



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO Y
VANADIO EN ESPECIES MARINAS, MEDIANTE
ICP-MS.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA

PRESENTA:

LAURA GEORGINA HERNÁNDEZ MÁRQUEZ



MÉXICO, D.F.

2014



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: Dra. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio
VOCAL: Dr. Ciro Eliseo Márquez Herrera
SECRETARIO: Q.F.B María Guadalupe Espejel Maya
1er. SUPLENTE: Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero
2° SUPLENTE: Dra. María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar

**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. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio

SUPERVISOR TÉCNICO: _____

DRA. María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar

SUSTENTANTE: _____

Laura Georgina Hernández Márquez

ÍNDICE GENERAL

	Página
<i>Glosario</i>	IV
<u>Capítulo I. OBJETIVOS.</u>	1
1.1 <i>Objetivo general.</i>	1
1.2 <i>Objetivos particulares.</i>	1
<u>Capítulo II. INTRODUCCIÓN.</u>	3
2.1 <i>Metales tóxicos.</i>	3
2.2 <i>Impacto de los metales tóxicos en la salud humana.</i>	4
2.3 <i>Cadmio.</i>	5
2.3.1. <i>Aplicaciones.</i>	6
2.3.2 <i>Efectos en la salud.</i>	7
2.3.3 <i>Fuentes de contaminación.</i>	8
2.4 <i>Vanadio.</i>	10
2.4.1 <i>Aplicaciones.</i>	11
2.4.2 <i>Efectos en la salud.</i>	11
2.4.3 <i>Fuentes de contaminación.</i>	12
2.5 <i>Valores reportados en la literatura nacional e internacional para Cd y V.</i>	13
2.6 <i>Parámetros de desempeño analítico.</i>	17
2.6.1 <i>Límite de detección instrumental:</i>	17
2.6.2 <i>Límite de cuantificación instrumental:</i>	17
2.6.3 <i>Intervalo lineal e intervalo de trabajo:</i>	18
2.6.4 <i>Exactitud:</i>	18
2.6.5 <i>Precisión:</i>	19
<u>Capítulo III. FUNDAMENTOS DE LA TÉCNICA ICP-MS.</u>	20
3.1 <i>Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS).</i>	20
3.2 <i>Funcionamiento.</i>	22
3.2.1 <i>Principios fundamentales del Plasma de Acoplamiento Inductivo.</i>	22
3.2.1.1 <i>Principios de generación del Plasma de Acoplamiento Inductivo.</i>	22
3.2.2 <i>Aspectos fundamentales de la Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo.</i>	25
3.2.2.1 <i>Introducción de la muestra.</i>	26

3.2.2.2	<i>Generación de iones.</i>	29
3.2.2.3	<i>Interfase del ICP-MS.</i>	30
3.2.2.4	<i>Sistema de focalización de iones.</i>	31
3.2.2.5	<i>Analizador de masas.</i>	32
3.2.2.6	<i>Detector.</i>	33
3.3	<i>Interferencias.</i>	34
3.3.1	<i>Interferencias espectroscópicas.</i>	35
3.3.2.	<i>Interferencias no espectroscópicas o efecto de matriz.</i>	38
3.4	<i>Estándar Interno.</i>	40
	<u>Capítulo IV. METODOLOGÍA.</u>	41
4.1	<i>Zona de estudio.</i>	41
4.1.1	<i>Golfo de México.</i>	41
4.1.2	<i>Mercado de la Nueva Viga.</i>	42
4.2	<i>Muestreo</i>	43
4.2.1	<i>Muestreo estratificado.</i>	43
4.2.2	<i>Muestreo en el Golfo de México.</i>	44
4.2.3	<i>Muestreo en el mercado de la Nueva Viga.</i>	45
4.3	<i>Material, reactivos y equipos utilizados en el análisis.</i>	46
4.3.1	<i>Material</i>	46
4.3.2	<i>Lavado de material.</i>	46
4.3.3	<i>Reactivos.</i>	47
4.3.4	<i>Equipos utilizados.</i>	48
4.4	<i>Procedimiento.</i>	49
4.4.1	<i>Tratamiento físico de la muestra.</i>	49
4.4.2	<i>Tratamiento químico de la muestra y del MRC.</i>	49
4.4.3	<i>Diluciones gravimétricas.</i>	51
4.4.4	<i>Curva de calibración.</i>	51
4.4.5	<i>Introducción de las muestras al equipo.</i>	52
4.4.6	<i>Diagrama de la metodología empleada.</i>	53
4.5	<i>Condiciones analíticas e instrumentales empleadas.</i>	55
4.5.1	<i>Condiciones analíticas.</i>	55
4.5.2	<i>Condiciones instrumentales empleadas.</i>	58

<u>Capítulo V. RESULTADOS.</u>	60
5.1 <i>Parámetros de desempeño analítico.</i>	60
5.1.1 <i>Límite de detección instrumental.</i>	60
5.1.2 <i>Límite de cuantificación instrumental.</i>	60
5.1.3 <i>Intervalo lineal y de trabajo.</i>	61
5.1.4 <i>Exactitud y precisión.</i>	63
5.2 <i>Aplicación de la metodología desarrollada a muestras procedentes del Golfo de México y del mercado de la Nueva Viga.</i>	64
<u>Capítulo VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.</u>	72
<u>Capítulo VII. CONCLUSIONES.</u>	76
<u>Capítulo VIII. REFERENCIAS.</u>	78
ANEXO I. Certificados de DORM-2 y TORT-2.	85
ANEXO II. Informe del equipo.	88
ANEXO III. Cálculo del % de humedad en las muestras.	90

GLOSARIO

%E	Error relativo.
%RSD	Desviación estándar relativa.
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades).
DORM-2	Músculo de cazón.
EI	Estándar Interno.
ETAAS	Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica.
FAAS	Espectrometría de Absorción Atómica de Flama.
GFAAS	Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.
ICMyL	Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.
ICP-MS	Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo.
ICP-OES	Espectrometría de Emisión Óptica con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo.
ICP-SFMS	Espectrometría de Masas con fuente de Plasma Acoplado Inductivamente de Sector Magnético.
LoDI	Límite de detección instrumental.
LoQI	Límite de cuantificación instrumental
m/z	Relación masa/carga.
MRC	Material de Referencia Certificado.
NRCC	National Research Council Canada (Consejo Nacional de Investigación de Canadá).
OSHA	Occupational Safety and Health Administration (Administración de Seguridad y Salud Ocupacional).
ppb	Partes por billón ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ppm	Partes por millón (mg/kg)
PSA	Potenciometría de redisolución anódica.
REE	Elementos de tierras raras.
RF	Radio frecuencia.
TORT-2	Hepatopáncreas de langosta.

Capítulo I.

OBJETIVOS.

1.1 Objetivo general.

Desarrollo de la metodología analítica para la determinación de cadmio y vanadio en organismos acuáticos mediante la técnica Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo, utilizando Material de Referencia Certificado, para su posterior aplicación a muestras reales y establecer si la concentración de metales tóxicos (Cd y V), presentes en estos alimentos, se encuentra por debajo de los límites establecidos por las normas nacionales e internacionales y su posterior comparación con lo reportado en la literatura.

1.2 Objetivos particulares.

- a) Optimización de las condiciones analíticas e instrumentales.
 - Selección del isótopo analito y del estándar interno.
 - Identificación de interferencias poliatómicas e isobáricas, así como, propuestas de corrección o minimización de ellas.
- b) Determinación de los parámetros de desempeño analítico.
 - Exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, intervalo lineal e intervalo de trabajo.
- c) Aplicación de la metodología desarrollada a muestras reales.
 - Análisis de muestras

- En el caso del cadmio, establecer si los valores encontrados en las muestras analizadas se encuentran debajo de los límites máximos permisibles especificados por las normas nacionales e internacionales (Tabla 2-3).

Para el caso del vanadio: Analizar las concentraciones y establecer la cantidad de vanadio presente en el pescado de México, ya que no existe un límite establecido aún en ninguna norma nacional o internacional.

Capítulo II.

INTRODUCCIÓN.

2.1 Metales tóxicos.

Los metales tóxicos afectan negativamente la salud de las personas. En cantidades muy pequeñas, muchos de estos metales son necesarios para sustentar la salud. Sin embargo, en cantidades más grandes, se convierten en tóxicos. Pueden acumularse en los sistemas biológicos y convertirse en un peligro para la salud. (OSHA, 2009)

Los metales se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Muchos, como el calcio (Ca), cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), níquel (Ni) y cinc (Zn) son micronutrientes y constituyen parte esencial en los sistemas biológicos. En la célula catalizan reacciones, son mediadores en el metabolismo y en el transporte de oxígeno, estabilizan macromoléculas y están involucrados en la traducción de señales.

Los iones de metaloides como el arsénico (As) y los metales como el berilio (Be), cadmio (Cd), cromo (Cr) y níquel (Ni) muestran una actividad mutagénica baja, pero en células de mamífero producen diferentes tipos de daño celular incluyendo el genoma (ADN), por lo que son considerados como agentes potencialmente carcinógenos.

Otros metales como el cobalto (Co), el hierro (Fe), mercurio (Hg), plomo (Pb) y vanadio (V) tienen diversos efectos y son elementos que pueden incrementar la lista de compuestos carcinógenos con propiedades mutágenas y genotóxicas. (Goldman, C.R. 2009; Bal W, et al. 2002; Hartwig A, et al. 2002)

2.2 Impacto de los metales tóxicos en la salud humana.

Los estudios toxicológicos y ambientales han despertado el interés en la determinación de elementos tóxicos en los alimentos, en particular de peces en el medio marino. La ingestión de alimentos es una fuente de exposición a los metales, no sólo porque muchos metales son componentes naturales de los productos alimenticios, sino también debido a la contaminación ambiental y a la contaminación durante el procesamiento. (Mishra S, et al. 2007)

Los organismos acuáticos acumulan elementos traza de diferentes orígenes en el ambiente. Estas fuentes incluyen sedimentos, erosiones del suelo, escorrentía, deposición de aire o polvo y cargas de aguas residuales, etc.

La acumulación de elementos traza en los organismos acuáticos puede suponer una carga a largo plazo sobre los ciclos biogeoquímicos en la biósfera. (C.C.M. Ip, et al. 2005)

La mayoría de los metales son ampliamente utilizados en las diversas ramas de la industria en la región costera del Golfo de México, incluidas las del refinado del petróleo o la producción de fertilizantes. Las operaciones de perforación petrolera se caracterizan por la liberación descontrolada de petróleo y algunas veces son catastróficas por lo que se toman algunas precauciones para prevenirlas. Sin embargo, ocasionalmente ocurren accidentes y grandes cantidades de petróleo y metales se descargan al mar. Las actividades mineras constituyen también otras de las fuentes principales del suministro de metales en la zona del Golfo de México, debido a que en ella se localizan más de cincuenta centros mineros. Adicionalmente los efluentes domésticos son otra fuente importante al aportar hacia los ríos descargas enriquecidas de Al, Ni, Cr, Cu, Pb, Zn, Cd, y Ag. (Botello A, et al. 2005)

Tomando en consideración lo anterior, se vuelve importante la determinación exacta del contenido de metales en las especies marinas respecto al control de las

condiciones del ecosistema, control de la contaminación y en los sistemas de control en la seguridad alimentaria. (Yang KY, et al. 2007)

2.3 Cadmio.

El cadmio de símbolo Cd, número atómico 48, peso atómico 112.4 uma y densidad de 8.65 g/cm³ en la naturaleza se encuentra estrechamente relacionado con las minas de cinc, plomo y cobre y con minerales como esfalerita (ZnS), greenockita o blenda de cadmio (CdS), otavita (CdCO₃) y monteponita (CdO). Tiene 8 isótopos estables; la Tabla 2-1 enlista los isótopos de cadmio y sus correspondientes abundancias. (Haynes WM, 2012; ATSDR, 2012)

Tabla 2-1. Isótopos de cadmio. (Lacan F, et al. 2006)

Isótopo	Abundancia (%)
¹⁰⁶ Cd	1.25
¹⁰⁸ Cd	0.89
¹¹⁰ Cd	12.49
¹¹¹ Cd	12.80
¹¹² Cd	24.13
¹¹³ Cd	12.22
¹¹⁴ Cd	28.73
¹¹⁶ Cd	7.49

Casi todo el cadmio se obtiene como producto del proceso en las minas de cinc, cobre y plomo. Es un metal blanco-azulado, suave y se corta fácilmente con un cuchillo. Es muy similar en muchos aspectos al cinc. Su presencia en el medio ambiente es de origen natural, a través de la erosión, pero éste puede incrementarse debido a la acción del hombre (minería o debido al uso en sus

distintas aplicaciones). Los niveles de cadmio monitoreados en el medio ambiente se muestran en la tabla 2-2.

Tabla 2-2. Niveles de Cd en el medio ambiente. (ATSDR, 2012)

Medio	Concentración
Corteza terrestre	0.1-0.5 mg/kg
Aire	0.1-5 ng/m ³
Sedimentos marinos	1 mg/kg
Agua marina	1 µg/L
Agua de ríos	1-13.5 ng/L

Para los organismos acuáticos la captación y la bioacumulación del cadmio son mayores en bajas salinidades. El cadmio se encuentra en el mar principalmente como cloruro; sin embargo al disminuir la salinidad reincrementa la concentración y por ende su biodisponibilidad. (Botello A, et al. 2005)

2.3.1. Aplicaciones.

Es uno de los elementos con los más bajos puntos de fusión, razón por lo cual es usado en:

- Aleaciones con bajos coeficientes de fricción y gran resistencia a la fatiga.
- Producción de galvanizados.
- Pigmentos utilizados en la industria del plástico, cerámica, pintura y de revestimientos.
- Estabilizantes en la producción de plásticos.

- Fabricación de baterías.

- Otros diversos usos como en la fabricación de: tubos de televisión, lámparas fluorescentes, tubos de rayos catódicos y otras aplicaciones electrónicas. [Haynes, WM. 2012, ATSDR. 2012]

2.3.2 *Efectos en la salud.*

El riñón e hígado acumulan juntos alrededor del 50% del cadmio retenido en el cuerpo. La vida media del cadmio en el riñón está estimada entre 6 y 38 años. La vida media del cadmio en el hígado está entre 4 y 19 años. Estas largas vidas medias reflejan el hecho de que los humanos no tienen vías eficaces para su eliminación.

El cadmio adsorbido es eliminado del cuerpo en la orina. La velocidad de excreción es lenta, aunque éste es el mejor mecanismo de eliminación, debido a que hay restos firmemente enlazados a la proteína metalotionina que contiene gran número de grupos tiol (-SH), con los cuales el cadmio tiene gran afinidad, que se atribuyen al aminoácido cisteína. (ATSDR. 2012)

El cadmio desplaza al cinc como cofactor de ciertas reacciones enzimáticas, perturbando sus funciones normales.

El cadmio también compite de forma activa con el calcio en los sistemas enzimáticos implicados en la contracción muscular, sobre todo a nivel de las fibras musculares lisas.

Así mismo se producen alteraciones en el sistema óseo debido a que el cadmio interfiere en el metabolismo del calcio.

También ejerce una acción competitiva con el cobre como cofactor del sistema enzimático de las monoaminooxidasas, disminuyendo su actividad.

Del mismo modo el cadmio altera el metabolismo del hierro provocando la aparición de un estado anémico que se caracteriza por un descenso del número de eritrocitos, del valor hematocrito y una disminución de la concentración de hemoglobina. (Godt J, et al. 2006)

2.3.3 Fuentes de contaminación.

Las emisiones naturales de cadmio en el medio ambiente son resultado de las erupciones volcánicas, incendios forestales u otros fenómenos naturales. En el medio ambiente existe sólo como Cd^{2+} y no experimenta reacciones de óxido-reducción. En el mar el cadmio puede existir en forma de iones hidratados o complejos iónicos con otras sustancias orgánicas e inorgánicas. Las formas solubles del cadmio pueden migrar, mientras que las insolubles se pueden depositar y absorber en los sedimentos. El destino del cadmio en los suelos depende de muchos factores como el pH de los suelos y de la disponibilidad de materia orgánica. Generalmente el cadmio se une fuertemente a la materia orgánica y ésta inmoviliza la mayor parte del elemento. Sin embargo el comportamiento del cadmio depende de las condiciones ambientales. (ATSDR. 2012)

Los metales tóxicos se acumulan en la biota y agua, posteriormente pasan a los seres humanos a través de la cadena alimenticia. Los metales pesados son tóxicos para la salud humana aún en cantidades pequeñas, por lo que agencias federales han publicado niveles recomendados para la salud, de ciertos metales tóxicos. (Yang KY, et al. 2007). Estos niveles recomendados se pueden considerar como niveles máximos permisibles para la ingesta humana, sin que dañen.

Las normas nacionales e internacionales que contemplan los límites máximos permisibles de cadmio en alimentos se encuentran en la tabla 2-3.

Tabla 2.3. Normas nacionales e internacionales, que establecen los límites máximos permisibles de Cd en especies marinas.

Especie	Límite máximo permisible de Cadmio.	Fuente
Moluscos.	2.0 mg/kg.	NOM-242-SSA1-2009.
Otras.	0.5 mg/kg.	
Productos de pesca procesados.	0.5 mg/kg.	
Carne de pescado ^{a,b,c} .	0.1 mg/kg.	Reglamento (CE) N° 1881/2006.*
Carne de pez espada ^{a,c}	0.3 mg/kg.	
Crustáceos ^d .	0.5 mg/kg.	
Moluscos bivalvos	1.0 mg/kg.	
Cefalópodos (sin vísceras)	1.0 mg/kg.	
Mariscos	2.0 mg/kg	FAO/WHO (2004).* (Lichtfouse E, et al. 2011)
Mariscos	2.0 mg/kg	FSANZ (2003).* (Lichtfouse E, et al. 2011)
Mariscos	1.0 mg/kg	Croatian Regulatory Act (2007).* (Lichtfouse E, et al. 2011)

* Peso húmedo.

a. El límite máximo permisible se aplicará al consumo del pescado entero, excluido el hígado.

b. Acedia, anguila, atún, bacoreta, bonito, boquerón, emperador, jurel, lisa, mojarra, sardina.

c. Excluida la carne oscura del cangrejo, así como la carne de la cabeza y el tórax del bogavante y otros grandes crustáceos similares.

