



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Determinación de plomo y zinc en muestras de Chilacayote (*Cucurbita f. Bouché*) por diversas técnicas de absorción atómica.

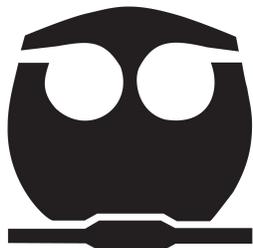
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

PRESENTA:

JUAN ALBERTO VENEGAS NAVA



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:	Profesora Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio
VOCAL:	Profesora Elba Rojas Escudero
SECRETARIO:	Profesor Ciro Eliseo Márquez Herrera
1er. SUPLENTE:	Profesora Nadia Marcela Munguía Acevedo
2ndo. SUPLENTE:	Profesora María Guadalupe Espejel Maya

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 103 Espectroscopia de Absorción Atómica,
División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q.F.B. María Guadalupe Espejel Maya

SUSTENTANTE:

Juan Alberto Venegas Nava

Índice general

Agradecimientos	II
Dedicatorias	III
1. Introducción	1
1.1. Resumen	2
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos particulares	3
1.3. Justificación	4
1.3.1. Chilacayote <i>Cucurbita ficifolia</i> Bouché	4
1.3.2. El chilacayote y sus propiedades antiglicémicas	5
1.3.3. Diabetes <i>mellitus</i>	8
1.3.4. La diabetes en México y el mundo.	8
2. Antecedentes	12
2.1. Ambiente y metales pesados	13
2.1.1. Plomo (Pb)	13
2.1.2. Zinc (Zn)	18
2.2. Espectroscopia	23

2.2.1.	Radiación electromagnética	23
2.2.2.	Espectro electromagnético	23
2.2.3.	Medidas espectroscópicas	24
2.3.	Espectrometría de Absorción Atómica	25
2.3.1.	Antecedentes históricos	26
2.3.2.	Principio de la Absorción Atómica	27
2.3.3.	Absorción Atómica: Flama. (F AAS)	29
2.3.4.	Interferencias en F AAS	37
2.3.5.	Corrección de interferencias	38
2.3.6.	Absorción Atómica: Horno de Grafito. (GF AAS)	39
2.3.7.	Interferencias en GF AAS	43
2.3.8.	Comparativa entre las diferentes técnicas de absorción atómica.	44
2.4.	Validación de la Metodología Analítica.	44
2.4.1.	Definiciones	45
3.	Desarrollo experimental	49
3.1.	Material, reactivos y equipo utilizado	50
3.1.1.	Material	50
3.1.2.	Reactivos	50
3.1.3.	Equipo	51
3.2.	Lavado de material	51
3.3.	Muestreo	52
3.3.1.	Sondeo previo	52
3.3.2.	Zona de muestreo	53
3.3.3.	Tipo de muestreo	53
3.3.4.	Tamaño muestral	53
3.4.	Tratamiento Físico	53
3.4.1.	Secado	53

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	IV
3.4.2. Homogeneizado	55
3.5. Tratamiento Químico	55
3.6. Análisis Semicuantitativo	56
3.7. Optimización de la Metodología: Pb.	57
3.7.1. Intervalo lineal.	57
3.7.2. Estudio de los modificadores de Matriz.	57
3.7.3. Optimización del programa de temperaturas.	59
3.7.4. Comparación de los métodos: Calibración Directa y Adición de Estándar.	60
3.7.5. Resumen	61
3.8. Optimización de la Metodología: Zn.	62
4. Resultados	64
4.1. Pb	65
4.1.1. Validación parcial	65
4.1.2. Resultados experimentales	68
4.2. Zn	71
4.2.1. Validación parcial	71
4.2.2. Resultados experimentales	74
4.3. Correlación de Metales Pb-Zn	76
4.4. Impacto a la salud	80
5. Conclusiones	88
Apéndices	92
A. Resultados experimentales	93
A.1. Análisis semicuantitativo: ICP-MS.	94
A.2. Resultados de las concentraciones de metales por muestra.	96

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	v
B. Ejemplos de cálculos	98
B.1. Cálculo de la concentración para una muestra.	99
B.1.1. Pb	99
B.1.2. Zn	100
B.2. Dosis correspondiente	102
B.3. Intervalos de clase y gráfica de frecuencias.	102
C. Material de Referencia: SRM 1547 Peach Leaves NIST	104
Índice de figuras	108
Índice de tablas	110
Bibliografía	112

Capítulo 1

Introducción

Investigación es lo que hago cuando no sé lo que estoy haciendo

Wernher von Braun

Soy de las que piensan que la ciencia tiene una gran belleza. Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.

Marie Curie

1.1. Resumen

La determinación elemental es un reto para las técnicas analíticas, hoy en día las técnicas espectroscópicas, en especial las de absorción atómica son técnicas que por su selectividad y facilidad, se han empleado para la determinación de elementos en concentraciones traza e inclusive ultra traza.

En la actualidad ha aumentado el interés por el conocimiento del papel que presentan los metales en la salud y enfermedades humanas y por ende en el ambiente que nos rodea. Siendo un área de investigación en pleno desarrollo.

Económicamente hablando, podemos poner de ejemplo, el sinnúmero de pruebas que se realizan diariamente en las aduanas, en donde se revisa que los contenidos de metales, plaguicidas, sustancias activas, por mencionar algunos, deban cumplir con normas nacionales e internacionales para su importación. Esto provoca que en las pruebas de peritaje, se utilicen metodologías validadas, en donde se demuestre que el método empleado para la determinación del analito sea adecuado a su propósito.

En nuestro país, la Secretaría de Economía, a través de la *Ley Federal sobre Metrología y Normalización*, establece que: ***es responsabilidad del Gobierno Federal procurar las medidas que sean necesarias para garantizar que los instrumentos de medición que se comercialicen en territorio nacional sean seguros y exactos, con el propósito de que presten un servicio adecuado conforme a sus cualidades metrológicas y aseguren la exactitud de las mediciones que se realicen en las transacciones comerciales.*** Por otro lado la Secretaría de Salud, establece las especificaciones sanitarias que deben cumplir los productos que son comercializados en territorio nacional [1, 2].

Esto nos habla, de la importancia que tienen las determinaciones analíticas, en el ámbito económico, pero más importante aún en la salud de la población.

En este sentido, el presente proyecto como lo dice en su título, propone la realización de una metodología adecuada que permita la determinación de plomo y zinc en muestras

de chilacayote (*Cucurbita f. Bouché*), con la finalidad, de evaluar si el consumo de dicho alimento, pudiera ser nocivo para la salud pues se ha observado en múltiples estudios que presenta propiedades hipoglucémicas, que pudieran funcionar en el tratamiento de la *diabetes mellitus tipo II*.

Con respecto al zinc se sabe que es un oligoelemento esencial, que participa como cofactor en cientos de enzimas, siendo el segundo elemento traza más importante, después del hierro, para la salud humana.

Finalmente, respecto al plomo se sabe que es un elemento perjudicial para la salud humana, cuyo consumo puede traer consigo efectos nocivos para la salud entre los que destacan: efectos neurotóxicos, anemia, daño renal, saturnismo, por mencionar algunos.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Determinación de plomo y zinc; en muestras de chilacayote. Mediante el empleo de diversas técnicas analíticas de absorción atómica.

1.2.2. Objetivos particulares

- Búsqueda bibliográfica de estudios previos de la matriz o matrices semejantes, referentes a la concentración esperada de los metales a ser determinados.
- Selección del sitio de muestreo.
- Validación parcial de la metodología analítica para la determinación de metales (Pb y Zn), a niveles de trazas, en muestras de chilacayote (*Cucurbita f. Bouché*).
- Evaluar la concentración de plomo y zinc obtenida, con el propósito de determinar si su consumo pudiera traer consigo efectos adversos en la salud humana.

1.3. Justificación

1.3.1. Chilacayote *Cucurbita ficifolia Bouché*

El chilacayote (*Cucurbita f. Bouché*) es una planta rastrera o trepadora, monoica, anual que llega a medir hasta 10 metros de largo. De flores pentamerasas, solitarias y axiliares. Produce un fruto conocido en México como ‘chilacayote’. El fruto inmaduro es similar a una calabaza esférica, con 8 o 10 centímetros de diámetro. El fruto maduro tiene una cáscara delgada de color verde, con puntos blancos o líneas. La pulpa de la fruta es blanca, suave, jugosa con un agradable sabor dulce. Sus semillas son ovaladas o elípticas, aplanadas y de un color que puede variar del café oscuro al negro o bien, blanco^[3, 4].

En cuanto a su contenido, está reportado que el chilacayote contiene: un 90 % de porción comestible, 94 % de humedad o jugo, 0.3 % de fibra, 1.2 % de proteína, 17 mg de calcio, 0.6 mg de hierro, 7 mg de ácido ascórbico, 0.03 mg de tiamina y se sabe que 100 g de *Cucurbita f.* producen 3.34 kJ o 14 kcal ^[3].

En las prácticas de medicina tradicional, algunas plantas son utilizadas para controlar la *diabetes mellitus* en muchos países.

Esto ha causado un incremento en el número de investigaciones clínicas y experimentales dirigidas a la validación de estas propiedades antidiabéticas, que son atribuidas a estos remedios.

Muchas de las plantas que son utilizadas por la población como remedios contra la diabetes, son plantas comestibles. Esto ha aumentado el interés ya que combinan dos factores importantes en el control de la diabetes: la alimentación y la medicación.

Al incluir este tipo de alimentos al menú de los pacientes con diabetes, es probable que se reduzca la dosis de agentes hipoglucémicos y en pacientes con *diabetes mellitus tipo II*, pudieran inclusive evitar el uso de estos agentes^[5].

En México, el chilacayote es consumido ampliamente y múltiples platillos y dulces son preparados con las semillas y la fruta, además de ser utilizada como tratamiento contra la

diabetes, los ‘curanderos’ recomiendan la ingestión de la fruta macerada en agua [4].

1.3.2. El chilacayote y sus propiedades antiglicémicas

En nuestro país, en el estado de Hidalgo se emplea para tratar el ‘cuichi’¹. Los reportes de sus diversos usos medicinales datan desde el siglo XVI. Entre sus supuestos usos medicinales se encuentran: tratamientos contra las hemorroides, en algunos casos de inflamación en los ojos, usos en casos de enllagamiento, contra dolores de cabeza, tratamientos contra la solitaria, ardores en la orina, destemplanza del hígado, para el mal gálico, el parto, flegmon, erisipela y para las ventosas, etc [6].

En la actualidad, sus usos más estudiados se derivan de sus propiedades hipoglicémicas [5]. La actividad farmacológica de la planta fue probada por primera vez en conejos hiperglicémicos, dichos conejos fueron sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa. Para ello se les administró una preparación de la planta o bien, tolbutamida. Los animales recibieron 2 g/kg de glucosa vía subcutánea al iniciar la prueba y 60 minutos después, se utilizó agua como control. Finalmente, los autores reportaron un efecto hipoglucémico de la planta estadísticamente significativo desde los 60 hasta los 300 minutos después de iniciada la prueba.[5]. Dichos efectos se observan claramente en la figura 1.1.

Numerosos experimentos fueron realizados por otro grupo de investigación, en ratas y ratones a los que se les indujo diabetes, mediante el suministro de aloxana. Los frutos maduros de *Cucurbita ficifolia* fueron cortados en mitades, se les extrajo el jugo y este a su vez fue congelado. Los efectos agudos se probaron en ratones sanos empleando dos rutas de administración : oral e intraperitoneal, con una dosis de 500 mg/kg. Ambas vías de administración presentaron los efectos hipoglucémicos, siendo la vía intraperitoneal la que presentó el efecto más rápido (entre 2 y 4 horas después de la administración). Los efectos agudos se probaron entonces por la vía intraperitoneal, comparando los efectos de diferentes dosis: 25, 250,500,594,750,1000 y 1250 mg/kg.

¹Entiéndase: Oxiuriasis.

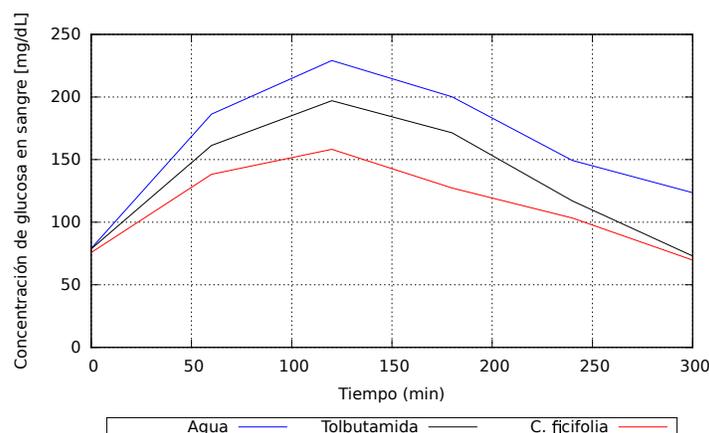


Figura 1.1: Curvas de tolerancia a la glucosa en conejos sanos, después de la administración de: agua, tolbutamida o preparación de *Cucurbita ficifolia* [5]

El efecto hipoglucémico, fue estadísticamente significativo a un nivel de $p < 0.05$, (a 2 horas de haber iniciado el experimento) para las dosis menores a 750 mg/kg, e inclusive a un nivel de $p < 0.001$, para las dosis de 1000 y 1250 mg/kgⁱⁱ. En cuanto a la toxicidad, los investigadores también reportaron que el extracto mostraba cierta toxicidad cuando era administrado diariamente durante 14 días a las ratas diabéticas. La dosis letal 50 (LD₅₀, por sus siglas en inglés) ⁱⁱⁱ fue 650 mg/kg, con límites de 518.2 hasta 753.8 mg/kg. Finalmente, reportaron también que la administración de 1250 mg/kg del extracto, causó la muerte del 100 % de los animales [7].

En el año 2001, se realizó el primer estudio en humanos, con pacientes con niveles moderados de hiperglucemia. Suministrándoles 4 mL de jugo de la fruta por kilogramo de peso. Los niveles de glucosa en sangre, fueron analizados cada hora durante 5 horas empleando un kit comercial. Los autores reportaron un efecto hipoglucémico a los 180

ⁱⁱ $p < 0.05$ Estadísticamente significativo al 99.5 %. $p < 0.001$ Estadísticamente significativo al 99.9 %.

ⁱⁱⁱEn toxicología es una medida estandarizada para determinar la toxicidad aguda de un pesticida o agente tóxico, medida en miligramos de sustancia por kilogramo de peso. El LD₅₀ representa la dosis individual requerida para causar la muerte del 50 % de la población de animales de prueba.

minutos. Resultados similares a los obtenidos en los estudios, con animales^[3].

En el año 2006, un grupo de investigadores en China ^[8], realizó un estudio, en el que no sólo se determinó la variación de los niveles de glucosa en sangre, sino que también se monitorearon los niveles de insulina, hemoglobina y hemoglobina glicosilada. Concluyendo que el efecto hipoglucémico pudiera deberse a la potenciación del efecto de la insulina en el plasma ya sea por:

1. Un aumento en la secreción pancreática de insulina por las células β existentes.
2. La liberación de la insulina de su forma ligada.

Finalmente, en el año 2012, un grupo de investigadores en nuestro país, realizó un estudio con 40 ratones machos, los cuales fueron divididos en 4 grupos de 10 animales. A los animales de prueba, se les indujo ‘diabetes’ mediante una inyección intraperitoneal de Streptozotocina, a una dosis de 135 mg/kg de peso, aquellos animales que reportaron un nivel de glucosa superior a 200 mg/dL fueron incluidos en el estudio. Los grupos de estudio se dividieron de la siguiente manera ^[9]:

- Grupo 1: Grupo control. No diabético.
- Grupo 2: Grupo diabético. Se le suministró solución salina isotónica.
- Grupo 3: Grupo diabético. Se le suministró extracto acuoso de *C. ficifolia* a 200 mg/kg.
- Grupo 4: Grupo diabético. Se le suministró pioglitazona a 0.64 mg/kg. ^{IV}

Los resultados obtenidos por este estudio, muestran que la administración oral de un extracto acuoso crudo de *C. ficifolia* además de los efectos antiglicémicos, presenta además efectos antioxidantes, que apoyan aún más su uso como un tratamiento alternativo para la diabetes mellitus, y sus complicaciones inducidas por estrés oxidativo ^[8].

^{IV}La pioglitazona es un sensibilizante de la insulina.

1.3.3. Diabetes *mellitus*

La diabetes es una enfermedad crónica degenerativa, que ocurre cuando el páncreas no produce suficiente insulina o bien, cuando el cuerpo no puede utilizar eficientemente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el azúcar en sangre. Siendo la hiperglicemia o azúcar elevada en sangre, el efecto más común de una diabetes incontrolada. Y con el paso del tiempo, conlleva a un daño significativo a los diferentes sistemas del cuerpo, especialmente a los nervios y los vasos sanguíneos^[10, 12].

Existen tres tipos reconocidos de diabetes:

1. *Tipo I*. Generalmente hereditaria, se presenta cuando existe muy poca o nula producción de insulina, por lo que se requiere la administración externa de la hormona.
2. *Tipo II*. Es resultado de un uso ineficiente de la insulina por el cuerpo. Aunque este tipo de diabetes presenta un antecedente heredofamiliar, se ha observado que es favorecida por los hábitos alimenticios inadecuados, sedentarismo y sobrepeso.
3. *Gestacional*. Este tipo de diabetes consiste en valores altos de azúcar en sangre, que son observados durante el embarazo. Sus síntomas son similares a los observados en la diabetes tipo II.

1.3.4. La diabetes en México y el mundo.

En México, en 2008 casi 3% de los egresos hospitalarios a nivel nacional fueron debidos a la *diabetes mellitus Tipo II*, porcentaje similar al reportado en el año 2003, cuando se calculó que los costos directos e indirectos de la enfermedad fueron de 100 millones de dólares anuales^[12].

La tasa de incidencia reportada en 2008, para la *diabetes mellitus Tipo II*, representó 371.55 personas por cada 100 mil habitantes, lo que está asociado a los malos hábitos alimenticios^[12].

A nivel nacional, la tasa de mortalidad observada de diabetes mellitus, en 2008, fue de 70.9 por cada 100 mil habitantes, siendo los estados de Distrito Federal (99), Coahuila (87.4), Morelos (84.3), Guanajuato (82.9) y Michoacán (80.4) quienes presentan las mayores tasas de mortalidad por esta afección. La principal complicación que se relaciona con la defunción del paciente es la renal con un 43.2% de los casos.

Finalmente, en nuestro país se estima que casi 7 de cada 10 personas, que padecen diabetes mueren antes de cumplir la edad promedio de la población mexicana.^v Cifra que demuestra lo alarmante de la enfermedad^[12, 13].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que a nivel mundial, existen unos 347 millones de personas con diabetes, además plantea que aproximadamente el 95% del tratamiento de un paciente diabético recae directamente en él. En el año 2004, se estimaba que más de 3.4 millones de personas en el mundo, murieron a consecuencias de un nivel de azúcar en sangre elevado. Y un número similar de fallecimientos se estimó para el año 2010. Además de que más del 80% de las muertes por diabetes ocurren en países de mediano o bajo desarrollo.^[10, 12] Se estima que para el año 2030, la diabetes será la 7^a causa de muerte a nivel mundial. Las figuras 1.2 y 1.3, muestran claramente la tendencia del aumento de la población diabética en el mundo, al comparar los niveles medios de glucosa en sangre para hombres y mujeres, estandarizado a 25 años de edad; para el caso de México en tan sólo 20 años se pasó de un valor de 5.5 a 5.9 mmol/L en hombres y de 5.6 a 5.9 mmol/L en mujeres.^{vi}

^vEdad promedio nacional: 28-29 años. Hombres: 28 años, Mujeres: 29 años. Calculado a partir de los datos publicados por el INEGI, 2010

^{vi}La OMS define a una persona diabética como: Aquella que en condiciones de ayuno o bajo medicación, tiene un nivel de azúcar en sangre superior a 7 mmol/L.

