas plateadas (*Cynoscion nothus*), el bagre (*Ariopsis felis*), la sardina (*Harengula pensacolae*), entre otros (Noriega, 2010).

Actualmente los productos acuícolas son parte importante de la dieta humana, sin embargo, lamentablemente en México no lo es ya que en el 2010 el consumo por habitante fue de 12.79 kg con un consumo nacional aparente de 1 436 687 toneladas (*INEGI, 2011*), a pesar de que México es un país con casi 10, 000 km. de litorales con una gran diversidad y producción de recursos marinos.

Sin embargo, es necesario dar a conocer el grado de concentración de metales pesados en los diferentes productos acuícolas con el fin de apoyar al incremento de su consumo, particularmente de pescado y camarón (*Marichamy, 2009*).

Un sondeo realizado por la Procuraduría Federal del Consumidor en el año 2010 sobre los hábitos de consumo de pescado y mariscos en el país, donde el 55 % de los encuestados fueron del D.F y el 28 % del Estado de México, emitió que los pescados más consumidos son: la Mojarra (30 %), el atún (21 %), el huachinango y la sierra (20 %) y el marisco de mayor consumo es el camarón con un 75 %. El 77% de los encuestados adquiere sus productos frescos y un 11 % congelados; el 35 % los compra en autoservicios y el 35 % en mercados y tianguis (*PROFECO, 2010*).

2.1.1. Contaminación del Golfo de México

Actualmente las zonas pesqueras del Golfo de México han sido afectadas por diversos factores, como son: derrames de petróleo, la extracción y explotación de hidrocarburos, la contaminación por pesticidas y herbicidas agrícolas así como por el vertimiento de residuos tóxicos industriales, de basura y de aguas residuales urbanas (*De la Maza, 2004*).

Las fuentes potenciales de contaminación por metales pesados son: la industria, las actividades domésticas y la erosión de depósitos naturales por lo que es inevitable que afecten a los organismos terrestres y acuáticos (*Hu, 2008*).

Las especies marinas que habitan en el Golfo de México, están siendo afectadas por la contaminación en su hábitat. Una consecuencia es la bioacumulación de metales pesados en su organismo. Por lo que al ser consumidas por el humano le provocan la bioacumulación de estos metales en su organismo

reflejándose en problemas de salud si las concentraciones son altas (*De la Maza, 2004*).

2.2. Metales pesados

La contaminación por metales pesados es provocada por la industria, por actividades domésticas y por la erosión de los depósitos naturales. Estos metales son liberados al medio ambiente y es inevitable tener efectos en los organismos terrestres y acuáticos (*Hu, 2008*).

El níquel es un elemento traza esencial que tiene roles importantes en algunas funciones del cuerpo humano por lo que se requiere en cantidades pequeñas y es tóxico en altas cantidades (*Amado, 2007*).

El plomo es considerado un elemento de alta toxicidad y peligrosidad en la salud humana (*Hu, 2008*).

2.2.1. *Níquel*

2.2.1.1. *Generalidades*

Es un metal de color blanco, brillante y ferromagnético, con número atómico 28, estados de oxidación +2 y +3, peso atómico de 58.71 g mol⁻¹ y presenta 5 isótopos naturales: ⁵⁸Ni (68.077 %), ⁶⁰Ni (26.233 %), ⁶¹Ni (1.14 %), ⁶²Ni (3.634 %) y ⁶⁴Ni (0.926%), donde % indica el porcentaje de abundancia natural (*HHS, 2005*).

El níquel se encuentra dentro de los primeros 25 elementos naturales más abundantes pero también es liberado por industrias al utilizarlo como catalizador o para la fabricación de aleaciones, así como también por aquellas que utilizan al petróleo o carbón como fuente de energía.

El níquel se encuentra en alimentos y utensilios empleados en la vida diaria.

En el océano el níquel se encuentra de forma natural pero también proviene de las refinerías de petróleo, de la industria de textiles, acero, papel, fertilizantes, pinturas, de desechos urbanos, de minería y de depósitos marinos.

2.2.1.2. *Función y toxicidad en el organismo humano*

Es un micronutriente esencial (Hwalla, 2010), también llamado oligoelemento, es decir, se encuentra en el organismo a niveles de trazas (concentración menor al 1 % en peso). Tiene roles importantes en algunas funciones del cuerpo humano (Hu, 2008), el níquel está relacionado con: la producción de glóbulos rojos, el funcionamiento del sistema hepático y al metabolismo y fijación de la glucosa (Amado, 2007). Por lo que se recomienda una dosis de 0.3-1.0 mg día⁻¹ en adultos. Cuando se ingiere una dosis mayor a la antes mencionada los problemas de salud son: anemia, problemas hepáticos y cáncer en riñón o hígado (HHS, 2005).

El níquel se encuentra en alimentos como avellanas, cocoa, trigo, habas, lentejas, entre otros (Hwalla, 2010).

2.2.1.3. *Normatividad en alimentos acuícolas*

Con respecto a normas que regulan la concentración de níquel en los productos acuícolas, no existen normas mexicanas siendo Estados Unidos de América el único país que lo hace. Según la FDA, el límite máximo permisible de níquel en crustáceos (camarón) es 70 mg kg⁻¹ (USFDA, 2001) y en pescado 5 mg kg⁻¹ según la EPA (USEPA, 1986).

2.2.2. *Plomo*

2.2.2.1. *Generalidades*

El plomo es un metal pesado, gris-azulado y blando el cual está muy difundido en la corteza terrestre. Su peso atómico es 207.19 g mol⁻¹, sus estados de oxidación son +2 y +4, su número atómico es 82 y presenta muchos isótopos, siendo estables cuatro de ellos: ²⁰⁴Pb (1.4%), ²⁰⁶Pb (20.1%), ²⁰⁷Pb (22.1%) y ²⁰⁸Pb (52.4%) (Ferrer, 2003):

Su forma más abundante es el sulfuro (PbS), formando la mena de galena. Por su bajo punto de fusión el plomo fue uno de los primeros metales que se conocieron y se emplearon por el hombre.

El plomo se encuentra de forma natural, pero es mayormente generado antropogénicamente. El aporte a la contaminación del plomo naturalmente es debido al proceso de erosión de las rocas y al vulcanismo. Con respecto a las actividades antropogénicas, se pueden distinguir dos tipos de fuentes:

Estacionarias. Debidas a la minería, la refinación y fundición de metales y a otros procesos industriales.

Químicas. Por contaminación con fertilizantes, plaguicidas y desechos orgánicos.

El plomo es bioacumulable por lo que las partículas de mayor tamaño son las que quedan retenidas en el suelo y en las aguas superficiales, provocando su acumulación en organismos acuáticos y terrestres, teniendo la posibilidad de llegar hasta el hombre a través de la cadena alimenticia (*Doadrio, 2009*).

2.2.2.2. Toxicidad en el organismo humano

El plomo es considerado como un metal altamente tóxico y peligroso para la salud humana ya que es un ión divalente que puede ser biotransformado a una forma nociva por el organismo humano (*Hu, 2008 y Rivera 2002*).

El contacto con el plomo no suele producir intoxicaciones agudas, sin embargo, su acumulación en el organismo hace que la exposición a dosis bajas a largo plazo ya sea a través del aire, el agua o los alimentos dé lugar a una intoxicación crónica (*Ferrer, 2003*).

La absorción y distribución del plomo depende del tránsito gastrointestinal, estado nutricional y edad; hay mayor absorción en el organismo cuando: hay deficiencia de hierro y/o calcio, se ingiere gran cantidad de grasa, hay una inadecuada ingesta de calorías y en la etapa de la niñez, ya que en los niños la absorción es de 30-50% mientras que en adultos es 10%.

El plomo inicialmente circula en la sangre, unido al eritrocito, el primer lugar de fijación es la membrana celular. El plomo se transporta hacia todo el cuerpo a través de la sangre y se deposita en tejidos de acuerdo con un gradiente de concentración y afinidad específica de cada órgano. Luego se distribuye a tejidos como hígado, riñón, médula ósea y sistema nervioso central (órganos blancos de toxicidad), después de uno a dos meses se transporta a los huesos donde aproximadamente el 90% de plomo se une firmemente (*Barrera, 2011*). La concentración normal de plomo en la sangre en niños es de 10-14 $\mu\text{g dL}^{-1}$ (*Arrollo, 2008*).

Los efectos del plomo dependen del grado de exposición. En los humanos en general provoca la perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia, incremento de la presión sanguínea, daño a los riñones, perturbación del sistema nervioso, daño al cerebro, distintos tipos de cáncer, disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el espermatozoides y aborto espontáneo en mujeres.

El efecto en niños es neurológico, sin embargo, el envenenamiento por plomo a niños puede causar efectos de salud a lo largo de su vida como: efectos renales, problemas reproductivos y enfermedades hereditarias, disminución de las habilidades de aprendizaje y perturbación en el comportamiento como: la agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad. También provoca la formación de depósitos plúmbicos en las encías al formar una línea de color gris claro azulado llamada "la línea del plomo" o "la línea de Burton". En fetos, el plomo puede entrar a través de la placenta de la madre y puede causar serios daños cerebrales y al sistema nervioso (*ATSDR, 2007*).

El plomo interfiere con varios procesos fisiológicos y con la función celular normal que van desde efectos neurológicos, renales, endocrinos, hematológicos y de reproducción y desarrollo (*Ahamed, 2007*).

2.2.2.3. *Normatividad en alimentos acuícolas*

La acumulación de plomo en los animales, puede causar graves efectos en su salud por envenenamiento e incluso la muerte por paro cardio-respiratorio. Algunos organismos, como los crustáceos y otros invertebrados, son muy sensibles al plomo (*Bilandžić, 2011*).

En la tabla 1.1 se presentan los límites permisibles de plomo en camarón y pescado reportados por diferentes normas nacionales e internacionales.

Tabla 1.1. Límites permisibles de plomo en camarón y pescado

| Norma | Camarón (mg kg⁻¹) | Pescado (mg kg⁻¹) | Referencia |
|---|---|---|-------------------|
| NOM-242-SSA1-2005 | 0.5 | 0.5 | SSA, 2005 |
| NOM-029-SSA1-1993 | 1.0 | 1.0 | SSA, 1993 |
| FDA & EPA Safety Levels in Regulations and Guidance | 1.5 | 4.0 | USFDA, 2001 |
| Canadian Food Inspection Agency | 0.5 | 0.5 | CFIA, 2011 |

2.3. Mercado “La nueva Viga”

“La nueva Viga” es el mercado más grande de pescados y mariscos en América Latina y el segundo a nivel mundial, sólo después de Tokio (*Beltrán, 2006 y Mónaco, 2008*). Cuenta con 9.2 hectáreas de extensión territorial, está ubicado en la Prolongación Eje 6 Sur, número 560, San José Aculco en Iztapalapa, Distrito Federal. Se encuentran más de 202 grandes distribuidores y se comercializan aproximadamente 1500 toneladas al día de las más de 300 especies de pescados y mariscos que se distribuyen en el país (*Conapesca, 2012*). Según datos del Consejo de Administración del Mercado, recibe alrededor de 25,000 clientes diariamente (Figura 1.1). Dentro de los productos más vendidos se encuentra la mojarra tilapia, la sierra, el camarón, el pulpo, la jaiba, el róbalo y el huachinango (*Royacelli, 2012 y Velázquez, 2013*).



Figura 1.1. Pasillo del mercado "La nueva Viga"

2.4. Muestreo

El muestreo estadístico es un enfoque sistemático para seleccionar unos elementos o muestras de una población a fin de hacer algunas inferencias sobre ella. Para que una muestra sea útil debe reflejar las similitudes y diferencias encontradas en la población, es decir, que sea representativa.

El muestreo se refiere al proceso de selección de los elementos, sujetos o casos de una población. Para que el muestreo esté bien realizado es necesario que los elementos escogidos representen bien a toda la población. Si la muestra no cumple esto, se dice que la muestra es sesgada o tendenciosa; en el caso contrario, cuando la muestra ha sido bien seleccionada, se habla de muestra representativa.

Las ventajas que tiene el muestreo son: costos reducidos al no tener que estudiar la totalidad de la población; mayor rapidez en obtener resultados al poder recolectar y reunir la información y mayor exactitud y calidad de la información al contar con personal capacitado (Díaz, 2011).

Existen diferentes tipos de muestreo, entre ellos se encuentran el aleatorio simple y el estratificado (RPS-Qualitas, 2010).

Muestreo aleatorio simple. Se produce cuando una muestra es escogida de tal manera que cada elemento en la población tiene la misma oportunidad de ser incluido.

Muestreo estratificado. Se aplica cuando una población es inicialmente dividida en subgrupos llamados estratos y posteriormente se selecciona una o varias muestras aleatoriamente de cada estrato (*RPS-Qualitas, 2010*).

La estratificación tiene como ventaja proporcionar información tanto para cada estrato como para toda la población. Sin embargo, el costo de obtención de una muestra estratificada es mayor que el de la obtención de una muestra aleatoria simple (*Zuwaylif, 1974*).

2.5. Parámetros de desempeño analítico

Un método analítico es una descripción clara de las condiciones y procedimientos necesarios para la medición de uno o más valores de una propiedad demostrando tener exactitud y precisión de acuerdo con su propósito de uso y que por lo tanto puede ser reproducible (*CENAM, 2004*).

La importancia de evaluar los parámetros de desempeño de un método analítico es confirmar que el método tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. La evaluación permite establecer las características de desempeño, limitaciones del método y la identificación de aquellas influencias que pueden modificar el resultado (*EURACHEM, 2005*).

2.5.1. *Sensibilidad y límite de detección instrumental (LoDI)*

La sensibilidad está estrechamente relacionada con el límite de detección ya que cuanto más sensible sea un instrumento o método analítico, mayor será su capacidad de medir pequeños cambios en concentración (*Rodríguez, 2001*). La sensibilidad es la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio de respuesta del instrumento que corresponde a un cambio de concentración del analito.

Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito (análisis de trazas), es importante saber cuál es la concentración más baja del analito que puede detectarse confiablemente por el método. Por lo tanto, el *límite de detección instrumental (LoDI)*, es la menor concentración del analito que puede detectarse por el instrumento de medición en una muestra pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba. La manera de obtenerlo es la aproximación “ $b + 3s$ ”, donde b es la concentración promedio equivalente a la señal analítica de 10 blancos muestra y s es la desviación estándar de la señal, ecuación 1 (Rodríguez, 2001 y EURACHEM, 2005).

$$\text{LoDI} = b + 3s \quad \text{Ecuación 1}$$

2.5.2. Límite de cuantificación instrumental (LoQI)

Es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión. Se expresa como b más diez veces la desviación estándar (s) de los blancos muestra (Ecuación 2) (EURACHEM, 2005).

$$\text{LoQI} = b + 10s \quad \text{Ecuación 2}$$

2.5.3. Intervalo lineal y de trabajo (EURACHEM, 2005)

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito sobre el cual el método puede aplicarse.

El *intervalo lineal*, es el intervalo de concentraciones del analito donde el método proporciona señales de respuesta con relación lineal respecto a la concentración del analito. Para la determinación del intervalo lineal, la regresión lineal es insuficiente. Por lo tanto, una inspección visual de la curva de calibración y de los residuales es recomendable. El límite inferior está definido por el límite de cuantificación instrumental y el extremo superior es impuesto por efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

El intervalo de trabajo, es el intervalo de concentraciones del analito que se obtuvo al medir el analito en las muestras reales y por lo tanto posteriormente puede aplicarse en el análisis de muestras que contengan concentraciones del analito dentro de este intervalo.

2.5.4. Exactitud

Es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

La exactitud es la concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. La exactitud se evalúa al analizar un material de referencia o un material de referencia certificado.

Se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas y se compara contra el valor reportado del material de referencia. El material de referencia certificado debe presentar una matriz similar a las muestras de interés (*EURACHEM, 2005*).

La exactitud se determina mediante el porcentaje de error relativo el cual debe ser $\pm 20\%$ (*European commission, 2009*). El porcentaje de error relativo se obtiene con la ecuación 3

$$\% \text{ Error relativo} = \left(\frac{\text{Valor experimental} - \text{Valor de referencia}}{\text{Valor de referencia}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

2.5.5. Precisión

Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Se determina mediante el porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) y el método tendrá validez si la $\%RSD \leq 20\%$ (*European Commission, 2009*). La precisión se evalúa de igual manera que la exactitud, es decir, al utilizar un MR o MRC.

2.6. Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma. de Acoplamiento Inductivo

2.6.1. Generalidades.

La espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS), fue introducida como técnica analítica por Robert S. Houk y colaboradores en 1980 (*Fassel, 1980*). Es hoy en día la técnica más adecuada para el análisis cuantitativo multielemental de trazas ($\mu\text{g g}^{-1}$) y ultratrazas en disolución debido a que presenta alta cobertura espectral, buena exactitud y precisión y alta sensibilidad y selectividad (*Aparna, 2003*), permitiendo además la realización de medidas de relaciones isotópicas (*Woodhead, 2002*). La técnica ICP-MS tiene aplicaciones en muestras biológicas, clínicas, geoquímicas, de fármacos, de materiales cerámicos, entre otras (*J. Morton, 2009*).

La técnica ICP-MS combina una fuente de ionización de plasma con la espectrometría de masas. El principio consiste en transportar la muestra en forma de aerosol a una antorcha de plasma acoplada por inducción la cual es la fuente de ionización donde la muestra es atomizada y ionizada. Posteriormente los iones positivos son dirigidos al espectrómetro de masas donde con ayuda de un analizador de masas se obtiene la relación masa-carga (m/z) de los iones al pasar por un sistema de detección (*O'Connor, 1999*). Es importante mencionar que el punto crucial en el principio del sistema ICP-MS radica en que el ICP opera a presión atmosférica y a alta temperatura mientras que el sistema MS requiere de alto vacío y una temperatura ambiente, por tanto, se necesita una interfase para reducir la presión y la temperatura.

El equipo de ICP-MS (Figura 1.2) consta de (*O'Connor, 1999*):

- Sistema de introducción de la muestra.
- Generación de aerosoles (dispersión de la muestra).
- Fuente de ionización.