2.4 Vanadio.

El vanadio de símbolo V, número atómico 23, peso atómico 50.96 uma y densidad de 6.11 g/cm^3 en la naturaleza se encuentra como una mezcla de dos isótopos ^{50}V (0.25%) y ^{51}V (99.75%), siendo radioactivo el isótopo ^{50}V y el más estable el isótopo ^{51}V . Existe en los estados de oxidación de 2+, 3+, 4+ y 5+, siendo los más comunes el 3+, 4+ y 5+. Es un metal gris, pertenece a la primera serie de transición y cuando se encuentra puro es un metal blanco, brillante, suave y dúctil. Tiene buena resistencia a la corrosión por álcalis, ácido sulfúrico, clorhídrico y agua salada, sin embargo la oxidación no presenta problemas arriba de los 660°C . (Haynes WM, 2012).

Es uno de los elementos más abundantes, ocupando el lugar número 22, se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre con una presencia de 0.014-0.02% y un promedio de concentración de 100 ppm (100 mg/kg) similar a la del Zn y Ni. Se encuentra en 65 diferentes minerales, entre ellos carnotita ($\text{K}_2(\text{UO}_2)_2(\text{VO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), roscoelita ($\text{K}(\text{V}^{3+}, \text{Al}, \text{Mg})_2\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$), vanadita ($\text{Pb}_5(\text{VO}_4)_3\text{Cl}$), patronita (VS_4) que son las principales fuentes de este metal. El vanadio también se encuentra en rocas de fosfato y algunos minerales de hierro, se encuentra en el petróleo crudo en forma de complejos orgánicos y también ha sido encontrado en pequeñas cantidades en los meteoritos. (Haynes WM, 2012; Mineralogical Society of America, 2004; WebElements, 1993)

Los niveles de vanadio monitoreados en el medio ambiente se muestran en la tabla 2-4.

Tabla 2-4. Niveles de V en el medio ambiente. (ATSDR, 2012)

Medio	Concentración
Corteza terrestre	100 mg/kg
Aire	11 ng/m ³
Agua marina	0.4-104 µg/L
Agua del grifo	1-1.2 µg/L

2.4.1 Aplicaciones.

El vanadio se usa en la producción de acero para las herramientas por ser resistente a la oxidación, con elasticidad y de corte rápido. Aproximadamente el 80% del vanadio producido es usado como ferrovandio o como aditivo de aceros, el pentóxido de vanadio es usado en cerámica y es un catalizador muy bueno para la producción de imanes superconductores con un campo de 175,000 gauss. (Haynes WM, 2012)

2.4.2 Efectos en la salud.

La comida es la ruta primaria de exposición al vanadio y éste se encuentra en las formas de VO^{2+} (catión vanadilo, V^{IV}) o $H_2VO_4^-$ (anión vanadato, V^V). Los seres humanos están expuestos a una gran variedad de compuestos de vanadio, los más comunes son pentóxido de vanadio (V_2O_5), metavanadato de sodio ($NaVO_3$), ortovanadato de sodio (Na_3VO_4), sulfato de vanadil (VO_4SO_4), metavanadato de amonio (NH_4VO_3). Los compuestos orgánicos de vanadio como bis(maltolato)oxovanadio(IV) ($C_{12}H_{10}O_7V$) y acetilacetato de

vanadio($\text{VO}(\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2)_2$) son usados en el tratamiento de diabetes y cáncer, ya que tienen propiedades toxicocinéticas diferentes a los compuestos inorgánicos de vanadio. Sin embargo sigue en investigación esta aplicación. (ATSR. 2012, Cusi K, et al. 2001)

Su requerimiento para los humanos no ha sido confirmado, pero en caso de ser necesario, la ingesta aproximada sería de 15 mg por día. (EFSA, 2004).

2.4.3 Fuentes de contaminación.

Se libera al ambiente como producto de las emisiones volcánicas, la quema de combustibles fósiles (petróleo crudo, carbón), desgaste de las rocas y erosión de la tierra. El vanadio está presente en las porfirinas del petróleo crudo. Son pocos los datos relacionados con la concentración de V en mariscos, pero se ha mencionado la bioacumulación de V en moluscos. [Lavilla I, et al. 2008]

En el caso del vanadio no se encuentra normatividad. Los resultados de un estudio realizado en algunos alimentos, mediante espectroscopia de absorción atómica, se muestran en la tabla 2-5.

Tabla 2-5. Contenido de V presente en algunos alimentos. (Becker W, et al. 2004, EFSA, 2004)

Alimento	Concentración de vanadio presente
Grasas, aceites, frutas y vegetales	De 1 a 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
En granos, alimentos del mar y carnes	De 5 a 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Eneldo	431 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Pimienta negra	987 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Tabaco para fumar	De 1 a 8 $\mu\text{g}/\text{g}$

2.5 Valores reportados en la literatura nacional e internacional para Cd y V.

En la literatura nacional e internacional se encuentran diversos estudios realizados a especies marinas, mediante diferentes técnicas analíticas, con el fin de determinar el contenido de metales tóxicos presentes en ellas. Los valores reportados para cadmio y vanadio se encuentran en las tablas 2-6 y 2-7, respectivamente.

Tabla 2-6. Concentraciones de Cd encontradas en especies marinas (peso seco).

Especie	Cd(mg/kg)	Técnica utilizada	Referencia
Cangrejo azul	0.04-2.05	ICP-MS	Yang K, et al. (2007)
Lenguado de verano	< LD		
Lenguado de invierno	< LD		
Pez (<i>Stenotomus chrysops</i>)	< LD		
Pescado	0.147 - 0.017	PSA	Saei-Dehkordi S, et al. (2011)
Pescado	0.02-0.5	ICP-MS	Medeiros R, (2012)
Esturión	Músculo 0.085 ± 0.116 Branquias 0.147 ± 0.127 Hígado 2.826 ± 3.395 Intestino 0.335 ± 0.379	ICP-OES	Jaric I, et al. (2011)
Pescado	0.02 ± 0.02	FAAS, PSA	Mishra S, et al. (2007)
Biota(pescado, bivalvos, cangrejos)	0.18 ± 0.59		
Camarón (<i>Farfantepenaeus aztecus</i>)	Músculo (0.032 ± 0.019)	GFAAS	Palomarez J, et al. (2009)
Camarón (<i>Farfantepenaeus subtilis</i>)	Músculo (0.83 ± 3.83) Cefalotórax (0.66 ± 0.94)	GFAAS	Boada M, et al. (2007)
Camarón (<i>Farfantepenaeus notialis</i>)	Músculo (2.30 ± 5.40) Cefalotórax (0.60 ± 1.00)		

Tabla 2-6. (Continuación)

Especie	Cd(mg/kg)	Técnica utilizada	Referencia
Shellfish (<i>Pitaria chione</i>)	0.130 ± 0.022	ETAAS	Juresa D, (2003)
Mussel (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	0.142 ± 0.017		
Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	0.005 ± 0.001		
Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	0.011 ± 0.005		
Horse mackerel (<i>Trachurus trachurus</i>)	0.020 ± 0.025		
Bogue (<i>Boops boops</i>)	0.007 ± 0.002		
Sardina (<i>Sardine pilchardus</i>)	0.008 ± 0.002		
Sardina (<i>Sardine pilchardus</i>)	0.007 ± 0.002		
Anchovy (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	0.012 ± 0.002		
Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)	0.002 ± 0.001		
Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)	0.002 ± 0.001		

Tabla 2-7. Concentraciones de V encontradas en especies marinas (peso seco).

Especie	V(mg/kg)	Técnica utilizada	Referencia
Cangrejo azul	0.09-0.29	ICP-MS	Yang K, et al. (2007)
Lenguado de verano	0.044-0.12		
Lenguado de invierno	0.05-0.09		
Pez (<i>Stenotomus chrysops</i>)	0.21-0.88		
Bagre (<i>Ariopsis felis</i>)	0.560-2.642	GFAAS	Vázquez F, et al. (2008)
Almeja (<i>Venerupis rhomboides</i>)	2.93 ± 0.03	ETAAS	Lavilla I, et al. (2008)
Molusco bivalvo (<i>Cardium edule</i>)	5.14 ± 0.14		
Calamar (<i>Sepia officinalis</i>)	0.95 ± 0.12		
Camarón (<i>Palaemon elegans</i>)	2.14 ± 0.16		
Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)	0.82 ± 0.05		
Cangrejo (<i>Cancer pagurus</i>)	3.54 ± 0.12		
Pez (<i>Lepidorhombus whiffiagonis</i>)	1.25 ± 0.08		
Mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	2.73 ± 0.12		
Gamba (<i>Panaeus kerathurus</i>)	2.04 ± 0.12		
Concha navaja (<i>Ensis ensis</i>)	3.75 ± 0.22		
Lenguado (<i>Solea solea</i>)	1.17 ± 0.06		

2.6 Parámetros de desempeño analítico.

Los parámetros de desempeño analítico son las características de validación que necesitan ser evaluadas y en el presente trabajo se evaluaron las siguientes:

2.6.1 Límite de detección instrumental:

El límite de detección instrumental (LoDI) es la concentración más baja del analito que puede ser detectada y de manera confiable distinguida de cero (o del ruido de fondo), pero no necesariamente cuantificado. Es la concentración a la cual un valor medido es más grande que la incertidumbre asociada a éste. Este valor es estimado mediante el uso de la ecuación 2.1.

$$\mathbf{LoDI = b + ks \quad Ecuación 2.1}$$

Donde **b** es el valor promedio de la señal de 10 blancos de muestra, **s** la desviación estándar de los blancos de muestra y **k** es un factor numérico elegido de acuerdo al nivel de confianza deseado, generalmente 3. (EURACHEM, 2005; Gonzales A, et al. 2007)

2.6.2 Límite de cuantificación instrumental:

El límite de cuantificación (LoQI) es la concentración más baja del analito que puede ser determinada cuantitativamente con un nivel aceptable de precisión. El procedimiento para evaluar el LoQI es equivalente al del LoDI. Se evalúan 10 blancos de muestra independientes y en la ecuación 2.1 se usa el factor 10 en lugar de 3. (EURACHEM, 2005; Gonzales A, et al. 2007)

2.6.3 Intervalo lineal e intervalo de trabajo:

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito, sobre los cuales el método puede aplicarse. En el extremo inferior del intervalo de concentraciones, el factor limitante es el valor del límite de cuantificación. En el extremo superior del intervalo de concentraciones, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento. (EURACHEM, 2005)

El intervalo lineal: Es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado. La señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito.

El intervalo de trabajo: Conjunto de valores del mensurando para los cuales se pretende que el error de un instrumento de medición quede dentro de los límites especificados.

2.6.4 Exactitud:

Es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. (EURACHEM, 2005; Traverniers I, et al. 2004)

La exactitud se determinó empleando los materiales de referencia certificados TORT-2 y DORM-2 (los certificados de los mismos se encuentran en el ANEXO I). La exactitud se expresa en términos de % de error relativo. Este valor es estimado mediante el uso de la ecuación 2.2.

$$\% E = \frac{\bar{x} - x_i}{x_i} * 100 \text{ Ecuación 2.2}$$

Donde % *E* corresponde al % de error relativo, \bar{x} corresponde a la media o promedio de un conjunto de valores y x_i corresponde al valor verdadero o aceptado.

2.6.5 Precisión:

Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. (EURACHEM, 2005; Traverniers I, et al. 2004)

La precisión se determinó empleando los materiales de referencia certificados TORT-2 y DORM-2. La precisión se expresa en términos del % de RSD. Este valor es estimado mediante el uso de la ecuación 2.3.

$$\% RSD = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \text{ Ecuación 2.3}$$

Donde el % de **RSD** representa la desviación estándar relativa, *s* representa la desviación estándar y \bar{x} representa la media o promedio de un conjunto de valores.

Capítulo III.

FUNDAMENTOS DE LA TÉCNICA ICP-MS.

3.1 Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS).

La técnica ICP-MS es una poderosa herramienta analítica para la determinación de elementos traza y ultra traza en gran variedad de muestras, entre otras las biológicas y ambientales. Entre sus ventajas se encuentran: límites de detección muy bajos, elevada capacidad de procesamiento de muestras, técnica multielemental (posibilidad de medir varios elementos durante la misma lectura en un amplio rango de masas), posibilidad de obtener información isotópica, amplio rango lineal y sólo necesita una pequeña cantidad de muestra (~ 3 – 5 mL). La figura 3-1 muestra a los elementos y su aproximado límite de detección instrumental por ICP-MS. (Fang J. et al. 2006).

Sin embargo sufre desventajas; es una técnica destructiva, no está exenta de interferencias, éstas pueden clasificarse en dos categorías: interferencias espectroscópicas y no espectroscópicas o efecto matriz, las cuales cambian dependiendo de la composición elemental de la muestra. (D'Illo S, et al. 2008)

The ELAN Series of ICP-Mass Spectrometers

Simplifying Ultratrace Analysis

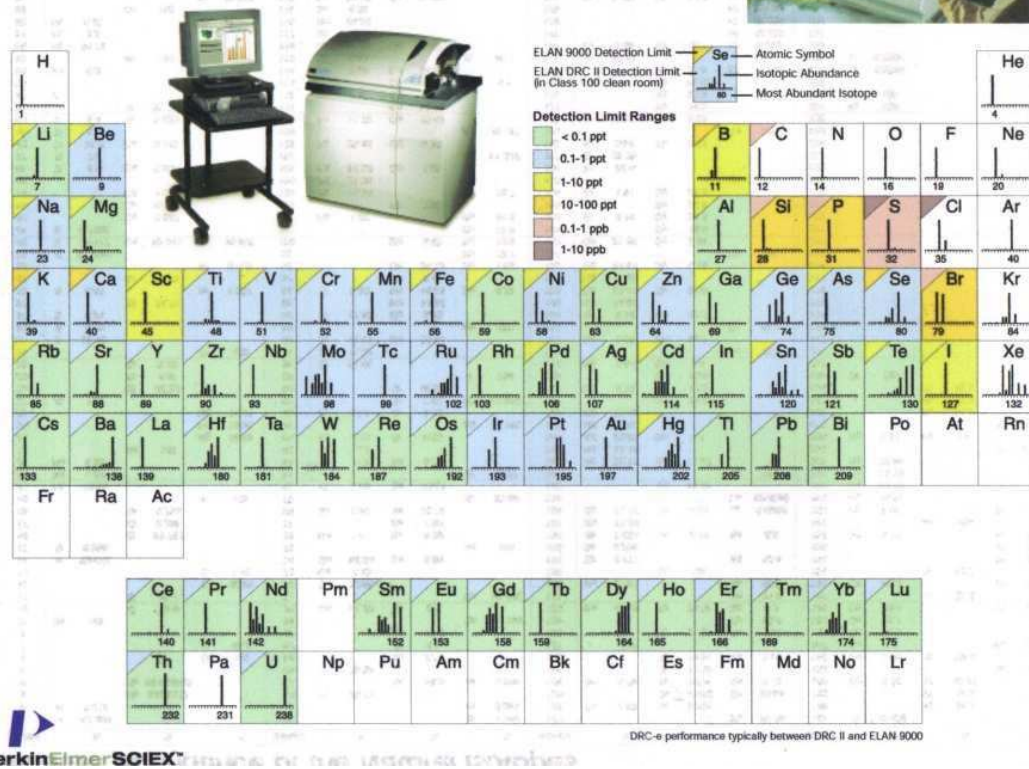


Figura 3-1. Elementos determinados por ICP-MS junto con sus límites de detección.
 [Perkin Elmer]

3.2 **Funcionamiento.**

3.2.1 *Principios fundamentales del Plasma de Acoplamiento Inductivo.*

El plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es una fuente de plasma, los principios de su generación se muestran a continuación.

3.2.1.1 *Principios de generación del Plasma de Acoplamiento Inductivo.*

El plasma es un gas ionizado, macroscópicamente neutro (con el mismo número de neutrones y electrones). Si un gas monoatómico, X, es usado, el plasma puede ser descrito por la ecuación 3.1:

$$X = \sum_{n=1}^q X^{n+} + \sum_{n=1}^q ne \quad \text{Ecuación 3.1}$$

Donde X^{n+} es un ión con carga n y e es el electrón.

Cuando el argón es utilizado para formar el plasma, los únicos iones de argón que se observan son los ionizados. En contraste a la llama, es necesario suministrar una energía externa en forma de un campo eléctrico para ionizar el gas y mantener el plasma, el cual, a su vez transmitirá parte de esta energía a la muestra para atomizarla, ionizarla y excitarla. Los plasmas pueden ser clasificados de acuerdo al tipo de campo eléctrico que es usado para crearlos y mantenerlos:

Plasma de Corriente Directa (DCP): Se obtiene cuando se establece un campo de corriente directa a través de electrodos.

Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP): Se obtiene cuando se aplica un campo de alta frecuencia a través de una bobina.

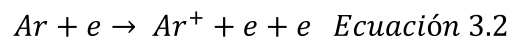
Plasma Inducido por Microondas (MIP): Se obtiene cuando se aplica un campo de microondas a una cavidad.

El plasma más comúnmente usado actualmente es ICP debido a sus propiedades únicas. El gas que se usa generalmente para generar el plasma es Ar. Es un gas noble, un elemento monoatómico con una elevada energía de ionización (15.76eV) y es químicamente inerte. Por consiguiente:

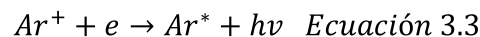
- (i) El argón emite un espectro simple a diferencia de la flama donde se observa un espectro molecular.
- (ii) El argón tiene la capacidad de excitar e ionizar la mayoría de los elementos en la tabla periódica. El He, F y Ne tienen su primer potencial de ionización superior al de Ar, por lo tanto no son ionizables en el plasma.

Sin embargo algunas especies moleculares inestables se pueden formar dentro del plasma (por ejemplo ArH).

El campo de alta frecuencia se produce por un generador de radiofrecuencia que acelera los electrones. Estos electrones ionizarán el gas, descrito en la ecuación 3.2.



Los principales procesos de ionización son: Ionización por transferencia de carga, mostrada en la ecuación 3.3.



Ionización por impacto electrónico, mostrada en la ecuación 3.4.

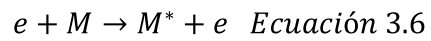


Ionización de Penning, descrita en la ecuación 3.5.

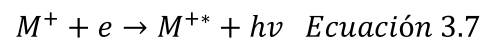


Mientras, que los principales procesos de excitación para el átomo analito son:

Excitación por impacto de electrones, descrita en la ecuación 3.6.



