



---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

---

DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA PARA CUANTIFICACIÓN  
DE PLOMO EN MANGO DESHIDRATADO MEDIANTE ICP-MS

---

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

**PRESENTA:**

**ITZEL MONTSERRAT ALARCÓN MEJÍA**



**MÉXICO, D.F.**

**2015**



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: LILIANA VIRGINIA RAQUEL SALDÍVAR Y OSORIO**  
**VOCAL: FRANCISCO ROJO CALLEJAS**  
**SECRETARIO: CIRO ELISEO MÁRQUEZ HERRERA**  
**1er. SUPLENTE: ADRIÁN DE SANTIAGO ZARATE**  
**2° SUPLENTE: MARÍA GUADALUPE ESPEJEL MAYA**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 103 DE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (LEAA),  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

\_\_\_\_\_  
**DRA. LILIANA VIRGINIA RAQUEL SALDÍVAR Y OSORIO**

**SUPERVISOR TÉCNICO :**

\_\_\_\_\_  
**Q.F.B. MARÍA GUADALUPE ESPEJEL MAYA**

**SUSTENTANTE :**

\_\_\_\_\_  
**ITZEL MONTSERRAT ALARCÓN MEJÍA**

## **INDICE**

<b>1. SÍMBOLOS y ABREVIATURAS .....</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1 Objetivos generales .....</b>	<b>3</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>3</b>
<b>4. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>4</b>
<b>4.1 ¿Qué es un metal? .....</b>	<b>5</b>
<b>4.2 Metales como tóxicos .....</b>	<b>6</b>
<b>4.3 Movimiento de los metales en el medio ambiente .....</b>	<b>7</b>
<b>4.4 Mecanismos químicos de la toxicología de los metales .....</b>	<b>8</b>
<b>4.5 Factores que impactan en la toxicidad del metal .....</b>	<b>10</b>
<b>4.6 Biomarcadores de la exposición al metal .....</b>	<b>12</b>
<b>4.7 Proteínas de unión a metal y transportadores de metal.....</b>	<b>13</b>
<b>4.8 Farmacología de los metales .....</b>	<b>15</b>
<b>4.9 Plomo .....</b>	<b>16</b>
<b>4.9.1 Exposición.....</b>	<b>16</b>
<b>4.9.2 Toxicocinética .....</b>	<b>17</b>
<b>4.9.3 Toxicidad .....</b>	<b>19</b>
<b>4.9.4 Niños.....</b>	<b>19</b>
<b>4.9.5 Adultos .....</b>	<b>20</b>
<b>4.9.6 Efectos hematológicos.....</b>	<b>21</b>
<b>4.9.7 Toxicidad renal.....</b>	<b>22</b>
<b>4.9.8 Efectos en el sistema cardiovascular .....</b>	<b>23</b>
<b>4.9.9 Efectos endocrinos.....</b>	<b>24</b>
<b>4.9.10 Efectos gastrointestinales .....</b>	<b>24</b>
<b>4.9.11 Efectos reproductivos .....</b>	<b>24</b>
<b>4.9.12 Efectos en el desarrollo .....</b>	<b>25</b>
<b>4.9.13 Otros efectos.....</b>	<b>26</b>
<b>4.9.14 Tratamiento .....</b>	<b>27</b>
<b>4.9.15 Alimentos y bebidas contaminadas por plomo.....</b>	<b>28</b>
<b>4.10 Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente. ....</b>	<b>29</b>
<b>4.10.1 Sistema de introducción de muestras. ....</b>	<b>32</b>

4.10.2 Antorcha ICP .....	33
4.10.3 Interfaz .....	34
4.10.4 Sistema de vacío.....	37
4.10.5 Dispositivo de deflexión de iones .....	37
4.10.6 Celda de colisión/reacción.....	38
4.10.7 Manejo de datos y controlador del sistema .....	43
4.10.8 Manejo de datos y cálculo.....	43
4.10.9 Análisis cuantitativo .....	44
4.10.10 Parámetros y condiciones de medida.....	44
4.10.11 Interferencias en el ICP – MS .....	46
4.10.11.1 Interferencias espectrales.....	46
4.10.12.1.1 Estrategias para reducir los problemas de interferencias ....	46
4.10.12.1.2 Interferencias poliatómicas en matrices complejas/ desconocidas.....	47
4.10.12.2 No-Espectrales.....	47
4.10.12.2.1 Formas de reducir las interferencias de matriz.....	47
4.11 Validación de métodos analíticos.....	48
4.11.1 Parámetros de desempeño .....	48
4.11.1.1 Límite de detección (LoD) .....	48
4.11.1.2 Límite de cuantificación (LoQ) .....	49
4.11.1.3 Intervalo de trabajo e intervalo lineal .....	49
4.11.1.4 Exactitud .....	50
4.11.1.5 Veracidad .....	50
4.11.1.6 Sesgo .....	51
4.11.1.7 Precisión .....	51
4.11.1.8 Repetibilidad .....	51
4.11.1.9 Reproducibilidad .....	52
4.11.1.10 Recuperación .....	52
4.11.1.11 Sensibilidad .....	53
5. METODOLOGÍA .....	54
5.1 Materiales, reactivos y equipo. ....	54
5.2 Procedimiento experimental .....	56
5.2.1 Muestreo y codificación .....	56