- Analizador de masas cuadrupolo.
- Sistema de detección

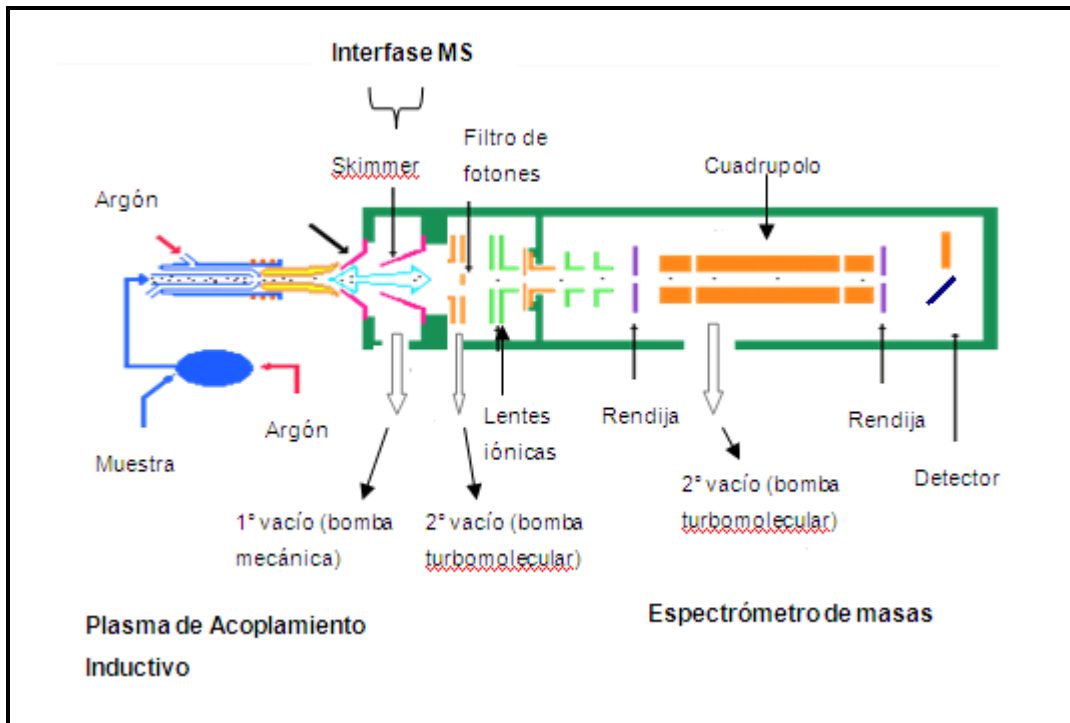


Figura 1.2. Principales procesos del ICP-MS (Fernández, 2004).

2.6.1.1 Introducción de la muestra.

El sistema de introducción de la muestra es un paso crítico en el análisis mediante espectrometría ya que si el flujo de la muestra no es continuo se producirían errores en los resultados analíticos. La muestra puede ser introducida al plasma como gas, líquido o sólido. En el caso de que sea líquida, normalmente consiste en la generación de un aerosol mediante un nebulizador neumático o ultrasónico. Los nebulizadores neumáticos pueden ser concéntricos, micro-concéntricos, de micro-flujo y de flujo cruzado (Forsgard, 2007). Enseguida se ilustra el sistema de introducción de muestra utilizado en el presente trabajo (Figura 1.3, 1.4 y 1.5).

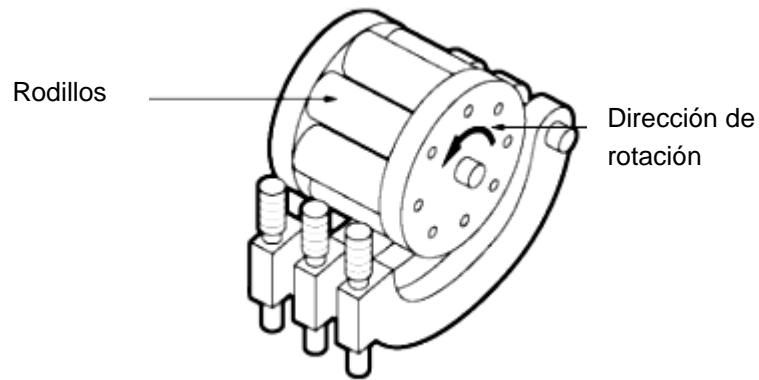


Figura 1.3. Bomba peristáltica (Perkin Elmer, 2005)

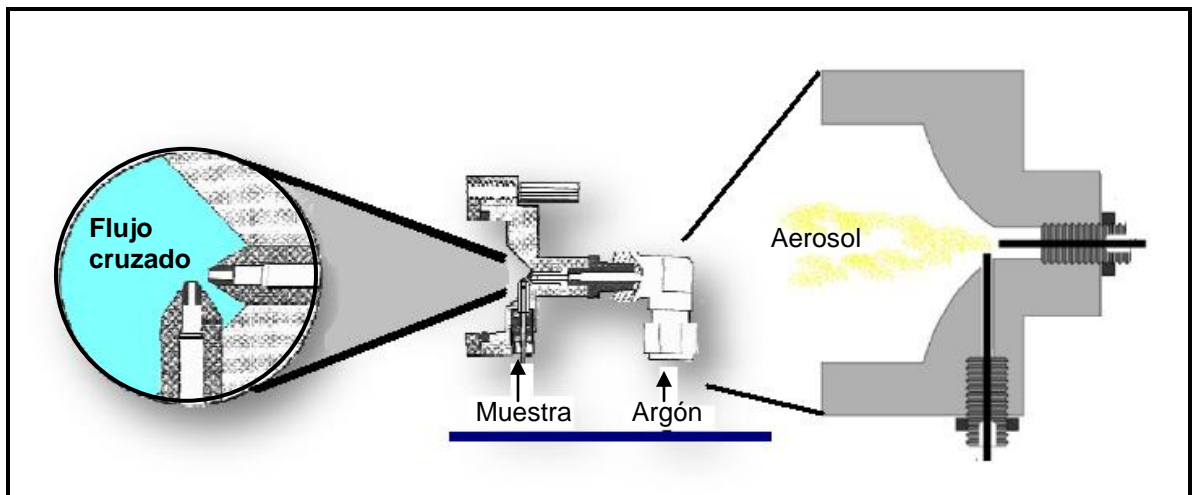


Figura 1.4. Nebulizador de flujo cruzado (Romero, 2008)

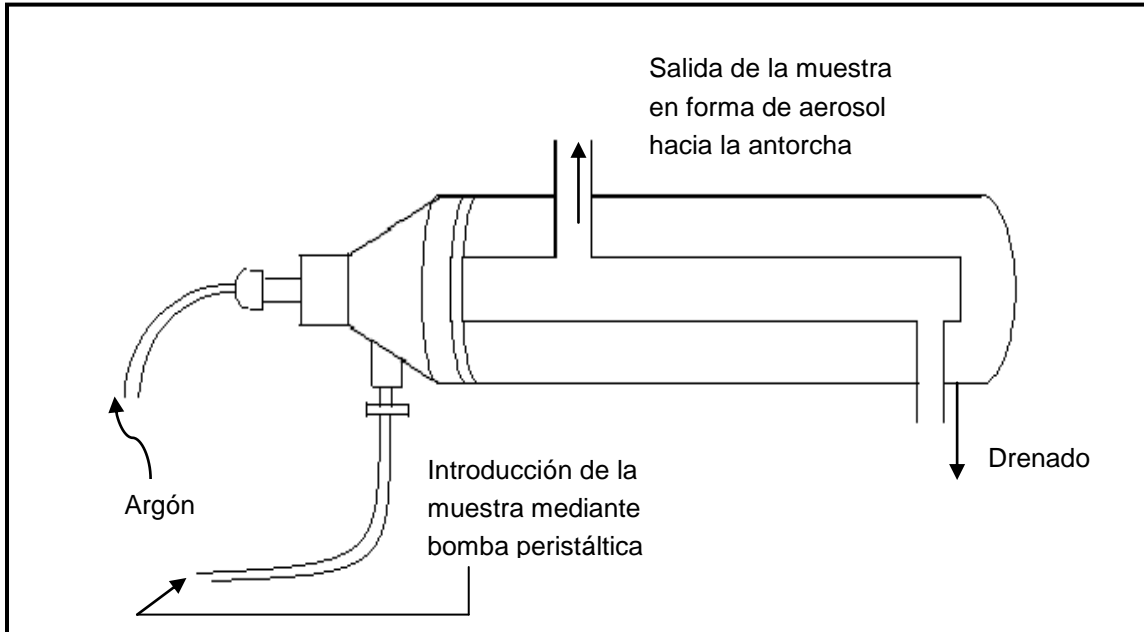


Figura 1.5. Nebulizador de flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott (Editada, basada en Thomas, 2001)

En el proceso de introducción se utiliza una bomba peristáltica (Figura 1.3), que por succión auxilia la entrada de la muestra líquida con una manguera de 2 mm de diámetro. La muestra líquida llega al nebulizador de flujo cruzado (Figura 1.4) donde se inyecta el gas nebulizador (generalmente argón) a alta velocidad con el objetivo de formar un aerosol (gotas de un tamaño mayor a $8 \mu\text{m}$ de diámetro). El aerosol llega a la cámara de nebulización (Figura 1.5) donde las gotas que tienen un diámetro mayor a $100 \mu\text{m}$ son drenadas debido a que si éstas llegaran al plasma lo enfriarían provocando una reducción en la precisión y un aumento de interferencias (Forsgard, 2007).

Sólo las gotas más pequeñas alcanzan la antorcha (que es de cuarzo) donde son acarreadas por el gas auxiliar (argón) hacia un tubo inyector para llegar al plasma (Figura 1.6).

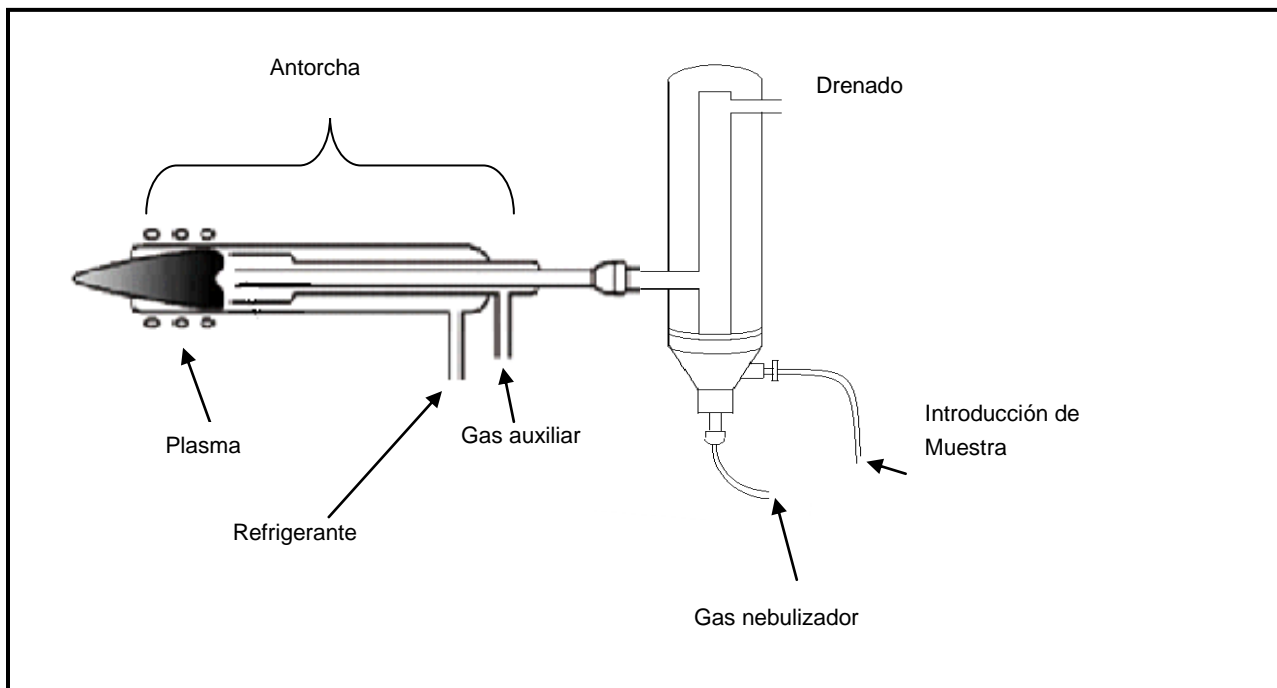


Figura 1.6. Esquema de la introducción de muestra con un nebulizador de flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott (Editada, basada en *Thomas, 2001*)

2.6.1.2. Ionización de la muestra (ICP).

La vaporización, atomización e ionización del aerosol de la muestra se logra al utilizar un plasma acoplado inductivamente (ICP). El ICP fue inventado por Reed en 1961 con la finalidad de utilizarlo como fuente de ionización para la espectrometría de emisión atómica (AES), sin embargo, en 1964 Greenfield, Wendt y Fassel introdujeron la antorcha para ser acoplada a espectrometría de masas (MS) (*Tanner, 2007*).

Un plasma ICP a presión atmosférica se forma cuando un gas inerte (generalmente Ar) es introducido a una antorcha de cuarzo la cual está rodeada de una bobina de inducción conectada a un generador de radiofrecuencias.

La antorcha consiste en tres tubos concéntricos; el tubo exterior tiene un diámetro de aproximadamente 18 mm, el interior de 14 mm y el tubo inyector de 2 mm. Por el tubo interior se arrastra la muestra en aerosol hasta el plasma mediante

el gas nebulizador (Ar) que tiene un flujo entre 0.5 y 1 L min⁻¹. El gas auxiliar (Ar) centra y ajusta el plasma para que éste no corra el tubo interior de la antorcha (flujo de entre 0.5 y 1 L min⁻¹). Por el tubo exterior circula el gas plasmógeno (Ar) (flujo entre 12-20 L min⁻¹), responsable de formar el plasma y enfriar la antorcha evitando la fundición (Figura 1.7). (Tanner, 2007)

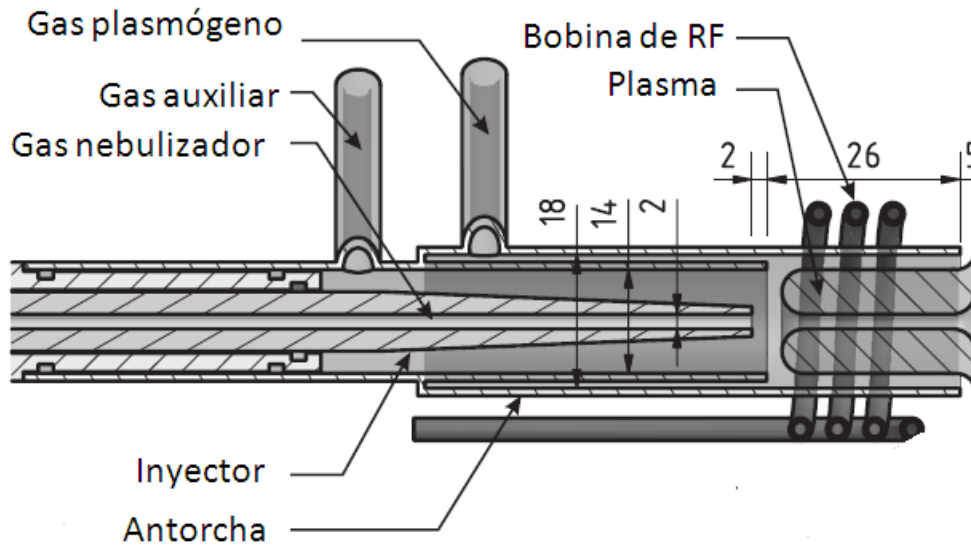
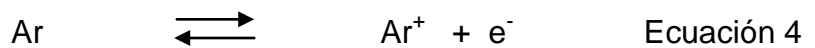


Figura 1.7. Representación de la antorcha de un ICP (Tanner, 2007)

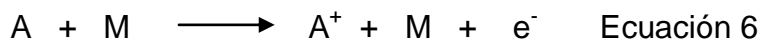
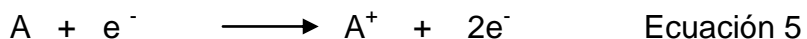
Un plasma se define como un gas ionizado, esto es, una mezcla gaseosa que contiene una concentración significativa de cationes y de electrones. Si dicho gas es argón, deberá establecerse el siguiente equilibrio:



Para originar el plasma es preciso un aporte externo de energía que provoque la ionización del gas y la mantenga estable.

El plasma ICP se forma al iniciar la excitación del gas con la aplicación de un campo de radio frecuencia en la bobina de Tesla que rodea la antorcha (600-1500 W o 27-40 MHz). Estos electrones provenientes de la descarga colisionan con los átomos neutros del argón ionizándolos. Los iones y electrones continúan colisionando hasta alcanzar un plasma estable llegando al equilibrio. Una vez formado el plasma se

auto-mantiene llegando a temperaturas de entre 5000 y 10000 K. Los analitos son ionizados en la región central del plasma (Figura 1.8). La ionización es inducida por la colisión entre iones, átomos y electrones libres en el plasma (O'Connor, 1999), ejemplo:



El plasma de argón es adecuado debido a que su primera energía de ionización es relativamente alta (1520 KJ mol^{-1}). Esto permite la ionización de más del 90 % de los elementos, sólo con las excepciones de He, F y Ne debido a que tienen una energía de ionización mayor a la del argón (Houk, 1986).

La antorcha se puede encontrar en posición axial (horizontal) o radial (vertical).

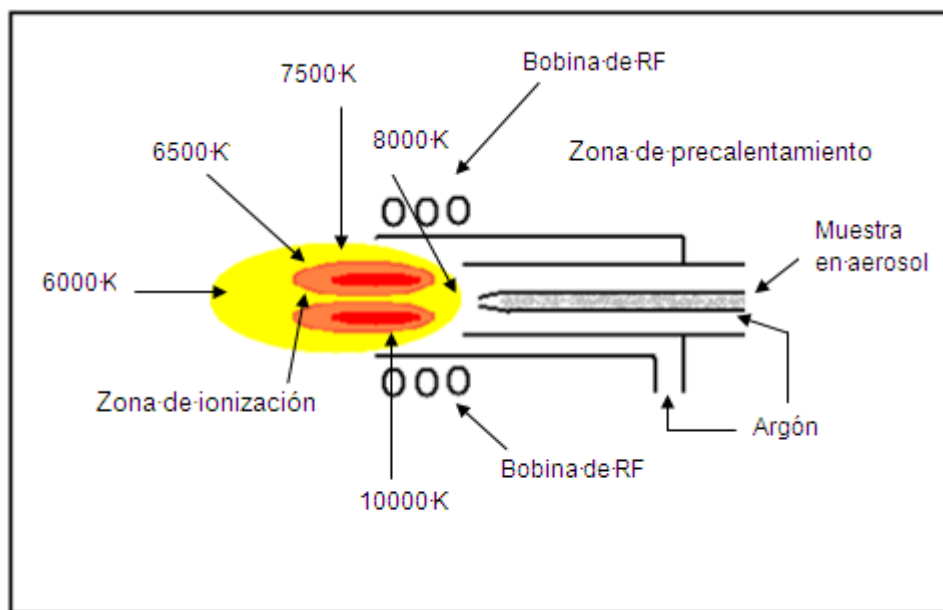


Figura 1.8. Zonas del plasma con antorcha en posición axial (Editada, basada en Thomas, 2001)

Una vez que la muestra es ionizada, los iones pasan a través de la interfase al analizador de masas. En este paso los iones pasan de presión atmosférica a baja

presión, esto se logra al tener el plasma alineado horizontalmente con un cono “*sampler*” o de muestreo (generalmente es de níquel, cobre o platino con un orificio de 1 mm). Los iones pasan a través del cono de muestreo y después por el cono “*skimmer*” o discriminador (con orificio entre 0.8-0.6 mm) los cuales están alineados al plasma. Entre ambos conos existe un vacío (~ 2 torr) que es generado por una bomba mecánica (Figura 1.9), donde la mayoría de los átomos de argón son eliminados por el vacío existente en la zona (O’Connor, 1999 y Tanner, 2007).

Después de que los iones abandonan el cono discriminador, se dirigen hacia el analizador de masas, donde se encuentran con el filtro de fotones donde éstos son frenados. Posteriormente los iones positivos y negativos pasan por una zona de baja presión (~ 10^{-5} torr) donde se produce la separación de carga y los electrones se difunden rápidamente resultando un flujo de iones de carga positiva, estos iones pasan por las lentes iónicas (Figura 1.10). La función de las lentes son las siguientes (Rodríguez, 2001):

- a) Realinear los iones para ser transmitidos eficientemente hacia el analizador de masas
- b) Atrapar a los fotones y especies energéticamente neutras (emitidos por el plasma) para eliminar el ruido que pueden originar si alcanzan el detector (figura 1.10).