Recombinación radiativa de electrones e iones, descrita en la ecuación 3.7. (Hill SJ. 2007)



3.2.2 Aspectos fundamentales de la Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo.

En la actualidad se dispone de diferentes diseños del equipo ICP-MS, los cuales comparten muchos componentes similares, tales como el nebulizador, la cámara de nebulización, la antorcha del plasma y el detector pero pueden diferir de forma significativa en el diseño de la interfase, el sistema de enfoque de iones, el dispositivo de separación de masas y la cámara de vacío. La figura 3-2 muestra el diseño del equipo utilizado en el estudio.

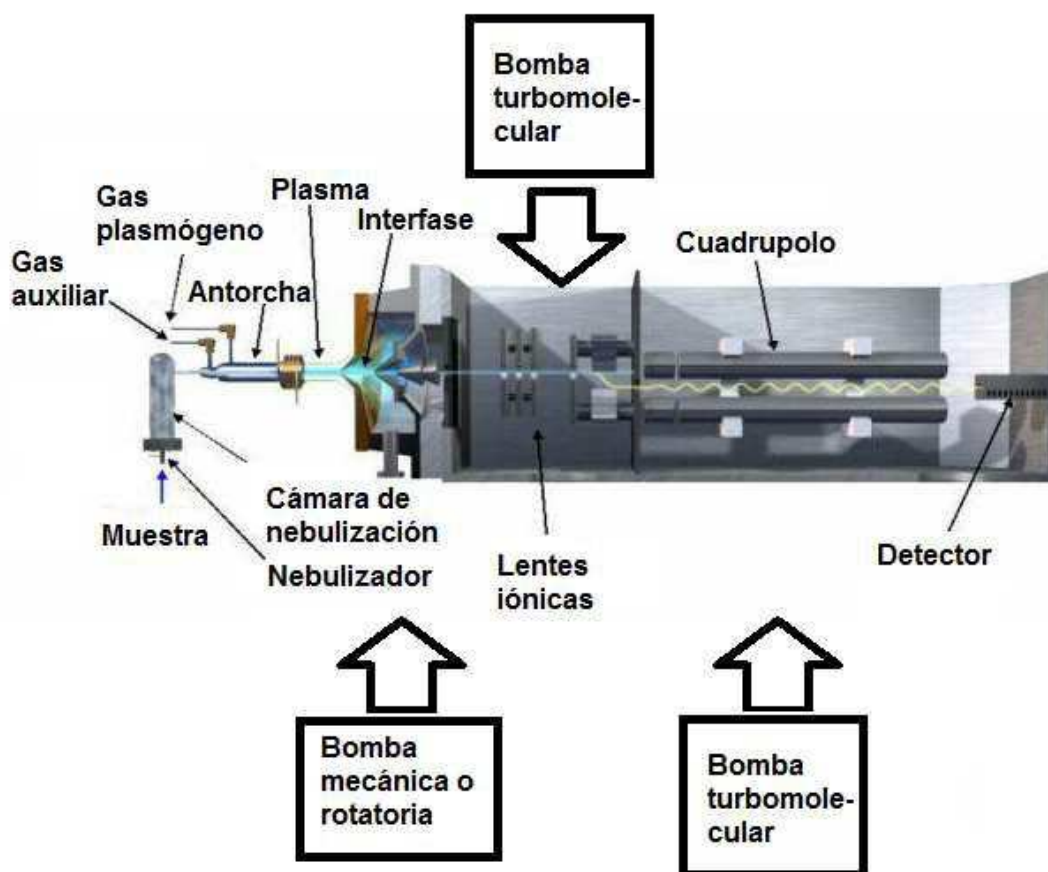


Figura 3-2. Diseño del equipo ICP-MS. (Imagen tomada de la página web de la Universidad de Alicante)

3.2.2.1 Introducción de la muestra.

El ICP-MS se puede acoplar a distintos sistemas de introducción de muestras sólidas, líquidas y gaseosas. Todos estos sistemas, básicamente, obtienen el mismo resultado. Generan un fino aerosol de la muestra para que pueda ser eficientemente ionizado en el plasma.

La introducción de las muestras líquidas es, mediante una bomba peristáltica (mostrada en la figura 3-3). Una bomba peristáltica es una bomba pequeña con una gran cantidad de mini-rodillos que giran todos a la misma velocidad. El constante movimiento y la presión de los rodillos sobre los tubos de la bomba alimentan de muestra al nebulizador. El beneficio de una bomba peristáltica es que asegura un flujo constante del líquido, independientemente de las diferencias en la viscosidad de las muestras, estándares y blancos.

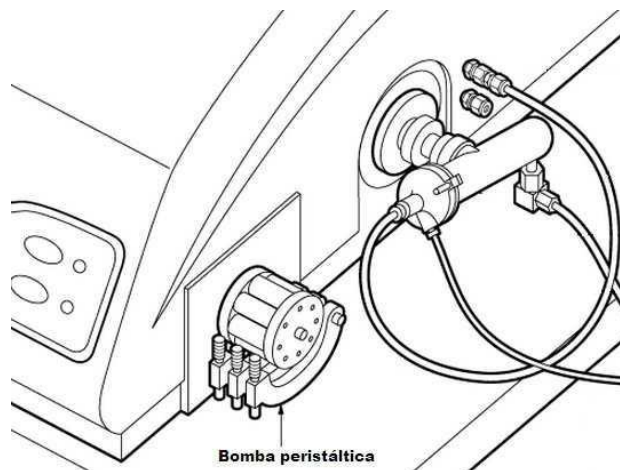


Figura 3-3. Sistema de introducción de la muestra. (ELAN DRC-e Hardware Guide)

El mecanismo de introducción de una muestra líquida puede ser considerado como dos eventos separados: la generación de un aerosol y la selección de las gotas.

a) Generación de un aerosol usando un nebulizador de flujo cruzado (mostrado en la figura 3-4):

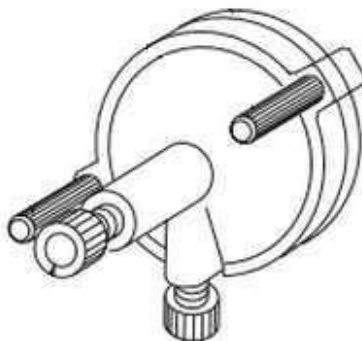


Figura 3-4. Nebulizador de flujo cruzado. (ELAN DRC-e Hardware Guide)

Una vez que la muestra entra al nebulizador. El nebulizador, alimentado con la muestra en forma de solución, produce pequeñas gotas diminutas.

Cabe señalar que aunque el bombeo de muestra es el método más comúnmente utilizado para introducir la muestra, algunos nebulizadores neumáticos como el concéntrico, no requieren el uso de una bomba, porque se basan en el efecto Venturi. La figura 3-5 muestra la generación de aerosoles usando un nebulizador de flujo cruzado.

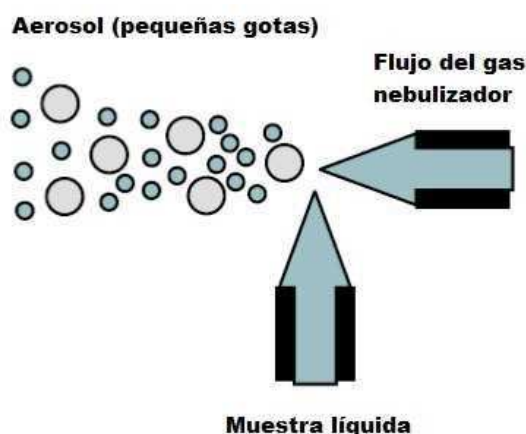


Figura 3-5. Generación de aerosoles usando un nebulizador de flujo cruzado. (Perkin Elmer guide, 2001)

b) La selección de las gotas a través de una cámara de nebulización tipo Scott (mostrada en la figura 3-6)

La cámara de nebulización de doble paso tipo Scott selecciona las gotas pequeñas y las dirige a un tubo central. Las gotas más grandes salen del tubo por gravedad, salen de la cámara de nebulización por el tubo de drenaje. El líquido en el tubo de drenaje se mantiene a presión positiva, lo cual obliga a las gotas más pequeñas a estar entre la pared externa y el tubo central y salen de la cámara de nebulización a la antorcha del plasma (Thomas, R. 2008).

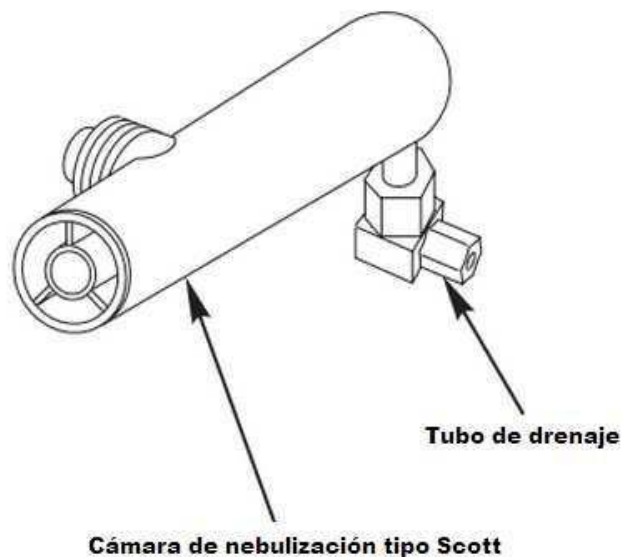


Figura 3-6. Cámara de nebulización tipo Scott. (ELAN DRC-e Hardware Guide)

3.2.2.2 Generación de iones.

La atmósfera del ICP se forma cuando un gas inerte, usualmente argón, se introduce dentro de una antorcha de cuarzo, la cual consiste de tres tubos de diámetro variable. El tubo interior lleva el aerosol de la muestra en un flujo de argón y los tubos intermedio y exterior permiten fluir los gases que se forman en el plasma frío y la antorcha. Al entrar en la antorcha el argón se alimenta con los electrones de la excitación producida por una bobina de Tesla. Los electrones después se aceleran en el campo magnético, inducido por la aplicación de energía de radiofrecuencia a una bobina de cobre que rodea la antorcha. Chocan con átomos neutros de argón y se ionizan. Los iones y electrones chocan continuamente, mientras se mantiene el campo de radiofrecuencia, el plasma es constante. Un diagrama típico del ICP se muestra en la figura 3-7.

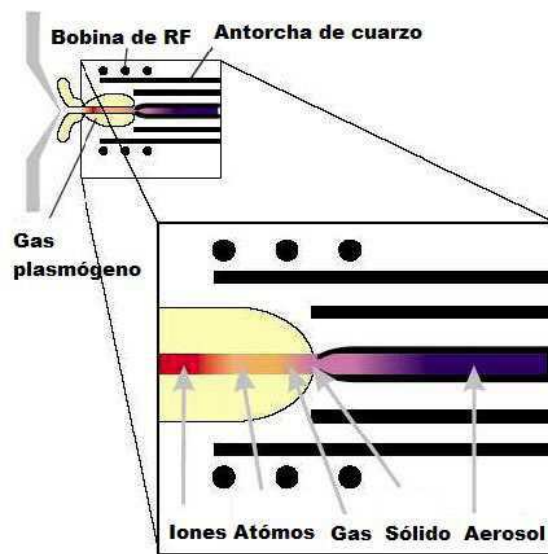


Figura 3-7. Diagrama típico del ICP. (Perkin Elmer guide, 2001)

La forma del ICP es de importancia fundamental para su uso como una fuente de ionización y excitación. El flujo tangencial del gas en la antorcha crea un vórtice que debilita la base del plasma. Esto permite la fácil perforación del plasma por el flujo del gas nebulizador, el cual lleva la muestra hasta el centro de la bola de fuego.

La mayoría del poder de radiofrecuencia se acopla en la región externa del flujo de gas, lo que conduce a un efecto superficial por medio del cual las regiones exteriores del plasma son más calientes que el centro. El centro del plasma se calienta por conducción, convección y transferencia de la energía superficial.

El plasma es una densa dona en forma anular de los electrones altamente excitados, iones, especies neutras y metaestables. La ionización del analito en el ICP es un proceso altamente complejo. La temperatura de funcionamiento del ICP está entre 5 000 y 10 000 K. Esto conduce a la eliminación del disolvente y la atomización térmica de los analitos introducidos a la región central del plasma.

3.2.2.3 *Interfase del ICP-MS.*

Los iones generados en el ICP a presión atmosférica (760 Torr) pasan a través de la interfase al analizador de masas. En un primer paso, los iones son guiados a través del cono de muestreo (con un orificio de ~1 mm) y después por el cono de discriminación (con un orificio de ~0.8-0.4 mm). Entre ambos conos y por medio de una bomba rotatoria, se obtiene un vacío de ~2 Torr. Este paso desde presión atmosférica a una zona de menor presión provoca una expansión adiabática que preserva la composición iónica del plasma. Los conos de muestreo y discriminador se muestran en la figura 3-8.



Figura 3-8. Conos de muestreo y de discriminación. (Perkin Elmer Catalogue, 2010)

Ambos conos constituyen una interfase de extracción por medio de la cual pasa el haz de iones (aproximadamente el 1% de los iones formados en el plasma) hacia el sistema electrostático de enfoque que se encuentra sometido a alto vacío, inferior a 10^{-5} Torr, por la acción de una bomba turbomolecular.

3.2.2.4 Sistema de focalización de iones.

Una vez que la muestra junto con el argón ha entrado en la zona de baja presión, se procede a separar los iones de las especies neutras y fotones. Para ello se utilizan las lentes iónicas, las cuales se encargan de acelerar y focalizar el flujo de electrones. La figura 3-9 muestra un diagrama de las lentes iónicas.

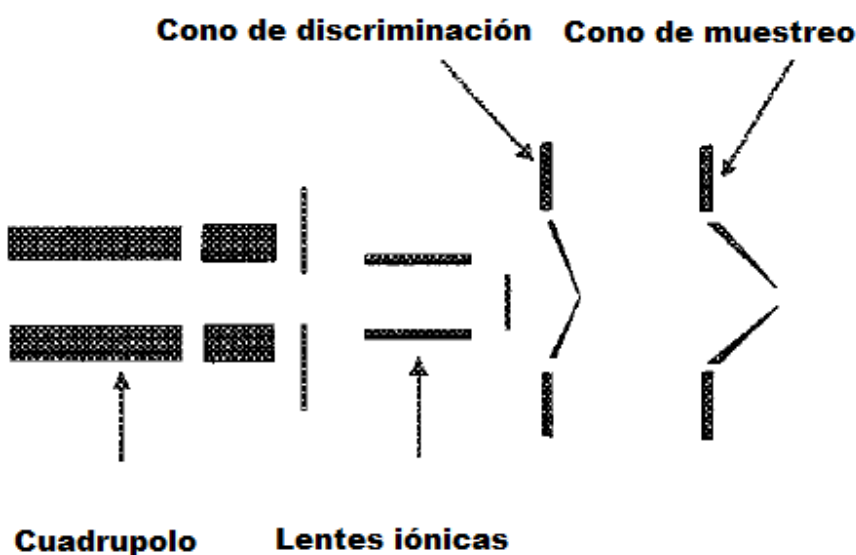


Figura 3-9. Lentes iónicas (Thomas R, 2008).

El sistema de focalización de iones es una área crucial dentro del ICP-MS, aquí el haz de iones es focalizado antes de entrar en el analizador de masas. Su papel es transportar el máximo número de iones analitos desde la interfase hasta la zona de separación de masas.

3.2.2.5 Analizador de masas.

El equipo utilizado posee un filtro de masas cuadrupolar que consiste en cuatro barras cilíndricas cerámicas recubiertas de oro situadas de manera paralela y equidistante respecto a un eje central. Aplicando voltajes opuestos de corriente continua y radiofrecuencia a los pares opuestos de barras se obtiene un voltaje de corriente continua positivo para un par de barras y negativo para el otro. Asimismo, los voltajes de radiofrecuencia en cada par están desfasados 180° , esto es, son de signo opuesto, con distinta amplitud.

Los iones que entran en el cuadrupolo se someten a trayectorias oscilatorias debido al voltaje de la radiofrecuencia. Seleccionando los valores adecuados de los voltajes de radiofrecuencia y corriente continua se consigue que sólo los iones con una relación masa/carga concreta que llegan al analizador sean capaces de atravesar toda la longitud del cuadrupolo y salir por el otro extremo. Los otros iones se pierden dentro del cuadrupolo, sus trayectorias oscilatorias son demasiado grandes y chocan con las barras con lo que se neutralizan. En la figura 3-10 se muestra un diagrama del cuadrupolo.

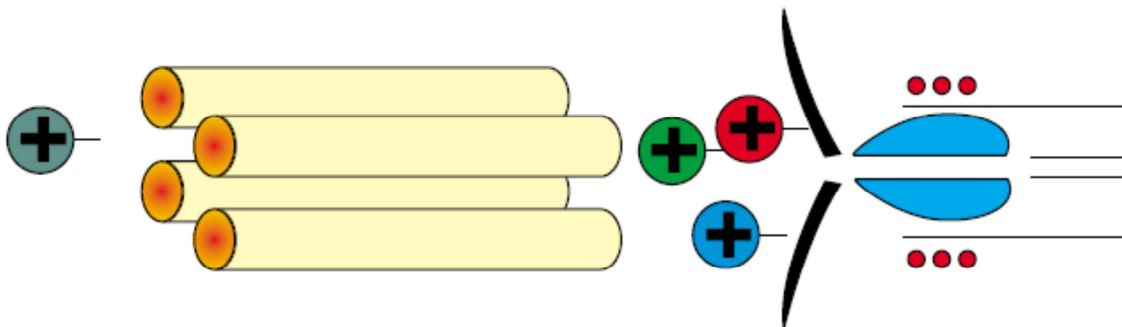


Figura 3-10. Cuadrupolo. (Perkin Elmer guide, 2001)

3.2.2.6 *Detector.*

La masa separada en el espectrómetro de masas alcanza finalmente el detector, zona en la que también se opera en condiciones de alto vacío. El detector utilizado es un multiplicador de electrones, el cual mide simultáneamente tanto señales analógicas como de contaje de pulsos con un rango dinámico lineal de más de 8 órdenes de magnitud lo que permite el análisis simultáneo de elementos en concentración de mayoritarios, minoritarios, trazas y ultrazas en un único análisis. El detector se muestra en la figura 3-11.