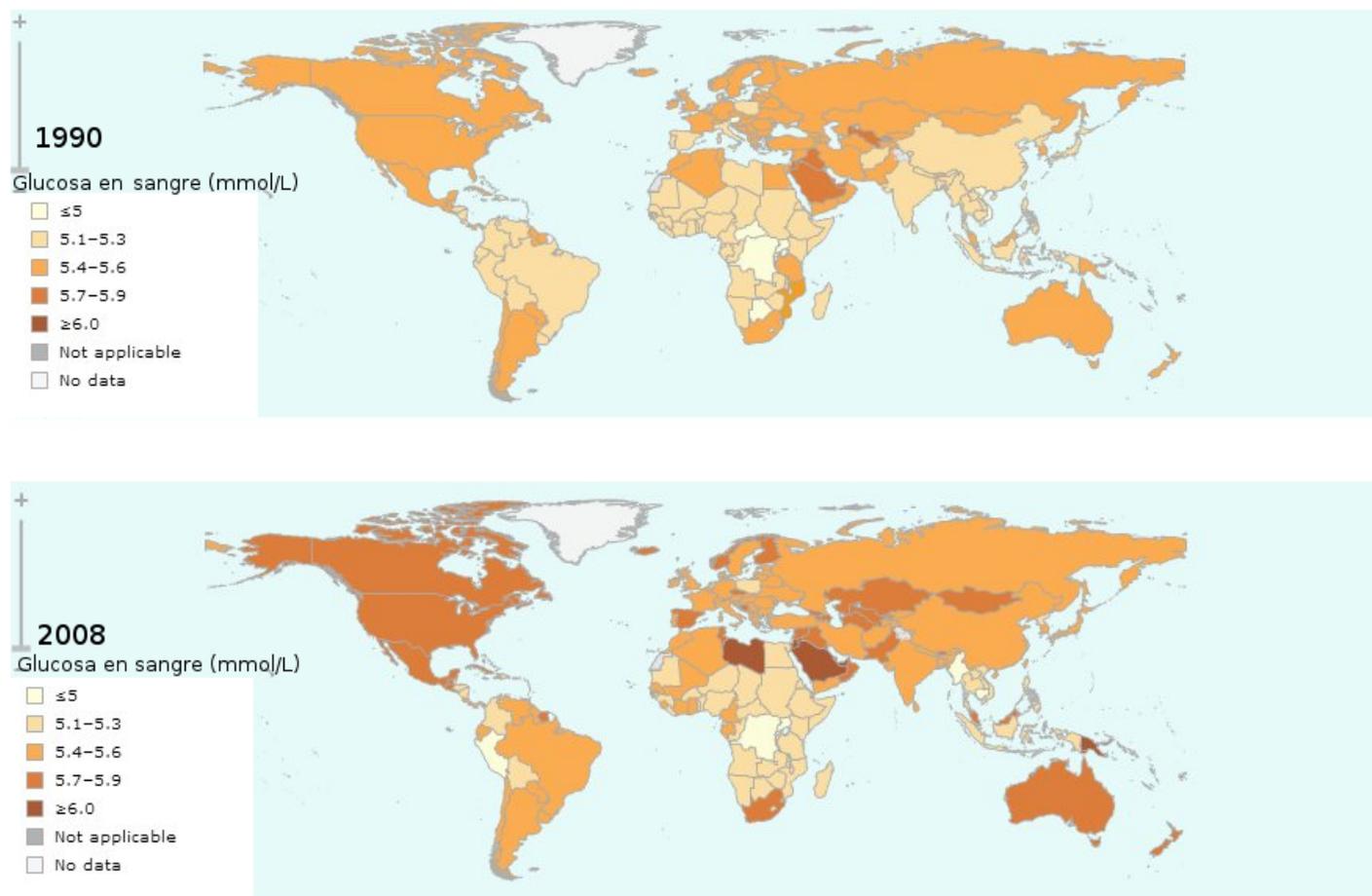


Figura 1.2: Valores medios de glucosa en sangre en condiciones de ayuno (mmol/L), personas mayores de 25 años, Hombres. Años: 1990 y 2008 [11]

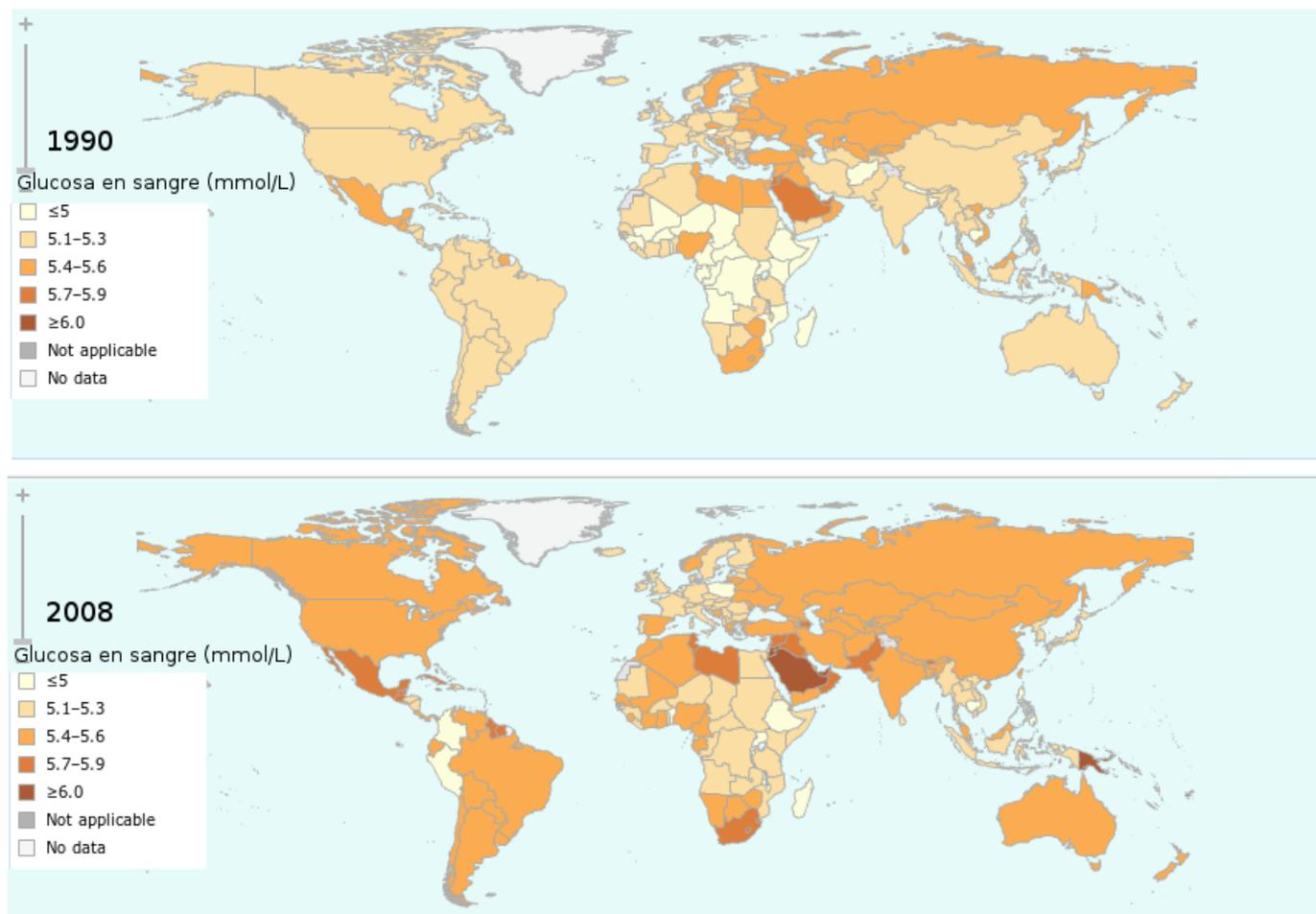


Figura 1.3: Valores medios de glucosa en sangre en condiciones de ayuno (mmol/L), personas mayores de 25 años, Mujeres. Años: 1990 y 2008 [11]

Capítulo 2

Antecedentes

Tan sólo por la educación puede el hombre llegar a ser hombre. El hombre no es más que lo que la educación hace de él

Inmanuel Kant

La duda es el principio de la sabiduría.

Aristóteles

2.1. Ambiente y metales pesados

Como los ‘mineros’ de la corteza terrestre, las plantas absorben numerosos elementos del suelo. Algunos de los elementos absorbidos son referidos como *esenciales* debido a que son requeridos por las plantas para completar su ciclo de vida. Algunos elementos de transición esenciales tales como: hierro, manganeso, molibdeno, cobre, zinc y níquel son conocidos como *micronutrientes* debido a que son requeridos por las plantas en mínima cantidad. Otros metales de transición como: oro, plata, y algunos elementos que no son de transición como el aluminio, han demostrado tener efectos estimuladores para el crecimiento de las plantas, pero no son considerados esenciales.

Además, ha sido documentado en numerosos estudios, que las plantas también absorben elementos que no poseen función biológica conocida y que si son conocidos, por poseer efectos tóxicos a bajas concentraciones.

Por si fuera poco, muchas de estas plantas que presentan efectos de bioacumulación de metales tóxicos, son plantas de consumo humano. En países con una fuerte demanda de alimentos, llegan inclusive a utilizarse tierras contaminadas como zonas de cultivo. Es importante señalar, que las principales fuentes de contaminación al ambiente por metales pesados, son las actividades antropogénicas^[14].

Debido a que el estudio se centró en dos metales principalmente (Pb y Zn). Vamos a continuación a describir los puntos importantes de cada uno de ellos.

2.1.1. Plomo (Pb)

El plomo es un metal blando de color blanco-plateado o gris, pertenece al Grupo 14 (IVa) de la tabla periódica. Es un metal muy maleable, dúctil y denso, es un mal conductor de la electricidad. Conocido desde la antigüedad, era considerado por los alquimistas como el metal más antiguo, de alta durabilidad y resistencia a la corrosión. En la tabla 2.1 se presenta un resumen de algunas propiedades químicas del plomo ^[15].

Tabla 2.1: Resumen de propiedades químicas: plomo^[15]

Número atómico	82
Peso atómico	207.19 u.m.a.
Punto de fusión	327.5(°C)
Punto de ebullición	1744(°C)
Densidad (a 20°C)	11.29 g/cm ³
Estados de oxidación	+2,+4
Configuración electrónica	[Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²

Ocurrencia y distribución

El plomo es mencionado inclusive en algunos registros bíblicos. Los babilónicos usaban el metal como platos, en los cuales realizaban inscripciones. Los romanos lo usaban en tabletas, tubería, como moneda corriente e inclusive como utensilios de cocina, como resultado del último uso, el envenenamiento por plomo fue descubierto desde tiempos de César Augusto. El compuesto conocido como blanco de plomo, fue preparado como un pigmento decorativo por lo menos desde el 200 a.C^[15].

Si consideramos la masa, el plomo tiene cerca de la misma abundancia sobre la superficie terrestre que el estaño. Cósmicamente, hay alrededor de 0.47 átomos de plomo, por cada 10⁶ átomos de silicio. Su abundancia en el espacio es comparable a la de: cesio, praseodimio, hafnio y tungsteno, cada uno de los cuales, es considerado como un elemento razonablemente escaso^[15].

A pesar de que el plomo no es abundante, diferentes procesos naturales de concentración, han dado como resultado depósitos substanciales de importancia comercial, particularmente en Estados Unidos, Canadá, Australia, Alemania, Africa y Sudamérica. En la naturaleza es muy raro encontrarlo en su forma libre; aunque se encuentra presente en numerosos

minerales, solamente el sulfuro de plomo (PbS, o galena), tiene importancia económica.

El plomo puede ser extraído directamente de los yacimientos y posteriormente fundido en hornos. Refinaciones adicionales eliminan las impurezas presentes. Casi la mitad de todo el plomo refinado, se recupera de basura reciclada^[15].



Figura 2.1: Lingotes de plomo^[16].

Usos

El uso más amplio del plomo, como tal, se encuentra en la fabricación de acumuladores. El plomo y las aleaciones de plomo son componentes comunes de cañerías, baterías, pesas, proyectiles y municiones, revestimientos de cables y láminas usadas como protección contra la radiación. Los compuestos de plomo se usan como pigmentos en pinturas, en barnices para cerámicas y en materiales de relleno, aunque actualmente su uso se ha visto disminuido^[15, 17].

Exposición al plomo

La principal ruta de exposición al plomo, proviene de los alimentos. Sin embargo, son las fuentes ambientales y algunas que pudieran controlarse, las que producen un exceso de exposición y por lo tanto, sus efectos tóxicos. Estas fuentes incluyen: pinturas a base de plomo dentro de viviendas antiguas, plomo en el aire debido a la combustión o a las emisiones industriales, pinturas a base de plomo, actividades de llevar objetos a la boca

por los infantes que viven en zonas contaminadas, exposición a pesticidas, etc^[19, 20].

La mayor parte del plomo que entra al cuerpo lo hace por la boca; sin embargo, una porción muy pequeña de plomo pasa a la sangre y a otras partes del cuerpo.

Experimentos llevados a cabo en voluntarios han demostrado que en adultos que recién cenaron, solamente el 6 % del plomo que ingirieron pasó a la sangre desde el estómago. En adultos que no habían comido durante 24 horas, aproximadamente del 60 al 80 % del plomo que ingirieron pasó a la sangre. En general, si adultos y niños ingieren la misma cantidad de plomo, una porción mayor llegará a la sangre de los niños, prox. el 50 %^[?].

En adultos, aprox. el 94 % de la cantidad total de plomo en el cuerpo, se encuentra en los huesos y los dientes. Mientras que en niños, aprox. el 73 % del plomo en cuerpo, se almacena en los huesos^[19, 20].

Una vez en el cuerpo, el plomo que no se almacena en los huesos abandona el cuerpo por la orina o en las heces. Aproximadamente el 99 % de la cantidad de plomo que ingresa al cuerpo de un adulto abandonará el cuerpo por la orina y las heces en un periodo de dos semanas. Sin embargo, solamente el 32 % del plomo que entra al cuerpo de un niño abandonará el cuerpo en el mismo periodo de tiempo^[19, 20].

Toxicidad

Los efectos tóxicos del plomo en el cuerpo son los mismos, independientemente de la manera en la que este entre al cuerpo. El plomo afecta principalmente al sistema nervioso, tanto en niños como en adultos. Los niveles de exposición altos pueden dañar seriamente el cerebro y los riñones en adultos o en niños, llegando inclusive a causar la muerte. (Véase tabla 2.2 Principales efectos tóxicos del plomo en el cuerpo)^[?]. En la tabla 2.3 se presentan los niveles máximos aceptables de plomo de acuerdo a las Normas Mexicanas.¹

¹Es necesario consultar cada norma en particular, para revisar la metodología aplicable en cada caso. La lista de normas que aquí se presentan no son las únicas que existen, su función es exclusivamente indicativa.

Tabla 2.2: Principales efectos tóxicos del plomo en el cuerpo^[?].

<i>Neurológicos</i>	Disminución de las habilidades de aprendizaje en niños.
.	Disfunciones motrices.
.	Perturbaciones en el comportamiento de niños.
.	Daño cerebral.
.	En algunos animales: alteraciones graves en la ecolocalización.
<i>Hematológicos</i>	Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina.
.	Alteraciones en la presión arterial.
.	Anemia.
<i>Renales</i>	Insuficiencia renal.
<i>Carcinogénicos</i>	Puede ocasionar carcinomas renales.
<i>Otros</i>	Aborto espontáneo.
.	Infertilidad.
.	Daños cromosómicos.
.	Mortalidad y morbilidad neonatal.
.	Saturnismo.

Tabla 2.3: Resumen de valores límites permitidos de plomo de acuerdo a las Normas Mexicanas ^[21]

<i>Norma Oficial Mexicana</i>	Descripción	Límite de Plomo permitido
NOM-231-SSA1-2002.	Piezas planas	2 mg/L
.	Piezas huecas	2 mg/L
.	Tazas y tarros	0.5 mg/L
.	Utensilios	0.5 mg/L
NOM-199-SSA1-2000	Plomo en sangre	45 $\mu\text{g}/\text{dL}$ *
NOM-015/1-SCFI/SSA-1994	Juguetes y artículos escolares	600 mg/kg
NOM-127-SSA1-1994	Agua potable	0.025 mg/L
NOM-131-SSA1-2012	Fórmulas para lactantes	0.02 mg/kg
.	(lista para consumo)	
.	Alimentos deshidratados	0.20 ppm
NOM-142-SSA1-1995	Bebidas alcohólicas	0.5 mg/L
NOM-184-SSA1-2002	Leche	0.1 mg/L
NMX-F-025-1982	Pasta tomate	0.36 mg/L

*Apartir de este valor las medidas sanitarias pueden implicar hospitalización.

2.1.2. Zinc (Zn)

El zinc es un elemento químico de bajo punto de fusión. Pertenece al Grupo 12 (IIB) de la tabla periódica. Es esencial para la vida y es uno de los metales más ampliamente utilizados, teniendo por lo mismo una gran importancia comercial. En la tabla 2.4 se presenta un resumen de algunas propiedades químicas del zinc^[22].

Tabla 2.4: Resumen de propiedades químicas: zinc^[22].

Número atómico	30
Peso atómico	65.39 u.m.a.
Punto de fusión	420 (°C)
Punto de ebullición	907(°C)
Densidad (a 25°C)	7.133 g/cm ³
Estados de oxidación	+2
Configuración electrónica	[Ar]3d ¹⁰ 4s ²

Ocurrencia y abundancia

Un poco más abundante que el cobre, el zinc se encuentra en un promedio de 65 g por cada tonelada de la Corteza Terrestre. Su mineral más importante es el sulfuro de esfalerita (mejor conocido como: blenda de zinc), el cual, junto con sus productos de oxidación: la smithsonita y hemimorfita, constituyen cerca del total de todos los yacimientos de zinc en el mundo. Yacimientos de zinc en su estado nativo, han sido reportados en Australia, Nueva Zelanda y los Estados Unidos, pero ningún reporte ha sido autenticado^[22].

El zinc es un elemento traza esencial para el cuerpo humano, en donde es posible encontrarlo en altas concentraciones en las células rojas de la sangre, como parte de la enzima anhidrasa carbónica, la cual promueve muchas reacciones relacionadas con el metabolismo del dióxido de carbono. El zinc presente en el páncreas puede auxiliar en el almacenamiento de la insulina. Es además un componente de algunas enzimas que digieren proteínas en el tracto gastrointestinal^[22].

Historia y Usos

El zinc metálico apareció mucho tiempo después que otros metales comunes. Metales como el cobre, plomo, estaño y hierro, pueden ser obtenidos como los metales fundidos por calentamiento de sus óxidos con carbón, en un proceso de reducción. El óxido de zinc, sin embargo, no puede ser reducido por carbon hasta que no se hayan alcanzado temperaturas muy cercanas a su punto de ebullición (907° C). Por lo que, los hornos diseñados para fundir los otros metales, no podían producir zinc^[22].

Existe evidencia de que los Griegos conocían de la existencia del zinc y lo llamaban *pseudargyras* o ‘falsa plata’, pero no poseían un método para producirlo en cantidad. Los Romanos alrededor del año 200 a. C. producían cantidades considerables de latón, una aleación de cobre y zinc. La producción de latón era el único uso que los Romanos le daban al zinc^[22].

La comprensión de que para obtener zinc, era necesario convertir el metal a vapor y después condensarlo, parece que apareció por primera vez en India, entre los siglos XIII y XIV. Numerosas mejoras en el proceso sucedieron en los siglos subsecuentes^[22].

El uso principal del zinc metálico es el galvanizado del hierro y acero, para evitar la corrosión. Así como su empleo para producir latón y aleaciones para fundición^[22].



Figura 2.2: Principal uso del zinc: galvanizado^[19].

Exposición al zinc

El zinc es omnipresente en el ambiente y en consecuencia se encuentra en casi todos los productos alimenticios, agua y aire. Los mariscos, carnes, granos integrales, productos lácteos, nueces y legumbres tienen alto contenido en zinc, en tanto los vegetales tienen un contenido más bajo, aunque los vegetales en crecimiento captan el zinc que se aplica al suelo.

Los niveles atmosféricos de zinc se incrementan en las zonas industriales. La ingesta diaria promedio de la población estadounidense es de alrededor de 12 a 15 mg, la mayoría proveniente de los alimentos. Alrededor del 20 al 30 % del zinc ingerido se absorbe. En el caso de los hombres, la concentración más alta de zinc se encuentra en la próstata^[19].

Importancia biológica y toxicidad

El zinc es un elemento esencial para la nutrición de humanos, plantas y animales. La esencialidad del zinc en plantas fue demostrada por primera ocasión en maíz y posterior-

mente en la cebada y en los girasoles. La concentración de zinc en plantas depende en gran medida de: la especie de la planta, el pH del suelo y la composición del suelo^[24].

Para comprender la importancia biológica del zinc, basta decir que más de 70 metaloenzimas requieren zinc como un cofactor y la deficiencia del mismo da por resultado una amplia gama de efectos clínicos, dependiendo de la edad, la etapa de desarrollo y las deficiencias de metales relacionados.

En estudios recientes se ha encontrado que el zinc presenta efectos benéficos, particularmente como un efecto regulador de la respuesta autoinmune en ratones a los que se les suministró un suplemento del metal^[25].

La deficiencia de zinc en humanos, fue caracterizada por primera vez, en adolescentes egipcios, con un déficit de crecimiento y retraso en la maduración sexual, acompañado de malnutrición proteínico-calórica, pelagra, deficiencia de hierro y folato.

Existen numerosos medicamentos que afectan la homeóstasis de zinc, particularmente agentes quelatantes metálicos y algunos antibióticos, como la penicilina y la isoniazida; también puede ocurrir deficiencia de zinc, en casos de infartos al miocardio, artritis e incluso hipertensión, aunque son menos frecuentes.

La toxicidad del zinc por una ingesta excesiva no es común, pero se han reportado diarreas y dolores gastrointestinales después de la ingesta de bebidas guardadas en latas galvanizadas o por el uso de utensilios galvanizados. Sin embargo, no se han observado evidencias de toxicidad renal, hematológica o hepática en individuos con una ingesta de hasta 12 g de zinc elemental, por un periodo de dos días.

Se han producido tumores testiculares por la inyección intratesticular directa en ratas y gallinas. Este efecto probablemente está relacionado con la concentración de zinc que se encuentra normalmente en las gónadas y puede ser hormonalmente dependiente. Las sales de zinc, no han producido efectos carcinogénicos al ser administrados a animales por otras vías^[19].

2.2. Espectroscopia

Las medidas basadas en la luz y otras formas de radiación electromagnética se utilizan mucho en química analítica. Las interacciones de la radiación con la materia son el tema de la ciencia denominada espectroscopia. Los métodos analíticos espectroscópicos se fundamentan en medir la cantidad de radiación que producen o absorben las especies moleculares o atómicas de interés. Es posible clasificar los métodos espectroscópicos según la región del espectro electromagnético utilizado para la medida. Las regiones del espectro que se han utilizado abarcan los rayos γ , rayos X, radiación ultravioleta (UV), radiación infrarroja (IR), microondas y radiofrecuencias. De hecho, el uso actual del término espectroscopia amplía su significado para incluir técnicas que ni siquiera abarcan la radiación electromagnética, como las espectroscopias acústica, de masas y de electrones^[27].

2.2.1. Radiación electromagnética

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite por el espacio a enorme velocidad. Se denomina luz a la radiación electromagnética en las regiones del UV-visible y en ocasiones de la región IR, si bien el sentido estricto del término abarca sólo la radiación visible. La radiación electromagnética puede describirse como una onda con propiedades de longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud.^[27]

El modelo de onda no explica fenómenos relacionados con la absorción y emisión de la energía radiante. En relación con estos procesos, se puede considerar a la radiación electromagnética como paquetes discretos de energía o partículas, llamados *fotones o cuantos*. Esto debido a la naturaleza dual de la luz^[27].

2.2.2. Espectro electromagnético

El espectro electromagnético abarca un amplio intervalo de energías y, por tanto, de longitudes de onda. La figura 2.3 muestra las regiones del espectro electromagnético utilizadas en los análisis espectroscópicos. También se ilustran los tipos de transiciones atómicas

y moleculares que resultan de las interacciones de la radiación con la muestra^[27].