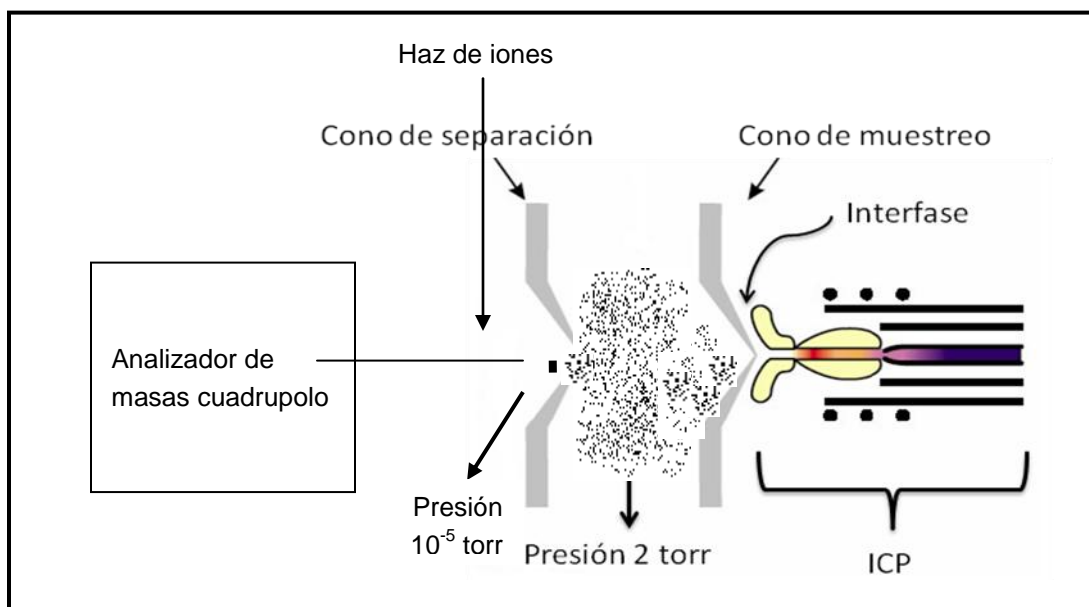


Figura1.9. Interfase ICP-MS (Editada, basada en Wolf, 2005)

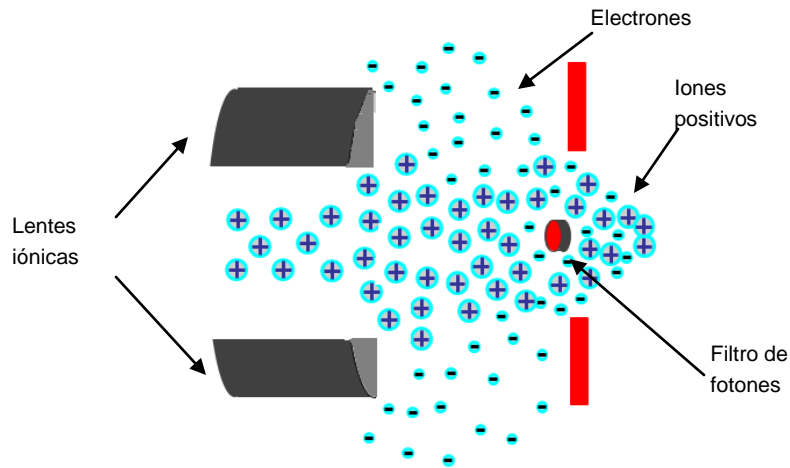


Figura 1.10. Filtro de fotones y alineación de iones.

Finalmente los iones positivos se siguen manteniendo realineados hasta alcanzar una rendija la cual conecta con el analizador cuadrupolo.

2.6.1.3. Separación de masas y detección (MS).

La espectrometría de masas por sí sola es una técnica analítica de gran uso en los laboratorios de análisis, debido a su alta sensibilidad y bajos límites de detección permitiendo suministrar información cuantitativa y cualitativa. Por lo que tiene múltiples aplicaciones. El principio de la espectrometría de masas es: a) la ionización de la muestra, b) la aceleración de los iones con un campo eléctrico y c) la separación de los iones según su relación m/z (Harris, 2007). Al combinar esta técnica con una fuente de ionización como es el ICP, se convierte en una técnica mucho más sensible debido a la alta eficiencia de atomización de la muestra en el plasma de argón (Fernández, 2004).

Uno de los analizadores de masas más empleado actualmente es el cuadrupolo electromagnético. Está formado por cuatro barras metálicas cilíndricas paralelas en forma equidistante (formando un cilindro entre ellas) (Figura 1.11), dos de ellas están cargadas positivamente y dos negativamente. Las barras son sometidas a una combinación de corrientes continuas (DC) y alternas (RF) de tal manera que cambian la polaridad continuamente y debido a esto los iones se mueven circularmente a través del eje del cuadrupolo. Los iones se separan según su

relación m/z , por lo que, bajo condiciones dadas de RF y DC los iones de una específica relación m/z pasarán a través del analizador y llegarán al detector. Mientras que los iones de trayectoria inestable no lo harán (Figura 1.11) (Armienta, 2009)

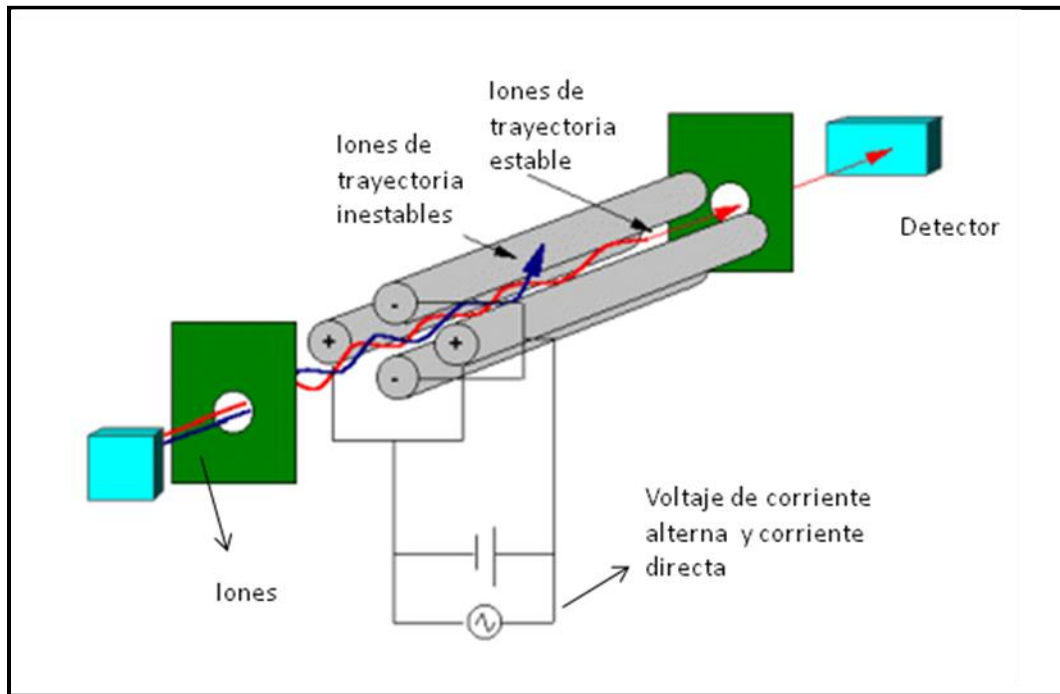


Figura 1.11. Analizador cuadrupolo electromagnético (Fernández, 2004)

El detector más utilizado es el multiplicador de electrones secundarios. Consiste en una serie de dinodos conectados a potenciales cada vez mayores conforme se va avanzando en su interior. Una vez que los iones pasan el área del cuadrupolo, son atraídos hacia el detector al aplicar un alto voltaje en su interior. Cuando un ión positivo choca con el primer dínodo se emiten electrones secundarios los cuales son atraídos por el siguiente dínodo que tiene mayor diferencial de voltaje generando mayor número de electrones secundarios y así sucesivamente hasta generar el efecto cascada (hasta 10^8 de electrones secundarios por cada ión) (Figura 1.12) (Armienta, 2009). Con esto como resultado, en el modo de conteo de pulsos, pueden detectarse hasta dos millones de cuentas por segundo mientras que por el modo analógico el detector amplía el rango dinámico lineal hasta nueve órdenes de magnitud (Ugarte, 2011).

Por último, el detector manda los resultados a una computadora donde se pueden analizar.

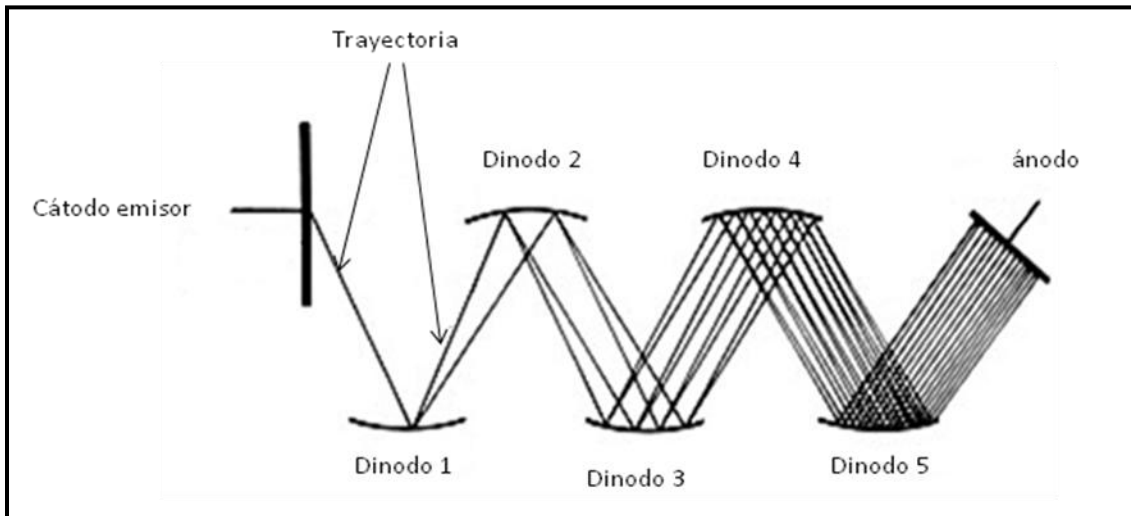


Figura 1.12. Multiplicador de electrones secundarios (Lhoëst, 2010)

2.6.2. Ventajas y desventajas de ICP-MS.

2.6.2.1. Ventajas

Las ventajas que tiene esta técnica son (Fryer, 1990, Pick, 2010 y Armienta, 2009):

- ✓ Es una técnica de análisis multielemental, es decir, tiene la posibilidad de cuantificar varios elementos durante una misma medición en un amplio rango de masas, que va desde 6 correspondiente al Litio hasta 238 del Uranio (Figura 1.13)
- ✓ Muy bajos límites de detección (ng L^{-1} - mg L^{-1})(Figura 1.14)
- ✓ Análisis en disolución
- ✓ La cantidad de muestra en disolución necesaria para el análisis es pequeña, aproximadamente de 7 mL
- ✓ Posibilidad de obtener relaciones isotópicas
- ✓ Análisis en poco tiempo (~ 4 min por muestra)
- ✓ Espectros de fácil interpretación
- ✓ Amplio rango lineal (por encima de ocho órdenes de magnitud).

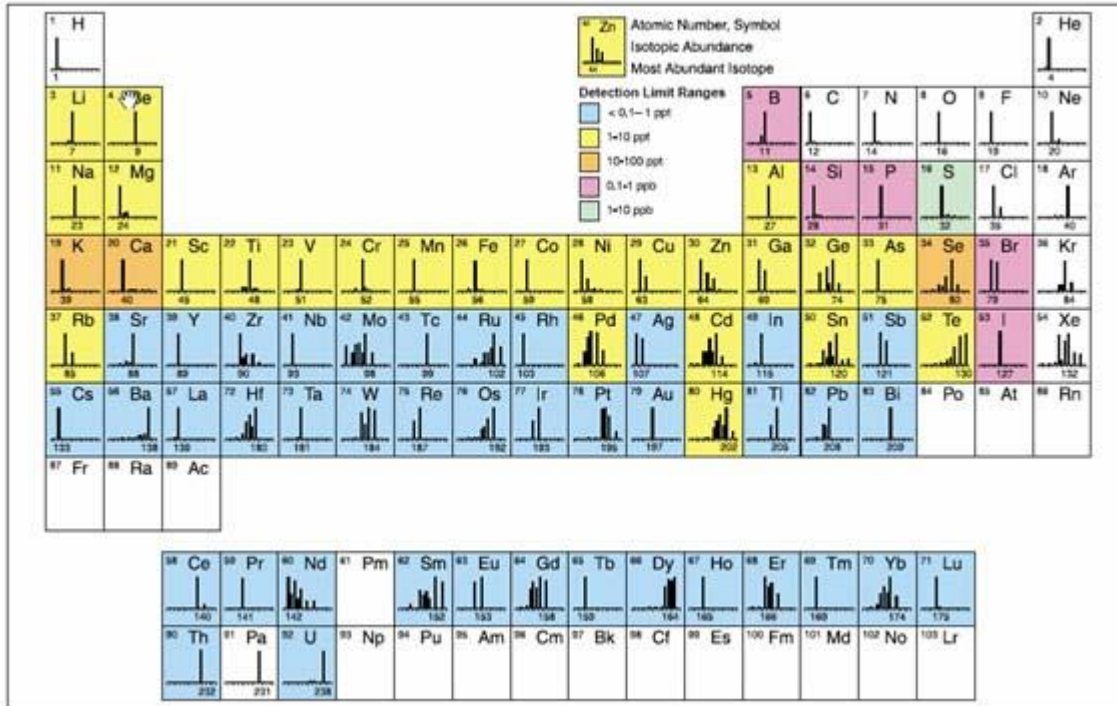


Figura 1.13. Elementos cuantificados en ICP-MS y sus límites de detección (Perkin Elmer, 2005)

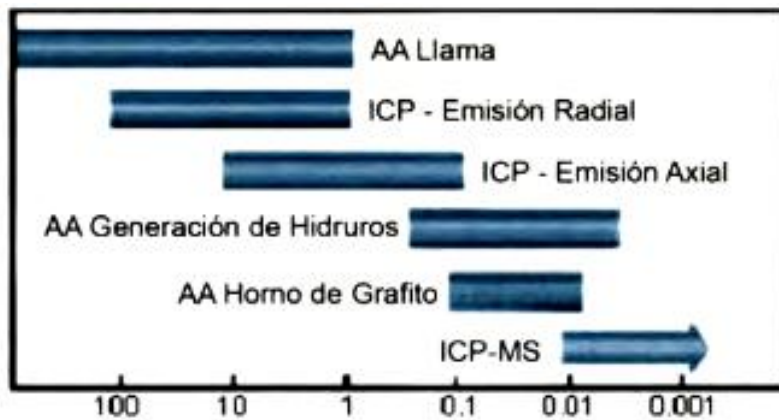


Figura 1.14. Rangos aproximados de límites de detección en $\mu\text{g L}^{-1}$ de diferentes técnicas analíticas (Kastenmayer, 1997)

2.6.2.2. Desventajas

Las enormes desventajas de la técnica son las interferencias espectrales y no espectrales (Pick, 2010). Así como los altos costos de adquisición y mantenimiento (Ash, 1995).

2.6.2.2.1. Interferencias espectrales y no espectrales

2.6.2.2.1.1. Interferencias espectrales

Las interferencias espectrales se dividen en: interferencias isobáricas, interferencias por especies doblemente cargadas, interferencias poliatómicas e interferencias por iones de óxidos refractarios (*Pick, 2010*).

- *Interferencias poliatómicas.* Se producen por las reacciones entre la matriz de la muestra, los componentes del plasma de argón, el aire y el agua. Para minimizar este tipo de interferencias en los últimos años se han introducido nuevas tecnologías, como el método de plasma frío, la tecnología de la celda de colisión (CCT), la celda de reacción dinámica ICP-MS (ICP-DRC-MS), entre otras (*Pick, 2010*). También se pueden evitar al no utilizar en la matriz compuestos que puedan formar las especies atómicas interferentes y al optimizar el proceso de nebulización y del plasma (*Armienta, 2009*).
- *Interferencias isobáricas.* Son causadas por isótopos de otros elementos que tienen masas muy cercanas con una diferencia de aproximadamente 0.005 m/z. Este problema se disminuye utilizando ecuaciones de corrección.
- *Especies doblemente cargadas.* La mayoría de los elementos químicos que se pueden analizar mediante ICP-MS sólo son ionizados a carga 1+ sin embargo, hay elementos que alcanzan su segunda energía de ionización por debajo de la primera energía de ionización del plasma, formando iones de carga 2+. La formación de estas especies se minimiza al controlar la temperatura del plasma y el flujo del gas nebulizador. A flujos bajos, la temperatura aumenta desplazando el equilibrio hacia la formación de iones de carga 2+ (*Fernández, 2004*).
- *Iones de óxidos refractarios.* Estas especies se forman cuando el plasma entra en contacto con el oxígeno, agua y con la matriz formando óxidos. Se pueden

formar MO^+ , MO^{2+} y MO^{3+} pero se pueden eliminar al controlar la RF y el flujo del gas nebulizador (*Fernández, 2004*).

2.6.2.2.1.2. Interferencias no espectrales

Las interferencias no espectrales son aquellos cambios en la intensidad de la señal analítica ya sea supresión o incremento. Son causadas durante todos los procesos involucrados desde la preparación de la muestra hasta la detección del analito, por lo que también se conocen como interferencias de matriz.

Los métodos para minimizar las interferencias de matriz son: el método del estándar interno y la igualación de matrices (*Rodríguez, 2001*).

- *Método del estándar interno.* El estándar interno es una sustancia de concentración conocida que se añade a las muestras, blancos y estándares. Su adición no debe causar ningún tipo de interferencia en el análisis y debe de proporcionar una señal analítica parecida al analito (debe presentar un comportamiento analítico similar al analito durante el análisis), pero a la vez debe ser distinguible del analito y fácilmente determinado, además no debe estar presente en la matriz de estudio.

La curva de calibración se obtiene graficando la relación entre la señal del analito y la señal del estándar interno versus la concentración del analito en las soluciones estándares. Este método se utiliza frecuentemente en ICP-MS (*Kastenmayer, 1997*).

- *Método de la igualación de matriz.* Los estándares se preparan lo más parecido posible con la matriz de la muestra en que ha de determinarse el analito. Este método se utiliza principalmente para muestras con una matriz simple. Para matrices complicadas o desconocidas generalmente se aplica el método de adición de estándar.

Las interferencias de matriz también se disminuyen al preparar cuidadosamente los estándares, muestras y blancos por lo que se debe ser muy exigente en cuanto a la pureza de los reactivos. Otra manera de disminuir este tipo

de interferencias es al evitar el uso de reactivos que puedan interferir en la señal de los analitos (*Ugarte, 2011*).