Figura 3-11. Detector (multiplicador de electrones) (CromeLab, 2006)

El proceso físico básico que permite que un multiplicador de electrones funcione se llama emisión de electrones secundaria. Cuando una partícula cargada o neutra, un ión o un electrón, choca contra una superficie puede provocar que se desprendan electrones asociados con la capa externa de la superficie. La cantidad de electrones secundarios emitidos depende de las características de la partícula primaria, su ángulo de choque, su energía y las características de la superficie de impacto. La figura 3-12 muestra el proceso físico de un multiplicador de electrones.

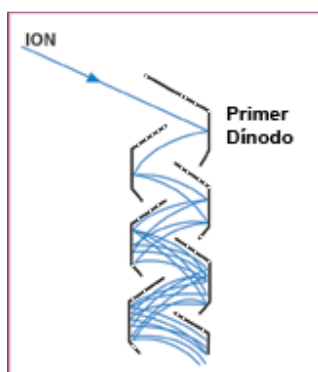


Figura 3-12. Detector (multiplicador de electrones) (CromeLab, 2006)

En general los multiplicadores de electrones normalmente usados en espectrometría de masas son de dos tipos: el multiplicador de dínodo discreto y el multiplicador de dínodo continuo (que a menudo se llama multiplicador de electrones de canal o CEM).

Un dínodo discreto típico dispone de entre 12 y 24 dínodos.

(Jarvis KE, et al. 1992; Thomas R, 2008; Hill SJ, 2007; CromeLab, 2006, Perkin Elmer guide, 2001; Perkin Elmer Catalogue, 2010)

3.3 Interferencias.

Las interferencias que ocurren en el ICP-MS se agrupan en dos amplios rubros, “espectroscópicas” y “no espectroscópicas” o “efecto de matriz”. El primer grupo, interferencias espectroscópicas, se divide en cuatro tipos: a) traslape isobárico, b) iones poliatómicos o aductos, c) iones de óxidos refractarios y d) iones doblemente cargados. El segundo, interferencias no espectroscópicas o efecto de matriz, es más complejo y se divide en dos: a) efectos de supresión o reforzamiento y b) efectos físicos causados por un alto contenido de sólidos totales disueltos.

3.3.1 *Interferencias espectroscópicas.*

a) Traslape isobárico

Existe cuando dos elementos tienen isótopos con la misma masa atómica o cuando las especies formadas tienen una masa cercana al elemento de interés, resultando en un traslape de masa y un incremento de la señal, especialmente, cuando el cuadrupolo del ICP-MS tiene baja resolución.

Como regla general, los isótopos con masa impar están libres de traslape isobárico, mientras que los isótopos con masa par no lo están. No existen interferencias isobáricas abajo de 36 m/z.

Hay varios métodos para resolver los problemas por interferencias en el análisis por ICP-MS. Uno de ellos es el uso de las correcciones matemáticas, aunque en muchos casos los modelos matemáticos pueden corregir las interferencias en ICP-MS, esto no es suficiente para todo tipo de muestras, especialmente para las biológicas o geológicas. (Fang J. et al. 2006; Jarvis KE, et al. 1992)

b) Iones poliatómicos o aductos.

Este tipo de interferencias son más serias que las causadas por el traslape isobárico, ocurren debido a la formación de iones poliatómicos o aductos.

Estos iones resultan de la combinación de dos o más especies atómicas por ejemplo ArO^+ . El argón, hidrógeno y oxígeno son las especies dominantes presentes en el plasma y éstos pueden combinarse entre ellos o con los elementos en la matriz del analito. Los elementos mayoritarios presentes en los solventes o ácidos usados durante la preparación de la muestra (ejemplo N, S y Cl) también participan en estas reacciones. Aunque la composición del gas extraído del plasma a la interfase se enfría alrededor de $1\mu\text{s}$ después de salir del plasma, pueden ocurrir reacciones rápidas ion-molécula entre las especies presentes en el gas. Un gran número de picos de iones poliatómicos pueden

producirse, pero éstos sólo están arriba de 82 m/z. La formación de iones poliatómicos y de sus problemas de interferencias depende de muchos factores: la geometría de la extracción de iones, los parámetros de operación del plasma, el sistema de nebulización y lo más importante la naturaleza del ácido y de la matriz de la muestra.

c) Iones de óxidos refractarios.

Aunque los iones poliatómicos presentan problemas más serios por interferencias, en algunas matrices también se tienen que considerar los iones de óxidos refractarios. Se presentan como resultado de una disociación incompleta de la matriz de la muestra o por recombinación en la cola del plasma. En general, el nivel relativo de óxidos esperados se puede predecir mediante la fuerza del enlace monóxido de los elementos de interés. Aquellos elementos con mayor fuerza de enlace proveen usualmente el mayor rendimiento de iones MO^+ , por ejemplo el Ce. Los niveles de óxidos son referidos como MO^+/M^+ , aunque estrictamente la relación debería estar expresada como $MO^+/(MO^++M^+)$. En general, el nivel de formación de óxidos pocas veces excede el 15% para la mayoría de los elementos, aunque debe destacarse que las condiciones de operación del plasma pueden influir en la formación de iones óxido como de iones poliatómicos, el poder de RF y la velocidad de flujo del gas nebulizador tienen un efecto significativo en la generación de iones MO^+ .

d) Iones doblemente cargados.

En el ICP, la mayoría de los iones son producidos como especies monocargadas aunque también se producen como especies múltiplemente cargadas. El grado de formación de iones doblemente cargados en el plasma está controlado por la segunda energía de ionización de los elementos y la condición de equilibrio del plasma. Los elementos con una segunda energía de ionización más baja que la

primera energía de ionización del argón (alcalinotérreos, algunos metales de transición y los REE) experimentarían algún grado significativo de formación de iones 2^+ . La velocidad de flujo del gas nebulizador puede afectar la producción de iones doblemente cargados. A velocidades bajas de flujo, la temperatura del plasma se incrementa y el equilibrio se traslada hacia una alta productividad de iones 2^+ . Velocidades altas de flujo del gas nebulizador tienden a producir potenciales altos del plasma con los cuales se generan iones 2^+ . En condiciones normales de operación, la generación de iones 2^+ es generalmente pequeña (<1%). El efecto de la presencia de iones doblemente cargados se manifiesta de dos formas. 1) Resulta una pérdida pequeña de la señal y por tanto de la sensibilidad de la especie monocargada y 2) más importante, genera un número de solapamientos isotópicos a la mitad de la masa del elemento padre. Afortunadamente, los elementos afectados son pocos pero se necesitan las correcciones de interferencia si no puede usarse un isótopo alternativo.

Las interferencias espectroscópicas, son generadas en bajas cantidades aún en los más modernos instrumentos y pueden ser demasiado altas para permitir determinaciones a niveles ultratraza de algunos elementos. Hay varias maneras para minimizar o eliminar estas interferencias:

- a) Optimización de las condiciones instrumentales.
- b) Mezcla de gases y solventes.
- c) Introducción de la muestra.
- d) Diseño del fundamento del instrumento
- e) Fuentes de plasma alternativas.

3.3.2. *Interferencias no espectroscópicas o efecto de matriz.*

Las otras clases de interferencias que ocurren en el ICP-MS son debidas a la supresión de la señal por la propia matriz. Este grupo de interferencias está dividido en dos categorías: a) alta concentración de sólidos disueltos y b) efectos de supresión y reforzamiento.

a) Alta concentración de sólidos disueltos.

Son las más fáciles de superar, son a menudo llamadas un efecto del transporte de la muestra y es una supresión física de la señal de analito, provocada por el nivel de sólidos disueltos o por la concentración del ácido presente en la muestra.

En el caso de las matrices orgánicas, el efecto es causado por la diferencia de viscosidad de los disolventes al ser aspirados. En el caso de matrices con alto contenido en sólidos disueltos, se pueden generar depósitos sólidos que pueden obstruir el nebulizador o los orificios de la interfase de modo que se produce una disminución en la señal del analito relacionada con una disminución en la entrada de muestra. Aunque las mejoras técnicas realizadas en los equipos de ICP-MS (plasma frío, celda de colisión y otras) han conseguido reducir gran parte de las interferencias espectrales existentes, la supresión de la señal ocasionada por la matriz de la muestra debe ser corregida mediante la utilización de patrones internos. (Jarvis KE, et al. 1992; Thomas R, 2008)

b) Efectos de supresión y reforzamiento.

Es bien conocido que la naturaleza y concentración de la matriz de la muestra tiene una influencia directa en la supresión o reforzamiento de las señales analíticas.

Elementos como Na, K, Cs, Mg y Ca han mostrado aumentar la señal del analito para varios elementos monitoreados en todo el rango de masas, mientras que

otros tales como B y Al causan supresión de la señal. Algunos de estos elementos que inducen una señal de supresión o reforzamiento son generalmente hallados en estudios realizados por las ciencias de la alimentación donde, por ejemplo, cantidades significativas de Ca, Na, K pueden estar presentes en las muestras de análisis y provocar un aumento en la señal del analito. La técnica ICP-MS parece ser más susceptible a los efectos de supresión que la técnica ICP-AES pero estos efectos podrían ser compensados usando dilución isotópica estable o estandarización interna.

Prohaska *et al.* usando ICP-SFMS determinó exitosamente 16 elementos traza en la leche humana y fórmula infantil. Su artículo es un buen ejemplo de cómo evaluar adecuadamente los sistemas de nebulización y estándares internos para minimizar el impacto de las interferencias espectrales y no espectrales. (Thomas R, 2008).

3.4 Estándar Interno.

El uso del estándar interno es un medio sumamente eficaz de compensar la alteración instrumental y/o deriva de señal y efectos de matriz.

Una cuidadosa selección del estándar interno es útil para disminuir la presencia de interferencias de matriz y la deriva instrumental. Los siguientes criterios se utilizan para la selección de los estándares internos:

El estándar interno debe ser estrechamente parecido al elemento analito en términos de número de masa y potencial de ionización, por lo que las posibles interferencias no alteran la relación entre las señales del analito y el estándar interno usados en las determinaciones.

Debe de estar ausente en la muestra.

La matriz de la muestra o los elementos analitos no deben interferir espectralmente con el estándar interno.

No debe interferir espectralmente con las masas del analito.

No deben ser elementos que se consideren contaminantes ambientales. (Thomas R, 2004)

El estándar interno se debe adicionar a las muestras, estándares de calibración y blancos en la misma concentración. (Ataro A, et al. 2008)

Generalmente la selección de la concentración del estándar interno se realiza con el fin de que la respuesta analítica sea similar a la correspondiente al analito. (Cuadros-R L. et al. 2001)

Capítulo IV.

METODOLOGÍA.

4.1 Zona de estudio.

En el presente estudio el muestreo se llevó a cabo en dos zonas distintas y en cada una se tomaron criterios para la selección de las muestras, en seguida se detalla la ubicación de cada zona.

4.1.1 Golfo de México.

La zona de estudio se encuentra ubicada en las costas de Tamaulipas y de Veracruz, la figura 4-1 muestra los puntos de muestreo.

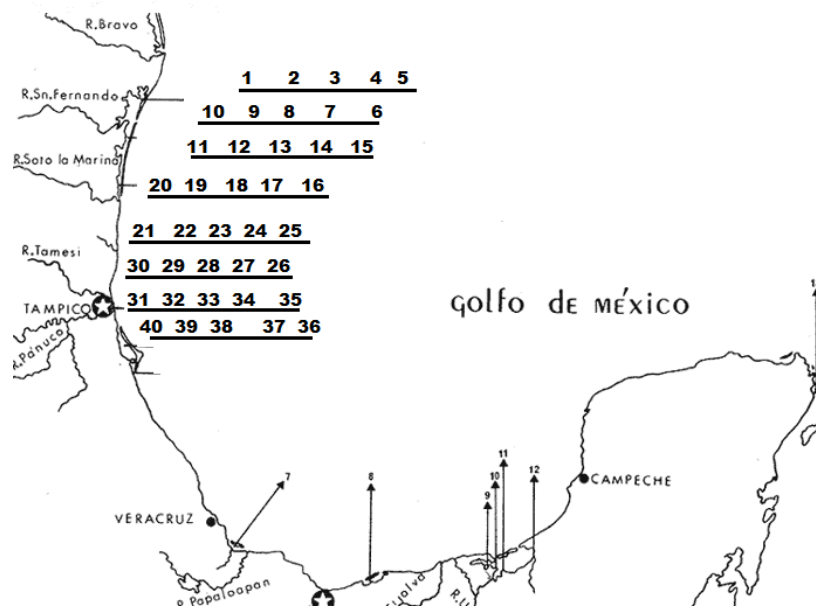


Figura 4-1. Mapa del Golfo de México.

4.1.2 Mercado de la Nueva Viga.

El mercado de la Nueva Viga se ubica en la central de abastos de la Delegación Iztapalapa, entre las coordenadas 19°22'11"N 99°5 '51"W. La figura 4-2 muestra un mapa del mercado.



Figura 4-2. Mapa del mercado de la Nueva Viga.

4.2 Muestreo.

Se realizaron dos muestreos, el primero en el Golfo de México por el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL) y el segundo fue un muestreo estratificado en el mercado de la Nueva viga.

Del muestreo realizado en el Golfo de México, por el ICMyL, se analizaron 5 especies de pescados y 4 de crustáceos, de ellas se obtuvieron diversos tejidos. Del muestreo estratificado realizado en el mercado de la Nueva Viga, se analizaron 2 especies de pescados. A todas las muestras se les determinó el contenido de cadmio y vanadio presente.

4.2.1 Muestreo estratificado.

El muestreo estratificado se caracteriza por usar información auxiliar que permite agrupar a los elementos que componen la muestra en estratos diferenciados. Los elementos que componen un estrato son parecidos dentro del estrato y los estratos son agrupaciones distintas entre sí.

Cabe destacar que cada estrato es una agrupación independiente de las demás, lo cual permite inferir los resultados a la población origen de cada estrato en forma autónoma. Considerando todos los estratos en forma conjunta se infiere a la población origen de la muestra.

Conocido el número de estratos es preciso seleccionar una muestra de elementos al interior de cada uno de ellos. Para estos efectos se ejecuta una selección aleatoria simple. Se suele denominar a este procedimiento muestreo aleatorio estratificado. (Vivanco M, 2005)

El diseño del muestreo estratificado fue realizado con la ayuda del Dr. Domingo Alarcón Ortiz, profesor de la Facultad de Química.

4.2.2 Muestreo en el Golfo de México.

Los organismos fueron seleccionados a partir de los muestreos biológicos realizados en la Campaña Oceanográfica MARZEE-1.

MARZEE; Campaña Oceanográfica Marco ambiental de las condiciones oceanográficas en el Sector NW de la Zona Económica Exclusiva en el Golfo de México. Responsable: Dr. Luis Arturo Soto González. Duración: Septiembre de 2010 a Agosto de 2011.

En cada captura se tomó en cuenta a aquellos organismos de importancia ecológica y pesquera en la zona de estudio. Fueron depositados en bolsas de polietileno previamente etiquetadas y almacenadas para su congelación entre -4 y 2°C abordo y durante su traslado a la Cd. de México.

En el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología se disectaron los organismos para obtener sus tejidos.

Las especies recolectadas en el muestreo realizado por el ICMYL, así como el número de muestras proporcionadas, se indican en la tabla 4-1.

Tabla 4-1. Especies recolectadas en el muestreo realizado al Golfo de México.

Punto de muestreo	Número de muestras	Tejido	Especie	Organismo
1	1	Músculo	<i>Prionotus longispinosus</i>	Pescado
	1	Hígado		
1	1	Músculo	<i>Harengula</i>	
	1	Hígado		
1	1	Músculo	<i>Stenotomus caprinus</i>	
2	1	Hígado		
1	1	Músculo	<i>Cyclopsetta chittendeni</i>	
	1	Hígado		

Tabla 4-1 (Continuación)

Punto de muestreo	Número de muestras	Tejido	Especie	Organismo
1	1	Abdomen	<i>Synodus Foetens</i>	Pescado
	1	Músculo		
	1	Hígado		
21	1	Abdomen	<i>Sicyonia sp.</i>	Camarón
1, 21	2	Caparazón		
21	1	Abdomen	<i>Squilla sp.</i>	
1, 11, 12, 21, 32.	5	Abdomen	<i>Farfantepenaeus aztecus</i> (camarón café)	
	5	Caparazón		
1, 2, 11, 21, 22	5	Manto	<i>Loligo sp.</i>	Molusco

4.2.3 Muestreo en el mercado de la Nueva Viga.

Realizado en el DF, los organismos objeto de estudio fueron obtenidos a partir del muestreo estratificado realizado en la zona del mercado de la Nueva Viga, ubicada en la Central de Abastos de la Delegación Iztapalapa. El área de muestreo se dividió en 6 estratos, en cada estrato se tomaron tres muestras de mojarra tilapia y tres muestras de sierra. La selección de estos organismos se debe a la importancia del consumo de estas especies en la población de México.

El mercado de la Nueva Viga es un terreno que consta de un área de 90 000 m² distribuidos en 450 locales, la elección del mismo es debido a que actualmente es el mercado más grande de América Latina dedicado a la compra-venta de pescados y mariscos, en el mismo se comercializan aproximadamente 700 toneladas de producto al día, lo que representa el 65% de la producción nacional de pescado con escama y un 65 % de moluscos y crustáceos, así como otras especies de procedencia extranjera de países como Perú, Tailandia, Nueva Zelanda, China, Argentina, España, Chile, Estados Unidos, Alaska, Canadá, Nicaragua, Ecuador, Costa Rica, Venezuela, Portugal, Filipinas, Noruega e Indonesia.

El 80% de los productos que se importan de esos países pasan por el mercado de La Nueva Viga, volviéndolo uno de los más importantes importadores no sólo de México, sino de América Latina.

4.3 Material, reactivos y equipos utilizados en el análisis.

4.3.1 Material.

Espátula.

Charolas de plástico (4.4 x 5.9 cm)

Embudos de plástico.

Papel filtro Whatman No. 42

Matraces aforados de 10 ml.