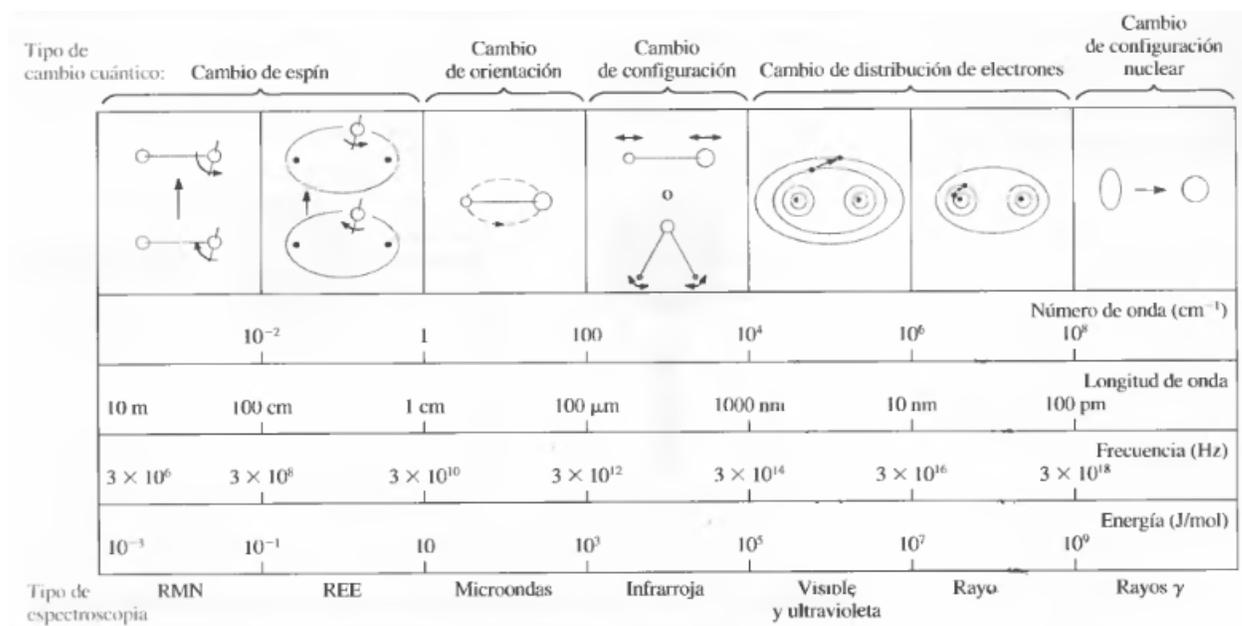


Figura 2.3: Regiones del espectro electromagnético. El número de onda, longitud de onda, frecuencia y energía son características que describen a la radiación electromagnética^[27].

Es importante señalar que los métodos espectroquímicos en los que se emplea no sólo la luz visible, sino también la ultravioleta e infrarroja, se llaman métodos ópticos pese a que el ojo humano no sea sensible a los dos últimos tipos de radiación mencionados.

2.2.3. Medidas espectroscópicas

Los analistas emplean la interacción de la radiación con la materia para obtener información sobre las muestras. Habitualmente la muestra se estimula en cierto modo al aplicar energía en la forma de calor, energía eléctrica, luz, partículas o una reacción química. Antes de la aplicación del estímulo, el analito está predominantemente en su estado de energía más bajo, o *estado fundamental*. Posteriormente, el estímulo hace que alguna especie del

analito experimente una transición a un estado de mayor energía o *estado excitado*.

Se obtiene información sobre el analito al medir la radiación electromagnética emitida conforme regresa al estado fundamental o al cuantificar la radiación electromagnética que se absorbe como resultado de la excitación.

2.3. Espectrometría de Absorción Atómica

En la espectrometría de absorción, se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda, lo que proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la muestra. La figura 2.4 explica de manera resumida el fenómeno de absorción.

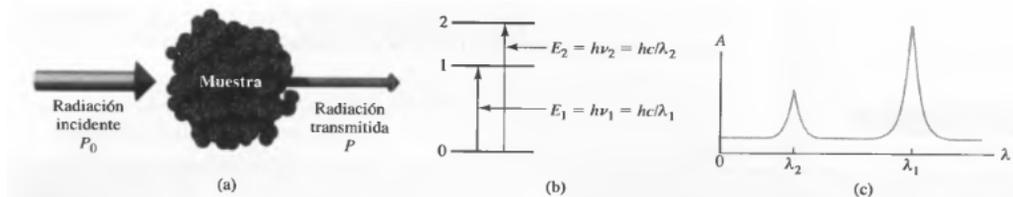


Figura 2.4: Métodos de absorción. *a)* La radiación de la energía radiante incidente P_0 puede ser absorbida por el analito, lo que produce la transmisión de un haz de menor energía radiante, P . *b)* Para que pueda ocurrir la absorción, la energía del haz incidente debe corresponder a una de las diferencias de energía. *c)* Espectro de absorción resultante [27].

Los métodos de espectroscopia atómica se utilizan en la determinación cualitativa y cuantitativa de más de 70 elementos. Es habitual que permitan detectar partes por millón (mg/L) o por billón ($\mu\text{g/L}$) y en algunos casos incluso menores concentraciones.

Los métodos espectroscópicos atómicos son además rápidos, convenientes y, generalmente, de alta selectividad. Se dividen en dos grupos:

- Espectrometría atómica óptica.

- Espectrometría de masa atómica.

La determinación espectroscópica de especies atómicas sólo puede efectuarse en un medio gaseoso, donde están muy separados entre sí los átomos o iones elementales. Por consiguiente, el primer paso en todo procedimiento de espectroscopia atómica es la atomización, proceso en el que una muestra se volatiliza y descompone de manera que se produzcan átomos e iones en fase gaseosa. La eficiencia y reproducibilidad de la etapa de atomización puede influir mucho en la sensibilidad, precisión y exactitud del método. En pocas palabras, la atomización es un paso crítico en la espectroscopia atómica^[27].

2.3.1. Antecedentes históricos

Para lograr comprender la importancia que tiene la espectrometría de absorción atómica en la actualidad, es de suma importancia que se conozcan los antecedentes históricos que rodean el desarrollo de esta técnica analítica^[29].

Cronología:

- El inicio de la espectroscopía óptica se atribuye a Sir Isaac Newton, quien en 1672 en una carta dirigida a la *Royal Society*, describió el fenómeno de la dispersión de la luz solar cuando ésta pasa a través de un prisma. Ver figura 2.5.

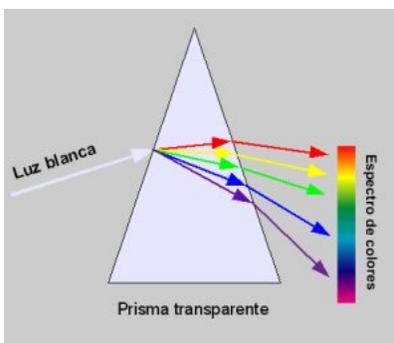


Figura 2.5: Fenómeno de la dispersión de la luz solar a través de un prisma^[28].

- 1800's: Fue en los primeros años de 1800, cuando los investigadores Wollaston, y posteriormente Fraunhofer, comenzaron los estudios de las líneas solares.
- 1820's: Fue Brewster el primer investigador en afirmar que las llamadas líneas de Fraunhofer eran causadas por fenómenos de absorción producidos en la atmósfera solar.
- Los principios de la absorción fueron establecidos por Kirchhoff y Bunsen, al introducir sales de diversos metales alcalinos y alcalino-térreos en la presencia de una flama y observando los espectros resultantes. La relación entre la emisión y la absorción fue formulada por Kirchhoff en su ley:

Cualquier material capaz de emitir radiación a una determinada longitud de onda, será capaz de absorber radiación en dicha longitud de onda.

- El nacimiento de la espectrometría de absorción atómica moderna, fue en el año de 1955, cuando de manera independiente: Walsh, Alkemade y Milatz redescubren los principios de la absorción atómica y recomiendan su aplicación como un procedimiento analítico aplicable.
- El primer equipo comercial se produjo en 1964.

No es difícil entender que la espectrofotometría de absorción atómica, es una técnica relativamente nueva, con un campo de aplicación sumamente amplio^[27].

2.3.2. Principio de la Absorción Atómica

El principio general en el que se basa la espectrometría de absorción atómica, es la medición de la radiación absorbida característica del elemento químico a medir, la medición se realiza al hacer incidir, sobre el elemento químico en forma de vapor atómico, una radiación proveniente de una fuente independiente de luz monocromática específica para

el elemento a medir, la radiación absorbida se determina por diferencia, entre la radiación incidente y la transmitida^[31].

El cálculo de la medición de la concentración se basa en la *Ley de Lambert y Beer*:

$$\alpha = a * b * \gamma \quad (2.1)$$

o bien

$$\alpha = \log (I_0/I) \quad (2.2)$$

Donde:

- α absorbancia del elemento químico a medir.
- a coeficiente de absorptividad.
- b longitud del paso óptico.
- γ concentración de masa de la especie que absorbe.
- I_0 radiación incidente. (P)ⁱⁱ
- I radiación transmitida. (P)ⁱⁱⁱ

El espectrómetro contiene los siguientes elementos:

1. Fuente de radiación.
2. Celda en la que se deposita la muestra y se generan los átomos en estado basal.

Atomizador

ⁱⁱVéase figura 2.4.

ⁱⁱⁱÍdem

3. Sistema óptico para medir la señal.
4. Procesador.

La diferencia principal entre las diversas técnicas de absorción atómica es la celda de atomización. [27, 29]

- Cuando el proceso de atomización se lleva a cabo en una flama, producida por un quemador, la técnica analítica se conoce como: *Espectrometría de Absorción Atómica por Flama o F AAS*, por sus siglas en inglés.
- Cuando se emplea una celda que es calentada eléctricamente a la técnica analítica se le llama: *Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica o ET AAS*, por sus siglas en inglés. En el caso en que el atomizador electrotérmico se trate de un tubo de grafito, es común encontrar el nombre de: *Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito o GF AAS*, por sus siglas en inglés.

2.3.3. Absorción Atómica: Flama. (F AAS)

La absorción atómica en flama se lleva a cabo con la aplicación del principio originalmente descrito por Walsh. Se basa en la determinación de la absorción en el centro de la línea, usando una fuente de líneas estrechas que emite la longitud de onda de resonancia del elemento y cuyo perfil de líneas de emisión es inferior al perfil de líneas de absorción de la especie analítica en la flama.

Los equipos de absorción atómica por flama constan principalmente de los elementos que serán descritos a continuación.

Fuente de radiación

En la espectroscopia de absorción atómica la fuente de radiación es un dispositivo para generar radiación electromagnética con ciertas propiedades. En AAS, las fuentes de líneas

son preferidas, las cuales emiten energía a longitudes de onda de uno o más elementos. Se emplean principalmente dos tipos de fuentes de línea o lámparas espectrales: *lámparas de cátodo hueco o HCL* y *lámparas de descarga sin electrodo o EDL*.

Después de las fuentes de líneas, encontramos a las fuentes continuas, las cuales también son utilizadas como fuentes primarias de radiación aunque en menor medida, y son más comúnmente utilizadas como correctores de fondo espectral^[27, 29].

Lámparas de cátodo hueco o HCL

Las lámparas de cátodo hueco son el tipo de fuente de radiación más ampliamente utilizado en AAS. Una lámpara de cátodo hueco, es una lámpara espectral que posee un cátodo hueco, generalmente de forma cilíndrica, que está fabricado o cubierto de uno o más elementos a ser analizados. El ánodo es por lo general de tungsteno o níquel. El cilindro de vidrio de la lámpara, es llenado con un gas inerte, generalmente neón o argón, a una presión de aproximadamente 1 kPa.

La aplicación de una diferencia de potencial de unos 300 V a los electrodos causa la ionización del gas inerte y la generación de una corriente de 5-10 mA con la migración de los electrones y cationes de argón a los dos electrodos. Si el potencial es suficiente, los cationes de argón llegan al cátodo con la energía necesaria para desalojar algunos átomos del metal y así producir una nube atómica. Algunos de los átomos de metal desalojados están excitados y emiten en sus longitudes de onda características. Es importante recordar que los átomos que producen líneas de emisión en la lámpara están a presión y temperatura significativamente menores que los átomos del analito en la flama. Así pues, las líneas de emisión de la lámpara son más definidas y estrechas que los picos de absorción en la llama. Por último, los átomos de metal desalojados eventualmente se difunden de nuevo hacia la superficie del cátodo o bien, son depositadas en las paredes de la lámpara^[27, 29].

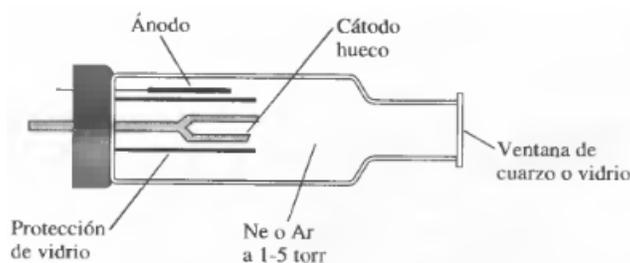


Figura 2.6: Diagrama de una lámpara de cátodo hueco^[27].

Lámparas de descarga sin electrodo o EDL

Las lámparas de descarga sin electrodo, son las fuentes de radiación para AAS que exhiben la mayor intensidad radiante y los anchos de línea más estrechos, alcanzando intensidades de uno o dos órdenes de magnitud mayores que las de cátodo hueco. Por lo general, se fabrican con un tubo de cuarzo sellado que contiene un gas inerte, como neón o argón, a una presión de unos cuantos torrs y una pequeña cantidad del metal analito o de su sal. La lámpara no posee electrodos; en su lugar posee un campo electromagnético intenso generado por radiación de radiofrecuencias o microondas. El argón se ioniza en este campo y los iones se aceleran por la alta frecuencia del campo, hasta llegar a tener energía suficiente para excitar (por colisión) a los átomos del metal de interés.

Están disponibles comercialmente lámparas de descarga sin electrodo para diversos elementos. Son particularmente útiles en el caso del As, Se y Te, para los que la intensidad de la lámpara de cátodo hueco es muy baja^[27, 29].

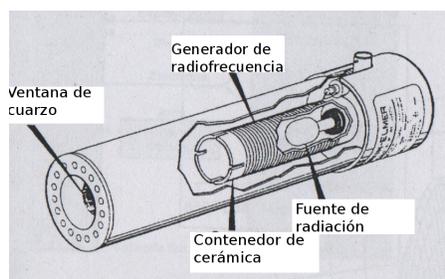


Figura 2.7: Diagrama de una lámpara de descarga sin electrodos.^[29]

Fuentes continuas En las fuentes continuas la radiación se distribuye continuamente sobre un intervalo bastante amplio de longitudes de onda. Son utilizadas por lo general, como correctores de fondo espectral. Pudiendo ser : lámparas de deuterio o de halógeno [27, 29].

Nebulizador

A pesar de que los sólidos se volatilizan directamente usando calor de inducción o bombardeo de electrones, por lo general, todos los espectrofotómetros comerciales dependen de una nebulización neumática de una muestra líquida, para poder proporcionar un flujo uniforme del aerosol hacia una flama que produce la atomización. La posición del orificio para la muestra es concéntrica o en ángulos rectos con el anillo por donde sale el gas aspirante. El líquido oscila al ser succionado a través del mismo capilar por medio de la presión diferencial generada por la corriente de gas de alta velocidad cuando ésta pasa por el mismo orificio, gracias al efecto Bernoulli. Se extraen filamentos de líquido del cuerpo de la solución. Estos filamentos se rompen en forma de gotas^[29]. La nube de gotas choca en la cámara de premezclado contra una obstrucción que puede ser: un deflector de flujo o una bola de impacto, cuya función es subdividir las gotas grandes en otras más pequeñas. El aerosol final, se mezcla con la combinación oxidante-combustible y se envía al quemador^[29].

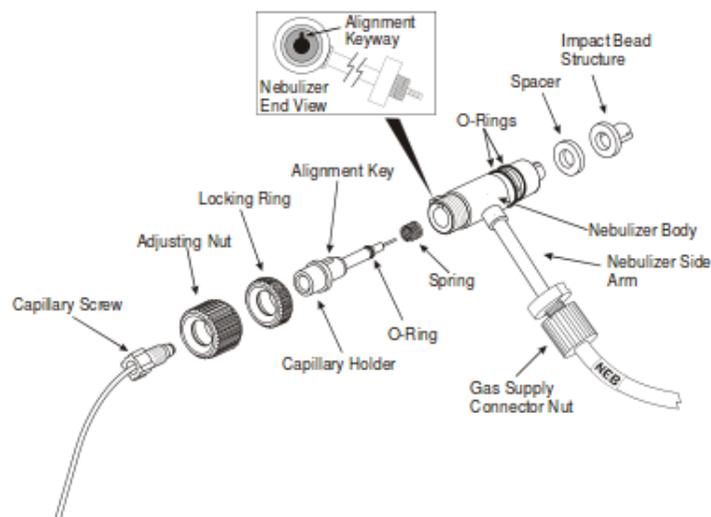


Figura 2.8: Diagrama de un nebulizador neumático para absorción atómica. Perkin-Elmer^[30].

Dependiendo del material con el que esté hecho el nebulizador podemos encontrar:

- Nebulizadores de acero inoxidable.
- Nebulizadores de aleaciones Pt-Ir o Pt-Rh.
- Nebulizadores de alta sensibilidad con Ta.
- Nebulizadores resistentes a la corrosión fabricados con plástico.

Las propiedades de cada nebulizador, dependen del material con el que están fabricados y su diferencia principal radica en la resistencia que presentan a la corrosión por acidez o sales disueltas^[34].

Atomizador

El proceso de atomización se lleva a cabo en la flama, producida por un quemador acanalado de flujo laminar con una ranura de 10 cm de largo y 0.5 mm de ancho (pudiendo inclusive encontrarse quemadores de 5 cm o con tres ranuras^{IV} ^V. El aerosol fluye a lo largo de la cámara de premezclado, donde se topa con una serie de pantallas que retienen todo excepto las gotas más finas. Como resultado, gran parte de la muestra se recoge en esa parte inferior de la cámara, donde se drena a un recipiente de desecho. La velocidad de flujo de la solución es generalmente de 2-5 mL/min. Finalmente, la mezcla de aerosol y gases oxidante-combustible, se queman en el quemador de ranura, el cual proporciona una flama de unos 5-10 cm de altura, produciendo una flama bastante estable^[27]. Gracias a estas propiedades (flama estable y longitud de trayecto larga), la sensibilidad y la reproducibilidad se ven incrementadas para la técnica^[25].

Debido a que la región óptima de la flama que se vaya a usar varía para diferentes elementos, es esencial que la altura del quemador sea ajustable para asegurar la máxima señal. Se recomienda eliminar los productos de la combustión y el calor por medio de una campana de extracción sobre el quemador.^{VI}

Procesos en la flama

En cuanto el aerosol producido por la nebulización en la cámara de premezclado se transporta a la flama del quemador, se llevan a cabo los siguientes sucesos^[34]:

1. El disolvente se evapora dejando partículas diminutas de sales secas. *Desolvatación*.
2. Los sólidos secos se convierten al estado gaseoso. *Vaporización*.

^{IV}Usados principalmente cuando se tiene que trabajar con flamas más oxidantes (Óxido Nitroso-acetileno), para evitar el riesgo de explosión.

^VEl uso de un tipo de quemador u otro, depende principalmente del analito y de la flama requerida para su análisis.

^{VI}Entre los residuos que se pretende eliminar se encuentran: Óxidos metálicos, Residuos de materia orgánica, Residuos ácidos, etc.

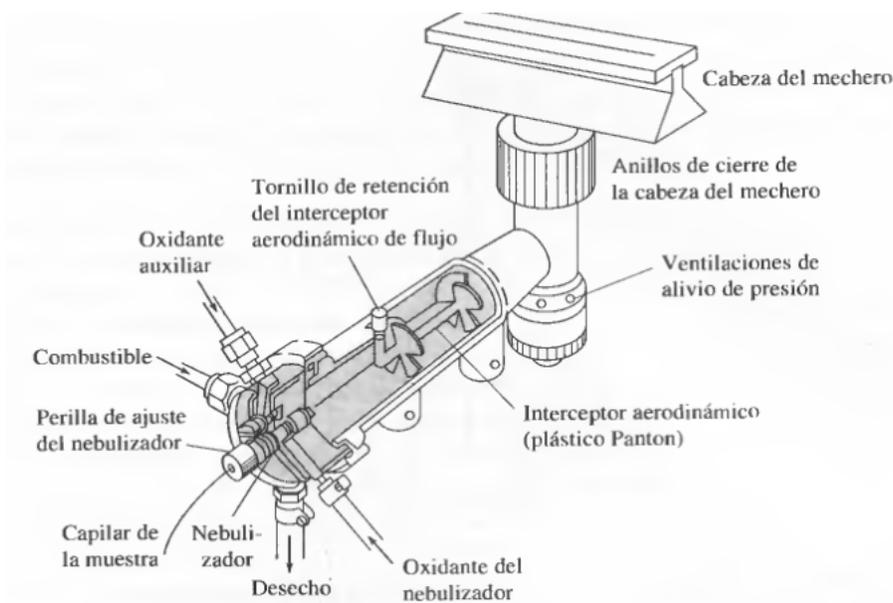


Figura 2.9: Diagrama de un quemador de flujo laminar empleado en espectroscopia de absorción atómica de flama^[27].

3. Parte o la totalidad de las moléculas gaseosas se van disociando con formación de átomos o radicales neutros. *Atomización.*
4. Una vez formados los átomos libres, pueden llevarse a cabo una serie de situaciones diferentes:
 - La incidencia de la radiación proveniente de la lámpara, provoca la excitación de los átomos y la disminución de la energía radiante. *Absorción.*
 - Estas mismas especies neutras, después de ser excitadas, pueden regresar al estado basal, con la correspondiente emisión de fotones. *Emisión.* Las cuales en algunos casos, pueden inclusive ser absorbidos, por átomos neutros en la misma flama. *Autoabsorción.*
 - Una porción de los átomos neutros puede excitarse térmicamente por colisiones

con los componentes de los gases que no se han quemado por completo, y pueden incluso llegar a ionizarse *Ionización*.

- Algunos de los átomos neutros pueden llegar a combinarse con radicales de los gases de la flama, para formar nuevos compuestos gaseosos tales como óxidos metálicos, dando lugar a interferencias químicas.

Los principales requerimientos de una flama satisfactoria son: que tenga una temperatura adecuada y una relación oxidante-combustible apropiada para llevar a cabo las funciones anteriores y para que el espectro de la propia flama no interfiera con la observación de las características de emisión o absorción que se estén midiendo.