Capítulo 3: Hipótesis

Si se desarrolla correctamente la metodología analítica, obteniendo valores aceptables de exactitud y precisión según la guía EURACHEM y evaluando otros parámetros de desempeño analítico, entonces servirá de base para estudios nacionales e internacionales basados en muestras biológicas similares.

Si la concentración de níquel y plomo en los tejidos de las especies analizadas se encuentran por debajo de los límites permitidos por las normas internacionales y nacionales entonces se podrán seguir consumiendo sin que produzcan problemas a la salud del consumidor.

Capítulo 4: Desarrollo experimental

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de espectroscopia de absorción atómica. Este laboratorio está certificado por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación (IMNC) del año 2006 a la fecha.

4.1. Equipo, reactivos y material

4.1.1. *Equipo*

- Espectrómetro ICP-MS, modelo Elan DRC-e, Perkin Elmer.
- Equipo de digestión vía húmeda en sistema cerrado, modelo Milestone microwave laboratory systems, msl 1200 Mega.
- Balanza analítica, modelo Sartorius BP 221s.
- Estufa Heraeus, modelo RB360

4.1.2. *Reactivos y soluciones*

- HNO₃ ULTREX II concentrado (J.T Baker)
- HNO₃ (Grado R.A.) al 30 % v/v (J.T. Baker)
- H₂O₂ ULTREX II 30 % (J.T Baker)
- Agua desionizada
- HNO₃ ultrex II 1 % v/v
- Estándares multielementales de níquel y plomo de 10 mg L⁻¹ y 0.2 mg L⁻¹, a partir de soluciones patrón de 1000 µg L⁻¹ (High-Purity Standards).
- Estándares multielementales de Germanio, Talio y Bismuto de 0.2 mg L⁻¹, como estándares internos. A partir de soluciones patrón de 1000 µg L⁻¹ de Tl y Bi (High-Purity Standards) y de solución patrón de 1000 µg L⁻¹ de Ge (J.T. Baker).
- Gas argón grado ultra alta pureza 5.0 (99.999%).

- Solución “daily”. Smart tune solution Std ELAN & DRC-e al 1 % HNO₃. 10 µg L⁻¹ Ba, Be, Ce, Co, In, Mg, Pb, Rh y U. Perkin Elmer Pure, Atomic Spectrometry Standard.

4.1.3. *Material*

- Charolas de poliestireno (3x5 cm)
- Matraces aforados de 10, 50 y 100 mL.
- Espátula
- Papel filtro No 42, Whatman (55mm)
- Micropipetas calibradas de 20-200µL, 100-1000 µL y 500-5000 µL
- Pipetas volumétricas tipo A de 1 y 5 mL
- Recipientes de plástico de 20, 40, 60 y 100 mL.
- Morteros de cerámica
- Bolsas de polietileno de 7x10 cm
- Cajas petri

4.1.4. *Material de Referencia Certificado*

- TORT-2, hepatopáncreas de langosta, National Research Council Canada Measurement Science and Standards.

4.1.5. *Programa de cómputo utilizado*

- Microsoft Office Excel 2007. Para el tratamiento de datos.

4.2. Lavado de material

Este paso es muy importante ya que los metales a analizar se encuentran a niveles de trazas por lo que todo material que estuvo en contacto directo con las muestras, MRC y blancos, se lavó siguiendo el procedimiento utilizado en el Centro Nacional de Metrología (600-ACP-018, CENAM).

- i. Enjuagar con agua de la llave.
- ii. Introducir a una solución de detergente Hyclin (15 % v/v) por 8 horas.
- iii. Enjuagar con agua de la llave
- iv. Introducir a una solución de HNO₃ (Grado R.A.) al 30 % v/v por 8 horas
- v. Enjuagar 10 veces con agua desionizada

- vi. Dejar secar a temperatura ambiente en un lugar limpio
- vii. Almacenar en bolsas de polietileno en un lugar limpio

4.3. Muestreo

El muestreo es una etapa muy importante del proceso del análisis por lo que se tiene que tomar en cuenta que las muestras sean representativas y además se debe evitar la contaminación de las muestras durante el muestreo utilizando material limpio para su recolección (Kastenmayer, 1997).

4.3.1. *Muestreo en el Golfo de México*

Muestreo realizado por el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL) de la UNAM durante la campaña oceanográfica MARZEE-1. Se realizó en las costas de Tamaulipas y Veracruz, los puntos de muestreo se observan en la Figura 4.1.

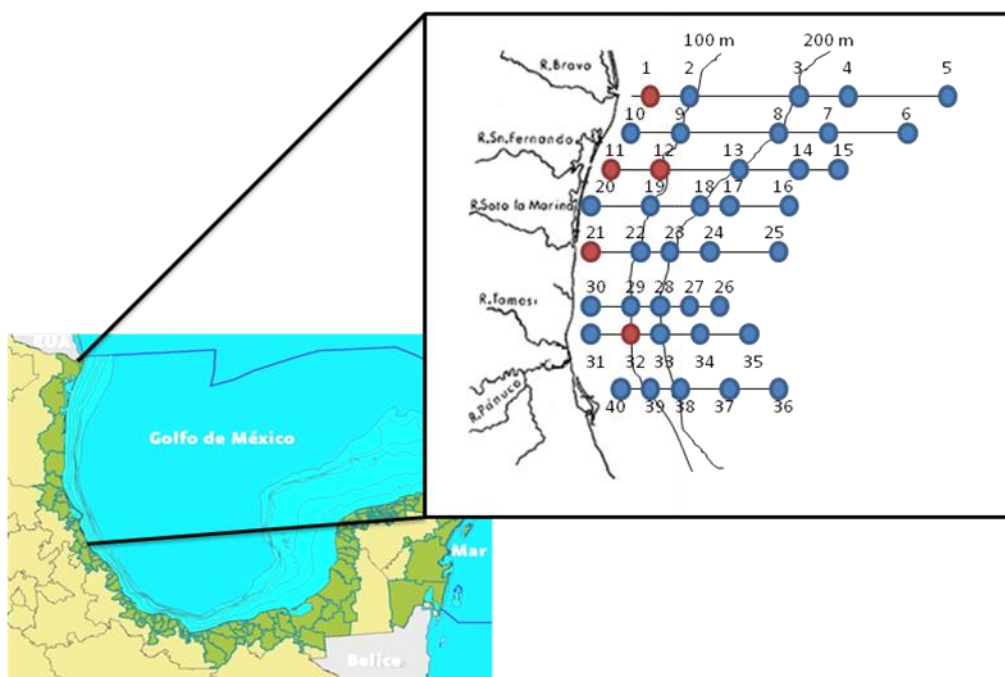










Figura 4.1. Estaciones de muestreo en el Golfo de México, donde los puntos rojos indican la estación donde se recolectaron los organismos que se analizaron en el laboratorio.

El muestreo fue estratificado, basándose en la importancia ecológica y pesquera de cada especie en la zona en estudio (Ordiano, 2011). En la tabla 4.1, se

enlistan las especies muestreadas, punto de muestreo, número de muestras, así como también su nombre científico, común y su representación física.

Tabla 4.1. Organismos recolectados en el Golfo de México (Sapere, 2006)

| Punto de muestreo | No muestras | Especie | Nombre Científico | Nombre Común | Imagen |
|-------------------|-------------|---------|---|-------------------------|---|
| 1, 11,12,21,32 | 5 | Camarón | <i>Farfantepenaeus aztecus</i> | Camarón café |  |
| 1 | 1 | | <i>Prionotus longispinosus</i> | Rubio ojón |  |
| 11 | 1 | | <i>Squilla sp</i> (Camarón estomatópodo) | Camarón brujo |  |
| 1,21 | 2 | | <i>Sicyonia brevirostris stimpson</i> | Camarón de roca |  |
| 1 | 1 | Pescado | <i>Harengula pensacolae</i> | Sardina |  |
| 1 | 1 | | <i>Synodus Foetens</i> | Chile |  |
| 1 | 1 | | <i>Cyclopsetta chittendeni</i> | Lenguado aleta manchada |  |
| 1,2 | 2 | | <i>Stenotomus caprinus</i> | Sargo espinudo |  |

4.3.2. Muestreo en el mercado “La nueva Viga”

Se eligió al mercado “La nueva Viga” debido a que es el más grande a nivel Nacional y América Latina además de que es el principal mercado de distribución de productos acuícolas en el Distrito Federal y área metropolitana. Las especies de pescado a estudiar fueron: la Mojarra tilapia y la Sierra, debido a que son de las especies más consumidas (Velázquez, 2013).



El muestreo fue estratificado por lo que el mercado se dividió en 6 sectores como se muestra en la Figura 4.2.



Figura 4.2. Diseño del muestreo estratificado en el mercado “La nueva Viga”.

De cada zona se eligió un local y se compraron 3 piezas de manera aleatoria de pescado mojarra y 3 de pescado sierra a los cuales se les extrajo solamente el filete, cada filete se embolsó y se le asignó el código formado por el número de zona, número de muestra y tipo de pescado (Tabla 4.2). Fueron introducidas a una hielera y una vez terminado el muestreo se trasladaron al laboratorio LEAA-103 donde las muestras fueron refrigeradas a $\sim 0^{\circ}\text{C}$.

Tabla 4.2. Muestreo en el mercado “La nueva Viga”

| Especie | Imagen | Zona | Tejido | Muestras |
|-----------------|---|------|---------|----------------|
| Mojarra tilapia |  | 1 | Músculo | 3 de cada zona |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| | | 4 | | |
| | | 5 | | |
| | | 6 | | |
| Sierra |  | 1 | Músculo | 3 de cada zona |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| | | 4 | | |
| | | 5 | | |
| | | 6 | | |

4.4. Tratamiento físico

- *Muestras del Golfo de México*

Los organismos fueron disectados para obtener el abdomen y el hígado de los pescados así como el complemento y el abdomen de los camarones. Los tejidos fueron colocados en cajas petri previamente rotuladas para ser secados en una estufa a 60 °C hasta alcanzar un peso constante (72 horas), enseguida fueron molidos y homogeneizados en un mortero de porcelana para ser guardados en bolsas de polietileno previamente rotuladas para finalmente ser conservados en un desecador.

- *Muestras del mercado “La nueva Viga”*

Se extrajeron 20 g del músculo de cada filete. Cada muestra se colocó en una caja petri para poder secarlas en la estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante (5 días). Una vez alcanzado el peso constante se molieron y homogeneizaron en morteros de porcelana, los cuales también se sometieron al lavado según el CENAM. Las muestras bien pulverizadas se guardaron en bolsas de polietileno previamente rotuladas y fueron conservadas en un desecador.

4.5. Tratamiento químico

Se realizó mediante digestión vía húmeda en sistema cerrado empleando microondas. Las ventajas de utilizar este tipo de digestión son: rápida digestión (10-30 min.), es reproducible, hay bajo riesgo de contaminación, no hay pérdida de elementos volátiles, hay menor consumo de reactivos como de muestra y la eficacia depende de la presión y temperatura (*Kastenmayer, 1997*).

Se efectúa al tratar la muestra con ácidos minerales concentrados y en ocasiones se combinan con oxidantes fuertes. Los ácidos más ampliamente utilizados en la digestión húmeda son: HNO₃, H₂SO₄ y HClO₄, y como agentes oxidantes: H₂O₂, KMnO₄, K₂Cr₂O₇, entre otros (*Calvo, 1984*).

En la mayoría de las digestiones de alimentos se utiliza la mezcla HNO₃ y H₂O₂ (*Kastenmayer, 1997*). El ácido nítrico es un oxidante fuerte que al combinarlo con el peróxido de hidrógeno que también es oxidante fuerte, se logra una digestión de la materia orgánica más eficiente (*Calvo, 1984*).

La digestión de las muestras, MRC y la preparación de blancos muestra, se realizó siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Se pesó 1 g de muestra o MRC, (para preparar los blancos muestra se inició en el paso 3).
2. Se vertió al reactor del microondas.
3. Se le agregaron 4 mL de HNO_{3 conc} ULTREX II (*Özden, 2010*).

4. Se le agregó 1 mL de H₂O₂ (30 %) ULTREX II (Özden, 2010):
5. Las muestras se digirieron utilizando el programa de la tabla 4.3.
6. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se filtraron por gravedad.
7. Se aforaron con agua desionizada a 10 mL.
8. Se transvasaron en recipientes de plástico para su conservación en refrigeración (~-4°C).

Tabla 4.3. Programa de digestión por microondas (Bertelli, 2001)

| Potencia | Tiempo |
|----------|--------|
| 250 W | 1 min |
| 0 | 2 min |
| 250 W | 5 min |
| 400 W | 5 min |
| 600 W | 5 min |
| Enfriado | 11 min |

4.6. Diluciones gravimétricas

El propósito de diluir las muestras fue con la finalidad de disminuir las interferencias de matriz y de asegurar que la concentración de los analitos en MRC y muestras se encontrara dentro del intervalo lineal (Rodríguez, 2001).

Se decidió diluir gravimétricamente y no volumétricamente debido a que la balanza analítica es un instrumento analítico de alta precisión y sensibilidad por lo que permite conocer la masa de una manera muy precisa (se obtienen valores hasta con cuatro o cinco decimales) poseyendo muy poco margen de error (incertidumbres pequeñas, de 0.1 mg o menos) (CENAM, 2004). Además la balanza se calibra por un laboratorio acreditado y certificado.

Las muestras y blancos se diluyeron gravimétricamente a 1:2 y 1:10 (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Preparación de diluciones gravimétricas.

| Dilución | Muestra (g) | Estándar interno (15 µg L ⁻¹) (g) | Total (g) |
|----------|-------------|--|-----------|
| 1:2 | 3.00 | 0.45 | 6.00 |
| 1:10 | 1.00 | 0.75 | 10.00 |

4.7. Introducción de las disoluciones al equipo

Las disoluciones preparadas se introdujeron al equipo bajo el siguiente orden. En cada sesión de lectura se iniciaba con la introducción de la solución “daily”, la curva de calibración y enseguida las muestras correspondientes.

1. Curva de calibración
2. Blancos 1:10
3. MRC 1:10
4. Muestras 1:10
5. Blancos 1:2
6. MRC 1:2
7. Muestras 1:2

4.8. Condiciones analíticas e instrumentales

4.8.1. *Condiciones instrumentales*

Una vez estabilizado el equipo ICP-MS (~ 20 min.), se obtuvieron los parámetros instrumentales del espectrómetro ICP-MS (Elan DRC-e Axial Field Technology, Perkin-Elmer) al introducir la solución “daily” al equipo que contiene Mg, In, Ba, Ce y U bajo las condiciones que sugería el fabricante. Se verificó que las relaciones de CeO/Ce y Ba⁺⁺/Ba fueran menores de 0.03 (estos datos permiten asegurar que las interferencias por iones de óxidos refractarios y especies doblemente cargadas no se formaron y por lo tanto no interferirán en la cuantificación de los analitos). En estas condiciones se iniciaba el análisis de las disoluciones. Las condiciones de operación así como las características del equipo se enlistan en la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Condiciones y parámetros de operación del equipo ICP-MS.

| Descripción | Valor o característica |
|---------------------------|---|
| Flujo del gas nebulizador | 0.8 L min ⁻¹ |
| Flujo del gas auxiliar | 1.2 L min ⁻¹ |
| Flujo del gas plasmógeno | 13.50 L min ⁻¹ |
| Potencia | 1100 W |
| Voltaje en lentes iónicas | 6.0 Volts |
| Cono de muestreo | Níquel, orificio de 1.1 mm |
| Cono discriminador | Níquel, orificio de 0.9 mm |
| Nebulizador | Flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott |
| Antorcha | Posición axial |
| Réplicas | 3 |

4.8.2. Elección del isótopo analito

Los isótopos que se cuantificaron mediante ICP-MS, se eligieron según su porcentaje de abundancia natural.

En el caso del níquel se optó por analizar a los isótopos ⁵⁸Ni y ⁶⁰Ni (Tabla 4.6) y, en el caso del plomo al isótopo ²⁰⁸Pb (Tabla 4.7), debido a que son los de mayor abundancia y por lo tanto mejor cuantificados por el espectrómetro de masas.

Tabla 4.6. Isótopos de níquel y su porcentaje de abundancia, donde * indica los isótopos de mayor abundancia natural

| Isótopo | Abundancia (%) |
|--------------------|----------------|
| ⁵⁸ Ni * | 68.077 |
| ⁶⁰ Ni * | 26.233 |
| ⁶¹ Ni | 1.14 |
| ⁶² Ni | 3.634 |
| ⁶⁴ Ni | 0.926 |

Tabla 4.7. Isótopos de plomo y su porcentaje de abundancia, donde * indica el isótopo de mayor abundancia natural

| Isótopo | Abundancia (%) |
|--------------------|----------------|
| ²⁰⁴ Pb | 1.4 |
| ²⁰⁶ Pb | 20.1 |
| ²⁰⁷ Pb | 22.1 |
| ²⁰⁸ Pb* | 52.4 |

4.8.2.1. *Interferencias poliatómicas e isobáricas en el equipo ICP-MS*

El isótopo ⁵⁸Ni presenta como interferente isobárico ⁵⁸Fe por lo que se utilizó la siguiente ecuación matemática para corregir dicha interferencia.

$$I(^{58}\text{Ni}) = I(m/z\ 58) - 0.003073 * I(^{56}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 7 (Ver anexo B)}$$

El ²⁰⁸Pb no presenta interferencias de este tipo por lo que no se requiere de una ecuación.

En cuanto a las interferencias poliatómicas, las presentan los dos isótopos del níquel (⁵⁸Ni y ⁶⁰Ni) y el isótopo ²⁰⁸Pb del plomo (Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Interferencias poliatómicas de Ni y Pb en el equipo ICP-MS

| Descripción | Níquel | | Plomo |
|-----------------------------|---|--|---|
| Isótopo analito | ⁵⁸ Ni | ⁶⁰ Ni | ²⁰⁸ Pb |
| Interferencias poliatómicas | ⁴⁰ Ar ¹⁸ O ⁺ , ⁴⁰ Ca ¹⁸ O ⁺ , ²³ Na ³⁵ Cl ⁺ | ⁴⁴ Ca ¹⁶ O ⁺ , ²³ Na ³⁷ Cl ⁺ , ⁴³ Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺ | ¹⁹² W ¹⁶ O ⁺ |

Para la minimización de estas interferencias, se introdujo la solución “daily” al equipo ICP-MS y se corroboró que la relación de CeO/Ce (que indica la formación de óxidos) y de Ba⁺⁺/Ba (que indica la formación de partículas doblemente cargadas), fuera menor de 0.03 (valor recomendado por el fabricante) (*Armienta, 2009 y Perkin Elmer, 2005*).

4.8.3. Elección del estándar interno

Para elegir el estándar interno se tomó en cuenta lo siguiente, debía de presentar una masa y una energía de ionización muy parecida al analito, es decir, que presente un comportamiento analítico similar al analito en estudio con el fin de corregir las fluctuaciones instrumentales (Koirtyohann, 1994). Además el estándar interno debe ser una sustancia pura, debe estar ausente en la matriz de estudio, no debe interferir en la cuantificación del analito, no debe reaccionar en las disoluciones de estudio y debe estar en concentración constante en toda la curva de calibración, blancos, MRC y muestras (Koirtyohann, 1994).

Para el caso de níquel se optó por analizar ^{74}Ge , ^{72}Ge e ^{89}Y debido a que el níquel presenta una energía de ionización de $737.13 \text{ kJ mol}^{-1}$ y para el plomo se optó por analizar ^{203}Tl , ^{205}Tl y ^{209}Bi puesto que presenta una energía de ionización de $715.60 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Tabla 4.9) (Lenntech, 2012).