Micropipetas (20-200 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL)

Puntas de micropipeta (20-200 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL)

Recipientes de polietileno de varios tamaños para las soluciones preparadas

4.3.2 Lavado de material.

Todo el material de vidrio empleado es de clase A y debe someterse al siguiente proceso de lavado:

El material se enjuaga con abundante agua potable y se coloca en una solución de detergente Hyclin-plus (detergente neutro y libre de fosfatos 15% v/v, líquido o polvo, o en algún otro detergente de la misma naturaleza o características) y se deja reposar durante 8 horas aproximadamente.

Se saca de la solución y se enjuaga con abundante agua potable, para remover los residuos del detergente.

Posteriormente se introduce a un baño de HNO₃ 30% v/v (HNO₃ grado R.A) durante 8 horas más aproximadamente.

Al final se saca del baño y se realiza un último enjuague con agua desionizada 10 veces seguidas y se deja secar a temperatura ambiente.

4.3.3 *Reactivos.*

HNO₃, J.T. Baker Ultrex.

H₂O₂ 30%, J.T. Baker Ultrex.

Smart Tune Solution for Standard ELANs/DRC-e. Matriz: 1% HNO₃. Elementos que contiene: 10µg/L de Ba, Be, Ce, Co, In, Pb, Mg, Rh y U. (Solución Daily).

Solución estándar certificada de Cd, High Purity Standards (1000 µg/mL, 2% HNO₃)

Solución estándar certificada de V, High Purity Standards (1000 µg/mL, 2% HNO₃)

Solución estándar certificada de In, High Purity Standards (1000 µg/mL, 2% HNO₃)

Solución estándar certificada de Y, High Purity Standards (1000 µg/mL, 2% HNO₃)

Solución estándar certificada de Ge, High Purity Standards (1000 µg/mL, 2% HNO₃)

Agua desionizada (calidad grado 18MΩ)

Todas las soluciones estándar y el H₂O₂ 30% deben mantenerse en refrigeración.

MRC DORM-2 (Músculo de cazón), National Research Council Canada.

MRC TORT-2 (Hepatopáncreas de Langosta), National Research Council Canada.

4.3.4 Equipos utilizados.

Balanza analítica Sartorius Basic BP 2215.

Equipo desionizador Barnstead subron corporation.

Horno de microondas Milestone MLS 1200 mega.

Se empleó un espectrómetro ICP-MS Perkin-Elmer Elan DRC-e (ubicación: Laboratorio de Espectroscopía Atómica, DEPg., F.Q., U.N.A.M., México, D.F.). En la figura 4-3 se muestra el equipo.



Figura 4-3. Espectrómetro ICP-MS Perkin-Elmer Elan DRC-e.

4.4 Procedimiento.

4.4.1 Tratamiento físico de la muestra.

Una vez obtenido el tejido a analizar (músculo, abdomen, caparazón, etc.) se coloca en una caja de Petri o vidrio de reloj, previamente etiquetada y se deseca en una estufa a 60°C durante 72 h. (Özden Ö, 2010)

Transcurridas las 72 h el tejido se pesa en una balanza analítica hasta obtener peso constante. Con la ayuda de un mortero se homogeneizan las muestras secas y se colocan en bolsas de polietileno previamente etiquetadas, después se almacenan en un desecador para luego ser analizadas químicamente.

4.4.2 Tratamiento químico de la muestra y del MRC.

La digestión por microondas se basa en la interacción directa de la radiación electromagnética con los disolventes empleados en la muestra en un sistema cerrado. El horno de microondas utiliza una frecuencia de 2450 MHz, lo que permite la penetración de la energía en la muestra y ocasiona que las moléculas giren y choquen entre sí; se produce el calentamiento del líquido y éste a su vez realiza el ataque al material orgánico en un tiempo menor al requerido por los métodos de digestión tradicionales. La tecnología por microondas se ha aplicado a diversos materiales geológicos, metalúrgicos, botánicos y más recientemente a los alimentos. (Garcia-Rico L, et al. 1996)

La metodología empleada consistió en los siguientes pasos:

- Pesar aproximadamente 1.0 g de muestra.
- Registrar el peso exacto.
- Transvasar a los vasos de digestión del microondas.
- Agregar 4mL de HNO₃ (conc) ULTREX II y 1mL de H₂O₂ (30%) ULTREX II.
- Preparar los blancos de muestra adicionando a los vasos de digestión una mezcla de 4mL de HNO₃ (conc) ULTREX II y 1mL de H₂O₂ (30%) ULTREX II.

- Por último cerrar los vasos de digestión herméticamente, colocarlos en el horno de microondas Milestone (Modelo MLS 1200 mega) y aplicar las 5 etapas de digestión mostradas en la tabla 4-2.

Tabla 4-2. Programa utilizado para la digestión de MRC y muestras (Amlund H, et al. 2006).

Etapas	Potencia (W)	Tiempo (min)
1	250	1
2	0	2
3	250	5
4	400	5
5	600	5

Las soluciones resultantes se transfirieren a matraces volumétricos de 10 mL y se aforan con agua desionizada, posteriormente se transvasan a recipientes de polietileno para su preservación en refrigeración y posterior análisis por ICP-MS.

4.4.3 Diluciones gravimétricas.

Las diluciones se preparan por gravimetría, ya que es un procedimiento más exacto. La concentración del estándar interno, en diluciones como en curvas de calibración, debe permanecer constante con un valor de 15µg/L.

Se realizan las diluciones gravimétricas 1:2 y 1:10, a blancos reactivos y a muestras, para minimizar efectos de la matriz y para que las concentraciones estimadas se encuentren dentro del intervalo lineal de trabajo. De acuerdo a como se muestra en la tabla 4-3.

Tabla 4-3. Diluciones gravimétricas efectuadas.

Dilución	Muestra (g)	Estándar Interno (g) 15µg/L	Agua (g)	Total
1:2	3	0.45	2.55	6 g
1:10	1	0.75	8.25	10 g

4.4.4 Curva de calibración.

La curva de calibración comprende un intervalo de 1-300 µg/L (ppb).

Utilizando para su preparación una solución stock de estándar interno de concentración 0.2 mg/L, empleando para su preparación las soluciones estándar de Ge, Y e In. En cada punto de la curva se debe mantener constante una concentración de 15 µg/L de EI,

Para obtener las diferentes concentraciones del analito se utilizó una solución multielemental de concentración 0.2 mg/L y 10mg/L. preparada a partir de las soluciones estándar de Cd y V. Los puntos de la curva de calibración utilizados son los mostrados en la tabla 4-4.

Tabla 4-4. Puntos de la curva de calibración.

Punto.	Concentración ($\mu\text{g/L}$).
1	0
2	1
3	5
4	10
5	20
6	30
7	40
8	50
9	75
10	100
11	120
12	140
13	160
14	180
15	200
16	225
17	250
18	275
19	300

4.4.5 *Introducción de las muestras al equipo.*

Teniendo todo listo (programación del equipo y dilución de blancos, MRC y muestras) se procedió a la introducción de las muestras al equipo, para ello se efectuó en el siguiente orden, primero se introducen las muestras más diluidas y después las más concentradas con la finalidad de disminuir el efecto memoria.

- Blancos de MRC (1:10)
- MRC (1:10)
- Blancos de muestras (1:10)
- Muestras (1:10)
- Blancos de MRC (1:2)
- MRC (1:2)
- Blancos de muestra (1:2)
- Muestras (1:2)

4.4.6 Diagrama de la metodología empleada.

Las figuras 4-4 y 4-5 muestran un resumen de la metodología aplicada a las muestras procedentes del Golfo de México y del mercado de la Nueva Viga.

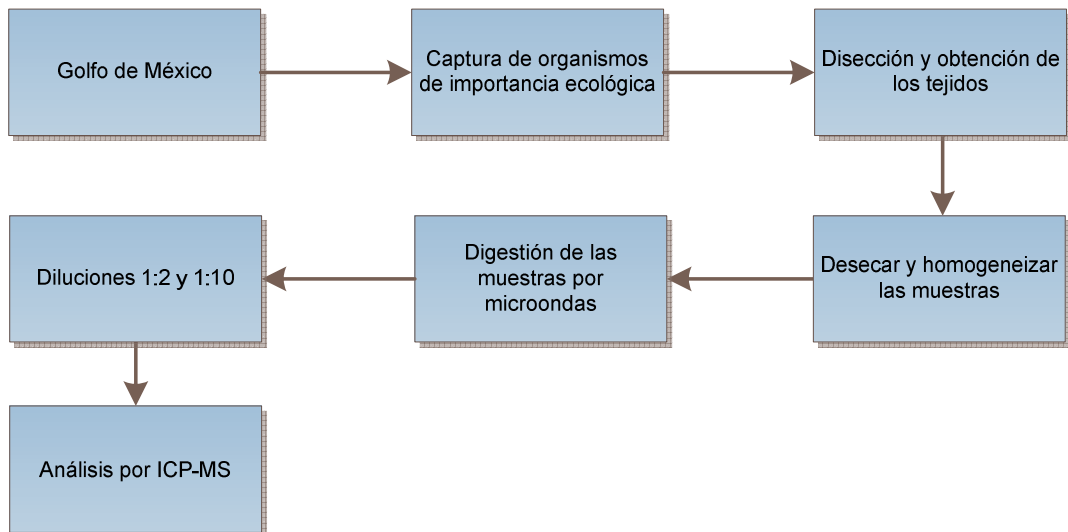


Figura 4-4. Metodología aplicada a las muestras del Golfo de México.

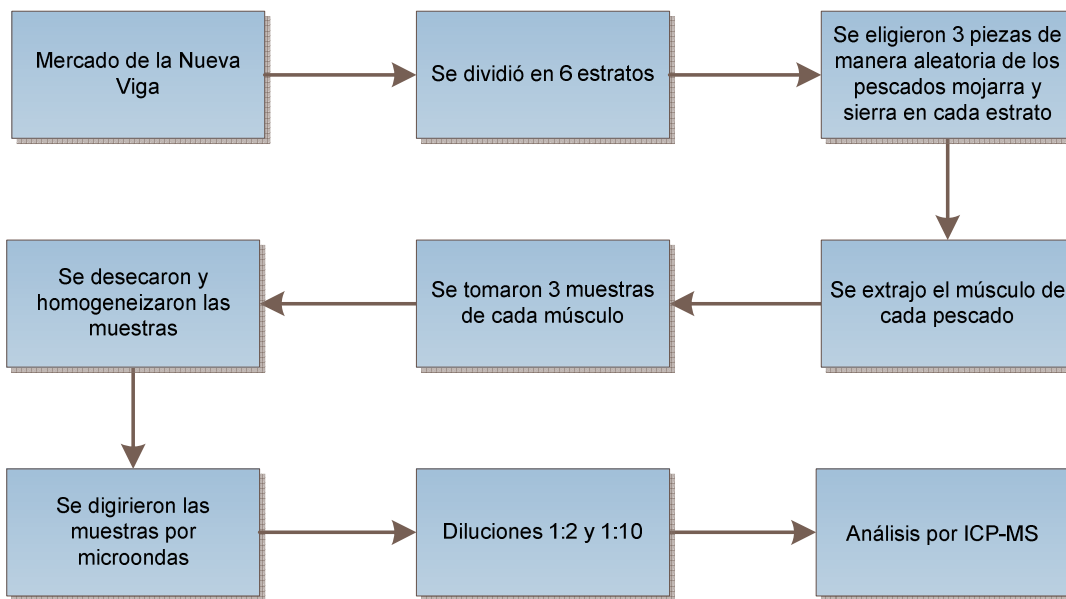


Figura 4-5. Metodología aplicada a las muestras del mercado de la Nueva Vega.

4.5 Condiciones analíticas e instrumentales empleadas.

4.5.1 Condiciones analíticas.

a) Minimización de las interferencias poliatómicas e isobáricas presentes en los isótopos analizados.

Las interferencias poliatómicas e isobáricas presentes en los isótopos de cadmio y vanadio se encuentran en las tablas 4-5 y 4-6. La minimización de las interferencias isobáricas se logró con la utilización de las ecuaciones de corrección mostradas en las tablas 4-7 y 4-8

Tabla 4-5. Interferencias presentes en los isótopos de cadmio. (Chang C-C, et al. 2003; Lacan F, et al. 2006)

Isótopo	Abundancia (%)	Interferencias poliatómicas	Abundancia de interferencia (%)	Interferencias isobáricas	Abundancia de interferencia (%)
¹¹⁰ Cd	12.5	⁹⁴ MoO	9.3	Pd	11.72
		⁹⁴ ZrO	17.4		
¹¹¹ Cd	12.8	⁹⁵ MoO	15.9		
		⁹⁴ MoO	9.3		
		⁹⁴ ZrO	17.4		
¹¹² Cd	24	⁹⁶ MoO	16.7	Sn	0.97
		⁹⁶ ZrO	2.8		
		⁹⁵ Mo(OH)	15.9		
¹¹³ Cd	12.3	⁹⁷ MoO	9.6	In	4.3
		⁹⁶ Mo(OH)	16.7		
		⁹⁶ Zr(OH)	2.8		
²¹¹⁴ Cd	28.8	⁹⁸ MoO	24.1	Sn	0.65
		⁹⁷ Mo(OH)	9.6		
¹¹⁶ Cd	7.6	¹⁰⁰ MoO	9.6	Sn	14.5

Como se puede apreciar en la tabla anterior todos los isótopos de cadmio son interferidos por óxidos de Mo y Zr. Las interferencias isobáricas que presentan los isótopos de cadmio, excepto el ¹¹¹Cd, son producidas por estaño (Sn), indio (In) y paladio (Pd). Aunque pueden utilizarse ecuaciones isobáricas para corregir estas interferencias, también dan lugar a una mayor incertidumbre sobre la señal neta, ya que los isótopos utilizados en las correcciones isobáricas también pueden ser objeto de interferencias. (Chang C-C, et al. 2003; Lacan F, et al. 2006)

Tabla 4-6. Inferencias presentes en los isótopos de vanadio. (Chrastný V, et al. 2006; May TW, et al.1998)

Isótopo	Abundancia (%)	Isótopo interferente
^{50}V	0.24	$^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$, $^{35}\text{Cl}^{15}\text{N}^+$, $^{36}\text{S}^{14}\text{N}^+$, $^{32}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{33}\text{S}^{17}\text{O}^+$
^{51}V	99.76	$^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+\text{H}^+$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{13}\text{C}^+$, $^{36}\text{Ar}^{15}\text{N}^+$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^+\text{H}^+$, $^{37}\text{Cl}^{14}\text{N}^+$, $^{36}\text{S}^{15}\text{N}^+$, $^{33}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{34}\text{S}^{17}\text{O}^+$.

En las tablas 4-7 y 4-8 se presentan las ecuaciones de corrección isobárica utilizadas para cada isótopo de cadmio y vanadio, algunas ecuaciones son tomadas de la literatura mientras que otras fueron proporcionadas por el equipo.

Tabla 4-7. Ecuaciones de corrección isobárica para los isótopos de cadmio (Tirez K, et al. 2001)

Isótopo	Isótopo interferente	Ecuación de corrección isobárica
^{110}Cd	^{110}Pd	$^{110}\text{Cd}-(0.54485*^{105}\text{Pd})$
^{111}Cd	---	
^{112}Cd	^{112}Sn	$^{112}\text{Cd}-(0.04003*^{118}\text{Sn})$
^{113}Cd	^{113}In	$^{113}\text{Cd}-(0.04493*^{115}\text{Sn})$
^{114}Cd	^{114}Sn	$^{114}\text{Cd}-(0.02686*^{118}\text{Sn})$
^{116}Cd	^{116}Sn	$^{116}\text{Cd}-(0.59967*^{118}\text{Sn})$

Tabla 4-8. Ecuación de corrección isobárica para el isótopo ^{51}V (Nardi EP, et al. 2009)

Isótopo	Ecuación de corrección isobárica
^{51}V	$^{51}\text{V}-(0.001*^{35}\text{Cl})$

b) Elección del estándar interno e isótopo analito.

La selección del isótopo analito está basada en la abundancia de los mismos, así como también en la abundancia de las interferencias presentes.

La elección del estándar interno se realizó cuidadosamente tomando en consideración todas las características mencionadas en el capítulo 3 (sección 3.4). Con la información proporcionada en la tabla 4-9 (energías de ionización y peso atómico) podemos observar que los isótopos seleccionados como posibles estándares internos (Ge, Y e In) son parecidos al elemento analito (Cd, V), en términos de número de masa y/o potenciales de ionización.

Los elementos seleccionados como estándar interno no se encuentran presentes en la matriz de la muestra, por lo cual no hay interferencias espectrales entre los elementos analitos y el estándar interno. Se considera que el estándar interno no es un posible contaminante. Por lo consiguiente se espera que tengan un comportamiento muy similar al elemento analito y logren disminuir de manera efectiva los efectos producidos por la deriva instrumental. La tabla número 4-10 muestra la relación de los isótopos analito y estándar interno que fueron seleccionados y posteriormente estudiados.

Tabla 4-9. Energías de ionización de los elementos (Cd, V, Ge, Y e In). (WebElements, 1993)

Elemento	1ra Energía de ionización (kJ/mol)	Peso atómico (uma)
Cd	867.8	112.41
V	650.9	50.96
Ge	762	72.64
Y	600	88.91
In	558.3	114.82

Tabla 4-10. Isótopos analito e isótopos estándar interno utilizados.

Isótopo analito	Isótopo estándar interno
^{111}Cd	^{74}Ge
	^{89}Y
	^{115}In
^{112}Cd	^{74}Ge
	^{89}Y
	^{115}In
^{113}Cd	^{74}Ge
	^{89}Y
	^{115}In
^{114}Cd	^{74}Ge
	^{89}Y
	^{115}In
^{51}V	^{72}Ge
	^{74}Ge
	^{89}Y

4.5.2 Condiciones instrumentales empleadas.

Se utilizó un espectrómetro ICP-MS Perkin-Elmer Elan DRC-e equipado con una bomba peristáltica como dispositivo de aspiración de la muestra.

Después de que el plasma se enciende la estabilización de la temperatura requiere aproximadamente 20 minutos, después de los cuales se introduce la solución Smart Tune (la cual contiene 10 $\mu\text{g/L}$ de Ba, Be, Ce, Co, In, Pb, Mg, Rh y U) para obtener un informe de los niveles de ruido de fondo, cargas dobles y óxidos. Para asegurar que las interferencias por la formación de cargas dobles y de óxidos no interfieran en el análisis la relación de las mismas debe ser <0.030 o 3% y se establecen mediante las siguientes relaciones Ba^{++}/Ba y CeO/Ce , para cargas dobles y óxidos respectivamente. En el anexo II se muestra un informe del equipo.