La temperatura de la flama es la característica fundamental que determina la factibilidad de la técnica, el valor exacto depende de la relación de los gases oxidante-combustible, y del tipo de gases que se utilice. Las temperaturas más altas se alcanzan generalmente, en condiciones de proporción estequiométrica. En la tabla 2.5 se muestran las características de algunas flamas premezcladas comunes.

Tabla 2.5: Características de algunas flamas premezcladas comunes^[34].

Combustible	Oxidante	Temperatura α , ° C	Velocidad de quemado β , cm/s
Acetileno	Aire	2400	160-266 (160)
Acetileno	Óxido nitroso	2800	260
Acetileno	Oxígeno	3140	800-2480 (1100)
Hidrógeno	Aire	2045	324-440
Hidrógeno	Óxido nitroso	2690	390
Hidrógeno	Oxígeno	2660	900-3680 (2000)
Propano	Aire	1925	43

^{α} Mezcla estequiométrica.

^{β} Los valores entre paréntesis son quizá los más aplicables a quemadores de laboratorio.

* En negritas se resaltan aquellas mezclas que son empleadas en la actualidad.

2.3.4. Interferencias en F AAS

Interferencias físicas

Son aquellas que modifican los procesos de aspiración, nebulización, desolvatación y volatilización. Así, las sustancias de la muestra que cambian la viscosidad de la disolución pueden alterar la velocidad de flujo y la eficacia del proceso de nebulización. Los componentes combustibles, como los disolventes orgánicos, modifican la temperatura del atomizador y como consecuencia afectan indirectamente a la eficacia de la atomización^[27].

Interferencias químicas

Normalmente son específicas de ciertos analitos. Ocurren en la conversión de la partícula sólida o fundida después de la desolvatación en átomos libres. Los componentes que influyen en la volatilización de las partículas del analito causan este tipo de interferencia y frecuentemente se llaman **Interferencias de volatilización del soluto**^[27].

Interferencias espectrales

Las interferencias de líneas espectrales se presentan cuando una línea de interés no puede resolverse y separarse de la línea de otro elemento o de una banda molecular. Las interferencias de este tipo están muy relacionadas con el poder de resolución del monocromador^[27].

Absorción de fondo

Esta es una atenuación no específica de la luz a la longitud de onda del analito, ocasionada por componentes presentes en la matriz de la muestra. Estas bandas de absorción se deben normalmente a absorción molecular o a dispersión de la luz causada por compuestos sin disociar de la matriz en el camino óptico durante la atomización^[27].

Interferencias de Ionización

Este tipo de interferencia está relacionada con la temperatura de la flama. En ocasiones la temperatura de la flama es tal, que puede provocar la ionización de muchos elementos. La ionización produce una disminución de la población de átomos neutros, tanto normales como excitados y reduce la sensibilidad^[27, 34].

Interferencias no espectrales

Las interferencias no espectrales resultan cuando diversos componentes de la matriz inhiben la formación de átomos libres del analito. Las interferencias no espectrales se representan generalmente de acuerdo con la siguiente ecuación^[32, 34]:



Donde:

- M^0 átomos libres del analito
- X^0 átomos de algún componente de la matriz
- MX Compuesto poco volátil

2.3.5. Corrección de interferencias

En general, cuando se conoce la naturaleza de la interferencia, ésta puede ser corregida o eliminada a la hora de realizar el análisis. La forma de eliminar la interferencia depende de la naturaleza de la misma. Por ejemplo, algunas interferencias físicas pueden eliminarse con la dilución de la muestra. Las interferencias espectrales se pueden corregir, simplemente con la elección de una longitud de onda diferente, en el caso que fuera necesario.

Algunas interferencias químicas pueden eliminarse con la adición de agentes protectores o liberadores del analito, así como supresores de ionización, para las interferencias de ionización.

Finalmente, las interferencias debidas a la absorción de fondo, se corrigen midiendo la absorbancia total y la absorbancia de fondo, para obtener la absorbancia del analito por diferencia. Existe varias maneras de realizar la corrección de fondo.^[27, 32]

- **Corrección de fondo de fuente continua.** Un sistema de corrección de fondo muy utilizado en los espectrómetros de absorción atómica comerciales es el empleo de una lámpara de emisión continua. Así, se alterna la emisión de la lámpara de cátodo hueco del analito con la emisión de la fuente continua.^{vii}. El detector estima la absorbancia total cuando la radiación incidente proviene de la lámpara de cátodo hueco, el detector emplea además la señal proveniente de la fuente continua para realizar una estimación de la absorbancia de fondo. El sistema informático o procesador electrónico calcula la diferencia y muestra la absorbancia con corrección de fondo. Este método tiene limitaciones en el caso de elementos con líneas en el espectro visible, ya que la intensidad de la lámpara de D₂ se vuelve muy baja en dicha región^[27].
- **Corrección de fondo con lámpara de cátodo hueco pulsada.** En esta técnica, frecuentemente denominada corrección de fondo de Smith-Hieftje, la lámpara de cátodo hueco se somete a variaciones de corriente (pulsos)^[27].

Sin embargo, la corrección de fondo empleando una fuente continua es la más utilizada.

2.3.6. Absorción Atómica: Horno de Grafito. (GF AAS)

Los atomizadores electrotérmicos, que aparecieron en el mercado hacia 1970, proporcionan una sensibilidad incrementada porque la muestra completa se atomiza en un breve periodo y el tiempo de residencia promedio de los átomos en el trayecto óptico es de 1 s o

^{vii}Lámpara de Deuterio

más. Además, las muestras se introducen en un horno de volumen limitado, lo que significa que no se diluyen tanto como en una flama. Este tipo de atomizadores se utiliza en medidas de absorción y de fluorescencia atómica.

En el caso de los atomizadores electrotérmicos, unos cuantos microlitros de muestra se depositan en el horno con una jeringa o automuestreador. Después se pone en funcionamiento una sucesión programada de fenómenos de calentamiento, cuyos pasos fundamentales son^[27, 32]:

- *Secado.* Una vez que la muestra ha sido inyectada en el tubo de grafito (5-20 μL), se calienta a una temperatura algo inferior al punto de ebullición del disolvente (usualmente cercano a 100 ° C). El objetivo de esta etapa es la evaporación del disolvente y de los compuestos volátiles de la matriz.
- *Calcinado.* El próximo paso del programa es el calcinado por incremento de la temperatura, para remover la mayor cantidad de material (materia orgánica) de la muestra como sea posible, sin pérdida del analito. La temperatura de calcinación usada varía típicamente en el intervalo de 350-1500 ° C. Durante el calcinado, el material sólido se descompone mientras que los materiales refractarios, como algunos óxidos, permanecen inalterados.
- *Atomización.* En esta etapa, el horno se calienta rápidamente a altas temperaturas (1800-2800 ° C) para vaporizar los residuos del paso de calcinado. Este proceso lleva a la formación de átomos libres en el camino óptico. Se mide la absorbancia durante este paso. La temperatura de atomización depende de la volatilidad del elemento.
- *Limpieza.* En la etapa para la limpieza del horno, se alcanza una temperatura algo superior a la temperatura de atomización a fin de eliminar cualquier rastro de analito remanente y evitar el efecto de memoria.

Cuanto mejor sea la separación de los elementos contaminantes del analito, mejor será la atomización y la determinación estará más libre de interferencias.

Atomizadores electrotérmicos

En este sistema, la atomización tiene lugar en un tubo cilíndrico de grafito abierto en ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la muestra mediante un inyector automático. Este tubo intercambiabile se ajusta perfectamente a un par de contactos eléctricos que se ubican en los dos extremos del mismo. Estos contactos se mantienen dentro de un módulo refrigerado por agua. Dos corrientes de gas inerte circulan por este módulo: una corriente externa que evita la entrada de aire exterior y permite que dentro del tubo se alcance la atomización de la muestra y una corriente interna que fluye por entre los dos extremos del tubo y sale por el orificio central del compartimiento de muestra. Esta corriente no sólo elimina el aire sino que sirve también para desalojar los vapores generados a partir de la matriz de la muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento^[32].

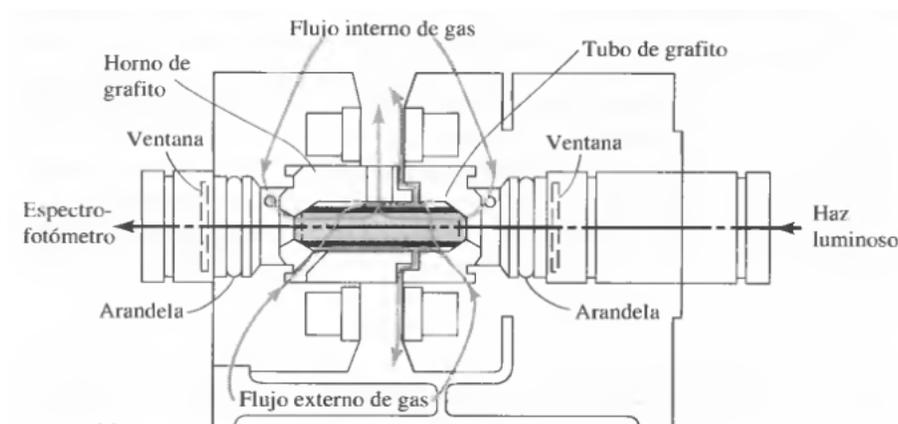


Figura 2.10: Corte transversal de un atomizador de horno de grafito^[27].

Se ha demostrado que reduciendo la porosidad natural del tubo de grafito pueden disminuirse algunos efectos de la matriz y mejorarse la reproducibilidad en aquellos aspectos asociados al proceso de atomización. Para mitigar este efecto, suele recubrirse la superficie de grafito con una fina capa de grafito pirolítico, que permite sellar los poros del horno^[32].

Existen dos tipos de tubos de grafito: con plataforma incorporada y sin plataforma. Los tubos provistos con plataforma poseen una pieza de grafito pirolítico sólido que contiene una depresión central para contener el líquido. La muestra se evapora y se calcina sobre esta plataforma de acuerdo con el programa de temperatura establecido previamente^[32].

El aumento de temperatura es controlado dentro del tubo, debido a que un aumento brusco en la misma retrasa la atomización ya que la muestra no tiene el tiempo de contacto suficiente con la pared del horno. De este modo, se obtienen resultados más reproducibles.

La atomización del analito que ocurre en la plataforma se desarrolla en un ambiente significativamente más caliente que si hubiese ocurrido en la pared del tubo de grafito. Uno de los beneficios de la plataforma es proporcionar un ambiente a elevadas temperaturas cuando se da el proceso de atomización; de este modo, se consigue disminuir las interferencias y las señales de fondo generadas por los elementos volátiles^[32].

Sin embargo, las plataformas pirolíticas poseen limitaciones prácticas. El volumen de muestra que puede ser descargado dentro de la plataforma está limitado. Las plataformas también pueden causar una pequeña reducción en el rendimiento de la luz, por lo que la alineación es crítica para asegurar un máximo de beneficio. Además, se requieren programas térmicos que alcancen temperaturas más elevadas.

Los tubos de grafito transversales eliminan los problemas asociados con los dispuestos en forma longitudinal. Los tubos transversales incluyen dispositivos de cada lado, los cuales están insertos en los contactos eléctricos. Cuando se aplica una diferencia de potencial eléctrico, el tubo se calienta alrededor de su circunferencia (de manera transversal), de esta forma, se reducen los problemas de condensación que ocurren en el sistema anterior. Una ventaja adicional de los sistemas de tubos transversales es que permiten la corrección por efecto Zeeman y proveen una mejora significativa en el rendimiento de la luz^[32].

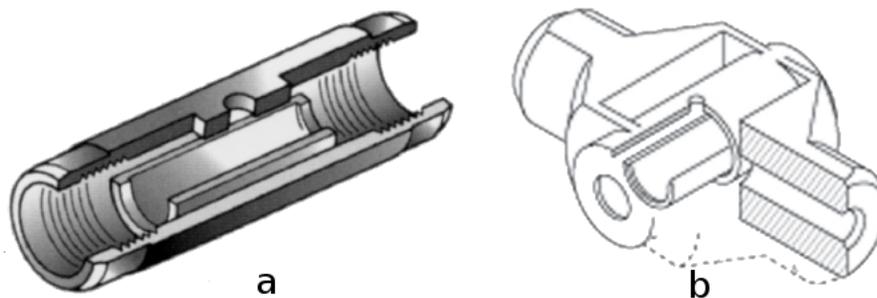


Figura 2.11: Tubos de grafito. a) Diagrama de un tubo longitudinal, con plataforma. b) Diagrama de un tubo transversal^[19].

2.3.7. Interferencias en GF AAS

En general, las interferencias que afectan la señal del analito en la técnica de F AAS, son las mismas que afectan la señal para la técnica de GF AAS. Por lo que, no se explicarán detalladamente, sin embargo la corrección de interferencias varía un poco.

Corrección de interferencias

La corrección de interferencias en GF AAS es un ligeramente diferente a la de F AAS, esto debido al cambio en el atomizador para la técnica de GF AAS. Aunque algunas interferencias se eliminan de la misma manera que en F AAS, con la adición de modificadores de matriz y dilución de la muestra; existe además la posibilidad de modificar el programa de temperaturas, para conseguir una mejor separación del analito de su matriz y obtener de esta manera la mayor señal del analito. O bien, el empleo de la corrección de fondo por efecto Zeeman, que no se puede realizar en la técnica de F AAS.

Corrección de fondo por efecto Zeeman. El efecto Zeeman es el cambio del espectro atómico cuando un átomo es modificado por acción de un campo magnético: la señal de absorción única se desdobra en dos o más componentes simétricamente dispuestos en torno a la posición normal de absorción. Por otro lado, el espectro de absorción de fondo no se

Tabla 2.6: Tabla comparativa entre las técnicas de Espectrometría de Absorción Atómica por Flama (F AAS) y Espectrometría de Absorción Atómica por Horno de Grafito (GF AAS).

	F AAS	GF AAS
Atomizador	Quemador de flama	Horno de Grafito
Control de temperatura	Depende de la flama	Programa de temperaturas
Volumen de muestra	3-5 mL	5-20 μ L
Límite de detección	Orden de ppm (mg/kg)	Orden de ppb (μ g/kg)
Corrección de fondo	Fuente Continua	Efecto Zeeman
Tiempo de lectura (3 réplicas)	0.5-1 min/muestra	10 min/muestra

afecta por campos magnéticos. Así, la absorción del analito y de fondo pueden separarse por sus comportamientos magnético y de polarización diferentes^[32].

2.3.8. Comparativa entre las diferentes técnicas de absorción atómica.

Para finalizar este capítulo, solamente falta realizar un breve resumen a modo de comparación entre las dos técnicas de absorción atómica, que se emplearon, en donde se expresan las principales similitudes y diferencias entre las dos técnicas, así como sus ventajas y desventajas, veáse Tabla 2.6.

2.4. Validación de la Metodología Analítica.

La validación parcial de la metodología analítica se realizó, empleando la Guía de la EURACHEM^[35]. Para ello se evaluaron algunos parámetros de desempeño.

2.4.1. Definiciones

Para comprender exactamente los alcances de la validación es necesario, empezar por definir ¿Qué es la validación?

Validación. Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.

Validación de un Método:

El proceso de establecer las características de desempeño y limitaciones de un método y la identificación de las influencias que pueden modificar esas características y hasta que punto. O bien, el proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito, o sea, para resolver un problema analítico particular.

A partir de la definición de validación se observa, que existen una serie de parámetros que el analista debe de estudiar, para considerar validada su metodología. Entre estos parámetros encontramos:

- **Selectividad.** La capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes en una matriz de muestra bajo las condiciones de prueba establecidas.
- **Límite de Detección. (LoD)** La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba. Para fines de la guía se calcula:
 1. Analizando 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno.
 2. Se determina el promedio y la desviación estándar.
 3. Finalmente, se expresa LoD como: El valor promedio de los blancos de muestra más tres veces la desviación estándar.

$$LoD = \tilde{b} + 3\sigma \quad (2.4)$$

- **Límite de Cuantificación. (LoQ)** El contenido igual o mayor que el menor punto de concentración en la curva de calibración. O bien, la menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión (repetibilidad) y una exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas de la prueba.

Para fines de la guía se calcula:

1. Analizando 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno.
2. Se determina el promedio y la desviación estándar.
3. Finalmente, se expresa LoQ como: El valor promedio de los blancos de muestra más diez veces la desviación estándar.

$$LoQ = \tilde{b} + 10\sigma \quad (2.5)$$

- **Linealidad.** Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito. De aquí se deduce que el *Intervalo lineal* es el intervalo de concentraciones del analito dentro del cual los resultados de prueba obtenidos por el método son proporcionales a la concentración del analito.
- **Intervalo de trabajo.** Conjunto de valores del mensurando para los cuales se pretende que el error de un instrumento de medición caiga dentro de los límites especificados. Para fines de la guía: El intervalo de trabajo, forma parte del intervalo lineal, y tiene como punto más bajo el LoQ.
- **Exactitud.** Expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. Se estudia en dos componentes: la veracidad y la precisión.
 - **Veracidad.** Es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. Para fines de la guía se calcula:
 1. Se analizan diez blancos reactivo y diez muestras de material de referencia usando el método candidato, por separado.

2. Se determina el valor promedio de cada caso.
 3. Al valor promedio obtenido del material de referencia se le resta el valor promedio de los blancos reactivo.
 4. Finalmente, la diferencia entre el valor verdadero aceptado y el valor medio obtenido es el resultado, mismo que se escribe como el sesgo del método.
- **Precisión.** Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Comprende entonces las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. Para fines de la guía se calcula:
 - *Repetibilidad.* Calculada bajo condiciones de repetibilidad se determina empleando materiales de referencia o muestras fortificadas y determinando la desviación estándar bajo estas condiciones.
 - *Reproducibilidad.* Calculada bajo condiciones de reproducibilidad se determina empleando materiales de referencia o muestras fortificadas y determinando la desviación estándar bajo estas condiciones. Es posible hacer inclusive, pruebas interlaboratorios que proveen un estimado de la desviación por reproducibilidad.
 - **Recuperación.** Determinar la capacidad del método para determinar todo el analito presente en una matriz. Generalmente se calcula a partir de fortificaciones que se practican a las muestras. Determinando el porcentaje que se ha recuperado de la adición. Sin embargo, también es posible determinar la recuperación empleando un material de referencia certificado, para ello se determina la recuperación del analito relativa al valor certificado, y dependiendo de cómo fue producido y caracterizado el material de referencia certificado, es posible obtener recuperaciones superiores al

100 %.

- **Sensibilidad.** El cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio del estímulo. Para fines de la guía se estima a partir de la pendiente de las curvas de calibración.
- **Robustez.** La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal. Para fines de la guía se identifican las variables que pueden tener un efecto significativo en el desempeño del método y se establecen experimentos para observar el efecto sobre la exactitud y la precisión de variables que se van cambiando sistemáticamente.
- **Incertidumbre.** Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando. Se entiende que el resultado de la medición es la mejor estimación del valor del mensurando y que todos los componentes de la incertidumbre, tales como los componentes asociados con correcciones y patrones de referencia, contribuyen a la dispersión.

Capítulo 3

Desarrollo experimental

Un error mínimo al principio puede ser máximo al final.

Aristóteles

Fusílenlo, después averiguamos.

Pancho Villa

El que sirve a una revolución labra el mar.

Simón Bolívar

3.1. Material, reactivos y equipo utilizado

3.1.1. Material

- Espátula de acero-níquel.
- Micropipetas de 20-200, 100-1000 y 500-5000 μL .
- Matraces volumétricos de 10, 25, 50 y 100 mL.
- Pizeta.
- Frascos de plástico.
- Embudos de plástico.
- Vasos de teflón para digestión en microondas.
- Material de limpieza: recipientes con tapa para las soluciones de Hyclin al 2% y HNO_3 al 30%.

3.1.2. Reactivos

- Ácido Nítrico 69-70% INSTRA ANALYZED, Marca J.T. Baker.
- Peróxido de hidrógeno al 30%. Grado R.A. Marca J.T. Baker.
- Disolución estándar de plomo y zinc (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) Perkin-Elmer.¹
- Agua desionizada.
- Solución de detergente neutro libre de fosfatos 'Hyclin'¹¹ al 2%.
- Solución de ácido nítrico al 30% para la limpieza del material. Grado Reactivo.

¹Se utilizaron también estándares de cadmio y cromo (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$), así como una solución multielemental, para los primeros estudios.

¹¹De conformidad con las recomendaciones técnicas de buenas prácticas de laboratorio de CENAM

- Modificadores de matriz: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)(\text{H}_2\text{PO}_4)$, Solución de Pd.
- Material de Referencia Certificado: SRM 1547 Peach Leaves NIST.

3.1.3. Equipo

- Estufa.
- Desionizador BARNSTEAD Corporation.
- Balanza analítica SARTORIUS BP221S.
- Horno de microondas Milestone mod. MLS 1200 mega.
- Espectrofotómetro de absorción atómica con flama. Perkin-Elmer Mod. 3100.
- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer AAnalyst 600 con horno de grafito, acoplado a un automuestreador Perkin-Elmer AS 800.
- Lámparas de cátodo hueco: Pb y Zn. ^{III}
- Espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente. ^{IV}

3.2. Lavado de material

Debido a que las concentraciones de los metales, presentes en las matrices son muy bajas, del orden de $\mu\text{g}/\text{mL}$ o $\mu\text{g}/\text{L}$, es sumamente importante que el material de laboratorio que se emplea esté en condiciones de ser utilizado, es decir, se encuentre perfectamente limpio y libre de contaminantes. Es por ello que se llevó a cabo el siguiente procedimiento para asegurar la limpieza del material.^[36]

^{III}Se usaron además: lámpara de descarga sin electrodos de Cd y lámpara de cátodo hueco de Cr, para los primeros estudios.

^{IV}Para el análisis semi-cuantitativo.

1. El material que se desea utilizar, se enjuaga con agua corriente.
2. Una vez enjuagado, se introduce en una solución de detergente Hyclin libre de fosfatos al 2 %, durante 8 horas.
3. Posteriormente, se realiza un segundo proceso de enjuague, para eliminar todo rastro de detergente.
4. Una vez acabado, el segundo enjuague, se procede a introducir el material a una solución de HNO₃ Grado Reactivo al 30 %, durante 8 horas.
5. Finalmente, el material es retirado de la solución de HNO₃ y se procede a enjuagar con agua desionizada.
6. Una vez, que el material ha sido enjuagado con el agua desionizada, se coloca en charolas de plástico para su secado a temperatura ambiente.
7. El material seco y limpio, se almacena en bolsas de polietileno en un lugar limpio, para su uso posterior.