Tabla 4.9. Energías de ionización y porcentajes de abundancia de los posibles estándares internos para la cuantificación de níquel y plomo.*Energías de ionización de los analitos

| Isótopo estándar interno | Energía de ionización (kJ mol^{-1}) | % abundancia natural |
|--------------------------|---|----------------------|
| Ni* | 737.13* | |
| ^{74}Ge | 762.18 | 35.94 |
| ^{72}Ge | 762.18 | 27.66 |
| ^{89}Y | 599.58 | 100 |
| Pb* | 715.60* | |
| ^{205}Tl | 590.00 | 70.476 |
| ^{203}Tl | 590.00 | 29.524 |
| ^{209}Bi | 703.60 | 100 |

4.9. Parámetros de desempeño analíticos de la metodología.

4.9.1. *Límite de detección instrumental*

Es la concentración promedio equivalente a la señal analítica de 10 blancos muestra “b” mas tres veces la desviación estándar “s” de los mismos, ecuación 8 (EURACHEM, 2005).

$$\text{LoDI} = b + 3s$$

Ecuación 8

Para obtenerlo se siguió el siguiente procedimiento experimental:

1. 10 blancos muestra independientes se diluyeron gravimétricamente como se muestra en la tabla 4.10. (EURACHEM, 2005).
2. Se analizó 1 vez cada uno.
3. Se obtuvieron las concentraciones en $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada metal.
4. Se obtuvo el promedio, la desviación estándar y se utilizó la ecuación 8.

Tabla 4.10. Preparación de blancos muestra, donde el blanco muestra es aquel que recibió el mismo tratamiento de digestión que los MRC´s y muestras.

| Blancos | Dilución | Blanco muestra(g) | Solución de Estándares internos (0.2 mg L^{-1}) (g) | Masa a aforo con agua desionizada (g) |
|---------|----------|-------------------|---|---------------------------------------|
| 10 | 1:2 | 3 | 0.45 | 6 |
| | 1:10 | 1 | 0.75 | 10 |

4.9.2. *Límite de cuantificación instrumental*

Se expresa como el promedio de los blancos muestra más diez veces la desviación estándar “s” de los mismos, ecuación 9 (EURACHEM, 2005).

$$\text{LoQI} = b + 10s$$

Ecuación 9

La forma de obtenerlo es la misma que para el LoD (inciso 4.9.1.) y se utiliza la ecuación 9.

4.9.3. *Intervalo lineal y de trabajo*

El *intervalo lineal*, es el intervalo donde la señal de respuesta del equipo tendrá una relación proporcional con la concentración del analito. El límite inferior está definido por el LoDI y el superior es hasta donde se comporte linealmente la curva de calibración (EURACHEM, 2005).

Para obtener el intervalo lineal se prepararon 3 curvas de [1-300 $\mu\text{g L}^{-1}$] de Ni y Pb incluyendo sus respectivos blancos de calibración (0 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Todas fueron preparadas gravimétricamente de la siguiente manera:

Intervalo [1-300 $\mu\text{g L}^{-1}$] estándar de Ni y Pb + EI (Ge, Y, Tl y Bi) [15 $\mu\text{g L}^{-1}$] + 20 mL HNO_3 1 % v/v y se llevaron a 100 g con agua desionizada.

Para obtener la curva de calibración, se graficó el cociente del isótopo analito entre el isótopo del estándar interno versus la concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) del analito.

El intervalo lineal se obtiene al realizar inspección visual de la curva para la identificación de los valores aberrantes si los hay y puedan ser discriminados (se debe evitar discriminar a los puntos solo por inspección por lo que se recomienda inspección de los residuales), posteriormente se calcula el coeficiente de correlación el cual debe ser mayor o igual a 0.999 (EURACHEM, 2005).

El *intervalo de trabajo*, es el intervalo de concentraciones de las disoluciones de las muestras reales medidas. El límite inferior está definido por el límite de cuantificación y el superior es la concentración máxima en las muestras reales analizadas por dos, para asegurar que las concentraciones de las muestras tengan el menor error posible. Por lo tanto es el intervalo de concentraciones en el que puede aplicarse la metodología (EURACHEM, 2005).

4.9.4. Exactitud y precisión

La exactitud es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. Se determina mediante el porcentaje de error relativo el cual debe ser $\pm 20\%$ (*European commission, 2009*).

El porcentaje de error relativo se obtiene con la ecuación 10, donde el valor verdadero es el valor de referencia.

$$\% \text{ Error relativo} = \left(\frac{\text{Valor experimental} - \text{Valor de Referencia}}{\text{Valor de Referencia}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

La precisión es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas (*Rodríguez, 2001*). Se determina mediante el porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) y el método será preciso si el $\%RSD \leq 20\%$ (*European commission, 2009*). El %RSD se calcula con la ecuación 11, donde “DESVEST” es la desviación estándar de los resultados y “x” es el promedio de los resultados.

$$\%RSD = \left(\frac{DESVEST}{x} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 11}$$

La exactitud y precisión se obtuvieron al analizar un material de referencia certificado (con matriz similar a la de las muestras de estudio) bajo condiciones establecidas. El material de referencia certificado utilizado fue el TORT-2 (hepatopáncreas de langosta) y se analizó 8 veces (*EURACHEM, 2005*) siguiendo el tratamiento químico mencionado en el inciso 4.5 y diluido según el inciso 4.6.

Capítulo 5: Resultados y análisis

5.1. Evaluación analítica del método por ICP-MS

El objetivo de establecer las condiciones analíticas y los parámetros de desempeño analíticos fue con la finalidad de identificar las limitaciones del método y los factores que pueden cambiar los resultados y así verificar si la metodología es apropiada para los analitos en estudio (Lazos, 2004). Los parámetros analíticos que se evaluaron para cada analito fueron: Intervalo lineal y de trabajo, límite de cuantificación y detección instrumental, exactitud y precisión.

5.1.1. *Límites de detección y cuantificación instrumentales*

Los límites de detección y cuantificación para cada metal se muestran en la tabla 5.1, los cuales se obtuvieron al ocupar las ecuaciones 8 y 9.

Tabla 5.1. Límites de detección y cuantificación obtenidos experimentalmente.

| Metal | LoDI ($\mu\text{g L}^{-1}$) | LoQI ($\mu\text{g L}^{-1}$) |
|--------------|---|---|
| Ni | 0.12 | 0.40 |
| Pb | 0.10 | 0.33 |

Como se esperaba, los límites de detección instrumentales para Ni y Pb son muy bajos.

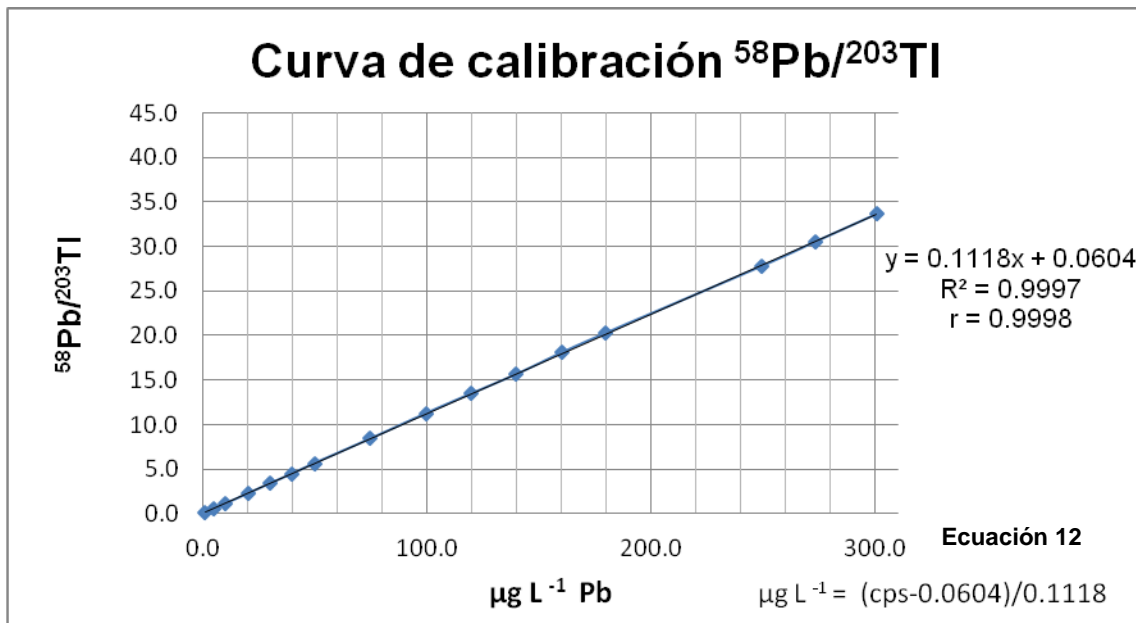
5.1.2. *Intervalo lineal*

Para que la cuantificación de los analitos fuera confiable se utilizaron estándares internos para la calibración. A las curvas de calibración se les realizó una inspección visual y un análisis de residuales para poder discriminar puntos, si es que era necesario.

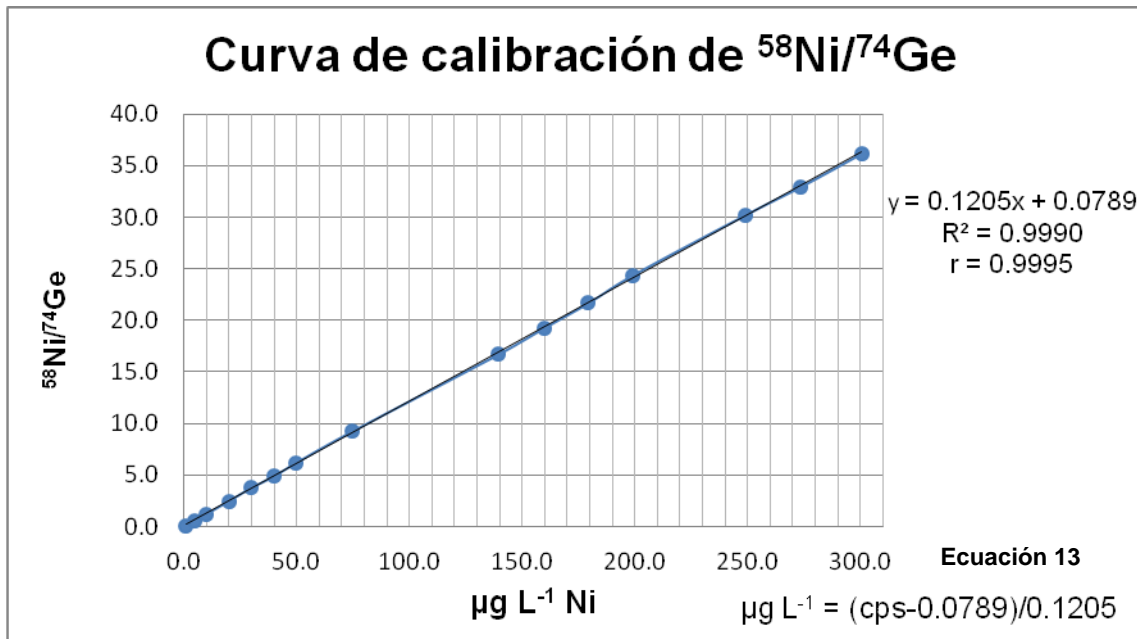
Enseguida se muestran las curvas de calibración de mejor coeficiente de correlación para los isótopos analitos con sus respectivos isótopos estándares internos.

La curva de calibración de Pb y Ni (Gráfica 5.1 y 5.2), muestra un coeficiente de correlación de 0.9998 y 0.9999 respectivamente por lo que en el intervalo lineal de concentraciones de 1 a 300.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (concentraciones reales) los analitos son cuantificados confiablemente. En cada gráfica se muestra la ecuación para obtener los $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal en las muestras analizadas posteriormente (ecuación 12 y 13). El límite inferior no es 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, este límite se define con el LoDI (inciso 5.1.1) (EURACHEM, 2005). Por lo que el intervalo lineal para el níquel es [0.12-300.5] $\mu\text{g L}^{-1}$ y para el plomo es de [0.10-300.5] $\mu\text{g L}^{-1}$.

Gráfica 5.1. Curva de calibración para el plomo



Gráfica 5.2. Curva de calibración para el níquel



5.1.3. Intervalo de trabajo

El límite inferior del intervalo de trabajo está definido por el LoQI y el límite superior por la concentración máxima cuantificada por dos ya sea en MRC o muestras reales, esto con la finalidad de establecer el intervalo de concentraciones del analito sobre el cual el método puede aplicarse (*EURACHEM, 2005*).

El intervalo de concentraciones de Ni y Pb en el MRC y muestras fue de [5.38-120] $\mu\text{g L}^{-1}$ y de [0.77-20] $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Por lo que el intervalo de trabajo para níquel es de [0.40-240] $\mu\text{g L}^{-1}$ y para el plomo [0.33-40] $\mu\text{g L}^{-1}$.

5.1.4. Exactitud y precisión

Las concentraciones de Ni y Pb obtenidas al analizar el MRC se encuentran en las tablas 5.2 y 5.3. El cálculo del % Error relativo y % RSD se realizó con la ecuación 10 y 11 respectivamente.

Tabla 5.2. Resultados para Ni en el MRC (n=8). Donde el * indica el isótopo del analito y del EI elegido (mejor %RSD y % Error relativo)

| MRC | Isótopo analito | Isótopo estándar interno | Concentración certificada de níquel en MRC (mg kg ⁻¹) [x ± s] | Concentración experimental (mg kg ⁻¹) [x ± s] | % Error relativo (Exactitud) | %RSD (Precisión) |
|--------|-------------------|--------------------------|---|---|------------------------------|------------------|
| TORT-2 | ⁵⁸ Ni* | ⁷⁴ Ge* | 2.50 ± 0.19 | 2.62 ± 0.14 | 4.63* | 5.34* |
| | | ⁷² Ge | | 2.06 ± 0.17 | -17.52 | 8.24 |
| | | ⁸⁹ Y | | 1.64 ± 0.22 | -34.43 | 13.41 |
| | ⁶⁰ Ni | ⁷⁴ Ge | | 2.24 ± 0.28 | -16.0 | 12.50 |
| | | ⁷² Ge | | 1.93 ± 0.10 | -22.69 | 5.18 |
| | | ⁸⁹ Y | | 1.65 ± 0.28 | -34.06 | 16.96 |

Tabla 5.3. Resultados para Pb en MRC (n=8). Donde el * indica el isótopo EI elegido (mejor %RSD y % Error relativo)

| MRC | Isótopo analito | Isótopo estándar interno | Concentración certificada de plomo en MRC (mg kg ⁻¹) [x ± s] | Concentración experimental (mg kg ⁻¹) [x ± s] | % Error relativo (Exactitud) | %RSD (Precisión) |
|--------|-------------------|--------------------------|--|---|------------------------------|------------------|
| TORT-2 | ²⁰⁸ Pb | ²⁰⁵ Tl | 0.35 ± 0.13 | 0.40 ± 0.10 | 13.69 | 25.00 |
| | | ²⁰³ Tl* | | 0.37 ± 0.04 | 5.70* | 10.81* |
| | | ²⁰⁹ Bi | | 0.30 ± 0.10 | -10.32 | 33.33 |

5.1.4.1. Níquel

5.1.4.1.1. Análisis del isótopo estándar interno

Al observar los resultados de la tabla 5.2, se puede decir que el estándar interno más adecuado para la determinación de Ni es ⁷⁴Ge ya que presenta un menor porcentaje de error relativo que ⁷²Ge e ⁸⁹Y tanto para el isótopo ⁵⁸Ni como para el ⁶⁰Ni.

Esto se debió a que el ^{74}Ge presenta una masa atómica y una energía de ionización cercana a la del Ni (Tabla 4.9). Y también a que el isótopo ^{74}Ge presenta mayor abundancia (35.94 %) que ^{72}Ge (27.66 %) por lo que fue mejor cuantificado.

Con respecto al %RSD, se observa que el menor porcentaje lo presenta ^{60}Ni con ^{72}Ge , sin embargo, presenta un porcentaje de error relativo de -22.69. Por lo que el %RSD de la pareja ^{74}Ge con ^{58}Ni es el mejor puesto que es 5.34; que en conjunto con un porcentaje de error relativo de 4.63 presenta mayor precisión y exactitud.

5.1.4.1.2. *Análisis del isótopo analito.*

Una vez elegido el estándar interno (^{74}Ge) se analiza en conjunto con los isótopos del níquel (Tabla 5.2). El isótopo que presentó menor porcentaje de error relativo fue ^{58}Ni , esto se puede justificar debido a que este isótopo presenta mayor porcentaje de abundancia natural (68.077%) que ^{60}Ni (26.233%) y si bien podía presentar interferencias se corrigieron con las condiciones instrumentales y analíticas establecidas.

5.1.4.1.3. *Análisis del MRC*

Al utilizar el isótopo ^{58}Ni con ^{74}Ge como estándar interno para el análisis del MRC, se obtuvo una concentración de $2.62 \pm 0.14 \text{ mg kg}^{-1}$ presentado un % de error relativo de 4.63 y un % RSD de 5.34. Los resultados permitieron concluir que la metodología desarrollada resultó ser exacta y precisa ya que se obtuvieron valores aceptables de % de error relativo ($\pm 20\%$) y de %RSD ($<20\%$) respectivamente. Por lo que es aplicable para la determinación de níquel en muestras de especies marinas.

5.1.4.2. *Plomo*

5.1.4.2.1. *Análisis del isótopo estándar interno*

Como se observa en la tabla 5.3, el estándar interno más adecuado para la cuantificación del plomo fue ^{203}Tl debido a que se obtuvo menor % de error relativo y % RSD que ^{205}Tl y ^{209}Bi . Cabe mencionar que se esperaba que ^{209}Bi fuera mejor

estándar interno debido a que presenta una energía de ionización muy parecida al Pb (Tabla 4.9) y a que tiene un porcentaje de abundancia natural de 100. Sin embargo, se pudo deber a que la solución estándar no era nueva.

5.1.4.2.2. *Análisis del isótopo analito.*

Al observar la tabla 5.3, el único isótopo analito cuantificado fue el ^{208}Pb debido a que presenta mayor abundancia natural (52.4 %).

5.1.4.2.3. *Análisis del MRC*

Al utilizar el isótopo de ^{208}Pb con ^{203}Tl como estándar interno para la cuantificación de plomo, se obtuvo una concentración de $0.37 \pm 0.04 \text{ mg kg}^{-1}$ con % de error relativo de 5.70 y % RSD de 10.81. Estos valores permitieron concluir que la metodología desarrollada resultó ser exacta y precisa (valores aceptables de % de error relativo ($\pm 20\%$) y de %RSD ($<20\%$) respectivamente). Por lo que es aplicable para la determinación de plomo en muestras de especies marinas.

5.2. Evaluación de las concentraciones de Ni y Pb en las muestras reales

Una vez que se evaluaron las condiciones analíticas e instrumentales a través del análisis de la exactitud y precisión del MRC y se definieron los parámetros de desempeño de la metodología analítica, se aplicó a muestras reales procedentes del Golfo de México y del mercado “La nueva Viga” del Distrito Federal.

Enseguida se enlistan en tablas los resultados obtenidos.