5.2.2 Lavado de material .....	56
5.2.3 Secado de muestras .....	57
5.2.4 Trituración y homogeneización .....	57
5.2.5 Dilución gravimétrica .....	58
5.2.6 Curvas de calibración.....	59
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>62</b>
6.1 Condiciones instrumentales de análisis .....	62
6.2 Optimización del ICP - MS .....	62
6.3 Validación parcial con estándar interno .....	65
6.3.1 Selección de estándar interno .....	65
6.3.2 Parámetros de desempeño .....	67
6.3.2.1 Límite de detección y Límite de cuantificación.....	67
6.3.2.2 Intervalo lineal.....	69
6.3.2.3 Intervalo de trabajo.....	71
6.3.2.4 Exactitud.....	72
6.3.2.5 Veracidad.....	72
6.3.2.6 Precisión.....	74
6.3.2.7 Repetibilidad .....	74
6.3.2.8 Reproducibilidad.....	74
6.3.2.9 Sensibilidad.....	75
6.3.2.10 Recuperación .....	76
6.4 Validación parcial sin estándar interno.....	78
6.4.1 Curvas de calibración.....	78
6.4.2 Recuperación .....	79
6.4.3 Parámetros de desempeño .....	79
6.4.3.1 Límite de detección y Límite de cuantificación .....	80
6.4.3.2 Intervalo lineal .....	81
6.4.3.3 Intervalo de trabajo.....	83
6.4.3.4 Exactitud .....	84
6.4.3.5 Veracidad .....	84
6.4.3.6 Precisión .....	86
6.4.3.7 Repetibilidad .....	86
6.4.3.8 Reproducibilidad .....	86

6.4.3.9 Sensibilidad .....	87
6.4.3.10 Recuperación.....	88
6.5 Aplicación del método analítico desarrollado a muestras de mango deshidratado.....	89
6.5.1 Mango deshidratado natural .....	89
6.5.2 Mango deshidratado enchilado .....	91
7. CONCLUSIONES.....	95
8. ANEXO.....	98
8.1 MRC 1547 Peach Leaves .....	98
8.2 MRC 1570a Spinach Leaves .....	103
9. BIBLIOGRAFIA .....	109

## 1.SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

---

ADHD	Déficit de atención e hiperactividad
ALA	Ácido D-aminolevulínico
BLL	Niveles de plomo en sangre
Conaive	Cámara Nacional de la Industria del Vestido
DMSA	Ácido dimercaptosuccínico
E.I.	Estándar Interno
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
GFAAS	Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito
ICP - EAS	Espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente
ICP - MS	Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente
ISTP	Ingesta Semanal Tolerable Provisional
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
KED	Discriminación de energía cinética
LoD	Límite de detección
LoQ	Límite de cuantificación
µg/dL	Microgramos / decilitro
MRC	Material de Referencia Certificado
NIST	Instituto Nacional de Tecnología y Estándares
ppb	Partes por billón o µg/L
ppm	Partes por millón o µg/ml
QID	Deflector de iones cuadrupolo
RF	Radiofrecuencia
uma	Unidades de masa atómica

## 2. INTRODUCCIÓN

---

Dentro del sector de los dulces, se puede encontrar fruta deshidratada generalmente enchilada, como el mango, que representa una opción atractiva y diferente para el consumidor. Este tipo de productos es ampliamente demandado por la población. Una de las principales amenazas para el ser humano por su consumo a largo plazo es, que éstos contengan niveles altos de metales pesados, de los cuales el plomo es el más conocido. Los niños y las mujeres embarazadas suelen ser los principales consumidores de dulces y a su vez, es la población más susceptible a una intoxicación por plomo, como consecuencia es necesario conocer si el consumo de estos productos causa algún daño potencial a la salud humana.

Para este estudio se compararon y analizaron muestras de mango deshidratado, natural y con chile. Teniendo como hipótesis que, el mango deshidratado enchilado contendrá una mayor cantidad de plomo que el mango deshidratado natural, ya que el chile por su manipulación, podría elevar el contenido de plomo en la muestra.

Se cuantificó la cantidad de plomo presente en mango deshidratado disponible en la Central de Abastos ubicada en la delegación Iztapalapa de la Ciudad de México. Se seleccionó este mercado, porque de allí se distribuye a gran parte del país. El contenido de metales pesados en los materiales estudiados se analizó mediante espectrometría de masas con plasma acoplado (ICP – MS), aplicándoles antes un tratamiento físico (homogeneización) y químico (digestión ácida asistida por microondas).

Se estableció el contenido de plomo en las muestras y en el Material de Referencia Certificado (MRC) (hojas de durazno NIST 1547, National Institute of Standards and Technology, USA).

Así como la validación parcial del método analítico.

## 3. OBJETIVOS

---

### 3.1 Objetivos generales

- Desarrollar la metodología analítica para la cuantificación de plomo en mango deshidratado mediante ICP – MS.
- Cuantificar la cantidad plomo en mango deshidratado mediante espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP – MS); para saber si excede los límites máximos permisibles reportados en Normas Nacionales e Internacionales y por ende causar un daño potencial a la salud humana por su consumo.
- Se espera obtener una mayor cantidad de plomo en las muestras de mango deshidratado enchilado debido al chile que contiene la muestra; ya que se sabe que se recoge y se muele sin tener una limpieza minuciosa y el chile puede contener restos de tierra que a su vez contribuyen a una mayor cantidad de plomo en la muestra.

### 3.2 Objetivos específicos

- Optimizar la metodología analítica aplicando el método gravimétrico
- Conocer el funcionamiento del ICP – MS
- Evaluar la metodología analítica desarrollada a través de los siguientes parámetros de desempeño: límite de detección, límite de cuantificación, intervalo lineal, intervalo de trabajo, exactitud, veracidad, precisión, repetibilidad, reproducibilidad, recuperación, sensibilidad.

#### 4. MARCO TEÓRICO

---

Las frutas pueden contener y acumular metales pesados dependiendo del lugar de cultivo y de las propiedades naturales de las plantas (Wagner, 1993), contribuyendo de esta manera a la ingesta dietética de metales particularmente peligrosos, entre ellos: plomo.