3.3. Muestreo

3.3.1. Sondeo previo

Se realizó un sondeo, el día 27 de septiembre de 2011, en la zona de Xochimilco con la finalidad de revisar las condiciones en las que se encontraba la zona en la que se iba a realizar el muestreo.

En un principio se consideró la posibilidad de realizar el muestreo directamente en la zona de cultivo, sin embargo, debido a que no se pudieron conseguir los permisos ni el apoyo de la población, se decidió tomar las muestras del mercado de Xochimilco.

3.3.2. Zona de muestreo

La zona de muestreo elegida es el mercado de Xochimilco, con dirección: Mercado de Xochimilco, Calle 16 de Septiembre entre Franciso I. Madero y Vicente Guerrero, Delegación Xochimilco, a unas cuadras de la estación del tren ligero *Xochimilco*.

3.3.3. Tipo de muestreo

Tomando en cuenta que la zona de muestreo es un mercado, el tipo de muestreo que se realizó fue el siguiente:

Muestreo de tipo sistemático. Se considera cada puesto como un punto de muestreo y cada chilacayote como una muestra diferente.

3.3.4. Tamaño muestral

Se tomaron en total 30 muestras de chilacayote natural, de un total de 9 puntos de muestreo, considerado el mínimo número de muestras para realizar un análisis estadístico.

3.4. Tratamiento Físico

3.4.1. Secado

Para confirmar que las muestras habían alcanzado condiciones de peso constante, se realizaron curvas de secado hasta peso constante. Para ello se tomó una porción de cada chilacayote natural fresco y se colocaron en cajas petri previamente lavadas y secas.

Se determinó la masa de la caja de petri sola y se anotó: m_{cp} . Se llenó la caja con la muestra de chilacayote natural y se determinó la masa: m_{cp+cn0} . La masa inicial de chilacayote natural se determina entonces, por diferencia: $m_0 = m_{cp+cn0} - m_{cp}$.

Se colocaron las muestras en la estufa aproximadamente a 70°C , durante una semana. Cada 24 horas aprox. las muestras eran retiradas de la estufa y colocadas, en un desecador, para evitar que se rehumedecieran y una vez alcanzada la temperatura ambiente, se

determinaba la masa. m_{cp+cnx} . La masa correspondiente al chilacayote natural para el día se determinaba por diferencia de peso. $m_x = m_{cp+cnx} - m_{cp}$.

Finalmente, el porcentaje de humedad para cada día se calculó como una relación de masas. Véase la ecuación 3.1.

$$\%Humedad = \left(1 - \frac{m_{cp+cnx} - m_{cp}}{m_{cp+cn0} - m_{cp}}\right) * 100 = \left(1 - \frac{m_x}{m_0}\right) * 100 \quad (3.1)$$

Con estos datos, se observó que con una semana de secado a 70°C , era suficiente para alcanzar el peso constante. Sin embargo, en la práctica debido a que las muestras eran muy sensibles a la putrefacción fue necesario emplear una estufa más grande en donde se colocaron el total de las muestras a la temperatura anterior por una semana y posteriormente se colocaron en la estufa más pequeña a 50°C y se monitorearon hasta que se alcanzara el peso constante. Véase la figura 3.1.

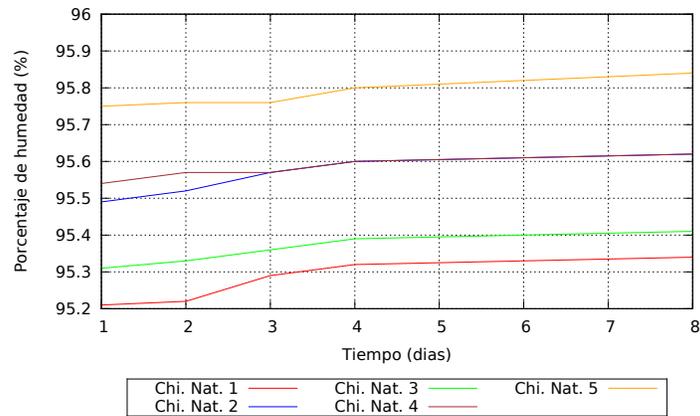


Figura 3.1: Curva de secado a peso constante basado en porcentaje de humedad: Chilacayote Natural

En caso de que las muestras estuvieran en la estufa por más de 2 semana y todavía se

presentaran ligeras variaciones de peso sin alcanzar el peso constante, estas eran retiradas de la estufa y el peso final obtenido se considera como constante, esto debido a que las curvas de secado demuestran que la variación es mínima y la consideración de peso constante, es válida.

3.4.2. Homogeneizado

Una vez obtenido el peso constante, las muestras se colocaron en un mortero de cerámica, donde fueron trituradas, para obtener un polvo fino. Mismo que fue cuarteado para obtener la muestra que se iba a colocar en digestión.

3.5. Tratamiento Químico

Se pesaron 0.5 g de muestra seca y triturada, por triplicado, en los vasos de microondas, donde se les adicionaron 4 mL de HNO₃ concentrado INSTRA y 2 mL de H₂O₂ concentrado J.T. Baker. Se procedió entonces al proceso de digestión en el horno de microondas MILESTONE, véase la Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Programa de digestión para las muestras de Chilacayote Natural. Horno de microondas: Milestone MLS 1200 MEGA.

Etapa	Tiempo (min)	Potencia (W)
1	2	250
2	2	0
3	6	250
4	5	600
Ventilación	20	0

Una vez acabado el programa de digestión, se dejaron enfriar por 30 min, en un recirculador de agua, para alcanzar la temperatura ambiente. Alcanzada la temperatura ambiente,

los vasos se abrieron y se procedió a filtrar la solución obtenida. Empleando para ello el papel filtro Whatmann 42 y los embudos de plástico, llevando a un volumen final de 10 mL, en los matraces volumétricos.

Finalmente, con la solución obtenida se procede a cuantificar los elementos por las diferentes técnicas descritas con anterioridad.

Se realizó además una serie de digestión empleando un sistema abierto, encontrando que no se conseguía la digestión completa de las muestras. Por lo que no se recomienda el empleo de la digestión por sistema abierto y solamente se recomienda el empleo del proceso de digestión con el horno de microondas descrito con anterioridad.

3.6. Análisis Semicuantitativo

Se realizó un análisis de tipo semicuantitativo, para sondear la concentración de elementos presentes en las muestras. Dicho estudio se llevó a cabo empleando un Espectrómetro de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado marca Perkin Elmer, con el que cuenta el laboratorio.

Para ello se realizaron unas curvas de calibración de 0-30 $\mu\text{g/L}$, utilizando estándares de concentración: 0,0.5,1,5,10 y 30 $\mu\text{g/L}$ preparados a partir de una solución multielemental de 1000 mg/L, de manera gravimétrica. Las muestras fueron diluidas 1:2, con agua desionizada. Y se procedió a la lectura en el equipo.

Con base en los resultados obtenidos, se decidió analizar los siguientes metales: Pb y Zn. A pesar de que no se apreció señal para el Pb en el análisis semicuantitativo, se decidió analizar este metal, por GF AAS. ^v

^vVéanse los resultados en la sección de apéndices.

3.7. Optimización de la Metodología: Pb.

3.7.1. Intervalo lineal.

Para comprobar la linealidad de las mediciones se realizó una curva de calibración de 0-100 $\mu\text{g/L}$. Y se observó la concentración a la cual, ya no se mantenía la linealidad. Para ello se preparó un estándar de plomo de 150 $\mu\text{g/L}$ y se programó el equipo para que realizara las diluciones correspondientes para obtener estándares de 0 $\mu\text{g/L}$, 22 $\mu\text{g/L}$, 44 $\mu\text{g/L}$, 66 $\mu\text{g/L}$, 88 $\mu\text{g/L}$ y 110 $\mu\text{g/L}$. Considerando 5 μL de Modificador de Matriz y un volumen total de inyección de 20 μL .

3.7.2. Estudio de los modificadores de Matriz.

Se realizó una comparación entre el efecto de dos modificadores de matriz y la mezcla. Para ello se prepararon tres soluciones de modificador de matriz.

- Solución de Modificador de Matriz $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. (750 $\mu\text{g/mL}$ de NH_4)
- Solución de Modificador de Matriz $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. (750 $\mu\text{g/mL}$ de Mg).
- Solución de Modificador de Matriz $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. De forma que: en 5 μL haya 0.2 mg de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ y 0.01 mg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

En esta parte experimental se realizó una comparación de los resultados de las curvas de calibración obtenidas con los diferentes modificadores de matriz, así como los valores obtenidos de los porcentajes de recuperación para el material de referencia certificado, con la finalidad de probar el efecto que tenía el modificador de matriz. Se eligió entonces, el modificador de matriz que proporcionara: la mejor linealidad y la mayor recuperación, los resultados se presentan en la figura 3.2 y tabla 3.2.

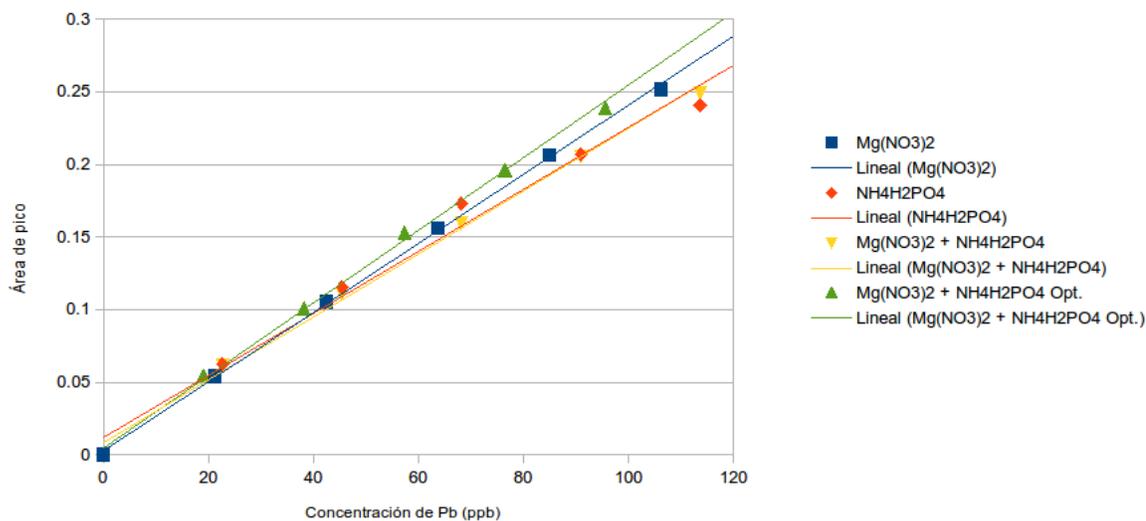


Figura 3.2: Gráfica de plomo intervalo lineal. 0 - 100 $\mu\text{g/L}$. Diferentes Modificadores de Matriz.

Tabla 3.2: Comparación de los efectos de los diferentes modificadores de matriz.

Mod. de Matriz	Recuperación (%)	Coef. Correlación (R^2)
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	0.96 %	0.9994
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	8.94 %	0.9851
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	113.70 %	0.9966
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ Opt.*	107.48 %	0.9984

*Resultado obtenido con las condiciones optimizadas de temperatura de calcinación y atomización.

A pesar de que la curva es lineal, prácticamente hasta 120 $\mu\text{g/L}$, el intervalo de concentraciones en el que se realizaron las curvas de calibración fue: 0-15 $\mu\text{g/L}$.

3.7.3. Optimización del programa de temperaturas.

Se realizó una corrida de temperaturas de calcinación y de atomización, empleando 20 μL de solución de Dulce de Chilacayote y 5 μL del modificador de matriz, sin adición de plomo. ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$). Con la finalidad de observar la variación de la señal obtenida con la temperatura. ^{vi}

Para la temperatura de calcinación se realizó una corrida de 650 - 1050 ° C, con una rampa de 100 ° C. Y para la temperatura de atomización una corrida de 1400 - 1800 ° C con una rampa de 100 ° .En ambos casos, se tomó en consideración la señal obtenida y el % RSD. Los resultados se presentan en la tabla 3.3.

Tabla 3.3: Optimización del programa de temperaturas: Temperatura de Calcinación.*

Temp. Calcinación (°C)	Área de pico	% RSD
650	0.0240	1.97
750	0.0239	0.72
850	0.0235	1.13
950	0.0236	0.88
1050	0.0238	0.97

*La temperatura de Atomización empleada fue: 1600 ° C.

La temperatura de calcinación del programa preestablecido en el manual del equipo era: 850° C, mientras que la temperatura de atomización del programa preestablecido de temperaturas en el manual del equipo era: 1600 ° C. Basados en los resultados de la tabla 3.3, se tomó la decisión de que la temperatura de calcinación debía permanecer inalterada, es decir, emplear la temperatura de 850 °C, ya que la variación en la señal (área de pico), entre las diferentes temperaturas estudiadas es mínima.

^{vi}El estudio del efecto de matriz, se revisó con la comparación de las metodologías de: adición de estándar y calibración directa. Véase sección 3.7.4.

En la tabla 3.4 se presentan los resultados obtenidos en la optimización de la temperatura de atomización, se observa que la disminución de la misma, proporciona un aumento en la señal y una disminución del %RSD. Es por ello que se decidió disminuir la temperatura a 1500 ° C, en comparación con la temperatura del programa preestablecido, para aumentar ligeramente la señal y disminuir su %RSD y de alguna manera alargar el tiempo de vida del tubo de grafito.

Tabla 3.4: Optimización del programa de temperaturas: Temperatura de Atomización

Temp. Atomización (°C)	Área de pico	% RSD
1400	0.0268	1.49
1500	0.0252	0.69
1600	0.0239	0.97
1700	0.0223	1.37
1800	0.0216	1.41

*La temperatura de calcinación empleada fue: 850 ° C.

3.7.4. Comparación de los métodos: Calibración Directa y Adición de Estándar.

Una vez, obtenidas las condiciones optimizadas: Modificador de Matriz, Temperatura de Calcinación y Temperatura de Atomización, se procedió a comprobar si existía una interferencia de matriz grave. Para ello se determinó la concentración de una serie de muestras empleando el Método de Calibración Directa, en comparación con el Método de Adición de Estándar.

Se determinó la diferencia entre las concentraciones obtenidas por ambos métodos y se calculó el promedio y la desviación estándar.

El resultado final confirma el hecho que no es necesario el empleo del Método de Adiciones Estándar, ya que no existe evidencia que demuestre que las medias de los resultados

obtenidos por los dos métodos sean diferentes, como puede observarse en la tabla 3.5.

Tabla 3.5: Comparación de los Métodos: Calibración Directa y Adición de Estándar.

Muestra	Calibración Directa	Adición de Estándar	Diferencia
1	0.77	0.72	0.05
2	0.83	0.90	-0.07
3	0.82	0.84	-0.02
4	0.56	0.52	0.04
5	0.77	0.77	0.00
6	0.41	0.44	-0.03
7	0.37	0.40	-0.03
8	0.36	0.34	0.02
9	0.50	0.46	0.04
Promedio	0.60	0.60	0.00
Desv. Est.	0.20	0.21	0.04

3.7.5. Resumen

Finalmente, a modo de resumen se presentan en una tabla las condiciones recomendadas para la determinación de plomo en Chilacayote Natural. Mediante la técnica de Horno de Grafito. Ver tabla 3.6.

Tabla 3.6: Condiciones optimizadas recomendadas para la determinación de plomo.

Condición	Valor Recomendado
Longitud de onda	283.3 nm
Slit	0.7 nm
Tubo de grafito	THGA con 'End Caps'
Temperatura de Calcinación	850°C
Temperatura de Atomización	1500°C
Volumen de Inyección	20 μ L
Método	Calibración Directa
Modificador de Matriz	Mg(NO ₃) ₂ + NH ₄ H ₂ PO ₄ .
Intervalo Lineal	Hasta 120 μ g/L
Intervalo de Trabajo	2.94-15 μ g/L

3.8. Optimización de la Metodología: Zn.

En relación con la optimización de la metodología para la cuantificación de Zn, se analizó el intervalo lineal y la comparación entre los Métodos de Calibración Directa y Adición de Estándar.

Se tomaron en consideración los parámetros reportados en el manual del equipo y se realizó una curva de calibración de 0 - 1.4 mg/L, partiendo de una solución de 1000 mg/L. La preparación de los estándares se llevó a cabo de manera volumétrica.

A pesar de que el manual del equipo reporta un intervalo lineal hasta 1 mg/L, se observó que la curva era lineal hasta 1.4 mg/L. Sin embargo el intervalo de trabajo se consideró de 0.19-1 mg/L. Como puede observarse en la tabla 3.7 y figura 3.3.

Tabla 3.7: Parámetros de la curva de calibración. Zn.

Pendiente	0.157 abs.*L*mg ⁻¹
Ordenada al origen	0.005 abs.
Coefficiente de Correlación (R ²)	0.9967
Recuperación	105.65%

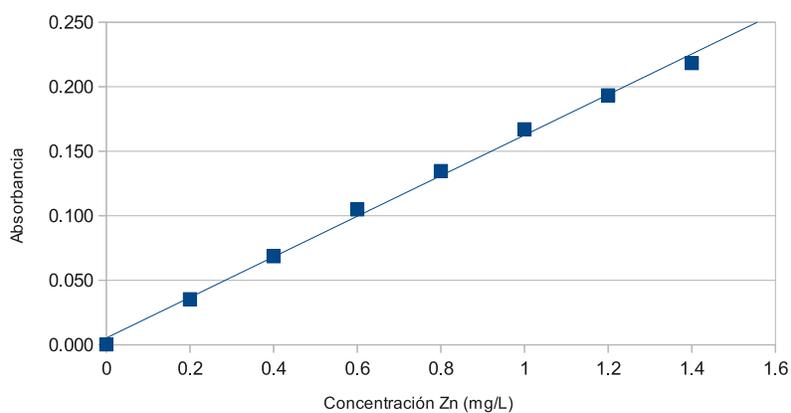


Figura 3.3: Curva de calibración de Zn. Intervalo Lineal.

Capítulo 4

Resultados

Solamente aquél que contribuye al futuro, tiene derecho a juzgar el pasado.

Friedrich Nietzsche

Para el investigador no existe alegría comparable a la de un descubrimiento, por pequeño que sea.

Alexander Fleming

4.1. Pb

4.1.1. Validación parcial

Referente a la validación parcial de la metodología analítica para la cuantificación de Pb, es necesario llevar a cabo un análisis detallado de cada uno de los parámetros que se validaron. Presentando al final de la sección una tabla en donde se resumen todos los resultados. (Ver tabla 4.2)

Selectividad. Empezando por la selectividad, es suficiente mencionar que la técnica empleada es altamente selectiva, para ello basamos esta afirmación en el principio en el que se basa la misma, es decir: Basta mencionar que la técnica de absorción atómica es altamente selectiva, ya que para cada analito es posible utilizar una longitud de onda específica, tal que, no se presenten interferencias. Y en el caso en el que, la presencia de interferentes imposibilite el empleo de dicha longitud de onda, es posible emplear una segunda longitud de onda, tal que, al igual que la primera no exista la presencia de interferentes.

Linealidad. La linealidad del método se comprobó empleando cuatro modificadores de matriz diferentes, observándose linealidad hasta valores cercanos a 100 $\mu\text{g/L}$. Por si fuera poco, se encontró que para el modificador de matriz con las condiciones optimizadas, el coef. de correlación (R^2), tenía un valor de: 0.9984. Lo que confirma la linealidad.

LoD y LoQ. Los valores de LoD y LoQ, se obtuvieron empleando la ecuación descrita por la Eurachem. ^[26] Es importante señalar, que para obtener dichos resultados, se tomaron en cuenta los valores obtenidos por 10 blancos reactivos, ya que no se contaba con blancos de muestra verdaderos con los cuales trabajar.

Intervalo de trabajo. A pesar de que la curva posee un intervalo lineal hasta concentraciones cercanas a 100 $\mu\text{g/L}$, en la práctica no es conveniente trabajar con semejante

intervalo de concentraciones. En la práctica se trabajó con un intervalo de 2.94 a 15 $\mu\text{g/L}$. El LoQ, se asemeja mucho al valor de la concentración del estándar menos concentrado utilizado (2.25 $\mu\text{g/L}$), lo que demuestra que el LoQ es realmente el primer punto de la curva de calibración.

Exactitud. La exactitud del método se evaluó en dos parámetros: Veracidad y Precisión. La veracidad del método se evalúa a través del resultado del sesgo.

La precisión se evalúa en dos condiciones: repetibilidad y reproducibilidad. La primera, se estima tomando en consideración el %RSD obtenido de las lecturas de cada muestra, el cual no debe ser superior al 5 %. Sin embargo, como se contaba con MRC se estima la precisión como el %RSD obtenido de 10 lecturas diferentes de MRC. La estimación de la precisión bajo condiciones de reproducibilidad, se realizó a partir de los resultados obtenidos de 5 curvas de calibración obtenidas en días diferentes, esto debido a que no se realizaron pruebas interlaboratorio. Ver resultados en la tabla 4.1.

Tabla 4.1: Resumen de resultados obtenidos de diversas curvas de calibración: Pb.

No.	Pendiente	Ordenada al origen	R (%)	R^2
1	0.0014	0.0005	99.84 %	0.9967
2	0.0012	0.0006	99.63 %	0.9927
3	0.0011	0.0003	99.82 %	0.9965
4	0.0011	0.0001	99.98 %	0.9996
5	0.0011	0.0002	99.85 %	0.9969
Promedio	0.0012	0.0003	-	-
Desv. Est.	0.0001	0.0002	-	-
% RSD.	10.02 %	68.56 %	-	-

Recuperación. El porcentaje de recuperación obtenido para el método, es cercano al

100 %. Para obtener este valor se tomó en cuenta el promedio de los resultados obtenidos de 10 lecturas independientes de material de referencia certificado (SRM 1547 Peach Leaves NIST) que para el caso de Plomo presenta un valor certificado de $0.87 \mu\text{g/g} \pm 0.03 \mu\text{g/g}$.

Sensibilidad. La sensibilidad del método varía con el tiempo, esto debido al desgaste del tubo de grafito durante el análisis. Es por ello, que el valor que se reporta es el valor máximo obtenido, es decir en el mejor de los casos cuando se emplea un tubo de grafito nuevo.