5.2.1. *Muestras del Golfo de México*

5.2.1.1. *Níquel*

Tabla 5.4. Concentraciones de Ni en especies marinas del Golfo de México (en peso seco). Las muestras fueron únicas por lo que el análisis se realizó solamente una vez. Donde “x” es el promedio y “s” es la desviación estándar de los resultados obtenidos

| Especie | Nombre Científico | No muestras | Tejido | Intervalo de concentración experimental de Ni (mg kg ⁻¹) | Promedio o concentración experimental de Ni (mg kg ⁻¹) [x ± s] |
|--------------------------------|--|-------------|-----------|--|--|
| Camarón | <i>Farfantepenaeus aztecus</i> | 4 | Abdomen | [0.3-0.9] | 0.6 ± 0.3 |
| | | 5 | Caparazón | [1.5-2.9] | 2.2 ± 0.7 |
| | <i>Squilla sp</i> (Camarón estomatópodo) | 1 | Caparazón | | 2.9 |
| | <i>Sicyonia brevirostris stimpson</i> | 3 | Abdomen | [1.2-1.6] | 1.4 ± 0.2 |
| | | 2 | Caparazón | [2.5-3.5] | 3.0 ± 0.5 |
| Pescado | <i>Harengula pensacolae</i> (Sardina) | 1 | Hígado | | 3.3 |
| | | 1 | Músculo | | 0.4 |
| | <i>Synodus Foetens</i> | 1 | Hígado | | 0.6 |
| | | 1 | Músculo | | 0.3 |
| | | 1 | Abdomen | | 1.9 |
| | <i>Cyclopsetta chittendeni</i> | 1 | Hígado | | 3.3 |
| | | 1 | Músculo | | 0.2 |
| | <i>Prionotus longispinosus</i> | 1 | Hígado | | 4.2 |
| | | 1 | Músculo | | 0.3 |
| | <i>Stenotomus caprinus</i> | 2 | Hígado | [4.0-4.6] | 4.3 ± 0.3 |
| | | 2 | Músculo | [2.1-2.9] | 2.5 ± 0.4 |
| <i>Prionotus longispinosus</i> | 1 | Hígado | | 4.2 | |
| | 1 | Músculo | | 0.3 | |

Como se observa en la tabla 5.4, el intervalo de concentraciones en el abdomen de camarón fue [0.3-1.6] mg kg⁻¹ y en caparazón fue [1.5-3.5] mg kg⁻¹, las diferentes especies de camarón presentaron mayor concentración de níquel en el

caparazón debido a que se encuentra en mayor contacto con el medio, es decir, con el agua del océano. En el caso de las diferentes especies de pescado, el músculo presentó menor concentración [0.2-2.9] mg kg⁻¹, siguiendo el abdomen de *Synodus foetens* 1.9 mg kg⁻¹ y por último el hígado [0.6-4.6] mg kg⁻¹. Se puede decir que el pescado *Synodus foetens* presentó menor concentración en sus tejidos.

5.2.1.2. *Plomo*

Tabla 5.5. Concentraciones de Pb en especies marinas del Golfo de México (en peso seco). Las muestras fueron únicas por lo que el análisis se realizó solamente una vez.

| Especie | Nombre Científico | No muestras | Tejido | Intervalo de concentración experimental de Pb (mg kg ⁻¹) | Promedio o concentración experimental de Pb (mg kg ⁻¹) [x ± s] |
|---------|--|-------------|-----------|--|--|
| Camarón | <i>Farfantepenaeus aztecus</i> | 4 | Abdomen | [0.08-0.18] | 0.13 ± 0.05 |
| | <i>Squilla sp</i> (Camarón estomatópodo) | 1 | Caparazón | | 0.39 |
| | <i>Sicyonia brevirostris stimpson</i> | 3 | Abdomen | [0.11-0.15] | 0.13 ± 0.02 |
| | | 2 | Caparazón | [0.17-0.29] | 0.23 ± 0.06 |
| | | | | | |
| Pescado | <i>Harengula pensacolae</i> (Sardina) | 1 | Hígado | | 0.02 |
| | | 1 | Músculo | | 0.43 |
| | <i>Synodus Foetens</i> | 1 | Hígado | | 0.14 |
| | | 1 | Músculo | | 0.13 |
| | | 1 | Abdomen | | 0.38 |
| | <i>Cyclopsetta chittendeni</i> | 1 | Hígado | | 6.10 |
| | | 1 | Músculo | | 0.10 |
| | <i>Stenotomus caprinus</i> | 2 | Hígado | [2.18-3.06] | 2.80 ± 0.60 |
| | | 2 | Músculo | [0.12-0.32] | 0.22 ± 0.10 |
| | <i>Prionotus longispinosus</i> | 1 | Hígado | | 3.80 |
| 1 | | Músculo | | 0.17 | |

Como se observa en la tabla 5.5, las diferentes especies de camarón presentaron mayor concentración de plomo en el caparazón [0.10-0.39] mg kg⁻¹ que en el abdomen [0.08-0.18] mg kg⁻¹ debido a que el caparazón está en mayor contacto con el medio. En el caso de las diferentes especies de pescado, el músculo presentó menor concentración [0.10-0.43] mg kg⁻¹, siguiendo el abdomen de *Synodus foetens* (0.38 mg kg⁻¹) y por último el hígado [0.02-6.10] mg kg⁻¹.

5.2.2. Muestras del mercado “La nueva Viga”

Del muestreo realizado, cabe mencionar que cada una de las 3 muestras de cada especie recolectadas en cada zona se digirió y analizó por triplicado. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.6 para Mojarra y en la 5.7 para Sierra.

5.2.2.1. Mojarra

Tabla 5.6. Concentración de Ni y Pb en pescado Mojarra por zonas (en peso seco).

| Mojarra | Concentración experimental de níquel (mg kg ⁻¹) [x ± s] | Concentración experimental de plomo (mg kg ⁻¹) [x ± s] |
|---------|--|---|
| Zona 1 | 1.2 ±0.1 | 0.07 ± 0.03 |
| Zona 2 | 0.3 ±0.1 | 0.06 ± 0.04 |
| Zona 3 | 0.3 ±0.2 | 0.12 ±0.02 |
| Zona 4 | 0.2 ±0.1 | 0.03 ± 0.01 |
| Zona 5 | 0.2 ±0.1 | 0.11 ± 0.06 |
| Zona 6 | 0.2 ±0.1 | 0.10 ± 0.05 |

Como se puede observar en la tabla 5.6, la concentración de níquel oscila entre [0.2-1.2] mg kg⁻¹ y la de plomo entre [0.03-0.12] mg kg⁻¹. La zona 1 presenta mayor concentración de níquel y la zona 3 mayor concentración de plomo.

5.2.2.2. *Sierra*

Tabla 5.7. Concentración de Ni y Pb en pescado Sierra por zonas (en peso seco).

| Sierra | Concentración experimental de níquel (mg kg⁻¹) [x ± s] | Concentración experimental de plomo (mg kg⁻¹) [x ± s] |
|---------------|---|--|
| Zona 1 | 0.3 ± 0.2 | 0.10 ± 0.5 |
| Zona 2 | 0.2 ± 0.1 | 0.03 ± 0.01 |
| Zona 3 | 0.3 ± 0.1 | 0.11 ± 0.01 |
| Zona 4 | 0.2 ± 0.1 | 0.16 ± 0.01 |
| Zona 5 | 0.3 ± 0.2 | 0.04 ± 0.02 |
| Zona 6 | 0.2 ± 0.1 | 0.04 ± 0.02 |

Como se puede observar en la tabla 5.7, la concentración de níquel oscila entre [0.2-0.3] mg kg⁻¹ y la de plomo entre [0.03-0.16] mg kg⁻¹. Las zonas 1, 3 y 5 presentan mayor concentración de níquel y la zona 4 mayor concentración de plomo.

5.2.3. *Comparación con las referencias de la literatura nacional e internacional*

Una vez obtenidos los intervalos de concentraciones de níquel y plomo en cada uno de los tejidos analizados en ambos muestreos, se compararon con algunos datos reportados en la literatura.

5.2.3.1. *Níquel*

A continuación se mencionan las concentraciones de níquel en pescado y camarón reportadas en la literatura.

Tabla 5.8. Concentraciones de Ni reportadas en pescado y camarón en referencias bibliografía

| Fuente Bibliográfica | Lugar | Especie | Concentración Ni (mg kg ⁻¹) |
|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------|---|
| <i>Marichamy, 2009</i> | Costas de India | Nematolosa nasus (pescado) | [0.72-1.83] |
| | | Atropus atropus (pescado) | [0.80-1.73] |
| | Mar mediterraneo, 1996 | Pescado | [4.25-6.07] |
| | Bahía Masan, Korea | | 0.02 |
| | Lagunas de California | | [0.1-0.3] |
| | Costas del mar negro | | [0.01-2.04] |
| | Isla Kerguelen | | [0.01-0.1] |
| | Bahía Iskenderun, 2001 | | [0.32-1.72] |
| | Costa Paran gipettai, India, 2008 | | [0.38-1.54] |
| <i>Goldaracena, 2007</i> | Laguna de San Andrés, Tamaulipas | | Farfantepenaeus aztecus (camarón café) |
| <i>Sankar, 2007</i> | India | camarón | [0.12-0.28] |
| | | pescado | [0.03-0.69] |

Refiriéndose a la publicación de *Marichamy* donde se recopilan concentraciones de níquel en pescado recolectado en diferentes lugares (Tabla 5.8), se observa que el pescado extraído del Mar mediterráneo presentó mayor concentración de níquel [4.25-6.07] mg kg⁻¹. Resumiendo los datos obtenidos por este autor, el intervalo de concentraciones de níquel en pescado es [0.01-6.07] mg kg⁻¹, al comparar este intervalo con el reportado por *Sankar* que es [0.03-0.69] mg kg⁻¹ se puede concluir que el pescado analizado por este último se encuentra dentro del intervalo de concentraciones de las especies reportadas por *Marichamy P.*

Por lo tanto el intervalo de concentraciones incluyendo a ambos autores es [0.01-6.07] mg kg⁻¹. Al comparar este intervalo con los intervalos obtenidos de las especies

analizadas del Golfo de México los cuales fueron: [0.2-2.9] mg kg⁻¹ en músculo, 1.9 mg kg⁻¹ en abdomen y [0.6-4.6] mg kg⁻¹ en hígado, permite concluir que las concentraciones obtenidas se encuentran dentro del intervalo reportado. De igual manera, comparando los intervalos de concentraciones de níquel en las especies analizadas del mercado “La nueva Viga” de [0.2-1.2] mg kg⁻¹ y [0.2-0.3] mg kg⁻¹ para mojarra y sierra respectivamente, se puede concluir que también se encuentran dentro del intervalo reportado por los autores citados anteriormente.

En relación al camarón, al comparar las concentraciones de níquel publicadas por *Sankar* y *Goldaracena* (Tabla 5.8) que son entre [0.12-0.75] mg kg⁻¹ con los intervalos de concentraciones obtenidos en el análisis de las especies del Golfo de México [0.3-1.6] mg kg⁻¹ y [1.5-3.5] mg kg⁻¹ en abdomen y caparazón respectivamente; permite concluir que las concentraciones obtenidas son mayores a las reportadas por los autores. Sin embargo, al comparar el dato reportado por *Goldaracena* (0.25-0.75 mg kg⁻¹ de Ni) quién analizó la misma especie de camarón (*Farfantepenaeus aztecus*) y también fue recolectada en el Golfo de México, con los resultados obtenidos en el presente estudio: [0.6±0.3] mg kg⁻¹ en abdomen y de [2.2±0.7] mg kg⁻¹ en caparazón (Tabla 5.4), se puede decir que el resultado obtenido para el abdomen se acerca al reportado por *Goldaracena*, no obstante este autor no menciona el tejido analizado.

5.2.3.2. *Plomo*

A continuación se mencionan las concentraciones de plomo en pescado y camarón reportadas en la literatura.

Tabla 5.9. Concentraciones de Pb reportadas en pescado y camarón en referencias bibliográficas

| Fuente bibliográfica | Lugar | Especie | Concentración (mg kg ⁻¹) |
|--------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------------------|
| <i>Goldaracena, 2007</i> | Laguna de San Andrés, Tamaulipas | <i>Farfantepenaeus aztecus</i> (camarón café) | [1.14-2.26] |

| | | | |
|------------------------|------------------|---------|---------------|
| <i>Sankar, 2007</i> | India | camarón | [0.11-0.94] |
| | | pescado | [0.10-1.32] |
| <i>Bilandžić, 2011</i> | Océano Adriático | pescado | [0.001-0.46] |
| <i>Fallah, 2011</i> | Golfo Pérsico | pescado | [0.057-0.471] |

Con respecto al camarón, al observar las concentraciones de plomo reportadas por *Sankar* y *Goldaracena* que están entre [0.11-2.26] mg kg⁻¹, con los intervalos de concentraciones obtenidos de las especies de camarón analizadas [0.08-0.18] mg kg⁻¹ y [0.10-0.39] mg kg⁻¹ en abdomen y caparazón respectivamente (Tabla 5.5), permite concluir que las concentraciones de níquel de las especies de camarón del Golfo de México analizadas se encuentran dentro del intervalo reportado por estos dos autores antes mencionados.

Respecto a pescado, al comparar el intervalo de concentraciones de plomo considerando lo reportado por *Sankar*, *Bilandžić* y *Fallah* que es de [0.001-1.32]mg kg⁻¹, con los intervalos de las concentraciones de plomo en las especies de pescado del Golfo de México analizadas: [0.10-0.43] mg kg⁻¹ en músculo, 0.38 mg kg⁻¹ en abdomen y [0.02-6.10] mg kg⁻¹ en hígado y al mismo tiempo el intervalo de concentraciones en músculo de mojarra y sierra del mercado “La nueva Viga” siendo [0.03-0.12] mg kg⁻¹ y de [0.03-0.16] mg kg⁻¹ respectivamente; permite concluir que las concentraciones de plomo en músculo y abdomen se encuentran dentro del intervalo reportado por los autores antes mencionados. En el caso del intervalo de concentraciones de plomo en el hígado, se observa que está por arriba del intervalo reportado, sin embargo, el hígado no se consume.

5.2.4. Comparación con las normas nacionales y/o internacionales

Existen ciertas comisiones internacionales las cuales regulan y recomiendan unos límites máximos de ciertos metales en especies marinas, algunas son la EPA, FDA y la Agencia Canadiense de Inspección de alimentos. Además también hay normas nacionales vigentes publicadas por la Secretaría de Salud de México que

también establecen límites máximos permisibles. En la tabla 5.10 se muestran los límites máximos permisibles de Ni y Pb en pescado y camarón establecidos por estos organismos. Cabe mencionar que no hay normas mexicanas que establezcan el límite máximo permisible de Ni en camarón.

Tabla 5.10. Límites máximos permisibles de Pb y Ni en pescado y camarón

| Norma | Plomo | | Níquel | | Referencia |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| | Camarón (mg kg ⁻¹) | Pescado (mg kg ⁻¹) | Camarón (mg kg ⁻¹) | Pescado (mg kg ⁻¹) | |
| NOM-242-SSA1-2005 | 0.5 | 0.5 | ----- | ----- | SSA, 2005 |
| NOM-029-SSA1-1993 | 1.0 | 1.0 | ----- | ----- | SSA, 1993 |
| FDA & EPA | 1.5 | 4.0 | 70.0 | 5.0 | USFDA, 2001 |
| Canadian Food Inspection Agency | 0.5 | 0.5 | ----- | ----- | CFIA, 2011 |

5.2.4.1. Muestras del Golfo de México

En la tabla 5.11 se enlistan los intervalos de concentración o concentraciones de Ni y Pb cuantificadas en los tejidos de camarón y pescado.

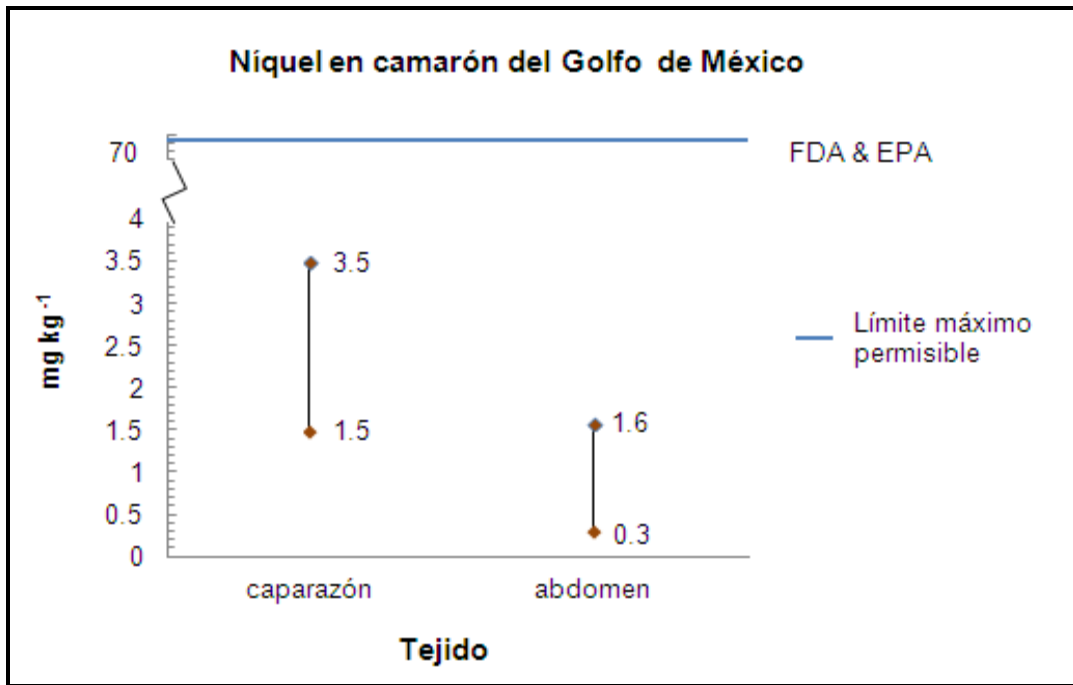
Tabla 5.11. Intervalos de concentraciones de Ni y Pb en los tejidos analizados de las especies del Golfo de México

| Procedencia | Organismo | Especie | Tejido | Intervalo de concentración de Ni (mg kg ⁻¹) | Intervalo de concentración de Pb (mg kg ⁻¹) |
|-----------------|-----------|---|-----------|---|---|
| Golfo de México | Camarón | Farfantepenaeus aztecus, squilla sp.y sicyonia | Abdomen | [0.3-1.6] | [0.08-0.18] |
| | | | Caparazón | [1.5-3.5] | [0.10-0.39] |
| | Pescado | Stenotomus, harengula, prionotus, cyclopsetta y synodus foetens | Músculo | [0.2-2.9] | [0.10-0.43] |
| | | | Abdomen | 1.9 | 0.38 |
| | | Hígado | [0.6-4.6] | [0.02-6.10] | |

5.2.4.1.1. *Níquel*

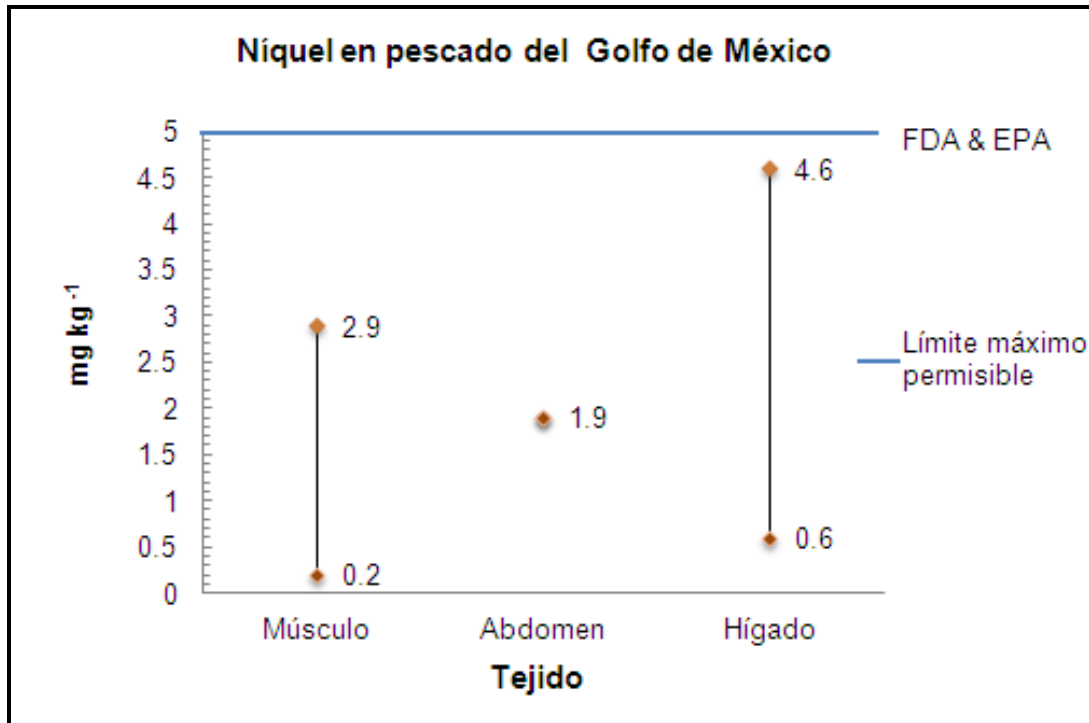
Al comparar los intervalos de concentraciones de níquel en los tejidos de camarón (Tabla 5.11) [0.3-1.6] mg kg⁻¹ y [1.5-3.5] mg kg⁻¹ en abdomen y caparazón respectivamente, con el límite máximo permisible según la EPA que es de 70 mg kg⁻¹(Tabla 5.10), se concluye que los tejidos analizados se encuentran debajo del límite máximo permisible (Gráfica 5.3.).