Pero no sólo la fruta puede contener plomo, existen otras fuentes de exposición al plomo en el caso del mango deshidratado enchilado, como el chile. Frecuentemente el chile no se limpia antes de molerse y la tierra puede tener plomo que se mezcla con él o bien, el plomo puede ser depositado en el suelo y /o absorbido por las plantas, incluyendo plantas cultivadas para la alimentación. El plomo que entra en la planta no siempre se puede eliminar completamente mediante lavado u otros pasos en el proceso de los alimentos.

Las frutas son tradicionalmente un importante componente de la dieta humana, contienen muchos compuestos biológicamente activos que tienen efectos benéficos en la salud (Hakkinen, 1999; Awad, 2000, Rahua, 2000). Sin embargo, una parte considerable de la población mundial las consume en cantidades insuficientes. La oferta de productos novedosos a base de frutas, listos para consumir permite contrarrestar el bajo consumo de frutas frescas. El uso de las frutas tropicales, está siendo una excelente opción para obtener un producto con un valor añadido adecuado. Entre este tipo de frutas, el mango es una de las más apreciadas y demandadas por sus extraordinarias propiedades gustativas. En años recientes, los mangos se establecieron como una fruta fresca de mayor producción y como productos procesados en el mercado global. El mango ocupa el quinto lugar en importancia dentro de las frutas producidas en el mundo.

Una parte de la producción de mango se destina a ser procesada en forma de mango deshidratado, ya que mediante ésta, se pueden aprovechar frutos no adecuados para su comercialización y exportación en fresco y/ó simplemente ofrecerle la oportunidad al consumidor de disponer y disfrutar fácilmente de una fruta tropical lista para comer con buenas características gustativas y nutritivas.

Desde otra perspectiva, dentro del sector de los dulces, se puede encontrar la fruta deshidratada natural o enchilada, como el mango, que también debe cumplir

con el nivel máximo permisible de plomo: 0.1 µg/mL (ppm), establecido por la FDA en dulces consumidos por niños pequeños; en México la Secretaría de Salud ya está trabajando en el proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-217-SSA1-2002, Productos y servicios. Productos de confitería. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

#### 4.1 ¿Qué es un metal?

Los metales son típicamente definidos por las propiedades físicas del elemento en el estado sólido, pero varían ampliamente con el elemento metálico. Entre las propiedades de los metales en general, destacan la alta reflectividad (brillo), alta conductividad eléctrica; alta conductividad térmica, ductilidad y resistencia mecánica. Desde el punto de vista toxicológico; una característica importante de los metales es que pueden reaccionar con los sistemas biológicos por la pérdida de uno o más electrones para formar cationes (Vouk, 1986).

Una visión general de la toxicología de los metales se muestra en la Figura 1.

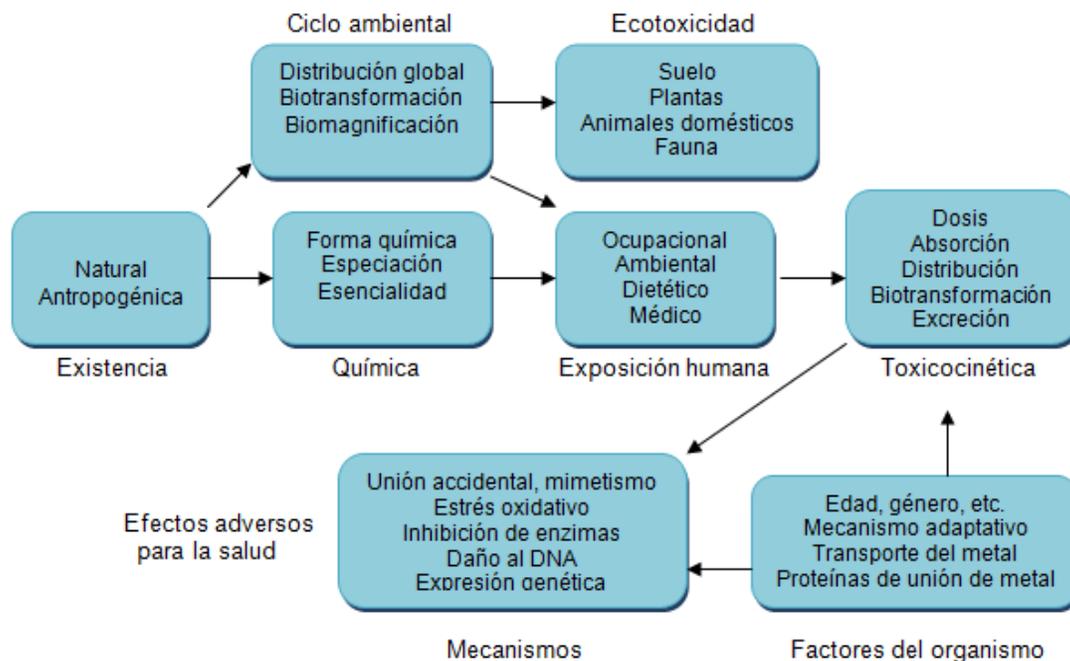


Figura1. Visión de toxicología de los metales. Curtis D. Klaassen, Ph.D., 2008

## **4.2 Metales como tóxicos**

El uso de metales ha sido fundamental para el progreso y el éxito de la civilización humana. Sería difícil imaginar una sociedad avanzada sin una amplia utilización de compuestos metálicos. Los metales son los únicos entre las sustancias tóxicas contaminantes que ocurren naturalmente y, en muchos casos, se encuentran en el medio ambiente humano. Por lo tanto, independientemente de que los metales se utilizan en procesos industriales ó productos de consumo, un cierto nivel de exposición humana es inevitable. Además, toda la vida ha evolucionado en la presencia de metales y los organismos se han visto obligados a hacer frente a estos potencialmente tóxicos. De hecho, muchos metales se han vuelto esenciales en diversos procesos biológicos. Su esencialidad, va de la mano de la acumulación intencional, transporte, almacenamiento, mecanismo de uso. Sin embargo, incluso los metales esenciales serán tóxicos con el aumento de la exposición. Esto da lugar a que el metal no esencial tóxico imita la función de los metales esenciales y por lo tanto, puede tener acceso y potencialmente alterar funciones celulares clave. Esto también puede explicar la bioacumulación de los metales tóxicos.