Los parámetros instrumentales empleados en todos los análisis se indican en la tabla 4-11.

Tabla 4-11. Condiciones de operación empleados.

Parámetro	Valor empleado
Nebulizador	Flujo cruzado con cámara de nebulización tipo Scott.
Potencia del generador de RF (W)	1100
Flujo del gas plasmógeno (Lmin ⁻¹)	13.5
Flujo del gas auxiliar (Lmin ⁻¹)	1.2
Flujo del gas nebulizador (Lmin ⁻¹)	0.8
Voltaje de Lentes iónicas (V)	6.0
Diámetro de la apertura del cono de muestreo (mm)	1.1
Diámetro de la apertura del cono discriminador (mm)	0.9
Material de los conos	Níquel
Réplicas	3
Isótopos analizados.	¹¹¹ Cd, ¹¹² Cd, ¹¹³ Cd, ¹¹⁴ Cd, ⁵¹ V, ¹¹⁵ In, ⁸⁹ Y y ⁷² Ge.
Ecuaciones de corrección	$V = {}^{51}\text{V} - (0.001 * {}^{35}\text{Cl})$ $\text{Cd} = {}^{112}\text{Cd} - (0.04003 * {}^{118}\text{Sn})$ $\text{Cd} = {}^{113}\text{Cd} - (0.04493 * {}^{115}\text{Sn})$ $\text{Cd} = {}^{114}\text{Cd} - (0.0268 * {}^{118}\text{Sn})$

Capítulo V.

RESULTADOS.

5.1 *Parámetros de desempeño analítico.*

5.1.1 *Límite de detección instrumental.*

Se prepararon 10 blancos de muestra como se indica en el punto 4.4.2, después se efectuaron las diluciones gravimétricas señaladas en el punto 4.4.3, posteriormente se midieron una vez cada uno y los valores de los blancos de muestra obtenidos se utilizaron en la ecuación 1.1, utilizando $k=3$. Los límites de detección instrumental para cadmio y vanadio se muestran en la tabla 5-1.

Tabla 5.1. Límites de detección instrumental para Cd y V.

Metal	LoDI ($\mu\text{g/L}$)
Cd	1.58
V	0.97

5.1.2 *Límite de cuantificación instrumental.*

Para obtener el límite de cuantificación instrumental realizamos una evaluación equivalente a la efectuada en el LoDI y en la ecuación 1.1 utilizamos $k=10$. Los resultados de esta evaluación se muestran en la tabla 5.2.

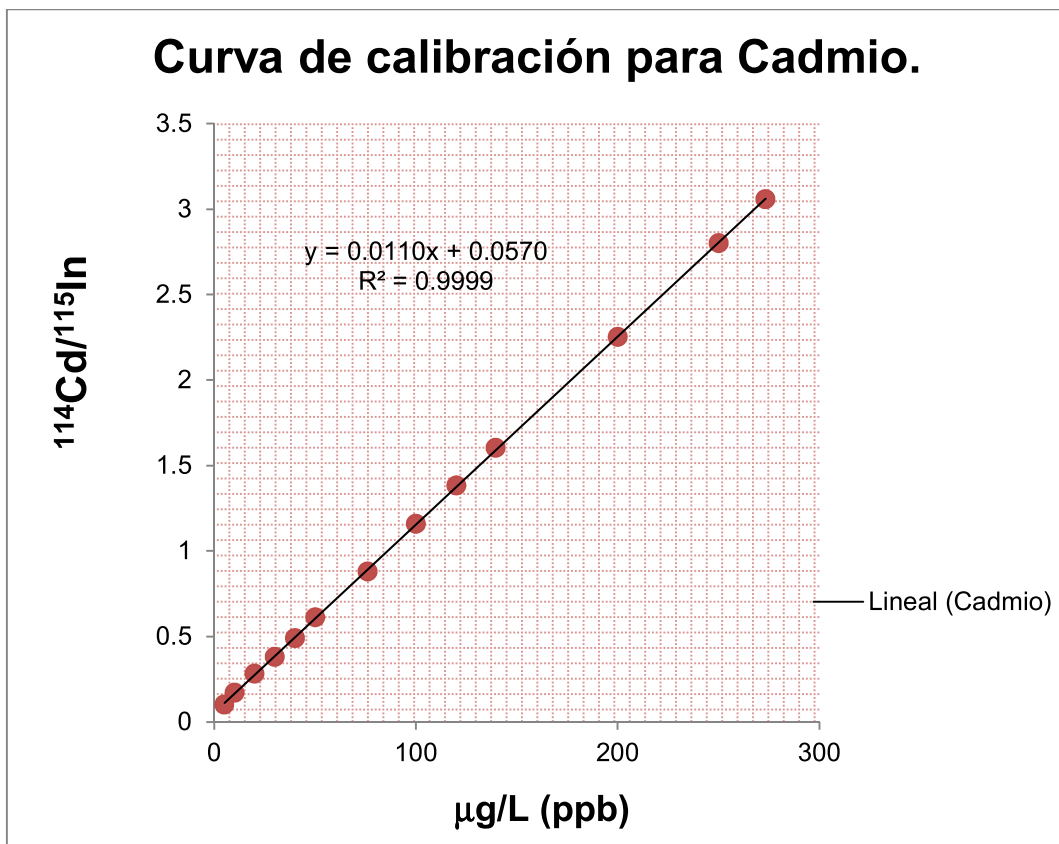
Tabla 5.2. Límites de cuantificación instrumental para Cd y V.

Metal	LoQI ($\mu\text{g/L}$)
Cd	2.87
V	1.57

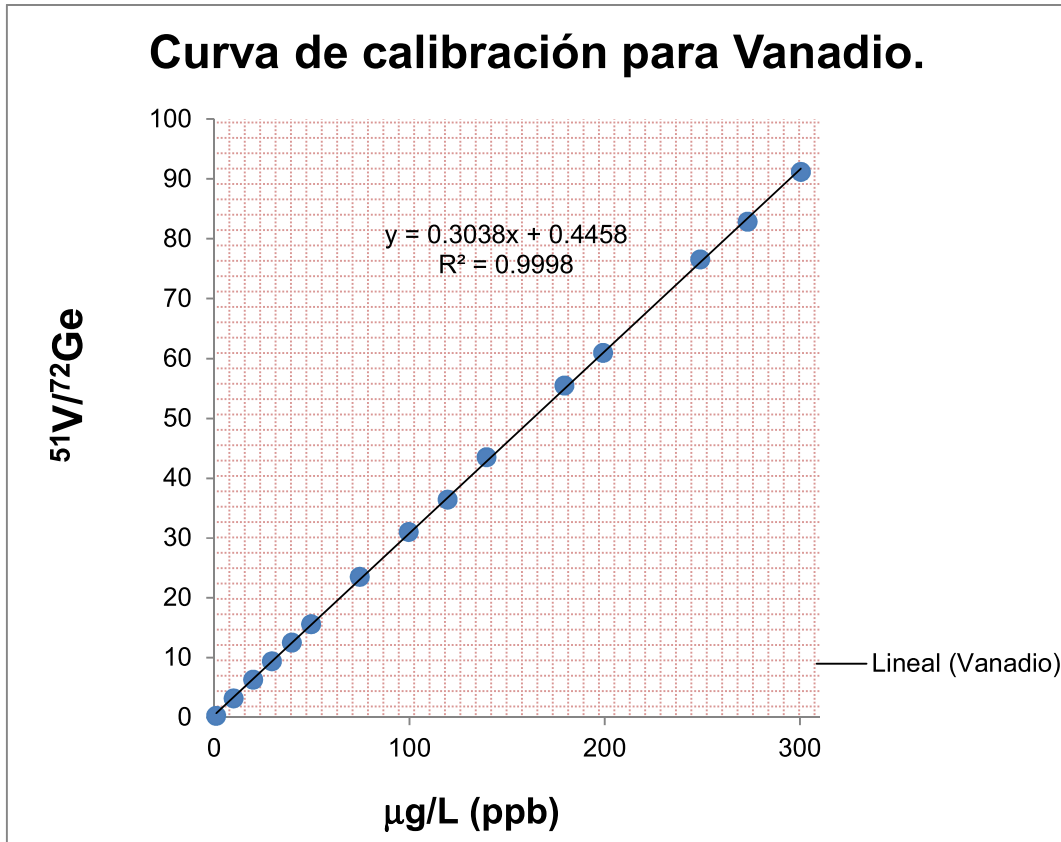
5.1.3 Intervalo lineal y de trabajo.

Con el fin de determinar el intervalo lineal se realiza un gráfico de respuesta contra concentración (curva de calibración). Las gráficas 5-1 y 5-2 muestran las curvas de calibración para Cd y V.

Gráfica 5-1. Curva de calibración para Cd.



Gráfica 5-2. Curva de calibración para Vanadio.



El extremo inferior de los intervalos lineal y de trabajo, queda establecido como el LoQI (EURACHEM, 2005). Para determinar el extremo superior del intervalo lineal se toma en consideración que éste abarca todo el rango que presenta un comportamiento lineal, para hacer esto puede ser suficiente una inspección visual de la lineal y un análisis de residuales. Mientras que para establecer el límite superior del intervalo de trabajo recordamos que este queda definido por las muestras y el Material de Referencia Certificado. En la tabla 5-3 se muestran los valores de cada intervalo para cadmio y vanadio.

Tabla 5-3. Intervalos lineal y de trabajo para Cd y V.

Intervalo	Cadmio	Vanadio
Lineal (µg/L)	2.87-273.3	1.57-300.5
Trabajo (µg/L)	2.87-120	1.57-80

5.1.4 Exactitud y precisión.

La exactitud (%E) y precisión (%RDS) del método se evaluó analizando el material de referencia certificado DORM-2 y TORT-2.

El análisis realizado al material de referencia certificado consistió en determinar las concentraciones de Cd y V obtenidas en cada una de las combinaciones existentes entre el isótopo analito y el isótopo estándar interno, las cuales fueron establecidas en la tabla 4-10.

Posteriormente, se evalúan las concentraciones experimentales, así como también los valores de %RSD y %E obtenidos en cada material de referencia. Se seleccionan como isótopos estándar interno y analito a aquellos que posean valores de %RSD menores a 20% y %E<20%. Otro criterio para la aceptación de métodos analíticos sugiere que la suma de ambos errores no debe ser superior a 30% y que si este valor supera el 50% se rechaza el método. (DeSilva B, et al. 2003; Comisión Europea, 2009; McFarren EF. et al. 1970).

La tabla 5-4 muestra las concentraciones experimentales de vanadio y cadmio, obtenidas en el material de referencia certificado (TORT-2 y DORM-2) junto con su exactitud (%E) y precisión (%RSD) usando los isótopos analito y estándar interno seleccionados. Utilizando 3 réplicas (n=3) para DORM-2 y 8 réplicas (n=8) para TORT-2.

Tabla 5-4. Concentraciones de Cd y V en el MRC.

MRC	Isótopo analito	Isótopo Estándar interno	Concentración teórica	Concentración experimental	% Error relativo (exactitud)	%RSD (precisión)	n
DORM-2	¹¹⁴ Cd	¹¹⁵ In	0.043 ± 0.008	0.035 ± 0.004	-17.9	11.6	3
TORT-2	¹¹⁴ Cd	¹¹⁵ In	26.7 ± 0.6	28.8 ± 0.71	7.8	2.5	8
DORM-2	⁵¹ V	⁷² Ge	No reportado	0.1354 ± 0.002		1.5	3
TORT-2	⁵¹ V	⁷² Ge	1.64 ± 0.19	1.46 ± 0.04	-10.7	2.9	8

5.2 Aplicación de la metodología desarrollada a muestras procedentes del Golfo de México y del mercado de la Nueva Viga.

Después de haber desarrollado la metodología se procede a aplicarla en muestras reales procedentes del Golfo de México y del mercado de la Nueva Viga. Los resultados obtenidos en las muestras del Golfo de México se muestran en las tablas 5-5 y 5-6. Los resultados de las muestras del mercado de la Nueva Viga se muestran en la tabla 5-7 y la tabla 5-8 corresponde al resumen de las muestras del mercado de la Nueva Viga. Después de cada tabla se muestra una gráfica con el resumen de las mismas.

Los resultados se obtuvieron en base seca y para poder hacer las comparaciones con las normas internacionales, las cuales se encuentran en base húmeda, fue necesario hacer la conversión de base seca a base húmeda, utilizando para ello el porcentaje de humedad (%H) y la ecuación 5.1. El anexo III se muestra cómo se obtuvo el porcentaje de humedad de las muestras.

$$\text{Concentración en peso húmedo} = \text{Concentración en peso seco} * (1 - \%H) \text{ Ecuación 5.1}$$

Para el caso de las muestras únicas, del Golfo de México, no se presenta un rango de concentración. (Tablas 5-5 y 5-6)

Tabla 5-5. Concentraciones de cadmio encontradas en las muestras del Golfo de México.

n	Especie	Organismo	Tejido	Rango de concentración hallado para Cd (mg/kg) $\bar{x} \pm s$	Promedio de concentración para Cd en peso seco (mg/kg) $\bar{x} \pm s$	Concentración Cd (peso húmedo) (mg/kg)
1	<i>Prionotus longispinosus</i>	Pescado	Músculo		0.025	0.0059
1			Hígado		0.560	0.1334
1	<i>Harengula</i>		Músculo		0.065	0.0154
1			Hígado		1.301	0.3099
1	<i>Stenotomus caprinus</i>		Músculo		0.011	0.0027
1			Hígado		1.147	0.2732
1	<i>Cyclopsetta chittendeni</i>		Músculo		0.091	0.0216
1			Hígado		0.286	0.0680
1	<i>Synodus Foetens</i>		Abdomen		0.072	0.0172
1			Músculo		0.096	0.0228
1			Hígado		0.322	0.0766
1	<i>Sicyonia sp.</i>	Crustáceo	Abdomen		0.083	0.0178
2			Caparazón	[0.165-0.233]	0.168 ± 0.054	0.0360
1	<i>Squilla sp.</i>		Caparazón		0.928	0.1987
5	<i>Farfantepenaeus aztecus</i> (camarón café)		Abdomen	[0.028-0.068]	0.063 ± 0.039	0.0135
5			Caparazón	[0.375-0.855]	0.592 ± 0.233	0.1268
5	<i>Loligo sp.</i>	Molusco	Manto	[0.139-1.154]	0.462 ± 0.347	0.0988

Gráfica 5-3. Concentraciones de cadmio encontradas en las muestras del Golfo de México.

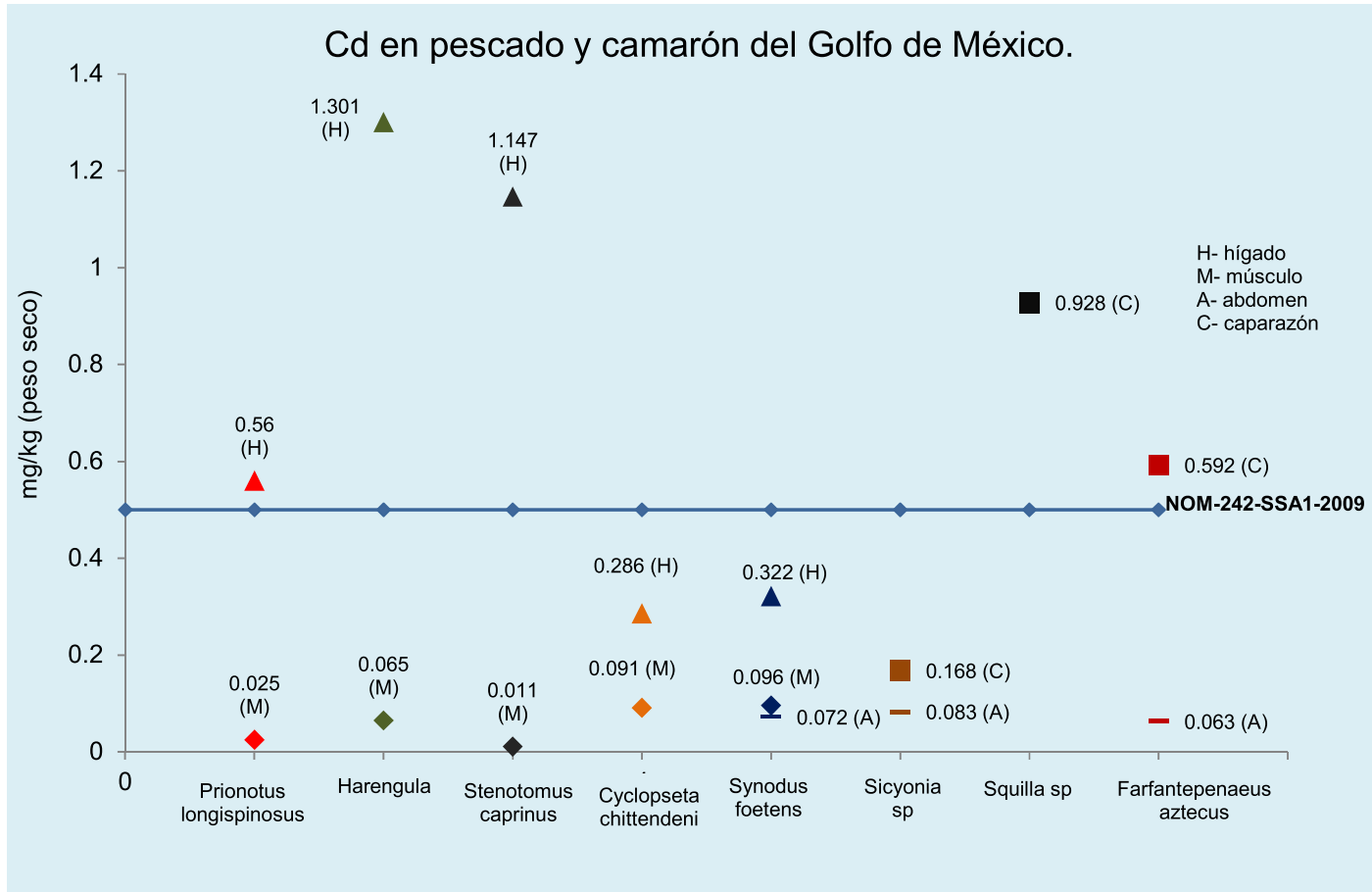


Tabla 5-6. Concentraciones de vanadio encontradas en las muestras del Golfo de México.

n	Especie	Organismo	Tejido	Rango de concentración hallado para V (mg/kg) $\bar{x} \pm s$	Promedio de concentración para V en peso seco (mg/kg) $\bar{x} \pm s$
1	<i>Prionotus longispinosus</i>	Pescado	Músculo		0.130
1			Hígado		0.565
1	<i>Harengula</i>		Músculo		0.355
1			Hígado		1.760
1	<i>Stenotomus caprinus</i>		Músculo		0.101
1			Hígado		1.379
1	<i>Cyclopsetta chittendeni</i>		Músculo		0.061
1			Hígado		1.170
1	<i>Synodus Foetens</i>		Abdomen		0.427
1			Músculo		0.067
1			Hígado		0.072
1	<i>Sicyonia sp.</i>		Crustáceo	Abdomen	
2		Caparazón		[0.148-0.277]	0.222 ± 0.066
1	<i>Squilla sp.</i>	Caparazón			0.406
5	<i>Farfantepenaeus aztecus</i> (camarón café)	Abdomen		[0.266-0.825]	0.379 ± 0.184
5		Caparazón		[0.319-0.740]	0.499 ± 0.146
5	<i>Loligo sp.</i>	Molusco		Manto	[0.125-0.349]

Gráfica 5-4. Concentraciones de vanadio encontradas en las muestras del Golfo de México.