Robustez. La robustez del método se analizó en múltiples escenarios. Por una parte se llevaron a cabo los estudios de los modificadores de matriz.

- $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Este modificador presentó la mejor linealidad de la curva (R^2 : 0.9994). Sin embargo, se observó que se abatía la señal del analito en las muestras, este resultado se confirma con el valor más bajo obtenido para el porcentaje de recuperación (0.96 %) . El $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ no actúa modificando la matriz, sino únicamente el Pb.
- $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. A pesar de obtener un coeficiente de correlación menor que el obtenido por el modificador anterior (R^2 : 0.9851), la señal del analito en las muestras se ve incrementada cuando se emplea este modificador de matriz, hecho que se confirma con un aumento en el porcentaje de recuperación (comparado con el modificador anterior, 8.94 %). El $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ actúa modificando a la matriz, pero no así con el Pb.
- El empleo de la mezcla de los modificadores de matriz, combina los dos efectos mostrados anteriormente: la modificación del Pb y la modificación de la matriz.

De acuerdo a estos resultados, podemos concluir que no es posible analizar Pb empleando únicamente un modificador de matriz, sino que es obligatorio el uso de la mezcla. Sin embargo, se probaron muestras de dulce de chilacayote y chilacayote natural, por lo que el

método es robusto debido a que se puede utilizar para dos tipos muestras completamente diferentes.

Otro aspecto, que se analizó fue el empleo del método de adiciones estándar. A partir de los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión de que el empleo del método de calibración directa o el de adiciones estándar, es indistinto. Por lo que, el método es robusto en ese sentido.

Incertidumbre. No se determinó debido a que no se contaba con todos los datos para realizar la estimación.

Tabla 4.2: Resumen parámetros de desempeño: Pb

Selectividad	La técnica es selectiva <i>per se</i>
Linealidad	hasta 100 $\mu\text{g/L}$ con R^2 : 0.9984
Sensibilidad	0.0032 $\text{área} \cdot \text{L} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Intervalo de trabajo	2.94 a 15 $\mu\text{g/L}$
% Recuperación	99.00 %
Desv. Est.	7.02 %
Sesgo	-0.01 mg/kg
LoD	0.91 $\mu\text{g/L}$ (0.07 mg/kg)*
LoQ	2.94 $\mu\text{g/L}$ (0.23 mg/kg)*
Robustez	Modificador de Matriz: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + (\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$. Es posible analizar muestras de Chilacayote natural y Dulce de Chilacayote.

*Entre paréntesis se presentan los valores obtenidos para el método.

4.1.2. Resultados experimentales

Los resultados obtenidos para plomo de las 30 muestras que fueron analizadas, se presentan en una tabla en la sección de apéndices. En esta sección se hace uso de los resultados

obtenidos y se realiza un análisis a partir de los mismos.

En la tabla 4.3 se presenta un resumen de los datos obtenidos para la construcción del histograma que se presenta en la figura 4.1, la cual representa la dispersión global de la concentración de plomo obtenida en las muestras de chilacayote.

Tabla 4.3: Datos de concentración de Pb en Chilacayote. $n=30$.

Intervalo de concentración (mg/kg)	Marca de Clase	Frecuencia
0-3.46	1.73	26
3.46-6.92	5.16	2
6.92-10.38	8.63	1
10.38-13.84	12.08	0
13-84-17.30	15.53	1

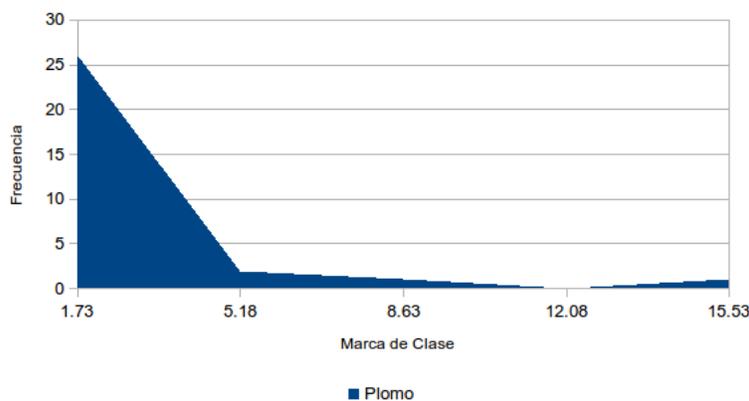


Figura 4.1: Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Pb. $n=30$

Se observa de esta gráfica que la concentración de plomo en las muestras se encuentra sesgada hacia la izquierda. Además de notarse la presencia de una cola en el extremo izquierdo, que no tiene relación con la distribución observada, es decir, son puntos experi-

mentales que no corresponden a la distribución muestral.

Es por ello, que se decidieron eliminar los 4 valores más altos que no tienen relación con nuestra distribución y realizar una nueva distribución, con las muestras resultantes. Los resultados se presentan en la tabla 4.4 y la figura 4.2.

Tabla 4.4: Datos de concentración de Pb en Chilacayote. $n=26$.

Intervalo de concentración (mg/kg)	Marca de Clase	Frecuencia
0-0.45	0.23	13
0.45-0.90	0.68	4
0.90-1.35	1.13	3
1.35-1.80	1.58	3
1.80-2.25	2.03	2
2.25-2.70	2.48	1

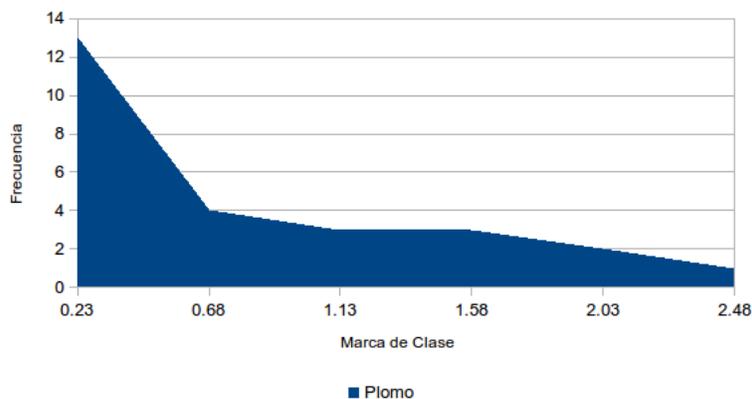


Figura 4.2: Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase: Pb. $n=26$

Se observa de esta gráfica, que la concentración de plomo en las muestras mantiene el sesgo hacia valores pequeños de concentración. Y no se observan puntos fuera de la

distribución. Este es un resultado importante, ya que indica que se favorece una presencia pequeña de plomo en chilacayote, con una concentración que oscila alrededor de 0.23 mg/kg (Marca de Clase), en un rango desde: No Detectable hasta 0.44 mg/kg, representando aproximadamente el 50 % de esta distribución.

A manera de resumen, se presentan el promedio de la concentración obtenida para plomo, considerando la distribución del total de muestras y la distribución sin los valores extremos. Con estos datos es posible realizar intervalos de confianza que nos permiten predecir la concentración esperada para una muestra aleatoria, ver tabla 4.5.

Tabla 4.5: Resumen de resultados: Pb

	n=30	n=26
Número de muestras	n=30	n=26
Promedio	1.88 mg/kg	0.79 mg/kg
Desv. Est.	3.48 mg/kg	0.72 mg/kg
Int. de Confianza	No Detectable - 8.84 mg/kg	No Detectable - 2.3 mg/kg
Nivel de Confianza	95.0 %	82.3 %

LoDm: 0.07 mg/kg, LoQm: 0.23 mg/kg

4.2. Zn

4.2.1. Validación parcial

Al igual que para el Pb, es necesario realizar un análisis de cada uno de los parámetros que se analizaron para llevar a cabo la validación parcial de la metodología, la tabla 4.7 presenta un resumen de los parámetros validados para Zn.

Selectividad. Debido a que el principio de la técnica es el mismo que para el caso del Pb, se omite la explicación de este parámetro.

Linealidad. La linealidad para este elemento se confirmó realizando una curva de

calibración en el intervalo lineal reportado por el manual del equipo, (0 - 1 mg/L), sin embargo, utilizando estándares de concentraciones superiores al citado (1.2 y 1.4 mg/L) se observó que la curva de calibración mantenía la linealidad ($R^2 > 0.99$). Por lo que no se realizaron más pruebas para confirmar la linealidad.

LoD y LoQ. Al igual que en el caso de Pb, se utilizaron los valores promedio de 10 blancos reactivo para realizar el cálculo, del LoD y LoQ para Zn. Esto debido, a que no se posee un blanco de muestra verdadero.

Intervalo de trabajo. El intervalo de trabajo que se utilizó para realizar la determinación de las muestras, fue: 0.19 mg/L - 1 mg/L. El LoQ, corresponde a la concentración del estándar menos concentrado que se utilizó para la curva (0.20 mg/L). Por lo que, se demuestra que el LoQ es realmente el primer punto de la curva de calibración.

Exactitud. Al igual que en el caso de la validación de Pb. La exactitud de Zn se determinó a partir de dos contribuciones: Veracidad y Precisión. La veracidad se evaluó a partir del sesgo. La precisión se evalúa en dos condiciones: repetibilidad y reproducibilidad. La primera, se estima tomando en consideración el %RSD obtenido de las lecturas de cada muestra, el cual no debe ser superior al 5 %. Sin embargo, como se contaba con MRC se estima la precisión como el %RSD obtenido de 10 lecturas diferentes de MRC. La estimación de la precisión bajo condiciones de reproducibilidad, se realizó a partir de los resultados obtenidos de 5 curvas de calibración obtenidas en días diferentes, esto debido a que no se realizaron pruebas interlaboratorio, ver resultados en la tabla 4.7.

Tabla 4.6: Resumen de resultados obtenidos de diversas curvas de calibración: Zn.

No.	Pendiente	Ordenada al origen	R (%)	R^2
1	0.148	0.002	99.93 %	0.9986
2	0.143	0.001	99.99 %	0.9998
3	0.149	0.003	99.88 %	0.9975
4	0.157	0.005	99.83 %	0.9967
5	0.149	0.001	99.94 %	0.9988
Promedio	0.149	0.003	-	-
Desv. Est.	0.005	0.002	-	-
% RSD.	3.40 %	67.45 % %	-	-

Recuperación. El porcentaje de recuperación que se reporta, es el promedio de 10 lecturas de muestras independientes de material de referencia certificado (MRC 1547 Peach Leaves), el cual reporta una concentración de Zinc certificada de: $17.9 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$.

Sensibilidad. Para el caso de Zn, la sensibilidad que se reporta es un promedio de las pendientes obtenidas para diferentes curvas de calibración.

Robustez. No se realizaron pruebas de robustez, para este método.

Incertidumbre. No se determinó debido a que no se contaba con todos los datos para realizar la estimación.

Tabla 4.7: Resumen parámetros de desempeño: Zn

Selectividad	La técnica es selectiva <i>per se</i>
Linealidad	Hasta 1.4 mg/L con R^2 : 0.9967
Sensibilidad	0.147 abs.*L*mg ⁻¹
Intervalo de trabajo	0.19 a 1.0 mg/L
% Recuperación	96.70 %
Desv. Est.	8.76 %
Sesgo	-0.6 mg/kg
LoD	0.14 mg/L (2.8 mg/kg)*
LoQ	0.19 mg/L (3.8 mg/kg)*

*Entre paréntesis se presentan los resultados para el método.

4.2.2. Resultados experimentales

A partir de los resultados experimentales se realizó un histograma de frecuencias, ver tabla 4.8 y figura 4.3. A partir de esta gráfica se observa que existen 2 distribuciones para Zn en los chilacayotes, esto debido a la presencia de 2 colas. Para realizar un análisis similar al efectuado para Pb, se tomaron en cuenta únicamente los valores más pequeños, que siguen una distribución similar. En este caso n=20, ver tabla 4.9 y figura 4.4.

Tabla 4.8: Datos de concentración de Zn en Chilacayote. n=30.

Intervalo de concentración (mg/kg)	Marca de Clase	Frecuencia
13.33-24.38	18.86	10
24.38-35.43	29.91	6
35.43-46.68	40.96	4
46.68-57.53	52.01	7
57.53-68.58	63.06	3

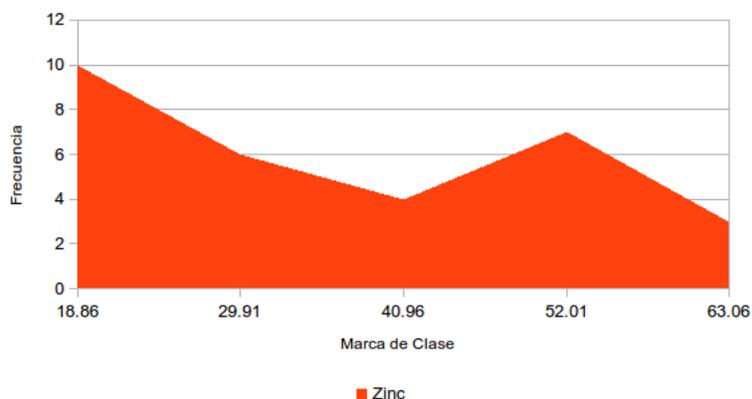


Figura 4.3: Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Zn. n=30

Con los que fue posible obtener la segunda gráfica, en la que se observa la presencia de un sesgo hacia la izquierda. Este resultado es importante ya que demuestra que la concentración de Zn en las muestras oscila alrededor de 17.41 mg/kg en un rango que va: (13.33-21.49 mg/kg) representando el 50 % de los datos para esta segunda distribución.

Tabla 4.9: Datos de concentración de Zn en Chilacayote. n=20.

Intervalo de concentración (mg/kg)	Marca de Clase	Frecuencia
13.33-21.50	17.41	10
21.50-29.66	25.58	4
29.66-37.83	29.66	3
37.83-45.99	41.90	3

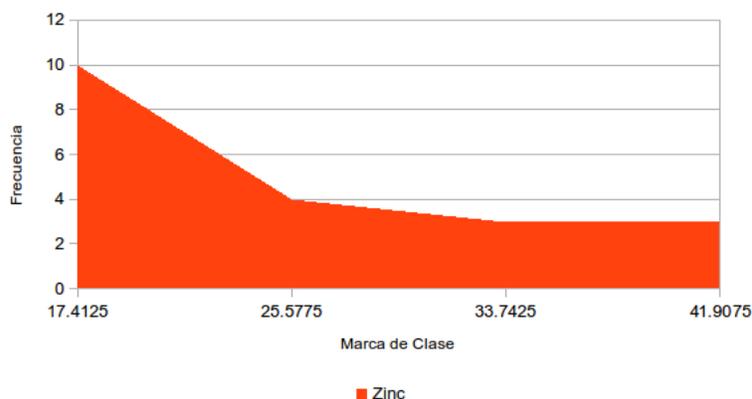


Figura 4.4: Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Zn. n=20

A partir de las dos distribuciones es posible obtener un intervalo de confianza, que nos permita predecir la concentración de una muestra aleatoria. Dichos resultados se presentan en la tabla 4.10.

Tabla 4.10: Resumen resultados: Zn

Número de muestras	n=30	n=20
Promedio	35.67 mg/kg	26.11 mg/kg
Desv. Est.	16.23 mg/kg	9.30 mg/kg
Int. de Confianza	3.21-68.13 mg/kg*	7.51-44.71 mg/kg
Nivel Confianza	95 %	62.7 %

LoDm: 2.8 mg/kg, LoQm: 3.8 mg/kg

4.3. Correlación de Metales Pb-Zn

Una parte relevante del experimento, consiste en determinar si existe o no correlación entre los dos metales. Es decir, si a partir de la concentración de un metal para una muestra

determinado, es posible predecir la concentración del segundo metal en la muestra. Esto tiene una gran importancia, porque nos brinda un panorama de la forma como actúa la planta al absorber los nutrientes del suelo.

En la figura 4.5 se presenta un comparativo de las concentraciones obtenidas para ambos metales por muestra, se presentan dibujadas en el gráfico las líneas de concentración promedio para los metales (considerando el total de muestras). A partir de estos resultados es fácil visualizar los resultados obtenidos en las distribuciones, por un lado, se observan las 4 muestras cuyo contenido de plomo supera a la media poblacional. Un resultado similar se aprecia para el caso de Zn, en donde es posible apreciar 12 muestras que superan por mucho el valor de la media poblacional. Estos resultados dan valor a los análisis realizados para las distribuciones reducidas.

Otro punto importante que hay que señalar, es que la comparación de las concentraciones de los metales por muestra, de acuerdo al gráfico de barras (figura 4.5), permite observar que no existe una correlación entre ambos metales.

Para realizar un análisis más claro, se elaboró una gráfica de correlación por muestra, en esta gráfica cada punto que se grafica corresponde a las concentraciones de Pb y Zn, obtenidas para cada muestra, ver figura 4.6. Al observar los resultados obtenidos, se confirma el hecho de que no existe una correlación para los dos metales.

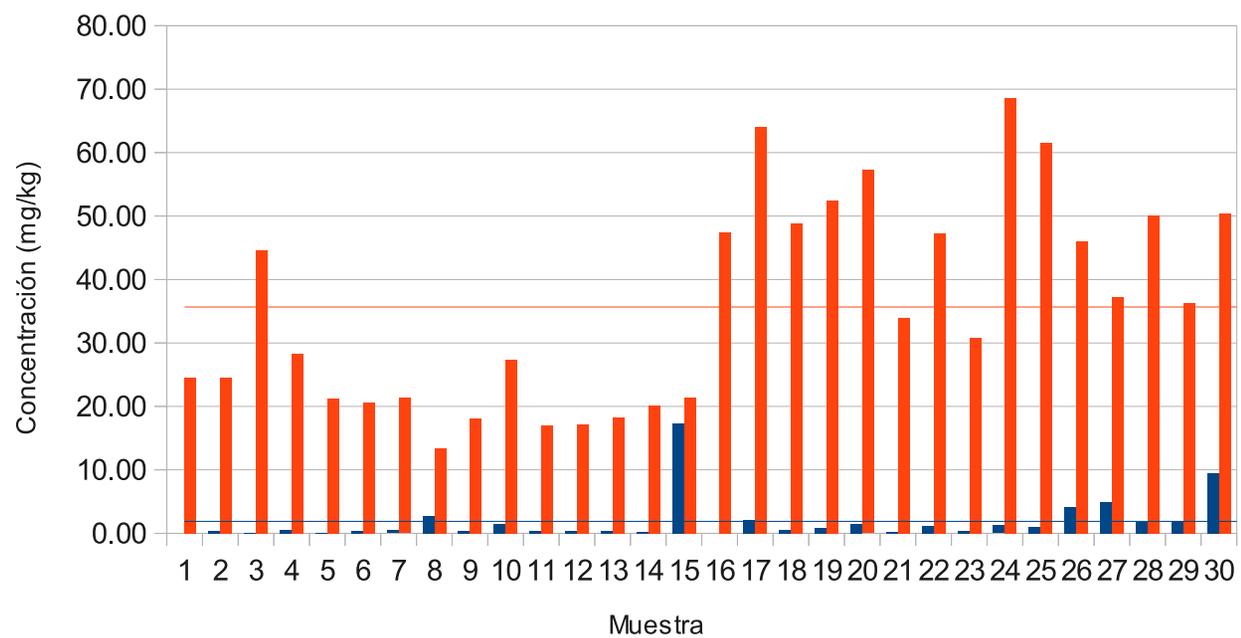


Figura 4.5: Comparativo de concentraciones experimentales de Pb y Zn, por muestra analizada.

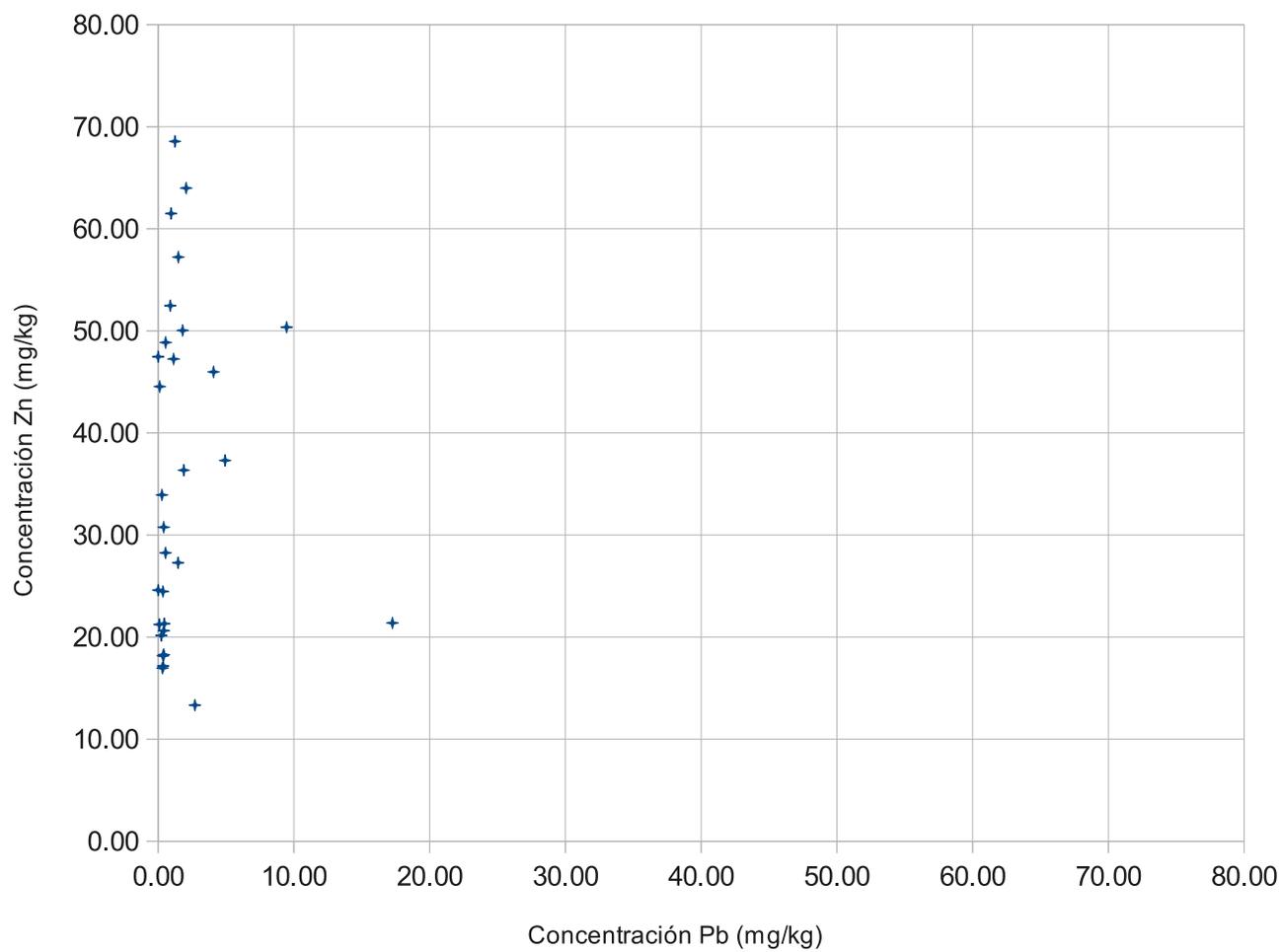


Figura 4.6: Gráfica de correlación de resultados experimentales de concentraciones Pb-Zn por muestra. Valores Promedio.