La contribución antropogénica para los niveles de metales en el aire, agua, suelo, alimentos están bien reconocidos. El uso humano de los metales también pueden alterar la forma química o especiación de un elemento y por lo tanto tener un impacto potencial tóxico. Con algunas notables excepciones, la mayoría de los metales se reciclan con moderación una vez utilizados. Estos factores se combinan para hacer metales muy persistentes en el medio ambiente. Los metales son sin duda uno de los tóxicos más antiguamente conocidos por el hombre debido a su uso muy temprano. Por ejemplo, el uso del plomo comenzó antes de 2000 a.C. cuando se obtuvieron abundantes suministros a partir de minerales como un subproducto de la fundición de la plata. La primera descripción del cólico abdominal en un hombre que extraía metales se le acredita a Hipócrates en el año 370 a.C.

Sin embargo, la mayor parte de la utilización de los metales se ha producido desde el inicio de la revolución industrial. Muchos de los metales que hoy en día

han generado preocupación desde el punto de vista toxicológico se han descubierto hace relativamente poco tiempo.

Históricamente, la toxicología del metal preocupa en gran medida, ya que manifiesta efectos a altas dosis como los cólicos abdominales por plomo o la sangrienta diarrea y uropenia después de la ingestión de mercurio.

Debido a los avances en la comprensión de la toxicidad potencial de los metales, con las consiguientes mejoras en la higiene industrial y las normas ambientales más estrictas, tales efectos agudos de altas dosis ahora son poco frecuentes.

Otros efectos crónicos tóxicos importantes incluyen la carcinogénesis y varios metales han surgido como carcinógenos humanos.

La asignación de efectos toxicológicos para cada metal puede ser difícil, ya que algunas veces se carece de especificidad, ya que puede ser una enfermedad compleja causada por un número de diferentes productos químicos ó incluso combinaciones de productos químicos. Además los seres humanos nunca se exponen a sólo un único metal, sino más bien a mezclas complejas. Los metales como una clase de tóxicos claramente presentan muchos desafíos en la investigación toxicológica. (Curtis D. Klaassen, Ph.D., 2008)

En esencia, como especies metales elementales no son biodegradables. Esta indestructibilidad combinada con la bioacumulación contribuye a la gran preocupación que se le tiene a los metales como tóxicos.

Los metales más elementales tienden a formar enlaces iónicos. Sin embargo, la conjugación biológica para formar compuestos organometálicos pueden ocurrir por diversos metales (Dopp, 2004), en particular con los metaloides, como el arsénico, que muestran cualidades carbonosas y metálicos mixtos. La capacidad redox de un metal ó compuesto metálico también debe considerarse como parte de su metabolismo. El metabolismo de los metales es complejo y sutil pero puede tener un impacto tóxico potencial directo.

#### **4.3 Movimiento de los metales en el medio ambiente**

Los metales se redistribuyen de forma natural en el medio ambiente de forma geológica y ciclos biológicos. El agua de lluvia disuelve las rocas y los minerales y transporta materiales, incluyendo metales, a los ríos y agua subterránea (por ejemplo, el arsénico), depositando materiales adyacentes en el suelo, y

eventualmente el transporte de estas sustancias al océano para precipitarlas como sedimento o tomado para la formación de agua de lluvia para ser reubicados en otro lugar.

Los ciclos biológicos mueven a los metales incluyendo la biomagnificación por las plantas y los animales resultando la incorporación en el ciclo de los alimentos.

En comparación, la actividad humana a menudo intencionalmente acorta el tiempo de residencia de los metales en los depósitos minerales, y puede resultar en la formación de nuevos compuestos metálicos, no naturales. Por ejemplo, la distribución de cadmio proviene principalmente de las actividades humanas. La industria mejora en gran medida la distribución del metal en el ambiente global por descarga a la tierra, al agua y al aire.

El aumento de la distribución de metales y compuestos metálicos en el medio ambiente, especialmente a través de las actividades antropogénicas, plantea aumentar la preocupación por los efectos ecotoxicológicos. Informes de intoxicación por metales son comunes en las plantas, los organismos acuáticos, invertebrados, peces, mamíferos marinos, aves y animales domésticos. Por ejemplo la intoxicación por mercurio, por el consumo de pescado que contiene altos niveles de metilmercurio y la intoxicación por cadmio debida al consumo de arroz cultivado en suelos contaminados con cadmio de los vertidos industriales, son ejemplos de las consecuencias humanas de la contaminación del medio ambiente.

No toda la toxicidad humana se produce a partir de metales depositados en la biosfera por la actividad humana, Por ejemplo, la intoxicación crónica por arsénico de altos niveles de arsénico natural inorgánico en el agua potable es un problema de salud importante en muchas partes del mundo. (Curtis D. Klaassen, Ph.D., 2008)

#### **4.4 Mecanismos químicos de la toxicología de los metales**

Químicamente, los metales en su forma iónica pueden ser muy reactivos y pueden interactuar con los sistemas biológicos en una gran variedad de maneras. En este sentido, una célula presenta numerosos ligandos de unión a metales. Por ejemplo, los metales como el cadmio y el mercurio se adhieren fácilmente al azufre en las proteínas como un bio – ligando preferido. Tal unión accidental es un mecanismo

químico importante por el cual los metales exógenos ejercen efectos tóxicos que pueden resultar en un re – arreglo estérico que perjudica la función de las biomoléculas (Kasprzak, 2002). Un ejemplo, sería la inhibición de la actividad de la enzima por la interacción de metal en distintos sitios del centro activo, tales como la inhibición por plomo en la enzima de síntesis del grupo hemo. La inhibición de enzimas biológicas críticas es un mecanismo molecular importante de la toxicología del metal.