Gráfica 5.3. Intervalos de concentración de níquel en tejidos de camarón del Golfo de México



Al comparar los intervalos de concentraciones de níquel en los tejidos de pescado analizados (Tabla 5.11) que se encuentran entre [0.2-2.9] mg kg⁻¹ y [0.6-4.6] mg kg⁻¹ en músculo e hígado respectivamente y de 1.9 mg kg⁻¹ en abdomen con el límite máximo permisible según la EPA (5 mg kg⁻¹), se concluye que se encuentran por debajo del límite máximo permisible (Gráfica 5.4).

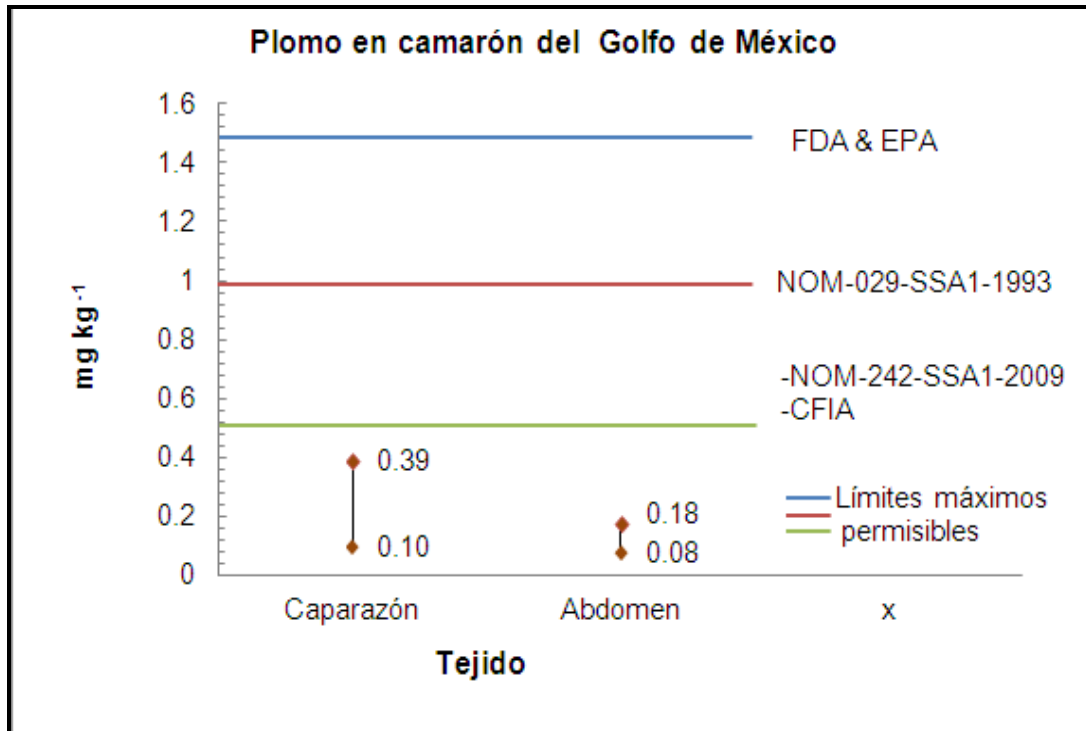
Gráfica 5.4. Intervalos de concentración de níquel en tejidos de pescado del Golfo de México



5.2.4.1.2. Plomo

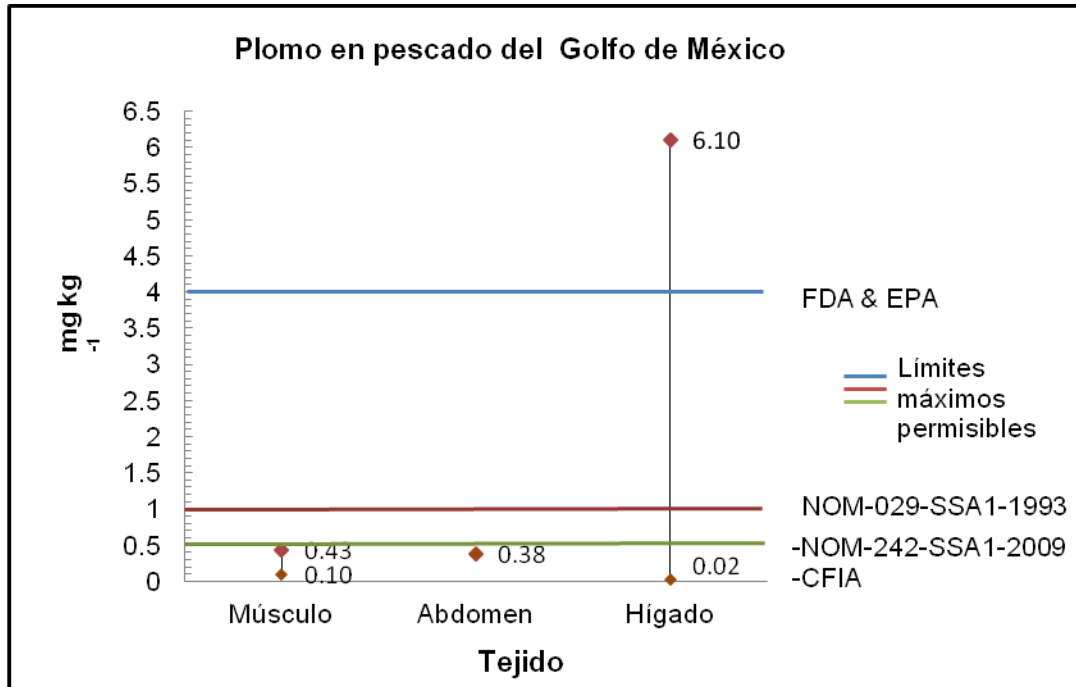
Con respecto a la concentración de plomo en los tejidos de camarón analizados (Tabla 5.11), los intervalos de concentración obtenidos fueron [0.08-0.18] mg kg⁻¹ y [0.10-0.39] mg kg⁻¹ en abdomen y caparazón respectivamente. Comparando con los límites máximos permisibles según las normas nacionales (0.5 y 1.0 mg kg⁻¹) y según las normas internacionales (0.5 y 1.5 mg kg⁻¹) (Tabla 5.10), se concluye que la concentración de plomo en los tejidos analizados se encuentra por debajo de los límites máximos permitidos según las normas nacionales e internacionales (Gráfica 5.5).

Gráfica 5.5. Intervalos de concentración de plomo en tejidos de camarón del Golfo de México



Al comparar los resultados de las concentraciones de plomo en los diferentes tejidos de pescado (Tabla 5.10) que son entre [0.10-0.43] mg kg⁻¹ en músculo, [0.02-6.10] mg kg⁻¹ en hígado y de 0.38 mg kg⁻¹ en abdomen, se deduce que los tejidos de abdomen y de músculo se encuentran por debajo de los límites máximos nacionales e internacionales, los cuales son de 0.5-4.0 mg kg⁻¹. Sin embargo, la concentración de plomo en hígado sobrepasa los límites máximos nacionales e internacionales (Gráfica 5.6) (de las 6 muestras de hígado analizadas, sólo 4 rebasaron los límites máximos permisibles (Tabla 5.5)), esto se debe a que el hígado funciona como desintoxicante ayudando a eliminar las sustancias que puedan resultar nocivas para el organismo del pescado (Caballero, 2008), afortunadamente el hígado no se consume por lo que no producirá efectos nocivos a la salud.

Gráfica 5.6. Intervalos de concentración de plomo en tejidos de pescado del Golfo de México



5.2.4.2. Muestras del mercado “La nueva Viga”

En la tabla 5.12 se enlistan los intervalos de concentración de Ni y Pb en músculo de mojarra y sierra.

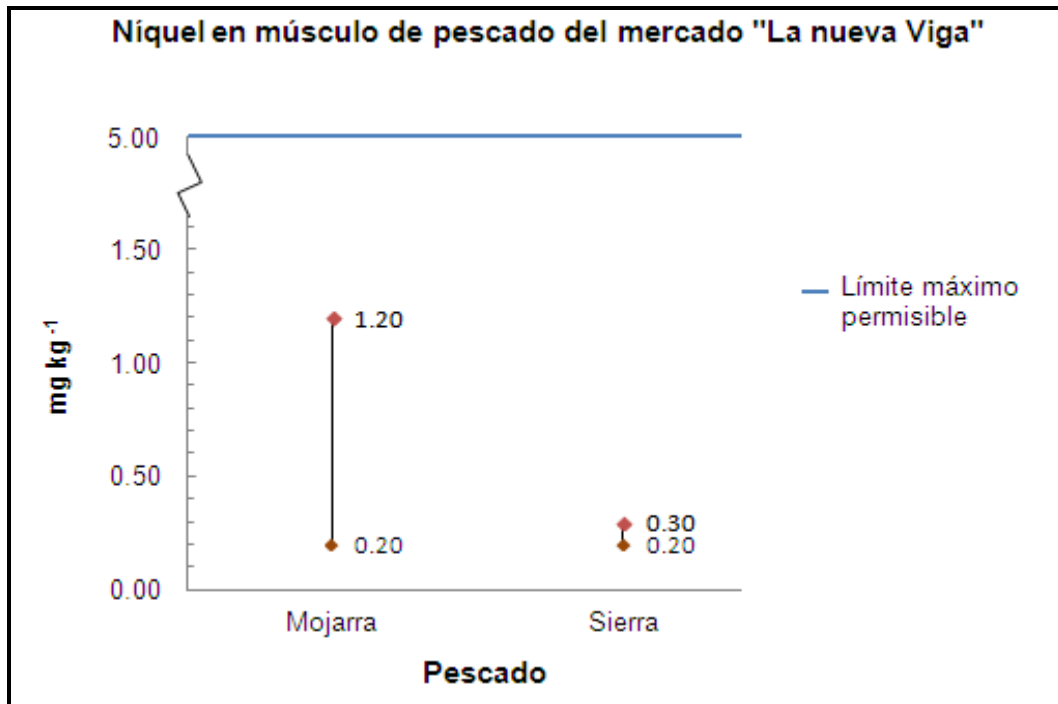
Tabla 5.12. Intervalos de concentraciones de Ni y Pb en músculo de pescado del mercado “La nueva Viga”

| Procedencia | Organismo | Especie | Tejido | Intervalo de concentración de Ni (mg kg ⁻¹) | Intervalo de concentración de Pb (mg kg ⁻¹) |
|-------------------------|-----------|-----------------|---------|---|---|
| Mercado “La nueva Viga” | Pescado | Mojarra tilapia | Músculo | 0.20-1.2 | 0.03-0.12 |
| | | Sierra | Músculo | 0.20-0.3 | 0.03-0.16 |

5.2.4.2.1. *Níquel*

Al comparar el intervalo de concentraciones de níquel en el músculo de mojarra y sierra de [0.2-1.2] mg kg⁻¹ y [0.2-0.3] mg kg⁻¹ respectivamente (Tabla 5.12) con el límite máximo permisible según la EPA (5 mg kg⁻¹); se concluye que se encuentran por debajo del límite máximo permisible antes mencionado (Gráfica 5.7).

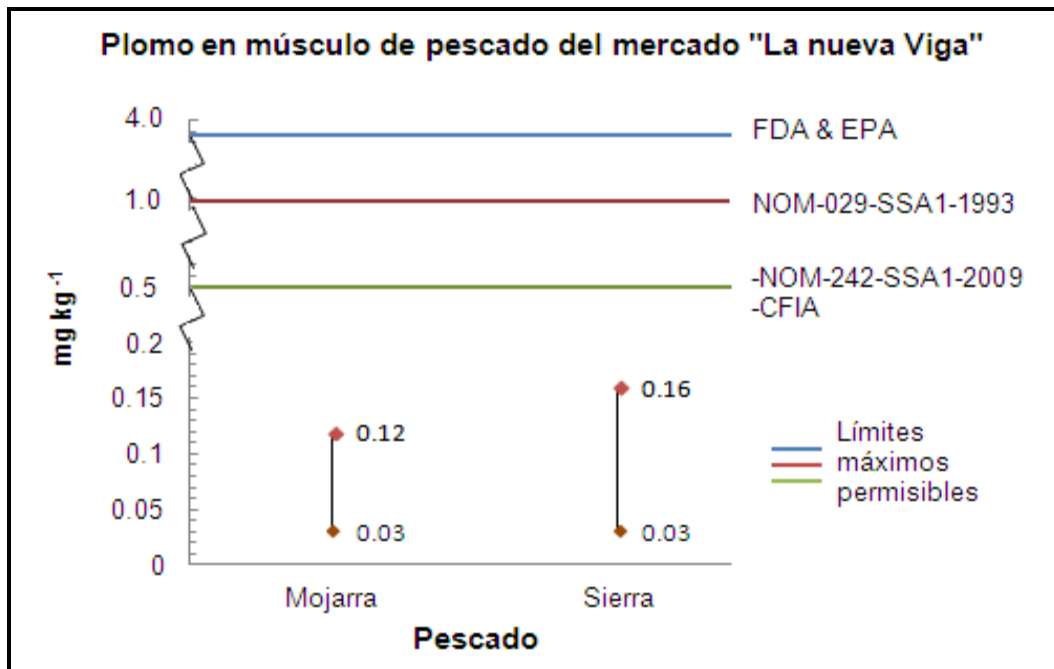
Gráfica 5.7. Intervalos de concentración de níquel en músculo de pescado de “La nueva Vega”



5.2.4.2.2. *Plomo*

Observando los intervalos de concentraciones de plomo en el músculo de pescado de mojarra y sierra de [0.02-0.12] mg kg⁻¹ y [0.02-0.16] mg kg⁻¹ respectivamente (Tabla 5.12) y los límites máximos permisibles nacionales e internacionales, los cuales son de 0.5-4.0 mg kg⁻¹; se concluye que la concentración de plomo en músculo de estas especies se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles (Gráfica 5.8).

Gráfica 5.8. Intervalos de concentración de plomo en músculo de pescado de “La nueva Vega”



Capítulo 6: Conclusiones

La elección de las condiciones de operación del equipo de ICP-MS se realizó con la introducción de la solución “daily” al equipo, comprobando que el cociente de CeO/Ce y de Ba⁺⁺/Ba estuviera por debajo de 0.03 para evitar interferencias por iones de óxidos refractarios y por especies doblemente cargadas.

La optimización de las condiciones analíticas e instrumentales de la metodología desarrollada, se realizó correctamente ya que al analizar el MRC con los diferentes isótopos analitos y los posibles estándares internos, la metodología resultó ser exacta y precisa debido a que se obtuvieron valores aceptables de % de error relativo ($\pm 20\%$) y de %RSD ($<20\%$) respectivamente al analizar el MRC, según la Comisión Europea. Se seleccionaron como isótopos analitos ⁵⁸Ni y ²⁰⁸Pb y como estándar interno ⁷⁴Ge y ²⁰³Tl respectivamente, obteniendo un %error relativo de 4.63 y un %RSD de 5.34 para níquel y un % de error relativo de 5.70 y un %RSD 10.81 para plomo.

Se evaluaron además de la precisión y exactitud, otros parámetros como: intervalo lineal y de trabajo y los límites de detección y cuantificación, con la finalidad de realizar una validación parcial y así comprobar que la metodología es confiable para la determinación de Ni y Pb en muestras biológicas mediante ICP-MS, particularmente en organismos marinos (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Parámetros de desempeño analíticos de la metodología

| Parámetro analítico de desempeño | Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$) | Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$) |
|---|---|---|
| LoDI | 0.12 | 0.10 |
| LoQI | 0.40 | 0.33 |
| Intervalo lineal | [0.12-300.5] | [0.10-300.5] |
| Intervalo de trabajo | [0.40-240] | [0.33-0.40] |

Una vez que se evaluó la exactitud y precisión de la metodología, se aplicó a muestras del Golfo de México y del mercado “La nueva Viga”.

El plomo en pescado se encontró por debajo del límite máximo permisible según la EPA & FDA (4.0 mg kg^{-1}), ya que los intervalos de concentraciones en las muestras del Golfo de México fueron: $[0.10-0.43] \text{ mg kg}^{-1}$ en músculo, 0.38 mg kg^{-1} en abdomen y de $[0.02-6.10] \text{ mg kg}^{-1}$ en hígado. El hígado presentó una concentración mayor de plomo y esto se debió a que el hígado funciona como desintoxicante ayudando a eliminar las sustancias que puedan resultar nocivas para el organismo. Con respecto a las muestras del mercado “La nueva Viga”, las concentraciones de plomo también se encontraron por debajo del límite permisible, ya que el intervalo de plomo en mojarra fue de $[0.03-0.12] \text{ mg kg}^{-1}$ y de $[0.02-0.16] \text{ mg kg}^{-1}$ en sierra.