4.4. Impacto a la salud

La parte final de este trabajo, consiste en el análisis del impacto a la salud, que pudiera ocasionar el consumo masivo de este alimento. Para ello vamos a realizar una serie de consideraciones previas.

1. Se considera que sólo los pacientes diagnosticados con Diabetes Mellitus tipo II, consumen este alimento de manera constante.
2. Se considera además, que esta población es adulta. Es decir, se considera nulo o muy bajo, el consumo por menores de edad.
3. El peso corporal de la población adulta se estima en 60 kg promedio.
4. Al no existir una única dosis recomendada, se propone el empleo de una "dosis patrón" de 1 mg de chilacayote seco por kg de peso corporal, al día. Lo que permitirá una comparación más adecuada de las diferentes dosis reportadas en la literatura.
5. Los resultados obtenidos para cada una de las dosis, se comparan con los valores máximos permitidos reportados por la OMS ^[37].
6. Se realiza además una comparación entre los límites máximos aceptados de estos metales, referidos a la calidad de agua de consumo. Para ello, se considera que una persona toma en promedio 2L de agua al día. Ver tabla 4.11.

Tabla 4.11: Valores de Ingesta Máxima Tolerable para Plomo y Zinc. (Fuente: OMS)

	Plomo	Zinc
ISTP*	25 μg /kg de peso corporal	—
IDMTP ^{α}	—	1 mg/kg de peso corporal
IDR ^{β}	—	15-20 mg al día
LMP ⁺ Agua	10 μg /L	3 mg/L
LMP ^{γ} Agua	0.025 mg/L	—

* Ingesta Semanal Tolerable Provisional. PTWI por sus siglas en inglés.

^{α} Ingesta Diaria Máxima Tolerable Provisional. PMTDI por sus siglas en inglés.

^{β} Ingesta Diaria Recomendada.

⁺ Límite máximo permisible: OMS.

^{γ} Límite máximo permisible: México.

IMT Ingesta Máxima Tolerable.

Para realizar una comparación entre las diferentes dosis, es necesario además presentar una tabla de conversiones entre las diferentes unidades de medida, que se presentan. Para esto se tomó en consideración el porcentaje de humedad promedio experimental, así como los resultados experimentales reportados en la literatura. Se toma como base 1 g de muestra seca, los valores obtenidos se presentan en la tabla 4.12

Tabla 4.12: Factores de conversión entre las diversas presentaciones de chilacayote. (Fuente: OMS)

	Chilacayote seco (g)	Chilacayote húmedo (g)	Jugo (mL)
Factor experimental	1	22.6	16.95
Factor aproximado*	1	20	15

* Considerando 95 % de humedad.

Para poder realizar un estimado de la cantidad de plomo o zinc que pueden aportar las diferentes dosis, es necesario realizar primero un cálculo para saber cual es la máxima cantidad de plomo o zinc, que una persona de 60 kg puede ingerir. A partir de los datos que reporta la OMS, se obtienen los datos que se presentan en la tabla 4.13.

Tabla 4.13: Ingesta máxima tolerable de Pb y Zn, considerando un peso corporal de 60 kg.

	Pb (μg)	Zn (mg) ^{α} IDMTP	Zn (mg) ^{β} IDR
Diaria	214.28	60	15-20
Semanal	1500	420	105-140

El siguiente paso en el análisis consiste en calcular el aporte diario y semanal de metales pesados por el consumo de chilacayote natural seco y el correspondiente aporte, debido al consumo de agua. Ver tabla 4.14.

Tabla 4.14: Aporte de metales pesados :Pb y Zn. Agua de consumo y dosis de chilacayote.

	Pb (μg)	Zn (mg)
	diario (semanal)	diario (semanal)
Agua de consumo ^{α}	20 (140)	6 (42)
Agua de consumo ^{β}	50 (350)	—
Dosis*	4.74×10^{-2} (0.33)	2.14×10^{-3} (14.98×10^{-3})

^{α} Límite Máximo Permitido: OMS.

^{β} Límite Máximo Permitido: México.

* 1 mg de chilacayote seco/kg de peso corporal al día.

Para finalizar vamos a realizar el cálculo del aporte diario y semanal de metales pesados, de las diversas dosis reportadas en la literatura, con la finalidad de analizar que tan benéfico o perjudicial puede resultar el consumo de las mismas, los resultados pueden observarse en las tablas 4.15 para Pb. Para visualizar mejor los resultados presentados en la tabla 4.15, se presenta una gráfica comparativa de los aportes semanales de Pb. Ver figura 4.7.

Tabla 4.15: Aporte de metales pesados:Pb. Dosis recomendadas en la literatura, consumo diario y semanal.

No.	Dosis recomendada	Dosis correspondiente*	Pb (μg) diario (semanal)
1	100 mg/kg de peso [7]	100	4.74 (33)
2	32 g de chilacayote natural al día [4]	26.67	1.26 (8.85)
3	4 mL de jugo/kg de peso [3]	266.67	12.6 (88.5)
4	3 vasos de jugo al día [5]	833.33	39.49 (276.43)
5	Agua de consumo ⁺	—	20 (140)
6	IMT(OMS)	—	214.28 (1500)

+Consumo diario de 2L: OMS.

*En mg de chilacayote seco por kilogramo de peso corporal.

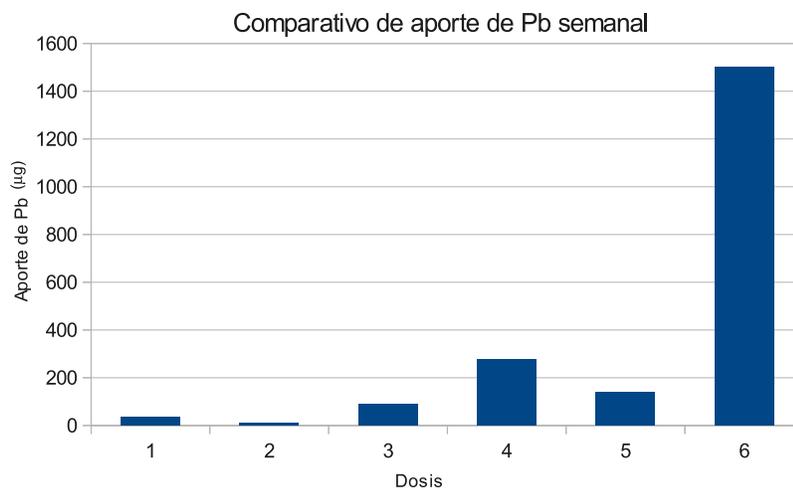


Figura 4.7: Comparativo de los aportes de Pb semanales de las diferentes dosis recomendadas en la literatura.

De igual manera se presentan los resultados obtenidos para los aportes de Zn de las diferentes dosis, ver tabla 4.16. Para visualizar mejor los resultados de la tabla se presenta una gráfica comparativa de los aportes semanales de Zn de las diferentes dosis recomendadas en la literatura, ver figura 4.8.

Tabla 4.16: Aporte de metales pesados:Zn. Dosis recomendadas en la literatura consumo diario y semanal.

No.	Dosis recomendada	Dosis correspondiente*	Zn (mg) diario (semanal)
1	100 mg/ kg de peso ^[7]	100	2.14×10^{-1} (1.50)
2	32 g de chilacayote natural al día ^[4]	26.67	5.71×10^{-2} (0.40)
3	4 mL de jugo/ kg de peso ^[3]	266.67	0.57 (3.99)
4	3 vasos de jugo al día ^[5]	833.33	1.78 (12.46)
5	Agua de consumo ⁺	—	6 (42)
6	IDR (OMS)	—	20 (140)
7	IDMTP (OMS)	—	60 (420)

⁺Consumo diario de 2L: OMS.

*En mg de chilacayote seco por kilogramo de peso corporal.

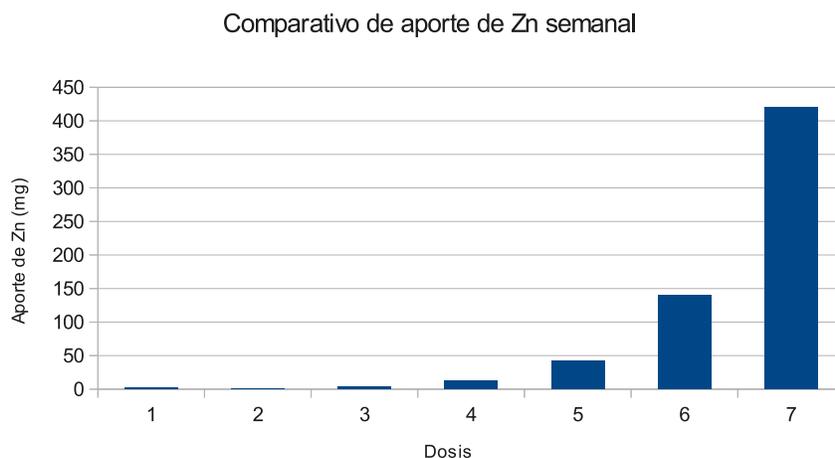


Figura 4.8: Comparativo de los aportes de Zn semanales de las diferentes dosis recomendadas en la literatura.

Con estos resultados podemos afirmar que el consumo de chilacayote a dosis muy altas (3 vasos de jugo al día) pueden llegar a ser perjudiciales para la salud. Si comparamos dicha dosis, con el aporte del agua de consumo, vemos que es aproximadamente el doble. Esto quiere decir, que 3 vasos de jugo aportan más plomo que lo que aportarían 2 L de agua pura y aproximadamente una sexta parte de la ingesta máxima semanal.

Este resultado es bastante grave, ya que aquellas personas que consuman 3 vasos de jugo diariamente, pudieran estar en riesgo de presentar problemas por envenenamiento por plomo.

Ahora bien, si se toma en consideración la dosis de 3 vasos de jugo diariamente pero para zinc, se observa que el aporte del mismo representa cerca del 10 %, del IDR.

El aporte de zinc es relativamente alto, pero solo cuando se consumen dosis altas de chilacayote, siendo el contenido elevado de plomo el más perjudicial.

Es importante hacer notar, que los resultados que se presentan están acotados y son válidos: únicamente para personas de 60 kg de peso.

Con el aumento de masa corporal la tolerancia a los metales pesados se incrementa, disminuyendo los efectos nocivos del consumo de chilacayote. Por lo que es importante que en el caso de considerar algún tratamiento con Chilacayote, se tomen en cuenta: el peso corporal de la persona y la dosis a ser suministrada. Dicha dosis puede estar basada en mg de chilacayote seco por kg de peso corporal, apoyado en los factores de conversión presentados.

Capítulo 5

Conclusiones

Para las personas creyentes, Dios está al principio. Para los científicos, está al final de todas sus reflexiones.

Max Planck

El investigador que no sabe lo que busca, no comprenderá lo que encuentra.

Claude Bernard

- Del estudio realizado se concluye que se cumplió con el objetivo general al poder determinar la concentración de plomo y zinc, presentes en muestras de chilacayote, encontrando concentraciones que van desde No Detectable hasta 17.26 mg/kg para plomo y desde 13.33 mg/kg hasta 68.57 mg/kg para zinc, empleando para ello las técnicas de Absorción atómica por Flama y por Horno de Grafito.
- Las técnicas analíticas estudiadas requieren de un riguroso proceso de preparación de la muestra tal es el caso del proceso de secado por lo que se probaron es por ello que se trazaron las curvas de secado a peso constante para 5 muestras de chilacayote, los resultados obtenidos, son semejantes a los reportados en la literatura lo que demuestra la validez de estas curvas.
- En particular del estudio de plomo es posible concluir:
 1. Estudio de los modificadores de matriz, que existe un efecto sinérgico entre los mismos, mejorando la linealidad de la curva y la reproducibilidad de los resultados (%RSD), lo que se traduce en resultados más confiables.
 2. La determinación de Pb presente se realizó empleando curvas de calibración directa ya que no se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos con el empleo del método de adición estándar.
- En referencia al estudio de zinc se concluye:
 1. La técnica utilizada fue la adecuada para la determinación cuantitativa de zinc, debido principalmente a su alta selectividad.
 2. La determinación de Zn presente se realizó empleando curvas de calibración directa. Entre otras cosas, fue posible obtener curvas de calibración bastante lineales (R^2 superior a 0.99) y con un porcentaje de recuperación de 96.7%.

- Con respecto a la búsqueda bibliográfica de estudios previos es importante señalar que los resultados obtenidos en este estudio, son los primeros que se realizan en materia de concentración de metales pesados para este tipo de muestra. Lo que proporciona no sólo una metodología para la determinación de metales pesados en esta matriz, sino un avance en el estudio y comprensión de la misma.
- En relación a la selección del sitio de muestreo, es importante señalar que el estudio que se realizó se desarrolló con muestras de chilacayote obtenidas del mercado, debido a que el desarrollo del muestreo fue sumamente complicado ya que se encontró que en el lugar en donde se iba a realizar (en las zonas de cultivo de Xochimilco) la población se mostró reacia a cooperar y no se pudo desarrollar como se tenía planeado. Por lo que se deja para futuros estudios que se mejore el sitio de muestreo y que se busque la posibilidad de conseguir apoyos de las diversas autoridades.
- Cabe mencionar que existe todavía mucho trabajo de investigación relacionado con el chilacayote. Entre ellos mejoras al muestreo, monitoreos de concentración por temporada del año, análisis de muestras de diferentes zonas, análisis de muestras cultivadas en laboratorios (libres de contaminantes), análisis multielementales, correlaciones metal-metal, etc.
- En relación a la validación parcial de la metodología analítica se puede mencionar que se cumplió con el objetivo ya que se desarrollaron y optimizaron los programas correspondientes a las técnicas analíticas F AAS y GF AAS para la cuantificación de Pb y Zn procedentes de muestras de chilacayote seco, apoyándose en la determinación de algunos parámetros de validación que evidencian que dichas técnicas cumplen con este propósito.
 - Porcentaje de Recuperación.
 - Exactitud.

- Intervalo lineal y de trabajo.
 - Entre otros.
- El impacto a la salud debe ser tomado con precaución ya que: por una parte el muestreo realizado fue muy pequeño, pero da una idea de los resultados que pudieran llegar a obtenerse y proporciona una metodología satisfactoria para el análisis de concentraciones de metales pesados en alimentos. Así mismo los efectos a la salud pueden ser diferentes dependiendo de diversos factores como: la época del año en la que se recolecte el chilacayote, el peso corporal del paciente, la dosis a ser empleada, etc.

En México no existen normas oficiales específicas que limiten el contenido de plomo en alimentos, sin embargo los resultados obtenidos están muy por encima de las normas oficiales para alimentos para lactantes y salsa de tomate. Lo que es algo sumamente preocupante.

- Para que el chilacayote pueda ser utilizado como un posible remedio, es importante considerar entre otras cosas:
- Llevar a cabo un control de peso.
 - Llevar a cabo un control de las dosis utilizadas, es decir, emplear una dosis adecuada.
 - Realizar controles del contenido de metales pesados en el chilacayote.
 - Monitorear los niveles de metales pesados en sangre.
 - Monitorear los niveles de metales pesados en las tierras de cultivo.
 - Y sobre todo, que el seguimiento sea realizado por un profesional de la salud, evitar la automedicación.

- Así, es importante que las autoridades correspondientes, revisen las normas o formulen nuevas que limiten el consumo de alimentos que pudieran ocasionar daños graves a la salud. Principalmente en aquellos alimentos que pudieran funcionar como tratamientos para enfermedades (como la Diabetes), pues su consumo pudiera verse aumentado de manera irracional, sin considerar los efectos nocivos que pudiera traer consigo. Siguiendo las recomendaciones de la OMS.
- Finalmente, es importante hacer notar que entre las dos técnicas existen una serie de parámetros que deben ser considerados, antes de elegir aquella que se va a emplear, entre otras cosas: la cantidad de muestra, el tipo de muestra (efecto de la matriz), el tipo de elemento que se va a determinar, la concentración esperada (mg/kg o $\mu\text{g}/\text{kg}$), el tiempo de lectura y los costos.

Apéndice A

Resultados experimentales

A.1. Análisis semicuantitativo: ICP-MS.

Se presenta a continuación un resumen de los resultados obtenidos del análisis semicuantitativo mediante Espectrometría de Masas con fuente de ionización por Plasma Acoplado Inductivamente.

Resultados obtenidos análisis semicuantitativo.

Analito	Masa	Observaciones
Na	23	La curva obtenida no es lineal.
Mg	24	La curva obtenida no es lineal.
Al	27	$y=1241.4x + 2545.8$. $R^2= 0.9909$. No se detecta señal para el MRC.
K	39	La señal de las muestras saturaron el detector.
Ca	43	La curva obtenida no es lineal.
V	51	$y=1562.5x + 374.12$. $R^2=0.9995$. Concentración obtenida en las muestras: < 4 ppb.
Cr	52	$y=1281.3x + 570.55$. $R^2=0.9993$. Concentración obtenida en muestras:> 50 ppb.
Mn	55	$y=1719.9x + 921.28$. $R^2=0.8462$. Las muestras presentan un alto contenido de este analito.
Co	59	$y=1699.1x + 461.14$. $R^2=0.9993$. Concentración obtenida en muestras: < 3 ppb.
Ni	60	$y=392.55x + 180.09$. $R^2=0.9991$. Concentración obtenida en muestras: < 40 ppb.
Cu	63	$y=865.17x + 2920.8$. $R^2=0.9764$. Las muestras presentan un alto contenido de este analito.
Zn	66	La curva obtenida no es lineal. La señal obtenida para las muestras es por lo menos

Continúa en la página siguiente.

Resultados obtenidos análisis semicuantitativo.

(Continuación)

Analito	Masa	Observaciones
		un orden de magnitud mayor al estándar más alto.
As	75	$y=315.24x +42.743$. $R^2=0.9997$. Concentración obtenida en muestras: <1 ppb.
Se	80	La curva obtenida no es lineal.
Se	82	No se obtuvo señal para las muestras.
Ag	107	No se obtuvo señal para las muestras.
Cd	108	No se obtuvo señal para las muestras.
Cd	110	No se obtuvo señal para las muestras.
Cd	111	No se obtuvo señal para las muestras.
Cd	112	No se obtuvo señal para las muestras.
Sn	108	No se obtuvo señal para las muestras.
Hg	200	La curva obtenida no es lineal.
Hg	201	La curva obtenida no es lineal.
Hg	202	La curva obtenida no es lineal.
Hg	204	La curva obtenida no es lineal.
Pb	204	La curva obtenida no es lineal.
Pb	206	La curva obtenida no es lineal.
Pb	207	La curva obtenida no es lineal.
Pb	208	La curva obtenida no es lineal.

A.2. Resultados de las concentraciones de metales por muestra.

Concentración de metales por muestra.

No.	Muestra	Conc. Pb (mg/kg) ⁺	Desv. Est.	Conc. Zn (mg/kg) ⁺	Desv. Est.
1	P1M1	ND	ND	24.61	5.315
2	P1M2	0.35	0.034	24.47	2.036
3	P1M3	0.12*	0.001*	44.55	0.479
4	P1M4	0.55	0.068	28.26	0.499
5	P2M1	0.09*	0.078*	21.24	0.027
6	P2M2	0.42	0.036	20.63	0.233
7	P2M3	0.46	0.036	21.32	0.213
8	P3M1	2.71	0.164	13.33	0.108
9	P3M2	0.35	0.013	18.16	0.086
10	P3M3	1.47	0.091	27.29	0.294
11	P4M1	0.32	0.016	16.97	0.470
12	P4M2	0.37	0.028	17.18	0.374
13	P4M3	0.42	0.012	18.28	0.696
14	P5M1	0.24	0.000	20.16	0.110
15	P5M2	17.26	0.476	21.38	0.838
16	P5M3	ND	ND	47.47	0.626
17	P6M1	2.07	0.038	63.99	0.146
18	P6M2	0.55	0.048	48.87	0.771
19	P6M3	0.90	0.018	52.47	0.800
20	P7M1	1.49	0.044	57.24	0.227
21	P7M2	0.28	0.007	33.93	0.921

Continúa en la página siguiente.

Concentración de metales por muestra. (Continuación)

No.	Muestra	Conc. Pb (mg/kg) ⁺	Desv. Est.	Conc. Zn (mg/kg) ⁺	Desv. Est.
22	P7M3	1.14	0.029	47.25	0.601
23	P8M1	0.41	0.003	30.77	0.225
24	P8M2	1.24	0.031	68.57	0.529
25	P8M3	0.96	0.050	61.50	1.310
26	P8M4	4.09	0.022	45.99	0.745
27	P9M1	4.93	0.001	37.31	0.998
28	P9M2	1.80	0.002	50.04	5.333
29	P9M3	1.89	0.010	36.35	1.940
30	P9M4	9.46	0.174	50.37	1.175

⁺Todos los resultados que se presentan corresponden a chilacayote seco.

Las muestras se prepararon por triplicado.

ND No Detectable

*NC No Cuantificable

Apéndice B

Ejemplos de cálculos

B.1. Cálculo de la concentración para una muestra.**B.1.1. Pb****Concentración de Pb en el blanco de digestión**

$$C_{\text{blanco digestión}} = \frac{(\text{Área}_{\text{promedio}}) - (b)}{m} \quad (\text{B.1})$$

Donde:

$C_{\text{blanco digestión}}$ = Concentración del blanco de digestión.

$\text{Área}_{\text{promedio}}$ = Promedio de las lecturas de área de pico para el blanco de digestión.

b = Ordenada al origen de la curva de calibración.

m = pendiente de la curva de calibración.