Los metales pueden mostrar formas específicas de ataque químico a través del mimetismo. En este sentido, los metales tóxicos pueden actuar como imitadores de metales esenciales, que se unen a sitios fisiológicos que normalmente están reservados para un elemento esencial. Debido a su privilegiada química, éstos están involucrados en una variedad de claves metabólicas y funciones de señalización (Kasprzak, 2002; Primos, 2006).

A través del mimetismo, los metales tóxicos pueden tener acceso e interrumpir potencialmente una variedad importante de funciones celulares mediadas por metales. Por ejemplo, el mimetismo<sup>1</sup> y la sustitución de zinc, es un mecanismo de toxicidad para el cadmio, cobre y níquel. El talio imita al potasio y el manganeso imita al hierro como un factor crítico en su toxicidad. El mimetismo del arseniato y vanadato de fosfato permite el transporte celular de estos elementos tóxicos, mientras que el selenato, molibdato y cromato mimetizan al sulfato y pueden competir con los acarreadores de sulfato y en las reacciones químicas de sulfatación (Puentes y Zalpus, 2005).

El mimetismo molecular o iónico a nivel de transporte es a menudo un acontecimiento clave en la toxicidad de los metales.

Otra reacción química clave en la toxicología del metal es el daño oxidativo mediado por metales. Muchos metales pueden actuar directamente como centros catalíticos para reacciones redox con oxígeno molecular u otros agentes oxidantes endógenos, la modificación oxidativa de la producción de biomolécula, tales como proteínas ó ADN. Esto puede ser un paso clave en la carcinogenicidad de ciertos metales (Kasprzak, 2002).

<sup>1</sup>Propiedad de algunos metales para asemejarse a otros metales.

Alternativamente, los metales pueden desplazar elementos esenciales activos redox de su ligando celular normal, que a su vez, puede resultar en el daño celular oxidativo.

#### **4.5 Factores que impactan en la toxicidad del metal**

Los factores estándar que impactan el potencial tóxico de todos los productos químicos aplican también para los metales. Factores relacionados con la exposición incluyen la dosis, la vía de exposición, la duración y frecuencia de la exposición. Los metales pueden ser muy reactivos, y la puerta de entrada es a menudo inicialmente el órgano más afectado, como sucede con los pulmones después de la inhalación.

Factores basados en el organismo hospedero<sup>2</sup> pueden afectar la toxicidad de los metales; entre los que se incluyen la edad en la exposición, el género y la capacidad de biotransformación. Por ejemplo, es evidente que los sujetos más jóvenes suelen ser más sensibles a intoxicación por metales, como por ejemplo, con la neurotoxicidad de plomo en los niños. La principal vía de exposición a muchos metales tóxicos en los niños es la comida y los niños consumen más calorías por kilogramo de peso corporal que los adultos. Además, los niños tienen una mayor absorción gastrointestinal de metales, en particular; el plomo. El rápido crecimiento en el prenatal representan oportunidades para los efectos tóxicos, incluyendo potencialmente la carcinogénesis de agentes metálicos y varios metales (por ejemplo, arsénico, níquel, plomo y cromo) son carcinógenos transplacentarios en los roedores.

En la etapa fetal la toxicidad de los metales está bien documentada, así como los efectos teratogénicos de muchos metales.

Para muchos compuestos inorgánicos no hay impedimento para el transporte transplacentario, al igual que con el plomo o el arsénico, los niveles fetales de plomo en la sangre humana son similares a los niveles maternos. Generalmente, se cree que las personas mayores son más susceptibles a la toxicidad de los metales que los adultos más jóvenes. El reconocimiento de los factores que

<sup>2</sup>Organismo que alberga a otro en su interior o que lo porta sobre sí.

influyen en la toxicidad de un metal es importante en la determinación de riesgo, particularmente en sub-poblaciones susceptibles.

Factores químicos afectan directamente el potencial tóxico de los metales. Esto incluiría el compuesto metálico preciso y su estado de valencia o su especiación. Por ejemplo, el metilmercurio es una potente neurotoxina, mientras que los mercuriales inorgánicos atacan principalmente el riñón. Del mismo modo, el estado de oxidación del cromo puede diferenciar lo esencial (de origen natural de cromo trivalente) de especies tóxicas (cromo hexavalente).

La importancia de los metales tiene relación directa con el potencial tóxico de un metal. Cualquier metal iónico "libre" sería potencialmente tóxico debido al potencial reactivo. La necesidad de acumular metales esenciales dicta la evolución de los sistemas para el transporte, almacenamiento y utilización, así como, dentro de los límites, el exceso de eliminación.

Respecto a esto, se esperaría que los elementos metálicos esenciales mostraran una curva de dosis – respuesta "U", en la cual a bajos niveles de exposición, los efectos tóxicos adversos ocurrirían por deficiencia, pero a niveles altos de exposición también se produciría toxicidad. Los metales tóxicos no esenciales pueden imitar a los elementos esenciales y alterar la homeostasis, al igual que con el cadmio, que puede desplazar potencialmente al zinc para unirse a factores de transcripción y enzimas dependientes de zinc (Waalkes, 2003).

Los mecanismos adaptativos pueden ser críticos para los efectos tóxicos de los metales, y los organismos tienen una variedad de rutas en las cuales se pueden adaptar de otro modo a las alteraciones del metal.

Típicamente, la adaptación se adquiere después de las primeras exposiciones y puede ser de larga duración o transitoria después de que la exposición cesa.