El intervalo de concentración de plomo en pescado reportado en la literatura fue de $[0.001-1.32] \text{ mg kg}^{-1}$ por lo que los valores obtenidos de músculo y abdomen se encuentran dentro de este intervalo y en el caso de hígado es mayor la concentración encontrada, debido a que es de $[0.02-6.10] \text{ mg kg}^{-1}$.

Las concentraciones obtenidas en las especies de camarón del Golfo de México fueron $[0.08-0.18] \text{ mg kg}^{-1}$ y $[0.10-0.39] \text{ mg kg}^{-1}$ en abdomen y caparazón respectivamente, se encuentran por debajo de las normas mexicanas ($0.5-1.0 \text{ mg kg}^{-1}$) y las normas internacionales ($0.5-1.5 \text{ mg kg}^{-1}$).

El camarón *Farfantepenaeus aztecus* presentó una concentración de plomo de $[0.08-0.18] \text{ mg kg}^{-1}$ en abdomen y $[0.10-0.39] \text{ mg kg}^{-1}$ en caparazón, al compararlos con el intervalo de concentraciones reportado por *Goldaracena* el cual es de $[1.14-2.26] \text{ mg kg}^{-1}$, se puede concluir que la concentración de las muestras analizadas está por debajo de este valor.

El níquel en pescado se encontró por debajo del límite máximo permisible según la EPA de 5.0 mg kg^{-1} . Los intervalos de las concentraciones en las muestras del Golfo de México fueron: $[0.2-2.9] \text{ mg kg}^{-1}$ en músculo, 1.9 mg kg^{-1} en abdomen y de $[0.6-4.6] \text{ mg kg}^{-1}$ en hígado. Con respecto a las muestras del mercado “La nueva Viga” también están por debajo de los límites máximos permisibles debido a que el intervalo en músculo de mojarra fue de $[0.2-1.2] \text{ mg kg}^{-1}$ y de $[0.2-0.3] \text{ mg kg}^{-1}$ en músculo de sierra.

El intervalo de concentración de níquel en pescado reportado en la literatura fue de $[0.01-6.07] \text{ mg kg}^{-1}$ por lo que los valores obtenidos en músculo de mojarra y sierra se encuentran dentro de este intervalo así como las especies del Golfo de México.

Los resultados de níquel en camarón, $[0.3-1.6] \text{ mg kg}^{-1}$ y $[1.5-3.5] \text{ mg kg}^{-1}$ en abdomen y caparazón respectivamente se encuentran por debajo del límite máximo permisible según la EPA el cual es de 70 mg kg^{-1} .

El camarón *Farfantepenaeus aztecus* presentó una concentración de níquel de $[0.3-0.9] \text{ mg kg}^{-1}$ y de $[1.5-2.9] \text{ mg kg}^{-1}$ en abdomen y caparazón respectivamente, al compararlos con el intervalo reportado por *Goldaracena* que es de $[0.25-0.75] \text{ mg kg}^{-1}$, se puede concluir que la concentración de las muestras analizadas en este trabajo son mayores a las reportadas por *Goldaracena*, pero aún así están por debajo del límite máximo permisible según la FDA & EPA de 70 mg kg^{-1} .

En cuanto a las especies marinas analizadas en el presente trabajo, los tejidos que se pueden consumir sin provocar daños a la salud son: Abdomen y músculo de pescado y también abdomen y caparazón de camarón. Ya que presentaron concentraciones de plomo y níquel menores a las concentraciones máximas permisibles según las normas nacionales e internacionales, por lo que al consumirlos no provocarán daños a la salud.

Capítulo 7. Bibliografía

1. 600-ACP-018. "Procedimiento para la limpieza del material utilizado en el área de Metrología de Materiales", Centro Nacional de Metrología (CENAM).
2. Ahamed, M., & Javed, K. (2007). Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clinical Nutrition*. 26(4), 400-408.
3. Amado, A., & Jacob, S. (2007). Contact dermatitis to foods. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 98(7), 452-458.
4. Aparna, V., Chary, S., Sekhar, C., & Tirumala, K. (2003). Determination of trace metals in sea water by ICP-MS after matrix separation. *Acta Chimica Slovenica*. 50, 409-418.
5. Armienta, M., Farías, S. & Litter, M. (2009). *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*. Argentina: CYTED. p.113-137.
6. Arrollo, E., Bedolla, C., González, E., González, E., & Manzanares, E. (2008). Niveles de plomo en sangre y factores de riesgo por envenenamiento de plomo en niños mexicanos. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 43, 114-119.
7. Ash, K., Gordon, W., & Nuttall, K. (1995). Inductively coupled plasma mass spectrometry for trace element analysis in the clinical laboratory. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 25(3), 264-271.
8. ATSDR Agency for Toxic Substances & Disease Registry (2007). *Lead toxicity, what the physiologic effects of lead exposure?*
9. Barrera, C., Charris, V., & Guerrero, A. (2011). Intoxicación por plomo secundaria a alojamiento de esquirlas en el cuerpo. *Acta Médica Colombiana*, 36(4), 200-203.

10. Beltrán, L., Cisneros, M., Luna, C. & Urciaga J. (2006). Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora. *Economía, Sociedad y Territorio*. 2(22), 535-560.
11. Bertelli, D., Monzani, A. & Plessi, M. (2001). Mercury and selenium content in selected seafood. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 461-467.
12. Bilandžić, N., Đokić, M., & Sedak, M. (2011). Metal content determination in four fish species from the Adriatic Sea. *Food chemistry*, 124, 1005-1010.
13. Caballero, L. (2008). Emergencia de las formas de vida, aspectos dinámicos de la biología evolutiva y del desarrollo. México: Coplit arXives. Edición 1, p. 47.
14. Calvo, F. (1984). *Destrucción y disolución de la materia orgánica*. Costa Rica: EUNED, p. 33-35.
15. CENAM, (2004). Guía de Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Químicas que emplean las técnicas de Espectrofotometría de Absorción Atómica y de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente. México
16. CFIA Canadian Food Inspection Agency (2011). *Fish Products Standards and Methods Manual. Canadian Guidelines for Chemical Contaminants and Toxins in fish and Fish Products*. Appendix 3.
17. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca [CONAPESCA] (2009). *Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2007*, México: CONAPESCA-SAGARPA, p. 225.
18. Conapesca, comisión nacional de acuacultura y pesca (2012, 21 de febrero). *Garantizado el abasto de pescados y mariscos durante el periodo de cuaresma*. SAGARPA, Mazatlán Sinaloa.
19. De la Maza R. (2004), *Perspectivas de la conservación en el Golfo de México. En diagnóstico Ambiental del Golfo de México*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Vol. 2, p. 635-653.

20. Díaz, Pedro (2011). Estadística, muestreo [en línea]. Fecha de consulta: 19 de enero 2012. Disponible en: <<http://www.intranus.net/archivos/Muestreo.pdf>>
21. Doadrio, A. (2009). *Ecotoxicología y acción toxicológica del plomo*. In Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia, 72(3), 409-422.
22. EURACHEM, (2005). *A focus for analytical chemistry in Europe*. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Reino Unido: Teddington. Primera edición.
23. European Commission, (2009). *Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed*.
24. Fallah, A., & Saei-Dehkordi S. (2011). Determination of cooper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchemical Journal*, 98(1), 156-162.
25. Fassel, V., Flesch, G., Houk, R., & Svec, H. (1980). Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements. *Analytical Chemistry*. 52 (14), 2283-2289.
26. Fernández, R. (2004). Seminarios, La técnica de plasma-masas (ICP-MS) [en línea]. Fecha de consulta: 27 de Enero 2013. Disponible en:
< http://www.uam.es/personal_pas/txrf/icpms.html#9>.
27. Ferrer, A. (2003). Intoxicación por metales Metal poisoning. In Anales Sis San Navarra, 6(1), 145-147.
28. Forsgard, N. (2007). *Inductively Coupled Plasma Spectrometry for Speciation Analysis: Development and applications*. Tesis de doctorado, Departamento de Química Física y Química Analítica, Universidad de Upsala, p. 9-15.
29. Fryer, B., Jackson, S., Jenner, G., & Longerich, H. (1990). ICP-MS-a powerful tool for high-precision trace-element analysis in earth sciences: evidence from

- analysis of selected USGS reference samples. *Chemical Geology*, 83(1-2), 133-148.
30. Goldaracena C. (2007). *Metales pesados en organismos acuáticos en dos lagunas costeras de sur de Tamaulipas y norte de Veracruz*. Tesis de maestría, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Avanzada, Unidad Altamira IPN.
31. Gracia A. (2004). *Aprovechamiento y conservación del recurso camarón. En diagnóstico Ambiental del Golfo de México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Edición I, Vol. 2, 711-723.
32. Harris, D. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. España: Reverte. Tercera edición, pp. 517-518.
33. HHS (U.S. Department of health and human services) (2005). *Toxicology profile for nickel*, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service.
34. Houk R.S (1986). Mass spectrometry of inductively coupled plasma. *Analytical Chemistry*. 58 (1), 97A-105A.
35. Hu. B., Huang, C., Sabo, J. & Zhang N. (2008). Determination of Cd, Co, Ni and Pb in biological samples by microcolumn packed with black stone (Pierre noire) online coupled with ICP-OES. *Journal of Hazardous Materials*, 157, 410-417.
36. Hwalla, N., Itani, L., Nabhani-Zeidan, M., Naja, F., Nashalian, O., Nasreddine L. & Parent-Massin, D. (2010). Dietary exposure to essential and toxic trace elements from a total diet study in an adult Lebanese urban population. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1262-1269.
37. INECC-CCA, (2010). Guía para la implantación, validación y verificación del desempeño continuo de un método analítico. México, p. 27.

38. INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México) (2011). *El sector alimentario en México 2011*.
39. Kastenmayer, P. (1997). Análisis de minerales y elementos traza en alimentos. FAO, USA.
40. Koirtjohann, S. (1994). Precise determination of isotopic ratios for some biologically significant elements by inductively coupled plasma mass spectroscopy. *Spectrochimica acta. Part B: Atomic spectroscopy*, 49 (12-13), 1305-1311.
41. Lazos, R. & Hernández, I. (2004) [en línea]. *La validación de métodos: un enfoque práctico*. Fecha de consulta: 6 de abril 2012. Simposio de metrología, CENAM. Disponible en: < <http://www.cenam.mx/simposio2004/memorias/TA-090.pdf>>.
42. Lenntech (2012) [en línea]. *Chemical elements listed by ionization energy*. Fecha de consulta: 17 de junio 2011. Disponible en: <<http://www.lenntech.com/periodic-chart-elements/ionization-energy.htm>>.
43. Lhoëst, G. (2010) [línea]. Detectors. Fecha de consulta: 25 de febrero 2013. Disponible en: <<http://www.specmetcrime.com/detectors.htm>>.
44. Marichamy, G., Raja, P., Suresh, G., Veerasingam, S., & Venkatachalapathy, R. (2009). Heavy metals concentration in four commercially valuable marine edible fish species from Parangipettai Coast, South East Coast of India. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 1(1), 10-14.
45. Mónaco, P. (2008, 11 de abril). La Nueva Viga, paseo marino en el DF fuera de las guías turísticas. *La Jornada*.
46. Morton J. (2009). *ICP-MS Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook, Chapter 9: ICP Applications*. Reino Unido: Blackwell Publishing Ltd.

47. Neubauer, K. (2010) [en línea]. *Reducing the Effects of Interferences in Quadrupole ICP-MS*. Fecha de consulta: 25 de marzo 2013. Disponible en: <<http://www.spectroscopyonline.com/spectroscopy/Column%3A+Atomic+Perspectives/Reducing-the-Effects-of-Interferences-in-Quadrupol/ArticleStandard/Article/detail/697451>>
48. Noriel L. (2010). *Biodiversidad de los peces bento-demersales del sur del Golfo de México*. Tesis de licenciatura, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.
49. O'Connor & Evans E.H. (1999). *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. Reino Unido: Sheffield Academic Press. Pp. 120-140.
50. Ordiano, A. (2011). Apuntes de la campaña Marzee-1. ICMYL, México.
51. Özden Ö. (2010). Seasonal differences in the trace metal and macrominerals in shrimp (*Parapenaeus longirostris*) from Marmara Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 162(1-4), 191-199.
52. Perkin Elmer (2005). *ELAN DRC-e Hardware Guide, simplify ultra trace analysis*. SCIEX Instrument hardware guide, 710 Bridgeport Avenue, USA.
53. PROFECO Procuraduría Federal del Consumidor (2010). *Encuesta sobre los hábitos de consumo de pescado y mariscos en el país*.
54. Rivera, L. (2002). Riesgo de exposición al plomo en el binomio madre-hijo. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 45(4), 164-169.
55. Rodríguez M. (2001). *Evaluación de metodologías analíticas para la determinación de arsénico en muestras sólidas ambientales*. Tesis de maestría, Facultad de Química UNAM.
56. Romero, X. (2008). *Minimización del efecto de HNO₃ y HCl mediante el uso de condiciones robustas del plasma en ICP-AES*. Tesis de licenciatura. Venezuela, Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias.

57. Royacelli, G. (2012, 4 de abril). Cuaresma, para darle gusto al paladar. *El Universal Metrópoli*.
58. RPS-Qualitas (2010). Métodos de muestreo [en línea]. Consultoría de calidad y laboratorio. Fecha de consulta: 15 de enero 2012. Disponible en: <http://www.rpsqualitas.es/documentacion/downloads/ensayos/metomet_de_muestreo.pdf>
59. Sankar, T., Sivaperumal, P. & Viswanathan, P. (2007). Heavy metal concentration in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards, *Food chemistry*, 102, 612-620.
60. Sapere, B. (2006) [línea]. Arte y ciencia del buen comer, Enciclopedia gourmet. Fecha de consulta: 15 de enero de 2013. Disponible en: <http://www.delbuencomer.com.ar/index_archivos/diccionario_gastronomico_s9.htm>
61. SEMARNAT Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2012). Diario Oficial de la Federación.
62. SSA Secretaría de Salud de México (1993). PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Crustáceos fresco-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
63. SSA Secretaría de Salud de México (2005). PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-242-SSA1-2005, Productos y servicios. Productos de lapescas frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.
64. Tanner M. (2007). *Fundamental studies on fast signal generation without an aerosol transport system for Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Tesis de doctorado. Zurich.
65. Thomas, R. (2001). A Beginner's Guide to ICP-MS. Spectroscopy tutorial.

66. Ugarte, A., (2011). *Development of new applications of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) hyphenated with different simple introduction systems*. Tesis de doctorado. Departamento de Química Analítica. Universidad del país Vasco, España.
67. USEPA (1986). United States Environmental Protection Agency. *Health Assessment Document for Nickel and Nickel compounds*.
68. USFDA (2001). Food and Drug Administration, Fish and Fisheries products Hazards and control guidance, 3° edición.
69. Velázquez, F., (2013, 27 de marzo). Para esta semana: pescado y mariscos en La nueva Viga. *El Financiero*.
70. Wolf, R. (2005) [en línea]. *What is ICP-MS? And more importantly, what can it do?*. Fecha de consulta: 16 de enero 2013. Disponible en: <<http://crystal.usgs.gov/laboratories/icpms/intro.html>>
71. Woodhead, J. (2002). A simple method for obtaining highly accurate Pb isotope data by MC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17(10), 1381-1385.
72. Zuwaylif, F. (1974). *Estadística general aplicada*. México: Fondo educativo, p.130.

Anexos

A. Tabla de valores para el MRC utilizado en la evaluación de la precisión y exactitud del método.

TORT-2 (Lobster Hepatopancreas Reference Material for Trace Metal).

| Metal traza | mg kg ⁻¹ |
|-------------|---------------------|
| Níquel | 2.50 ± 0.19 |
| Plomo | 0.35 ± 0.13 |

Concentraciones certificadas de Ni y Pb en el MRC

B. Explicación de las ecuaciones de corrección

La ecuación para corregir la interferencia isobárica por el ⁵⁸Fe para la determinación de ⁵⁸Ni es la siguiente:

$$I(^{58}\text{Ni}) = I(m/z\ 58) - 0.003073 * I(^{56}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 1}$$

La explicación de cómo se obtiene es:

La intensidad de señal de la masa 58 es igual a la suma de las intensidades de señal de ⁵⁸Ni y ⁵⁸Fe (Ecuación 2).

$$I(m/z\ 58) = I(^{58}\text{Ni}) + I(^{58}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 2}$$

Reordenando términos:

$$I(^{58}\text{Ni}) = I(m/z\ 58) - I(^{58}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 3}$$

Tomando en cuenta la abundancia de ⁵⁶Fe y ⁵⁸Fe así como la intensidad de ⁵⁶Fe en la contribución a la señal m/z 58, se tiene:

$$I(^{58}\text{Fe}) = [A^{58}\text{Fe}/A^{56}\text{Fe}] * I(^{56}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde A es abundancia

Sustituyendo el porcentaje de abundancia natural para cada isótopo de Fe se tiene:

$$I(^{58}\text{Fe}) = [0.282/91.754] * I(^{56}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 5}$$

$$I(^{58}\text{Fe}) = [0.003073] * I(^{56}\text{Fe}) \quad \text{Ecuación 6}$$

Sustituyendo 6 en 3, se obtiene la ecuación 1.

$$I(^{58}\text{Ni}) = I(m/z\ 58) - [0.003073] * I(^{56}\text{Fe})$$

(Armienta, 2009 y Neubauer, 2010).

Nota: Cabe mencionar que la ecuación utilizada para el análisis de níquel se encontraba en el programa del equipo ICP-MS

C. Tratamiento de datos

Los cálculos se realizaron como se enumera a continuación:

1. Cálculo de las concentraciones reales obtenidas en la preparación de las disoluciones de las curvas de calibración.
2. Trazo de la curva de calibración con el programa Microsoft Excel 2007.
3. Obtención del coeficiente de correlación y ecuación de la curva.

$$\mu\text{g L}^{-1} = (\text{cps} - b) / m \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde b es la ordenada al origen, m es la pendiente y cps son las cuentas por segundo (cociente de la señal de isótopo analito entre la señal de isótopo estándar interno).

Para determinar la concentración de níquel y plomo en las muestras, se sigue el siguiente procedimiento utilizando Microsoft Excel: (Ejemplo con el níquel).

- I. Cálculo del cociente de las cps $^{58}\text{Ni} / ^{74}\text{Ge}$ de blancos y muestras
- II. Cálculo de los $\mu\text{g L}^{-1}$ de níquel en blancos y muestras con la ecuación obtenida de la curva de calibración.
- III. A los $\mu\text{g L}^{-1}$ de níquel de cada muestra se les restaron los $\mu\text{g L}^{-1}$ promedio de los blancos muestra de la digestión correspondiente.
- IV. Multiplicación de los $\mu\text{g L}^{-1}$ obtenidos de cada muestra por el factor de dilución. El factor de dilución se obtuvo mediante la ecuación 8:

$$FD = \frac{M_{\text{total}} (g)}{M_{\text{muestra o blanco}} (g)} \quad \text{.Ecuación 8}$$

Donde M es la masa expresándose en gramos

- V. Obtención de mg kg^{-1} de níquel (peso seco) al realizar el siguiente cálculo:

$$[\text{mg/kg}] = \left[\frac{\mu\text{g/L} \times 0.01 \text{ L}}{M_{\text{muestra seca}}} \right] = \mu\text{g/g} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde la masa es en gramos (masa real de la muestra que se digirió) y el valor de 0.01 L es debido a que la muestra una vez digerida se aforó a 10 mL.