Tabla 5-7. Concentración de Cd y V presente en las muestras del mercado de la Nueva Viga.

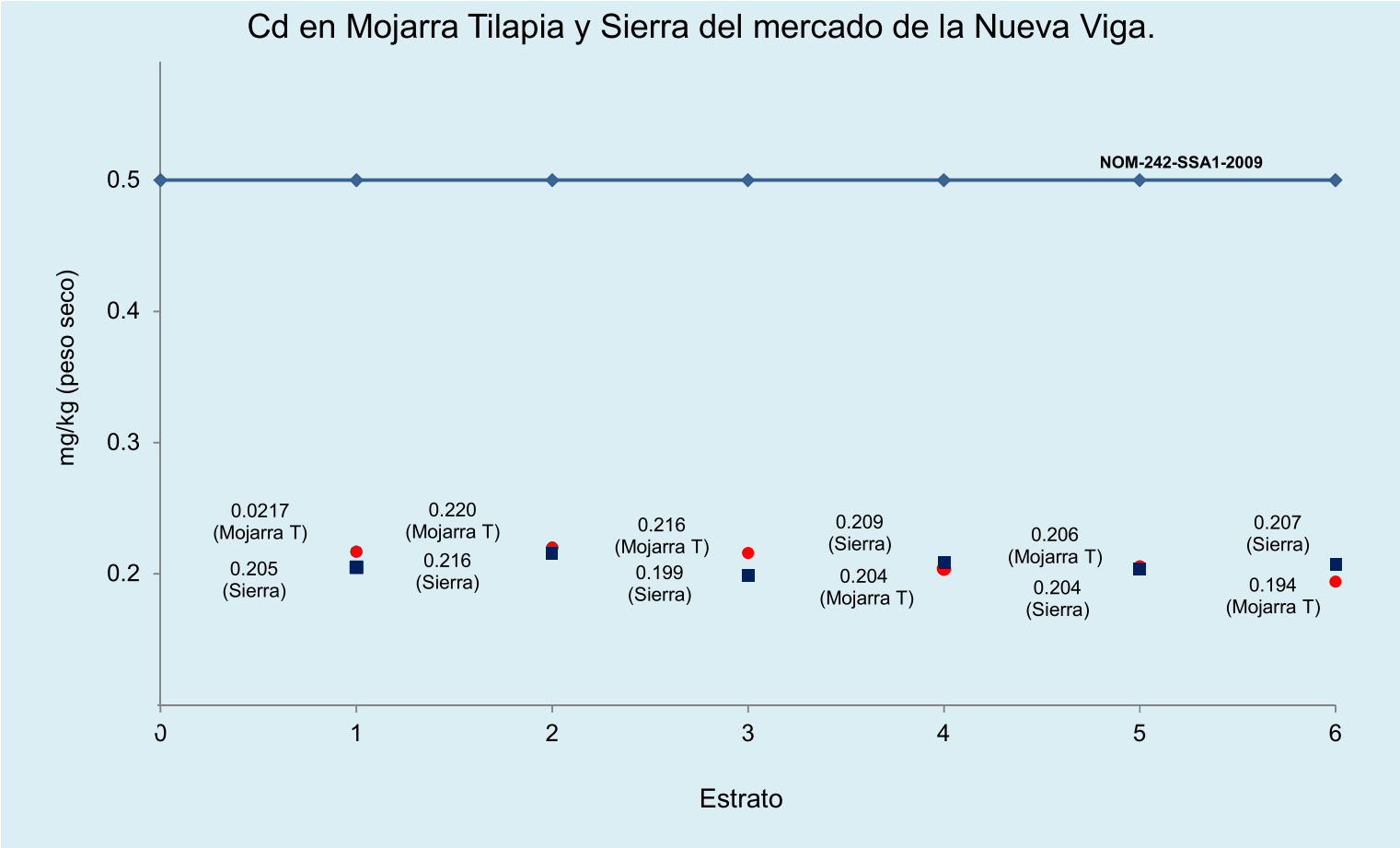
Especie	Organismo	Tejido	Estrato	Concentración Cd peso seco (mg/kg)	Concentración Cd peso húmedo (mg/kg)	Concentración V peso seco (mg/kg)	Concentración V peso húmedo (mg/kg)
Mojarra tilapia	Pescado	Músculo	1	0.217	0.064	0.048	0.014
			2	0.220	0.065	0.045	0.013
			3	0.216	0.063	0.047	0.014
			4	0.204	0.060	0.045	0.013
			5	0.206	0.060	0.043	0.013
			6	0.194	0.057	0.045	0.013
Sierra	Pescado	Músculo	1	0.205	0.044	0.012	0.002
			2	0.216	0.046	0.012	0.003
			3	0.199	0.043	0.010	0.002
			4	0.209	0.045	0.012	0.002
			5	0.204	0.044	0.011	0.002
			6	0.207	0.044	0.012	0.003

Tabla 5-8. Resumen de las muestras del mercado de la Nueva Viga.

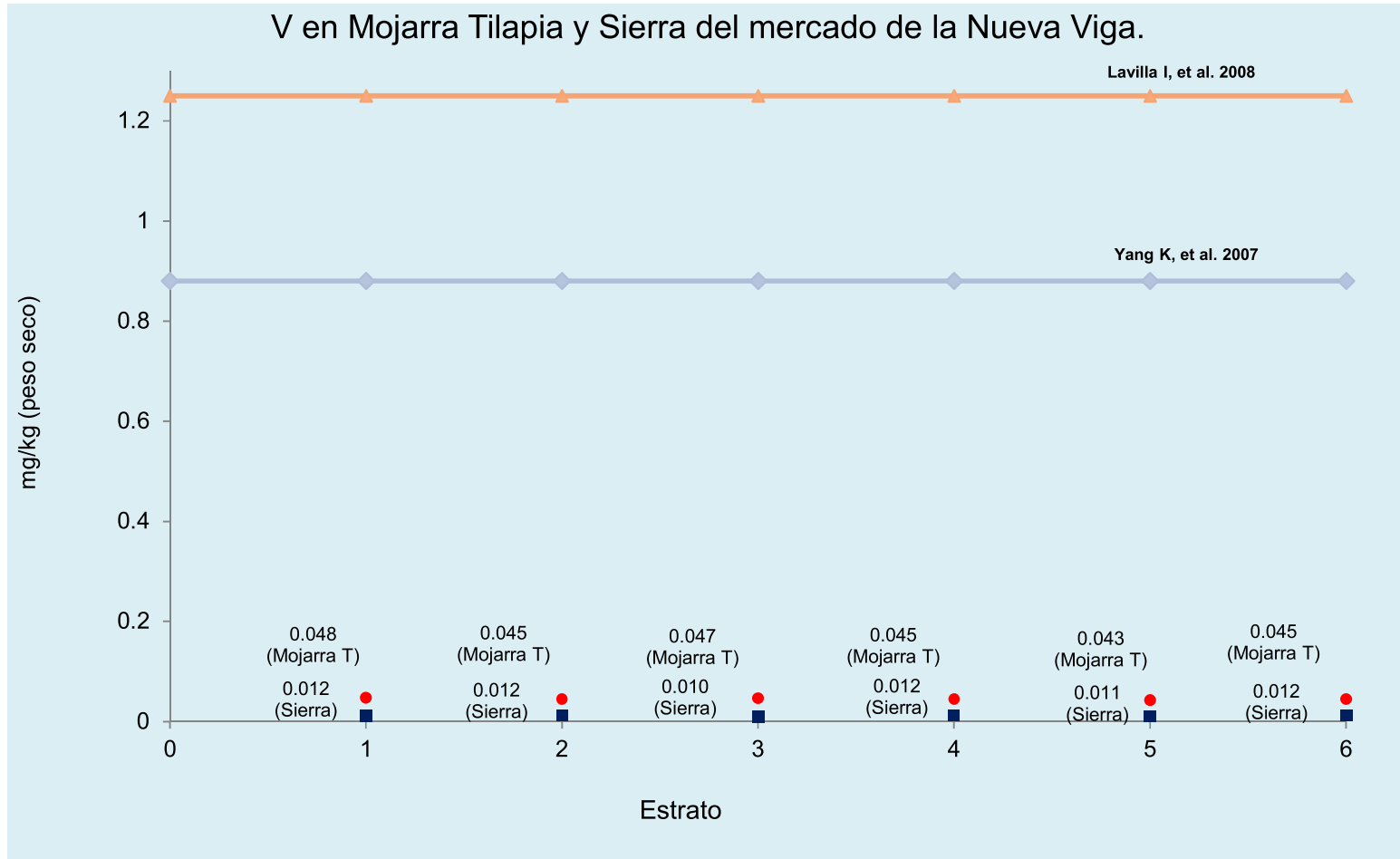
Especie	Organismo	Tejido	Rango de concentración Cd (mg Kg ⁻¹)	Promedio de concentración Cd (mg Kg ⁻¹) $\bar{x} \pm s$	Rango de concentración V (mg Kg ⁻¹)	Promedio de concentración V (mg Kg ⁻¹) $\bar{x} \pm s$
Mojarra tilapia	Pescado	Músculo	0.194-0.220	0.209 ± 0.01	0.043-0.048	0.046 ± 0.002
Sierra			0.199-0.216	0.206 ± 0.01	0.010-0.012	0.011 ± 0.001

Gráfica 5-5. Concentraciones de cadmio encontradas en las muestras del mercado de la Nueva Viga.

70



Gráfica 5-6. Concentraciones de vanadio encontradas en las muestras del mercado de la Nueva Viga.



Capítulo VI.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

De los resultados obtenidos en el capítulo anterior, se desprenden los siguientes comentarios.

La selección de las correctas condiciones analíticas e instrumentales da como resultado la elección de los isótopos analito ^{114}Cd y ^{51}V , con los respectivos estándares internos ^{115}In y ^{72}Ge . Con el fin de minimizar las interferencias isobáricas que presentan los isótopos analito se utilizaron las ecuaciones de corrección isobárica $\text{Cd} = ^{114}\text{Cd} - (0.02686\text{cps} \cdot ^{118}\text{Sn})$ y $\text{V} = ^{51}\text{V} - (0.001\text{cps} \cdot ^{35}\text{Cl})$.

El empleo del material de referencia certificado (TORT-2 y DORM-2) permite obtener valores de precisión y exactitud de la metodología analítica, expresados en términos de % RSD y % de error relativo. En DORM-2 se obtuvo una concentración de cadmio de 0.035 ± 0.004 mg/kg con valores de precisión y exactitud de 11.6 y -17.9, mientras que la concentración obtenida de vanadio fue de 0.1354 ± 0.002 mg/kg, con una precisión de 1.5. Debido a que la concentración de vanadio no se encuentra reportada en el certificado del DORM-2 no se obtuvo % de error relativo.

En TORT-2 la concentración de vanadio obtenida fue de 1.46 ± 0.04 mg/kg con valores de precisión y exactitud de 2.9 y -10.9. La concentración de cadmio obtenida fue de 28.8 ± 0.71 mg/kg con valores de precisión y exactitud de 2.5 y 7.8. Como se puede apreciar la suma de estos errores es menor a 30%, por lo que el método analítico es aceptable (DeSilva B, et al. 2003; Comisión Europea, 2009; McFarren EF. et al. 1970).

Para comparar las concentraciones de Cd y V en las muestras con las normas internacionales debemos recordar que este estudio se realizó sobre base seca y

las normas internacionales se realizaron sobre base húmeda, por lo cual necesitamos transformar los valores de base seca a base húmeda, tomando los porcentajes de humedad para estas muestras.

De acuerdo a los resultados de la tabla 5-5 observamos que en las muestras de pescado del Golfo de México la concentración de Cd presente cubre un intervalo de concentraciones en base seca de 0.011-0.096 mg/kg en músculo, de 0.072 en abdomen (muestra única) y de 0.286-1.301 mg/kg en hígado. Mientras que las concentraciones en base húmeda son 0.003-0.023 mg/kg, 0.017 mg/kg y 0.068-0.310 mg/kg en músculo, abdomen e hígado, respectivamente,

Comparando estos valores con los establecidos en la normatividad nacional e internacional (ver tabla 1.3) observamos que los tejidos de los pescados correspondientes a músculo y abdomen se encuentran debajo de los límites establecidos por la NOM-242-SSA1-2009 (0.5 mg/kg de Cd) en base seca y el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (0.1 mg/kg de Cd) en base húmeda, por lo que su consumo no representan un peligro para la salud humana. Mientras que el tejido correspondiente al hígado de pescado sobrepasa los límites establecidos por dichas normas, debido a que los metales pesados tienden a acumularse en el hígado.

En las muestras de crustáceo analizadas (ver tabla 5-5) la concentración de Cd presente cubre un intervalo de concentraciones en base seca de 0.168-0.928 mg/kg en caparazón y el abdomen del camarón café presenta una concentración promedio de 0.063 mg/kg. Mientras que sus correspondientes concentraciones en base húmeda son 0.036-0.199 mg/kg en caparazón y 0.014 mg/kg en abdomen.

Notamos que la concentración de Cd en los tejidos de crustáceo correspondientes a la especie *Sicyonia* sp y abdomen de camarón café se encuentran dentro de los límites establecidos en la norma NOM-242-SSA1-2009 (0.5 mg/kg de Cd) en base seca y los órganos correspondientes a caparazón de las especies *Squilla* sp y camarón café sobrepasan estos límites. Respecto a los límites establecidos en base húmeda para los crustáceos por el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (0.5

mg/kg de Cd) y para mariscos por las normas FAO/WHO (2.0 mg/kg de Cd), FSANZ (2.0 mg/kg de Cd) y Croatian Regulatory Act (1 mg/kg de Cd) observamos que todas las muestras de crustáceos analizados se encuentran dentro de estos límites establecidos.

La muestra de molusco presenta una concentración de Cd en base seca de 0.462 mg/kg en manto y de 0.099 mg/kg en base húmeda. Con lo cual se evidencia que la muestra de molusco se encuentra dentro de los límites establecidos por la NOM-242-SSA1-2009 (2.0 mg/kg de Cd) y el reglamento (CE) N° 1881/2006 (1.0 mg/kg de Cd) en base húmeda.

En el segundo muestreo, realizado en el mercado de la Nueva Viga (ver tabla 5.7), sólo se analizó el tejido correspondiente al músculo de los pescados mojarra tilapia y sierra, tomando como criterio que estas especies registran mayor demanda de consumo en el DF. El intervalo de concentraciones de Cd en las muestras de mojarra tilapia fue de 0.194-0.220 mg/kg y 0.057-0.065 mg/kg en base seca y húmeda, respectivamente. En las muestras de sierra el intervalo de concentraciones de cadmio fue de 0.199-0.216 mg/kg y 0.043-0.046 mg/kg en base seca y húmeda, respectivamente. Al comparar estos valores con los establecidos en la NOM-242-SSA1-2009 (0.5mg/kg de Cd) y el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (0.1mg/kg de Cd) encontramos que ambas muestras están dentro de los límites establecidos en la norma nacional e internacional.

En el camarón café, ya se había realizado un estudio previo en México (Palomares-García JM, *et al.* 2009) para determinar la concentración de cadmio presente en el músculo y se encontró una concentración de 0.032 ± 0.019 mg/kg que es aproximadamente 2 veces mayor al valor obtenido en este estudio (0.063 ± 0.039). En otro estudio realizado en Venezuela (Boada M, *et al.* 2007) se evaluó el contenido de cadmio en los camarones silvestres *Farfantepenaeus subtilis* y se encontraron los valores de 0.83 mg/kg en músculo y 0.66 mg/kg en cefalotórax. Para la especie *Farfantepenaeus notialis* citan valores de 2.30 mg/kg en músculo y de 0.60 mg/kg en cefalotórax. Como se puede ver, el valor de 0.592 mg/kg de Cd en el caparazón (el cual cubre la cabeza) del camarón café corresponde a una

concentración parecida a la encontrada en los camarones silvestres de Venezuela.

Debido a que para el vanadio aún no existe ninguna regulación nacional o internacional que establezca el límite máximo permisible para el consumo humano, no se puede establecer si estos organismos representan algún peligro para la salud. Sólo se comparan las concentraciones obtenidas con las reportadas en las referencias. El pescado procedente del Golfo de México (Ver tabla 5-6) presenta un intervalo de concentraciones de vanadio de 0.061-0.355 mg/kg en músculo y 0.072-1.76 mg/kg en hígado y 0.427 mg/kg en abdomen. Al compararlo con los valores de la tabla 1-7 observamos que se reportan valores de 0.21-0.88 mg/kg de vanadio (Yang KY, et al. 2007) y 1.25 ± 0.08 mg/kg de vanadio (Lavilla I, et al. 2008) en pescado, los cuales son muy parecidos a los encontrados en este estudio.