La adaptación puede estar en el nivel de la absorción o excreción o con algunos metales, a través del almacenamiento a largo plazo en una forma toxicológica inerte. Por ejemplo, parece haber una mejora en el flujo de salida de arsénico que está implicado en la tolerancia adquirida al metaloide en el nivel celular (Liu et al., 2001). Por el contrario, el secuestro intencional de metales tóxicos es otra táctica de adaptación y hay ejemplos de almacenamiento a largo plazo que implican inclusiones de plomo en el cuerpo, los cuales se forman en varios órganos y

contienen proteínas inmovilizadas por plomo, lo cual aumenta claramente los efectos crónico tóxicos por el plomo, incluyendo la carcinogénesis (Waalkes, 2004).

La exposición a metales también puede inducir una cascada de respuestas genéticas / moleculares que pueden a su vez, reducir la toxicidad, tales como el estrés oxidativo inducido por la respuesta del metal (Valko, 2006). Está claro que adquirió la adaptación al metal, aunque permite la supervivencia celular inmediata y puede de hecho ser un factor potencial que contribuye a la toxicidad a largo plazo. Por ejemplo, adquirió auto – tolerancia al cadmio o la apoptosis<sup>3</sup> inducida por arsénico puede contribuir realmente a la eventual carcinogénesis permitiendo la supervivencia de las células dañadas que de otra manera tendrían que haber sido eliminadas. (Hart, 2001; Pi, 2005).

#### **4.6 Biomarcadores de la exposición al metal**

Los biomarcadores de exposición, la toxicidad y la susceptibilidad son importantes en la evaluación del nivel de preocupación con la intoxicación de metales. Los biomarcadores de exposición, tales como las concentraciones en sangre u orina han sido ampliamente usados con metales. Las técnicas en la toxicología molecular han ampliado en gran medida las posibilidades de los biomarcadores. Por lo tanto, en el caso del cromo, los complejos DNA – proteína pueden servir como un biomarcador a la exposición y al potencial carcinogénico. La capacidad para la expresión de genes que juega un papel protector contra la toxicidad del metal, tal como, con la metalotioneína y la hemo-oxigenasa, parecen prometer como biomarcadores de efecto y susceptibilidad. El uso de dichos biomarcadores bien podría permitir la identificación de sub – poblaciones particularmente sensibles.

La dosis de un metal es un concepto multidimensional y es una función del tiempo, así como la concentración. La definición de dosis más relevante,

<sup>3</sup>Destrucción o muerte celular programada provocada por ella misma, con el fin de autocontrolar su desarrollo y crecimiento.

toxicológicamente hablando es la cantidad de metal activo dentro de las células del órgano afectado. La forma activa se presume que es el metal libre, pero es realmente difícil o imposible determinarlo con precisión.

Un indicador crítico de la retención de un metal es su vida media biológica, o el tiempo que toma para que el cuerpo u órgano excrete la mitad del monto acumulado. La vida media biológica varía según el metal, así como el órgano o tejido. Por ejemplo, la vida biológica media del cadmio en el riñón y la del plomo en los huesos son de 20 a 30 años respectivamente, mientras que para algunos metales, tales como arsénico o litio, son sólo de un par de horas a días. Para muchos metales, se necesita más que la vida media para describir completamente la retención.

La vida media del plomo en la sangre es sólo de unas pocas semanas, en comparación con la vida media mucho más larga en el hueso.

La sangre, la orina y el pelo son los tejidos más accesibles para la cuantificación de exposición a metales. Los resultados de las mediciones individuales pueden reflejar la exposición reciente o de larga duración o exposición en el pasado, en función del tiempo de retención en un tejido en particular.

Las concentraciones en sangre y orina por lo general, aunque no siempre, son el reflejo de las exposiciones más recientes o correlaciona los efectos adversos agudos. Una excepción es el cadmio urinario, lo que puede reflejar el daño renal relacionado con una acumulación de cadmio renal a lo largo de varias décadas. El pelo puede ser útil en la evaluación de la exposición del metal durante el periodo de su crecimiento. Los análisis se pueden realizar en varios segmentos de cabello y comparar el contenido de metal en los más nuevos con las exposiciones pasadas. Se ha encontrado en los niveles de mercurio en el cabello una medida fiable de la exposición a metilmercurio. Sin embargo, para la mayoría de otros metales, el pelo no es un tejido fiable para medir la exposición debido a depósitos de metal de fuentes de contaminación externa, que pueden complicar el análisis. (Curtis D. Klaassen, Ph.D., 2008)

#### **4.7 Proteínas de unión a metal y transportadores de metal**

Las proteínas de unión a metales son un aspecto crítico en el metabolismo de metales esenciales y tóxicos (Zalpus y Koropatnick, 2000). Hay diferentes tipos de

proteínas que juegan un papel importante en la disposición de los metales en el cuerpo.

La unión no específica a las proteínas, como la albúmina de suero o hemoglobina, actúa en el transporte del metal y la distribución en los tejidos.

Los metales varían en su sitio de unión a la proteína y pueden atacar una variedad de residuos de aminoácidos. Además, las proteínas con la propiedad específica de unión a metal desempeñan papeles especiales en el tránsito de metales esenciales específicos, y los metales tóxicos pueden interactuar con estas proteínas a través del mimetismo. Las proteínas de unión a metal son una parte importante, es un tema emergente en la fisiología y toxicología de los metales.

Las metalotioneínas son una clase importante de proteínas de unión a metal que funcionan en la homeostasis del metal esencial y la detoxificación de metales (Klaassen, 1990). Son pequeñas (6000 Da), solubles, y ricos en ligandos tiol orientados internamente. Estos tiol ligandos proporcionan la base para la alta afinidad de unión de varios metales esenciales y tóxicos, incluyendo zinc, cadmio, cobre y mercurio.

Las metalotioneínas son altamente inducibles por una variedad de metales u otros estimulantes.