Concentración de Pb en la disolución de la muestra

$$C_{\text{muestra disolución}} = \frac{(\text{Área}_{\text{promedio}}) - (b)}{m} \quad (\text{B.2})$$

Donde:

$C_{\text{muestra disolución}}$ = Concentración de la disolución de la muestra digerida.

$\text{Área}_{\text{promedio}}$ = Promedio de las lecturas de área de pico para la muestra.

b = Ordenada al origen de la curva de calibración.

m = Pendiente de la curva de calibración.

Concentración de Pb en la muestra en peso seco

$$C_{\text{muestra en peso seco}} = \frac{(C_{\text{muestra disolución}} - C_{\text{blanco digestión}})(FD)(V_{\text{aforo}})}{(m_{\text{muestra digerida}})(\% \text{ de Recuperación})} * 100 = (mg/kg) \quad (\text{B.3})$$

Donde:

$C_{muestra\ en\ peso\ seco}$ = Concentración del elemento en la muestra en peso seco.

$C_{muestra\ disolución}$ = Concentración obtenida de la disolución de la muestra digerida.

C_{blanco} = Concentración del blanco de digestión.

V_{aforo} = Volumen de aforo de la disolución de la muestra digerida.

FD = Factor de dilución por la introducción de la muestra en el tubo de grafito.

$m_{muestra\ digerida}$ = masa de la muestra digerida.

% Recuperación = Porcentaje de recuperación experimental.

B.1.2. Zn

Concentración de Zn en el blanco de digestión

$$C_{blanco\ digestión} = \frac{(Absorbancia_{promedio}) - (b)}{m} \quad (B.4)$$

Donde:

$C_{blanco\ digestión}$ = Concentración del blanco de digestión.

Absorbancia_{promedio} = Promedio de las lecturas de absorbancia para el blanco de digestión.

b = Ordenada al origen de la curva de calibración.

m = pendiente de la curva de calibración.

Concentración de Zn en la disolución de la muestra

$$C_{muestra\ disolución} = \frac{(Absorbancia_{promedio}) - (b)}{m} \quad (B.5)$$

Donde:

$C_{muestra\ disolución}$ = Concentración de la disolución de la muestra digerida.

Absorbancia_{promedio} = Promedio de las lecturas de absorbancia para la muestra.

b = Ordenada al origen de la curva de calibración.

m = Pendiente de la curva de calibración.

Concentración de Zn en la muestra en peso seco

$$C_{muestra\ en\ peso\ seco} = \frac{(C_{muestra\ disolucion} - C_{blanco\ digestion})(V_{aforo})FD}{(m_{muestra\ digerida})(\% de\ Recuperacion)} * 100 = (mg/kg) \quad (B.6)$$

Donde:

$C_{muestra\ en\ peso\ seco}$ = Concentración del elemento en la muestra en peso seco.

$C_{muestra\ disolucion}$ = Concentración obtenida de la disolución de la muestra digerida.

C_{blanco} = Concentración del blanco de digestión.

V_{aforo} = Volumen de aforo de la disolución de la muestra digerida.

FD = Factor de Dilución.

$m_{muestra\ digerida}$ = masa de la muestra digerida.

% Recuperación = Porcentaje de recuperación experimental.

B.2. Dosis correspondiente

Dosis correspondiente en mg de chilacayote seco por kilogramo de peso.

$$DC = \frac{(DR)(F)}{m_{corporal}} \quad (\text{B.7})$$

Donde:

DC = Dosis correspondiente en mg de chilacayote seco por kg de peso corporal.

DR = Dosis recomendada en la literatura.

F = Factor de conversión.

$m_{corporal}$ = peso corporal considerado.

Se presenta un ejemplo para la dosis de 3 vasos de jugo de chilacayote al día.

$$DC = \frac{\left(\frac{3 \text{ vasos}}{\text{día}}\right) * \left(\frac{250 \text{ mL}}{\text{vaso}}\right) * \left(\frac{15 \text{ mL}}{1 \text{ g chi. seco}}\right) * \left(\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}\right)}{(60 \text{ kg de peso})} = \frac{833.33 \text{ mg}}{\text{kg de peso}} \quad (\text{B.8})$$

B.3. Intervalos de clase y gráfica de frecuencias.

Cálculo del número de intervalos

$$N = \sqrt{n} + 1 \quad (\text{B.9})$$

Donde:

N = Número de intervalos, N es un número entero.

n = número de muestras.

Cálculo del intervalo de clase

$$IC = \frac{Max - min}{N} \quad (\text{B.10})$$

Donde:

IC = Intervalo de clase

Max = Valor máximo reportado

min = Valor mínimo reportado

Valor mínimo del intervalo de clase

$$VmIC_x = min + x * IC \quad (B.11)$$

Donde:

$VmIC_x$ = Valor mínimo del intervalo de clase "x"

min = Valor mínimo reportado

x = Número de intervalo. x= 0,1,2...N.

Valor máximo de intervalo de clase

$$VMIC_x = VmIC_x + IC \quad (B.12)$$

Donde:

$VMIC_x$ = Valor máximo del intervalo de clase "x"

max = Valor máximo reportado.

x = Número de intervalo. x= 0,1,2...N.

Marca de Clase

$$MC = \frac{VMIC_x + VmIC_x}{2} \quad (B.13)$$

Obteniendo los resultados de los intervalos de clase, se determina de los resultados experimentales el número de muestras que presentan valores dentro de los diferentes intervalos.

Y de esta manera se obtienen las gráficas de frecuencia por marca de clase.

Apéndice C

Material de Referencia: SRM 1547

Peach Leaves NIST



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material 1547

Peach Leaves

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in evaluating the reliability of analytical methods for the determination of major, minor, and trace elements in botanical materials, agricultural food products, and materials of similar matrix. A unit of SRM 1547 consists of 50 grams of dried peach leaves of the Coronet variety.

Certified and Noncertified Concentrations of Constituent Elements: The certified concentrations of the constituent elements are given in Table 1. These concentrations are based on the agreement of results from at least two independent analytical methods or the mean of results from a method of known accuracy. Noncertified concentrations of constituent elements are provided for information only in Table 2.

Notice and Warnings to Users

Expiration of Certification: This certification is valid for five years from the date of shipment. Should any of the certified values change before the expiration of the certification, purchasers will be notified by NIST. Please return the attached registration card to facilitate notification.

Stability: This material was radiation sterilized (^{60}Co) at an estimated minimum dose of 27.8 kGy for microbiological control. However, its stability has not been rigorously assessed. NIST will monitor this material and will report any substantive changes in certification to the purchasers.

Storage: The material should be kept tightly closed in its original bottle and stored in the dark at a temperature between 10 and 30 °C. It should not be exposed to intense sources of radiation. Ideally, the bottle should be kept in a desiccator under the conditions indicated above.

Use: The bottle should be thoroughly mixed by rotating and/or rolling the bottle before each use. Allow the contents to settle for one minute prior to opening. A minimum sample of 150 mg of the dried material, dried as described in the section on "Instructions for Drying", should be used to relate analytical determinations to the certified values in this certificate. In some cases, especially for volatile elements such as mercury, it is preferable to analyze samples from the bottle without drying, determine the moisture content on a separate sample from the same bottle, and correct the analytical results to a dry weight basis.

Dissolution of SRM 1547: Digestion procedures should be designed to avoid loss of volatile elements, such as arsenic, mercury, etc. Digestion of the SRM in nitric and perchloric acids was found to be incomplete with a small residue of siliceous material remaining. This residue must be considered an integral part of the SRM and should be dissolved with a small amount of hydrofluoric acid to obtain total dissolution.

Coordination of all analytical measurements used in the characterization of this SRM was performed by D.A. Becker of the NIST Inorganic Analytical Research Division.

Statistical analysis of the experimental data was performed by W. Guthrie and S.B. Schiller of the NIST Statistical Engineering Division.

The technical and support aspects involved in the certification and issuance of this SRM were coordinated through the Standard Reference Materials Program by R. Alvarez and T.E. Gills.

Gaithersburg, MD 20899
January 22, 1993
(Revision of certificate dated 7-2-91)

William P. Reed, Chief
Standard Reference Materials Program

Instructions for Drying: Samples of this SRM must be dried only by one of the following two procedures.

1. Drying in a desiccator at room temperature (approximately 22 °C) for 120 hours over fresh anhydrous magnesium perchlorate. The sample depth should not exceed one cm.
2. Freeze drying for 24 hours at a pressure of 13.3 Pa or lower and a shelf temperature of -5 °C or lower after having frozen the sample (not to exceed one cm in depth) at -40 °C or lower for at least one hour. At the end of the 24-hour period, samples are placed immediately in a desiccator with fresh anhydrous magnesium perchlorate. Samples are weighed after allowing a minimum of four hours to establish temperature equilibrium.

NOTE: Vacuum drying at room temperature and oven drying at elevated temperatures have resulted in excessive weight losses and therefore are not recommended.

Homogeneity Assessment: Samples from randomly selected bottles of SRM 1547 were tested for homogeneity by instrumental neutron activation analysis. No evidence of chemically significant inhomogeneity was observed (Ref. 1).

Table 1 Certified Concentrations of Constituent Elements

<u>Element</u>	<u>Concentration, wt. percent</u>		
Calcium	1.56	±	0.02
Magnesium	0.432	±	0.008
Nitrogen (Total)	2.94	±	0.12
Phosphorus	0.137	±	0.007
Potassium	2.43	±	0.03

<u>Element</u>	<u>Concentration, µg/g</u>			<u>Element</u>	<u>Concentration, µg/g</u>		
Aluminum	249	±	8	Mercury	0.031	±	0.007
Arsenic	0.060	±	0.018	Molybdenum	0.060	±	0.008
Barium	124	±	4	Nickel	0.69	±	0.09
Boron	29	±	2	Rubidium	19.7	±	1.2
Cadmium	0.026	±	0.003	Selenium	0.120	±	0.009
Chlorine	360	±	19	Sodium	24	±	2
Copper	3.7	±	0.4	Strontium	53	±	4
Iron	218	±	14	Vanadium	0.37	±	0.03
Lead	0.87	±	0.03	Zinc	17.9	±	0.4
Manganese	98	±	3				

Certified Concentrations and Uncertainties: The certified concentrations are equally weighted means of results from two or more different analytical methods or the mean of results from a method of known accuracy. In the case of two or more methods, each uncertainty is the sum of a 95% confidence limit and an allowance for systematic error between the methods used. In the case of a method of known accuracy, each uncertainty is the sum of a 95% confidence limit and the known systematic error of the method.

Table 2. Noncertified Concentrations of Constituent Elements

Elements other than those certified are present in this material. Those that were determined but not certified are provided as additional information on the composition. Although total nitrogen is certified, nitrogen determined by the Kjeldahl procedure is not.

<u>Element</u>	<u>Concentration</u> <u>wt. percent</u>
*Nitrogen (Kjeldahl)	(2.96)
Sulfur	(0.2)

<u>Element</u>	<u>Concentration,</u> <u>µg/g</u>	<u>Element</u>	<u>Concentration,</u> <u>µg/g</u>
Antimony	(0.02)	Lanthanum	(9)
Bromine	(11)	Neodymium	(7)
Cerium	(10)	Samarium	(1)
Chromium	(1)	Scandium	(0.04)
Cobalt	(0.07)	Terbium	(0.1)
Europium	(0.17)	Thorium	(0.05)
Gadolinium	(1)	Tin	(<0.2)
Iodine	(0.3)	Uranium	(0.015)
		Ytterbium	(0.2)

*Method Reference. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 14th Ed., 1984, p.16, Nitrogen (Total) in Fertilizers, Kjeldahl Method (Final Action): Method 2.057, Improved Method for Nitrate Free Samples. Samples were dried as described in procedure 1 under "Instructions for Drying".

Source and Preparation of Material: The plant material for this SRM was collected and prepared under the direction of R.A. Isaac, Soil Testing & Plant Analysis Laboratory, The University of Georgia College of Agriculture. Leaves, representative of healthy Georgia peach trees, variety "Coronet" were picked from a field in Peach County, Georgia approximately 150 miles south of Athens, Georgia. Fungicide and insecticide sprays were controlled to minimize heavy metal contamination. The leaves were dried and ground in a stainless steel mill to pass a 1 mm screen. At NIST, the ground leaves were jet milled and air classified to a particle size of approximately 75 µm (200 mesh). After mixing in a large blender, the leaves were irradiated with cobalt-60 radiation to a minimize absorbed dose of 27.8 kGy for microbiological control and bottled.

Índice de figuras

1.1. Curvas de tolerancia a la glucosa en conejos sanos.	6
1.2. Valores medios de glucosa en sangre en condiciones de ayuno (mmol/L). Hombres.	10
1.3. Valores medios de glucosa en sangre en condiciones de ayuno (mmol/L). Mujeres.	11
2.1. Lingotes de plomo.	15
2.2. Principal uso del zinc: galvanizado.	21
2.3. Regiones del espectro electromagnético.	24
2.4. Esquema de una celda de absorción	25
2.5. Fenómeno de la dispersión de la luz solar a través de un prisma.	26
2.6. Diagrama de una lámpara de cátodo hueco.	31
2.7. Diagrama de una lámpara de descarga sin electrodos.	32
2.8. Diagrama de un nebulizador neumático.	33
2.9. Diagrama de un quemador de flujo laminar: F AAS.	35
2.10. Corte transversal de un atomizador de horno de grafito.	41
2.11. Tubos de grafito: longitudinal y transverso.	43
3.1. Curva de secado a peso constante basado en porcentaje de humedad: Chila- cayote Natural	54

3.2. Gráfica de plomo intervalo lineal. 0 - 100 $\mu\text{g/L}$. Diferentes Modificadores de Matriz.	58
3.3. Curva de calibración de Zn. Intervalo Lineal.	63
4.1. Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Pb. n=30	69
4.2. Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Pb. n=26	70
4.3. Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Zn. n=30	75
4.4. Histograma de áreas de frecuencia por marca de clase:Zn. n=20	76
4.5. Comparativo de concentraciones experimentales de Pb y Zn, por muestra analizada.	78
4.6. Gráfica de correlación de resultados experimentales de concentraciones Pb-Zn por muestra. Valores Promedio.	79
4.7. Comparativo de los aportes de Pb semanales de las diferentes dosis recomendadas en la literatura.	84
4.8. Comparativo de los aportes de Zn semanales de las diferentes dosis recomendadas en la literatura.	86

Índice de tablas

2.1. Resumen de propiedades químicas: plomo.	14
2.2. Principales efectos tóxicos del plomo en el cuerpo.	17
2.3. Valores límites permitidos de plomo según las Normas Oficiales Mexicanas .	18
2.4. Resumen de propiedades químicas: zinc.	19
2.5. Características de algunas flamas premezcladas comunes.	36
2.6. Tabla comparativa Absorción Atómica Flama y Horno de Grafito	44
3.1. Programa de digestión para las muestras de Chilacayote Natural. Horno de microondas: Milestone MLS 1200 MEGA.	55
3.2. Comparación de los efectos de los diferentes modificadores de matriz.	58
3.3. Optimización del programa de temperaturas: Temperatura de Calcinación. .	59
3.4. Optimización del programa de temperaturas: Temperatura de Atomización. .	60
3.5. Comparación de los Métodos: Calibración Directa y Adición de Estándar. .	61
3.6. Condiciones optimizadas recomendadas para la determinación de plomo. . .	62
3.7. Parámetros de la curva de calibración. Zn.	63
4.1. Resumen de resultados obtenidos de diversas curvas de calibración: Pb. . .	66
4.2. Resumen parámetros de desempeño: Pb	68
4.3. Datos de concentración de Pb en Chilacayote. n=30.	69
4.4. Datos de concentración de Pb en Chilacayote. n=26.	70

4.5. Resumen de resultados: Pb	71
4.6. Resumen de resultados obtenidos de diversas curvas de calibración: Zn.	73
4.7. Resumen parámetros de desempeño: Zn	74
4.8. Datos de concentración de Zn en Chilacayote. n=30.	74
4.9. Datos de concentración de Zn en Chilacayote. n=20.	75
4.10. Resumen resultados: Zn	76
4.11. Valores de Ingesta Máxima Tolerable para Plomo y Zinc.	81
4.12. Factores de conversión entre las diversas presentaciones de chilacayote.	82
4.13. Ingesta máxima tolerable de Pb y Zn, considerando un peso corporal de 60 kg.	82
4.14. Aporte de metales pesados :Pb y Zn. Agua de consumo y dosis de chilacayote.	83
4.15. Aporte de metales pesados:Pb. Dosis recomendadas en la literatura, consumo diario y semanal.	84
4.16. Aporte de metales pesados:Zn. Dosis recomendadas en la literatura consumo diario y semanal.	85

Bibliografía

- [1] *Ley Federal sobre Metrología y Normalización, Última reforma publicada* , DOF-09-04-2012.
- [2] *NOM-008-SCFI-2002* Sistema General de Unidades de Medida.
- [3] *Hypoglycemic action of Cucurbita ficifolia on Type 2 diabetic patients with moderately high blood glucose levels*, J.L. Acosta-Patiño, et.al. **Journal of Ethnopharmacology**,77, (2001),99-101 .
- [4] *Review: Mexican plantas with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes*, A. Andrade-Cetto, et. al., **Journal of Ethnopharmacology**, 99,(2005) 325-348
- [5] *Anti-hyperglycemic effect of some edible plants*,R. Roman-Ramos, et. al. , **Journal of Ethnopharmacology**, 48, (1995),25-32.
- [6] <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Calabacilla&id=7310>
Consultado por última vez el día 1 de noviembre de 2013.
- [7] *Evaluation of the hypoglycemic effect of Cucurbita ficifolia Bouché (Cucurbitaceae) in different experimental models*, F.J. Alarcon-Aguilar, et. al. , **Jornas of Ethnopharmacology**, 82, (2002), 185-189.

- [8] *Antihyperglycemic effect of Cucurbita ficifolia fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats*, Tao Xia & Qin Wang, **Fitoterapia**, 77 , (2006), 530-533.
- [9] *Evaluation of an aqueous extract of Cucurbita ficifoli Bouché on the glutathione redox cycle in mice with STZ-induced diabetes* **Journal of Ethnopharmacology**, 144, (2012) 101-108.
- [10] *Ficha técnica de diabetes*, WHO.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
Consultado por última vez el día 1 de noviembre de 2013.
- [11] *Atlas Interactivo diabetes*, WHO.
http://gamapserver.who.int/gho/interactive_charts/ncd/risk_factors/blood_glucose_mean/atlas.html
Consultado por última vez el día 1 de noviembre de 2013.
- [12] *Estadísticas a propósito del día mundial de la diabetes*, INEGI, México, 2010.
- [13] Datos poblacionales: México. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo03s=estc=17500>
Consultado por última vez el día 1 de noviembre de 2013.
- [14] *The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain*, Jose R. Peralta-Videa, et. al., **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** , 41, (2009), 1665-1677.
- [15] *lead (Pb)* Encyclopaedia Britannica. Encyclopaedia Britannica Online Academic Edition. Web, 2013.
<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/333514/lead>
Consultado por última vez el día 6 de noviembre de 2013.

- [16] <http://www.metalfersa.com.ar/index.php?opc=3>
Consultado por última vez el día 28 de octubre de 2013, se toma únicamente la imagen.
- [17] <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/pb.htmixzz2jvJYuZUw>
Consultado por última vez el día 6 de noviembre de 2013.
- [18] <http://www.quimica.unam.mx/IMG/pdf/23plomo.pdf> Consultado por última vez el día 1 de noviembre de 2013.
- [19] *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, Casarett & Doull's, **McGraw-Hill**, Forth Edition, USA, (1991), 623-671.
- [20] http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.pdf
Consultado por última vez el día 6 de noviembre de 2013.
- [21] http://www.salud.gob.mx/unidades/cofepris/mj/documentos/noms_a.htm
Consultado por última vez el día 6 de noviembre de 2013.
- [22] *zinc (Zn)* Encyclopaedia Britannica. Encyclopaedia Britannica Online Academic Edition. Web, 2013.
<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/657264/zinc> Consultado por última vez el día 3 de noviembre de 2013.
- [23] <http://www.doco-international.com/es/products/tornillos/1130/tornillo-autoroscante-6-3x25.html>
Consultado por última vez el día 28 de octubre de 2013, se toma únicamente la imagen.
- [24] *Concentrations of arsenic, cadmium, lead and zinc in homegrown vegetables and fruits: Estimated intake by population in an industrialized area of Sardinia, Italy*, M. Carere, et. al., **Microchemical Journal**, 107, (2013), 190-195.

- [25] *Effect of zinc supplementation on the production of IL-17 in elderly individuals* L. Saldívar, G. Espejal, et. al. **12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine**, Uruguay, (2013).
- [26] http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs60.pdf
Consultado por última vez el día 6 de noviembre de 2013.
- [27] *Fundamentos de Química Analítica*, D. Skoog, et. al., **Thomson**, Octava Edición, México, (2005).
- [28] <http://www.sabelotodo.org/materia/dispersionluz.html>
Consultado por última vez el día 28 de octubre de 2013, se toma únicamente la imagen.
- [29] *Atomic Absorption Spectrometry*, Bernhard Welz & Michael Sperling, **Wiley-VCH**, Third Edition, Germany, (1999).
- [30] http://www.perkinelmer.com/AU/CMSResources/Images/44-74816TCH_AAnalystNebulizerKit.pdf
Consultado por última vez el día 28 de octubre de 2013.
- [31] *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente*, EMA, México, (2008).
- [32] *Determinación de plomo (Pb), bario (Ba) y antimonio (Sb) en residuos de disparo de armas de fuego comparando las técnicas analíticas GF AAS e ICP-MS*, Tesis de Licenciatura, Olga Márquez Angeles, UNAM, (2012).
- [33] *Orange Book 'Compendium of Analytical Nomenclature. Definitive Rules 1997'*, Tamás Lengyel, et. al. ,**IUPAC**, Third Edition, (1997)
- [34] *Métodos Instrumentales de Análisis*, H. Willard, et. al. **Editorial Continental**, Segunda Edición, México, (1986).

- [35] *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito: Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados*, EURACHEM, Traducción de CENAM, Segunda Edición, México, (2005).
- [36] *Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio, Publicación Técnica: CNM-MRD-PT-008*, María del Rocío Arvizu Torres, et. al. **CENAM**, Tercera Edición, México, 2007.
- [37] *Guidelines For Drinking-water Quality*, WHO, Fourth Edition, (2011).