El camarón procedente del Golfo de México presenta un intervalo de concentraciones de vanadio en peso seco de 0.379-0.560 mg/kg en abdomen y 0.222-0.499 mg/kg en caparazón y al compararlo con el obtenido por Lavilla I, et al. 2008 (ver tabla 1-7) de 2.14 ± 0.16 mg/kg en peso seco observamos que estas muestras se encuentran debajo de lo reportado en la literatura,

En las muestras procedentes del mercado de la Nueva Viga la concentración promedio de vanadio es de 0.046 ± 0.002 mg/kg en mojarra tilapia y de 0.011 ± 0.001 en sierra, las cuales se encuentran debajo de los valores reportados para pescado en la literatura (ver tabla 1-7)

Capítulo VII.

CONCLUSIONES.

Se desarrolló la metodología analítica para cuantificar Cd y V mediante la técnica Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS).

La minimización de las interferencias isobáricas se realizó mediante el empleo de las ecuaciones de corrección. Mientras que la minimización de las interferencias producidas por la formación de óxidos y especies doblemente cargadas se realizó con la selección de los adecuados parámetros instrumentales, mediante el empleo de la solución Smart Tune, con la cual verificamos que las relaciones CeO/Ce y Ba⁺⁺/Ba fueran menores a 3%.

Se eligieron como isótopos analitos ¹¹⁴Cd y ⁵¹V y como estándar interno ¹¹⁵In y ⁷²Ge, mediante el análisis realizado al MRC y con los criterios de que los valores correspondientes al %RSD (precisión) y %E (exactitud) debían ser <20% y que la suma de ambos <30%, mismos que se cumplieron (ver la tabla 5-4).

Además de determinar los parámetros correspondientes a la exactitud y precisión también se determinó el límite de detección instrumental, límite de cuantificación instrumental, intervalo lineal e intervalo de trabajo para cadmio y vanadio, con lo cual se efectuó una validación parcial. Los valores de las especificaciones de los parámetros del método se encuentran en las tablas 5-1, 5-2, 5-3 y 5-4.

Las muestras analizadas, procedentes del Golfo de México muestran que la cantidad de cadmio presente en ellas no rebasa los límites establecidos en la NOM-242-SSA1-2009 (0.5 mg/kg) y el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (0.1 mg/kg) en cuanto a los tejidos de músculo 0.011-0.096 mg/kg y 0.072 mg/kg en abdomen, por lo cual no representan un peligro para el consumo humano.

Se puede apreciar que las concentraciones más altas de Cd y V en los pescados y crustáceos del Golfo de México se encuentran en el hígado, ya que es el principal órgano de almacenamiento de metales tóxicos.

La concentración promedio de Cd en las especies de pescado mojarra tilapia (0.209 ± 0.01) y sierra (0.206 ± 0.01), procedentes del mercado de la Nueva Viga, que fueron analizadas se encuentran debajo de los límites establecidos por la NOM-242-SSA1-2009 (0.5 mg/kg) y el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (0.1 mg/kg), con lo cual estas especies no representan un peligro para el consumo humano.

Los intervalos de concentración de V encontrados en las especies de pescado (0.061-0.355 mg/kg en músculo y 0.072-1.76 mg/kg en hígado y 0.427 mg/kg en abdomen) y crustáceo (0.379-0.560 mg/kg en abdomen y 0.222-0.499 mg/kg en caparazón) procedentes del Golfo de México, como los pescados sierra (0.011 ± 0.001 mg/kg) y mojarra tilapia (0.046 ± 0.002) procedentes del mercado de la Nueva Viga analizados en este estudio se encuentran debajo de los valores reportados en la literatura internacional. Ver tabla 1-7, donde se reportan valores de vanadio en pescado de 0.21-0.88 mg/kg (Yang KY, et al. 2007) y 1.25 ± 0.08 mg/kg (Lavilla I, et al. 2008).

Capítulo VIII.

REFERENCIAS.

Amlund, H; Francesconi, KA; Bethune, C; Lundebye, AK; Berntssen, MHG. 2006. Accumulation and elimination of dietary arsenobetaine in two species of fish, Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Environmental toxicology and chemistry* 25(7): 1787-94.

Ataro, A; McCrindle, RI; Botha, BM; McCrindle, CME; Ndibewu, PP. 2008. Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry* 111(1): 243-248.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2012. Toxicological profile for Cadmium. U.S. Department of Health and Human Services (en línea). Atlanta. Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/TP.asp?id=48&tid=15>.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2012. Toxicological profile for Vanadium. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta. (en línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=276&tid=50>

Bal, W; Kasprzak, K.S. 2002. Induction of oxidative DNA damage by carcinogenic metals. *Toxicology Letters* 127: 55-62.

Boada, M; Moreno, MA; Gil, H; Marcano J; Maza, J. 2007. Metales pesados (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) en músculo y cefalotórax de camarones silvestres *Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus subtilis*, *F. nortialis* y *F. brasiliensis* de la región oriental de Venezuela. *Revista científica, FCV-LUZ* 17(2): 186-192.

Botello, A; Rendón, J; Gold-Bouchot, G; Agraz Hernández, C. 2005. "Golfo de México: contaminación e impacto ambiental, diagnóstico y tendencias". 2da Edición. México. Editores: Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, INE. Pág. 95.

C.C.M. Ip; X.D. Li; G. Zhang; C.S.C. Wong; W.L. Zhang. 2005. Heavy metal and Pb isotopic compositions of aquatic organisms in the Pearl River Estuary, South China. *Environmental Pollution* 138(3): 494-504.

Chang, C-C; Liu, H-T; Jiang, S-J. 2003. Bandpass reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of silver and cadmium in samples in the presence of excess Zr, Nb and Mo. *Analytica Chimica Acta* 493(2): 213-218.

Chrastný, V; Komárek, M; Mihaljevic, M; Stíhová, J. 2006. Vanadium determination in chloride matrices using ICP-MS: finding the optimum collision/reaction cell parameters for suppressing polyatomic interferences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385(5): 962-970.

Cusi, K; Cukier, S; DeFronzo, RA; Torres, M; Puchulu, FM; Pereira Redondo, JC. 2001. Vanadyl sulfate improves hepatic and muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86(3): 1410-1417.

D'Ilio, S; Petrucci, F; D'Amato, M; Di Gregorio, M; Senofonte, O; Violante, N. 2008. Method validation for determination of arsenic, cadmium, chromium and lead in milk by means of dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 624(1): 59-67.

EFSA (European Food Safety Authority). 2004. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Vanadium. (En línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/33.pdf>

European Commission. 2009. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. (En línea) Consultado el día 28

octubre de 2013. Disponible en:
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf

Fang, J; Liu, L-W; Yan. X-P. 2006. Minimization of mass interferences in quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometric (ICP-MS) determination of palladium using a flow injection on-line displacement solid-phase extraction protocol. *Spectrochimica Acta Part B* 61(7): 864-869.

Garcia-Rico, L; Jara-Marini, ME. 1996. Aplicación de microondas en la digestión de hígado de bovino para la cuantificación de metales pesados. *Revista internacional de contaminación ambiental* 12(1): 41-44.

Godt, J; Scheidig, F; Grosse-Siestrup, C; Esche, V; Brandenburg, P; Reich, A; Groneberg, D. 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* sep 2006: 1-22.

Goldman, C.R. 2009. Micronutrient Elements (Co, Mo, Mn, Zn, Cu). Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, from *Encyclopedia of Inland Waters*, Editor-in-Chief: Gene E. Likens, Oxford. 52-56.

González, AG; Herrador, M.A. 2007. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trends in Analytical Chemistry* 26(3): 227-238.

Guía EURACHEM. 2005, Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. CENAM, 2da edición. México.

Hartwig, A; Asmuss, M; Blessing, H; Hoffmann, S; Jahnke, G; Khandelwal, S; Pelzer, A; Bürkle, A. 2002. Interference by toxic metal ions with zinc-dependent proteins involved in maintaining genomic stability. *Food and Chemical Toxicology* 40(8): 1179–1184.

Haynes, WM. 2012. *Handbook of Chemistry and Physics*. 93rd Ed. Boca Raton, FL: CRC Press. Pág 4-7, 4-40.

Hill SJ. 2007. "Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications" Second edition. Blackwell Publishing Ltd.

Jarić, I; Višnjić-Jeftić, Ž; Cvijanović, G; Gačić, Z; Jovanovića, L; Stefan Skorić, S; Lenhardt, M. 2011 Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchemical Journal* 98(1): 77-81.

Jarvis, KE; Gray, AL; Houk, RS. 1992. "Handbook of Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry". New York, USA. Chapman and Hall.

Juresa, D; Blanusa M. 2003. Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. *Food Additives and Contaminants* 20(3): 241-246

Lacan, F; Francois, R; Ji, Y; Sherrell, RM. 2006. Cadmium isotopic composition in the ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70 (20): 5104-5118.

Lavilla, I; Vilas, P; Bendicho, C. 2008. Fast determination of arsenic, selenium, nickel and vanadium in fish and shellfish by electrothermal atomic absorption spectrometry following ultrasound-assisted extraction, *Food Chemistry* 106(1): 403-409.

Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Robert D. 2011. "Environmental Chemistry for a Sustainable World: Volume 1: Nanotechnology and Health Risk". Springer. (En línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=tUHG4x_Uhw0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

May, TW; Wiedmeyer, RH. 1998. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 19(5): 150-155.

Medeiros, RJ; dos Santos, LMG; Freire, AS; Santelli, RE; Braga, AnaMCB; Krauss, TM; Jacob, SdoC. 2012. Determination of inorganic trace elements in edible marine fish from Rio de Janeiro State, Brazil. *Food Control* 23(2): 535-541.

Mineralogical Society of America. 2004. Base de datos: Handbook de mineralogía (en línea). Ohio, USA. Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en <http://www.handbookofmineralogy.org/search.html?p=all>.

Mishra, S; Bhalke, S; Saradhi, IV; Suseela, B; Tripathi, RM; Pandit, GG; Puranik, VD. 2007. Trace metals and organometals in selected marine species and preliminary risk assessment to human beings in Thane Creek area, Mumbai. *Chemosphere* 69(6): 972–978.

Morón, C; Zacarías, I; Pablo, S de. 1997. “Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición” (en línea). Chile, FAO. Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s22.htm>

Nardi, EP; Evangelista, FS; Tormen, L; Saint’Pierre, TD; Curtius, AJ; Souza, SS de; Barbosa Jr, F. 2009. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chemistry* 112(3): 727-732.

NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. (en línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011

OSHA (Occupational Safety & Health Administration), 2009. Disponible en: <https://www.osha.gov/SLTC/metalsheavy/>

Özden Ö. 2010. Seasonal differences in the trace metal and macrominerals in shrimp (*Paranaus longirostris*) from Marmara Sea. *Environmental Monitoring and Assessment* 162(1-4) 191-199.

Palomarez-García, JM; Castañeda-Chávez, MR; Lango-Reynoso, F; Landeros-Sánchez, C. 2009. Niveles de metales pesados en camarón café *Farfantepenaeus aztecus* de la laguna de Tamiahua, Veracruz, México. *Rev. Invest. Mar.* 30(1): 63-69.

Perkin Elmer Atomic Spectroscopy Consumables Catalogue. 2010. Volumen 4. (en línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en: <http://pdf.directindustry.com/pdf/perkinelmer-inc/atomic-spectroscopy-consumables-catalogue/14711-169862.html>

Prohaska, T., Köllensperger, G., Krachler, M., De Winne, K., Stingeder, G. and Moens, L. 2000. Determination of trace elements in human milk by inductively coupled plasma sector field mass spectrometry (ICP-SFMS). *J. Anal. Atom. Spectrom.* 15(4): 335–340.

Reglamento (CE) N° 221/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de febrero de 2002 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (en línea) Consultado el día 28 octubre de 2013. Disponible en http://www.pesca2.com/legislacion/ley4.cfm?indice=21&categoria=Normativa%20Higi%EF%BF%BDnico%20Sanitaria&id_categoria=13

Ripperger, S; Rehkämper, M. 2007. Precise determination of cadmium isotope fractionation in seawater by double spike MC-ICPMS. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71(3): 631–642.

Saei-Dehkordi, SS; Fallah, AA. 2011. Determination of copper, 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.

Thomas, R. 2008. "Practical guide to ICP-MS. A tutorial for beginners". Second edition. London. CRC Press.

Tirez, K; Berglund, M; Seuntjens, P; De Brucker, N. 2001. Total uncertainty budget as method evaluation criterion for the determination of tracer (^{111}Cd) cadmium and indigenous cadmium in soil column effluents with ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 16(4): 307-314.

Traverniers, I; De Loose, M; Van Bockstaele E. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry* 23(8): 535-552.

Vázquez, F; Florville-Alejandre, TR. 2008. Metales pesados en tejido muscular del bagre *Ariopsis felis* en el sur del golfo de México (2001-2004). *Latin American Journal of Aquatic Research* 36(2): 223-233.

Vivanco, M. 2005. "Muestreo Estadístico Diseño y Aplicaciones". Editorial Universitaria, S.A., Santiago de Chile. Capítulo 11.

WebElements. 1993. Base de datos: Tabla periodica (en línea). UK. Consultado 21 agosto 2012. Disponible en <http://www.webelements.com/>

Yang, KY; Swami, K. 2007. Determination of metals in marine species by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry analysis. *Spectrochimica Acta Part B* 62(10): 1177-1181.

ANEXO I.

Certificados de DORM-2 y TORT-2



DORM-2

Dogfish Muscle Certified Reference Material for Trace Metals

The following table shows those elements for which certified values have been established for the dogfish (*Squalus acanthias*) reference material. Certified values are based on results of determinations by at least two independent methods of analysis. The uncertainties represent 95 percent tolerance limits for an individual sub-sample of 250 mg or greater.

TRACE ELEMENTS (milligrams/kilogram)

Aluminum (d,g,i)	10.9	±	1.7
Arsenic (d,g,h,x)	18.0	±	1.1
Cadmium (g,p)	0.043	±	0.008
Cobalt (d,g)	0.182	±	0.031
Chromium (g,i,p)	34.7	±	5.5
Copper (g,i,p,x)	2.34	±	0.16
Iron (g,i,p,x)	142	±	10
Lead (g,p)	0.065	±	0.007
Manganese (d,g,i)	3.66	±	0.34
Mercury (c,p)	4.64	±	0.26
Nickel (g,i,p)	19.4	±	3.1
Selenium (g,p)	1.40	±	0.09
Silver (g,p)	0.041	±	0.013
Thallium (p)	(0.004)*		
Tin (p)	(0.023)*		
Zinc (f,g,i,p)	25.6	±	2.3
Methylmercury (as Hg) (e,t)	4.47	±	0.32
Arsenobetaine (as As) (l,m)	16.4	±	1.1
Tetramethylarsonium (as As) (l)	0.248	±	0.054

* information value only



TORT-2

Lobster Hepatopancreas Reference Material for Trace Metals

The following table lists those elements for which certified values have been established. Certified values and their uncertainties are reported as mass fractions (based on dry mass). The uncertainties represent 95% confidence limits for an individual subsample. That is, 95% of samples, 250 mg or greater, from any bottle would be expected to have concentrations within the specified range 95% of the time.

Trace Metal Mass Fractions (mg/kg)

Arsenic (g,h,m)	21.6	±	1.8
Cadmium (g,p)	26.7	±	0.6
Chromium (g,p)	0.77	±	0.15
Cobalt (g,m)	0.51	±	0.09
Copper (g,i,p)	106	±	10
Iron (g,i)	105	±	13
Lead (g,p)	0.35	±	0.13
Manganese (g,i,m)	13.6	±	1.2
Mercury (c,e)	0.27	±	0.06
Molybdenum (g,p)	0.95	±	0.10
Nickel (g,p)	2.50	±	0.19
Selenium (g,h,q)	5.63	±	0.67
Strontium (i,p)	45.2	±	1.9
Tin (p)	(0.04)*		
Vanadium (g,i,m)	1.64	±	0.19
Zinc (g,i,p)	180	±	6
Methylmercury(as Hg) (e,t)	0.152	±	0.013

*information value only

c - cold vapour atomic absorption spectrometry
 e - cold vapour microwave induced plasma atomic emission spectrometry
 g - graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS)
 h - hydride generation GFAAS
 i - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
 m- inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS)

p - isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry
 q - isotope dilution hydride generation ICPMS
 t - gas chromatography - electron capture detection

The coding refers only to the ultimate method of analyte determination. Methods of sample preparation or decomposition are available by request.

ANEXO II.
Informe del equipo.

Sample Information

Report Title: QUANTITATIVE ANALYSIS REPORT

Sample Date/Time: Friday, December 07, 2012 14:24:15

Sample ID: D6-4(1-2)

Sample File:

Method File: C:\Elandata\Method\MTJRS2010\tesisLB20120806.mth

Current Dead Time (ns): 55

Number of Replicates: 2

Measurement Unit: cps

Replicates

Mean Values

Standard Deviations

Relative Std. Dev.

Calibration

Raw Data

Method File Name

Method Equation

Method Calibration

Method Report

Summary

Analyte	Mass	Meas. Intens. Mean	Net Intens. Mean	Conc. Mean	Meas. Intens. RSD
V	51	12472.046	12472.046	1.446580	0.008
Ni	58	19976.519	19976.519	3.434114	2.858
Ge	72	8827.284	8827.284		0.176
Ge	74	11082.224	11082.224		0.499
Tl	203	11200.896	11200.896		0.796
Pb	208	8559.528	8559.528	2.072473	0.719
Y	89	61279.344	61279.344		0.615
In	115	39426.230	39426.230		0.508
Cd	114	7929.166	7929.166	1.315855	0.433

ANEXO III.

Cálculo del % de humedad en las muestras.

Determinación de humedad.

El porcentaje de humedad en las muestras de pescado se determino mediante el siguiente procedimiento:

- 1.- Pesar el vidrio de reloj, limpio y rotulado. Registrar este dato
- 2.- Pesar la muestra en el vidrio de reloj. Registrar este dato.
- 3.- Colocar en la estufa a 60°C por 72 horas.
- 4.- Una vez transcurrido el tiempo de secado, retirar y colocar el vidrio en un desecador hasta que alcance temperatura ambiente.
- 4.- Pesar las muestras secas y registrar.
- 5.- Calcular el porcentaje de humedad con la siguiente fórmula.

$$\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 = \%H$$

Para convertir concentraciones expresadas en peso seco a concentraciones en peso húmedo se requiere conocer el contenido de humedad de la muestra y se utiliza la siguiente ecuación.

$$\text{Concentración en peso húmedo} = \text{Concentración en peso seco} * (1 - \%H)$$