La transferrina es una glicoproteína que se une a la mayor parte del hierro férrico en el plasma y ayuda al transporte de hierro a través de las membranas celulares.

La proteína también transporta aluminio y manganeso.

La ferritina es principalmente una proteína de almacenamiento de hierro. Se ha sugerido que la ferritina puede servir como una proteína desintoxicante de metales en general, porque se une a una variedad de metales tóxicos, incluyendo cadmio, zinc, berilio y aluminio.

La ceruloplasmina es una glicoproteína oxidasa que contiene cobre en plasmas que convierte el hierro ferroso a hierro férrico, que luego se une a la transferrina. Esta proteína también estimula la absorción de hierro por un mecanismo independiente de transferrina.

En todas las células existen mecanismos para la homeostasis de iones de metal que frecuentemente implican un equilibrio entre los sistemas de captación y de flujo de salida.

Un rápido incremento en el número de proteínas transportadoras de metal está siendo descubierto, que transportan metales a través de la membrana celular y organelos dentro de las células.

Los transportadores de metal son importantes para la resistencia celular a metales o metaloides.

La importancia de transportadores de metales en enfermedades humanas está bien ilustrado por la enfermedad de Menkes y la enfermedad de Wilson, que son causadas por mutaciones genéticas en el cobre y transporte gen de proteína ATP7A, resultando una deficiencia de cobre (enfermedad de Menkes), o ATP7B, resultando una sobrecarga de cobre (enfermedad de Wilson).

#### **4.8 Farmacología de los metales**

Los metales y los compuestos metálicos tienen una larga historia de uso farmacológico. Agentes metálicos en gran parte debido a su potencial de toxicidad, han sido usados en entornos quimioterapéuticos. Por ejemplo, en el siglo XVI ya se utilizaba el mercurio en el tratamiento de la sífilis.

Hoy en día, muchos productos químicos metálicos siguen siendo valiosas herramientas farmacológicas en el tratamiento de las enfermedades humanas, como se ejemplifica para el uso altamente eficaz de los compuestos de platino en la quimioterapia para el cáncer. Además los complejos de galio y titanio son compuestos metálicos prometedores también en la quimioterapia del cáncer. Otros metales medicinales incluyen el aluminio (antiácidos y tampones analgésicos), bismuto (úlceras pépticas), litio (trastornos bipolares) y oro (artritis).

El tratamiento de la intoxicación por metales a veces se usa para prevenir o incluso intentar revertir la toxicidad. La estrategia típica es dar quelantes de metales que formarán un complejo del metal y aumentarán su excreción (Klaassen, 2001). La mayoría de los quelantes no son específicos e interactúan con una variedad de metales, eliminando más que el metal de preocupación. Además, la gran variedad de ligandos de metal biológicos es una barrera formidable para la eficacia quelante (Klaassen, 2001). La terapia de quelación

debe considerarse como una alternativa secundaria a reducción o prevención de las exposiciones de metales tóxicos. Esta terapia puede ser utilizada para muchos metales diferentes, incluyendo plomo, mercurio, hierro y arsénico.

#### **4.9 PLOMO**

El plomo ha sido usado por los humanos al menos desde hace 700 años, debido a su fácil extracción y su fácil manejo, ya que es altamente maleable y dúctil así como fácil de fundir. En la edad temprana de bronce, el plomo era usado con antimonio y arsénico. El símbolo elemental del plomo es Pb, que es una abreviación de su nombre en latín *plumbum*. El plomo en sus compuestos existe principalmente en forma divalente. El plomo metálico ( $Pb^0$ ) es resistente a la corrosión y puede ser combinado con otros metales para formar varias aleaciones. El plomo organometálico fue usado como aditivo para la gasolina.

Las aleaciones de plomo son usadas en baterías, escudos o protecciones contra la radiación, tuberías para agua y balas. El plomo ambiental proviene principalmente de la actividad humana y es listada como la principal sustancia tóxica.

La eliminación gradual de la gasolina con plomo, la remoción del plomo de las pinturas y de las tuberías del suministro de agua han reducido significativamente los Niveles de Plomo en la Sangre (BLL, por sus siglas en inglés; Blood Lead Levels) en la población. La exposición de plomo en niños continúa siendo un importante problema de salud. El plomo no es biodegradable y la preocupación por su ecotoxicidad sigue incrementando.

##### **4.9.1 Exposición**

El plomo contenido en la pintura es una fuente principal de exposición al plomo en niños. Otras fuentes ambientales de plomo para los bebés y niños pequeños arriba de 4 años es que se meten la mano a la boca con virutas de pintura o bien con polvo de los pisos de viviendas antiguas.

El plomo en el polvo doméstico puede provenir del exterior de la casa y puede estar relacionado con el tránsito de vehículos. La principal ruta de exposición para la población en general, viene de la comida y el agua.

La ingesta diaria de plomo ha disminuido dramáticamente en años recientes y para bebés y niños pequeños es  $< 5 \mu\text{g}/\text{día}$  (Manton, 2005).

Otras fuentes de exposición al plomo son el tiro deportivo, la carga manual de balas, soldadura, fabricación de joyas, alfarería, fabricación de armas, pinturas, artesanías vidrieras. La exposición laboral, se continúa reduciendo gradualmente.

#### **4.9.2 Toxicocinética**

El plomo puede penetrar en el organismo por tres vías: respiratoria, digestiva y cutánea, siendo esta última de menor probabilidad (ARTSDR, 2005). El plomo que atraviesa la piel pasa a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente circulatorio. En la especie humana la absorción de plomo por vía inhalatoria es mínima en comparación con la vía digestiva (Goyer R.A., 1996). En el caso de penetrar por vía respiratoria se combina con proteínas o con el  $\text{CO}_2$  respirado, formándose  $\text{PbCO}_3$  soluble. Por vía respiratoria, la más importante en el medio laboral, se llega a absorber el 40 % del plomo. Parte de este Pb se fija en la saliva y se traga. Por todo lo cual la vía respiratoria está considerada como la más peligrosa. Respecto a la absorción digestiva, mientras los adultos absorben el 10%, los niños absorben hasta el 50% del Pb ingerido (Wittmers L, Aufderheide A, 1988, Gerhardsson L., 1995). Por otra parte, los niños tienden a retener mayor concentración del plomo absorbido que los adultos, en porcentaje se puede cuantificar respectivamente en un 30% y 5% (Treble R, 1997)

Tras ser absorbido, el plomo en el organismo sigue un modelo tricompartmental:

- El sanguíneo (el 2% del contenido total, cuya vida media es de  $36 \pm 5$  días)
- El de los tejidos blandos (cuya vida media es más prolongada que la anterior, pero aún no se tienen datos exactos)
- El óseo (que representa el 90% del contenido total con una vida media entre 10 y 28 años)

El plomo circula en un 95-99% transportado por los hematíes, unido a la hemoglobina y otros compuestos. Se distribuye desigualmente en los tejidos; cerca del 10% del plomo es almacenado en los tejidos blandos, conteniendo el

tejido óseo el restante 90%. En hueso, el plomo es incorporado a los cristales de hidroxapatita, de los cuales puede ser utilizado muy lentamente (Berkowitz GS, 1999). Si las concentraciones en sangre son elevadas, el almacenamiento de plomo en los huesos se ve favorecido, pudiendo acumularse un 94 % del Pb absorbido. La sangre transfiere lentamente el plomo a los huesos donde se fija siguiendo un metabolismo paralelo al del calcio. Debido a la gran cantidad de plomo acumulada en los huesos, se puede observar radiológicamente en casos avanzados de saturnismo, que las metáfisis de los huesos largos han aumentado de espesor y de densidad, apareciendo unas bandas radiopacas en los huesos de los antebrazos, rodillas, piernas y en el borde del omoplato de personas que no han finalizado su crecimiento.

Cualquier vía de ingestión de plomo tiene su punto final en el hígado, el cual metaboliza los compuestos que a él llegan, eliminando una parte por la bilis. Cuando existe una insuficiencia hepática o la concentración del metal es excesiva se elimina por el sudor, la saliva, el páncreas y por la orina.

Se excreta fundamentalmente por orina (80%) y de forma secundaria por heces, saliva. En el caso de baja exposición al plomo, existe un equilibrio entre el aporte del tóxico y la eliminación.

Pero, pasado un cierto nivel, comienza a acumularse. Este nivel depende no sólo del grado de exposición, sino también de la edad y de la integridad de órganos como el hígado y el riñón (González M, 1997).

La semivida del plomo circulante es de unos 25 días, la del plomo de los tejidos blandos de unos 40 días y la del plomo depositado en los huesos puede ser de hasta 30 años. Por ello, el plomo en hueso puede ser utilizado para describir, en el tiempo, el contenido corporal del mismo (Drasch G, 1997)

El plomo liberado de los huesos puede contribuir hasta el 50% del plomo en la sangre y es una importante fuente de exposición endógena.

El plomo liberado de los huesos puede ser importante en los adultos con exposición ocupacional acumulada y en mujeres debido a la resorción ósea durante el embarazo, lactancia, menopausia y de osteoporosis (Gulson, 2003)

EL plomo atraviesa la placenta, de modo que la sangre del cordón umbilical generalmente correlaciona los niveles de plomo en sangre materna, pero a

menudo es ligeramente inferior. La acumulación de plomo en los tejidos del feto, incluyendo el cerebro es proporcional a los niveles de plomo en sangre de la madre (Gover., 1996)

#### **4.9.3 Toxicidad**

El plomo puede inducir una amplia gama de efectos adversos en humanos dependiendo de la dosis y la duración de la exposición. Los efectos tóxicos van desde la inhibición de enzimas para la producción de diversas patologías hasta la muerte (Gover, 1990). Los niños son más sensibles a los efectos en el sistema nervioso central, mientras que en los adultos el problema son las neuropatías periféricas crónicas y la hipertensión.

Otros tejidos blancos incluyen el gastrointestinal, inmunológico, óseo y sistemas reproductivos. Los efectos sobre la biosíntesis del grupo hemo proporcionan un indicador bioquímico sensible, incluso en ausencia de otros efectos detectables.

#### **4.9.4 Niños**

La exposición aguda a niveles muy altos de plomo puede provocar encefalopatía en niños y otros signos asociados como:

- ataxia.
- coma.
- convulsiones.
- hiperirritabilidad.
- estupor.
- la muerte.

En el caso de los niños, los niveles de plomo en sangre asociados con encefalopatía, varían de una investigación a otra, pero parece haber consenso que niveles de entre 70-80 µg/dL (o valores superiores a éstos) son indicativos de un riesgo serio. (ATSDR 2005).

Aunque no se presenten síntomas de encefalopatía, estos niveles se encuentran asociados a incidencias mayores de daños neurológicos y conductuales duraderos (ATSDR 2005).

A niveles de exposición mucho más bajos, los niños sufren otros efectos neurológicos.

- Los efectos adversos pueden presentarse a niveles bajos de plomo en sangre, de menos de 10 µg/dL en algunos casos, y posiblemente no se puedan detectar mediante una exploración clínica.
- Por ejemplo, algunas investigaciones revelan que, por cada aumento de 10 µg/dL en los niveles de plomo en sangre, se presentaba una baja de cuatro a siete puntos en el valor del coeficiente intelectual de los niños expuestos (Landsdown , 1986; Hawk, 1986; Winneke, 1990)
- Existe una gran evidencia que asocia un decremento en el desempeño del coeficiente intelectual y otros efectos neuropsicológicos con la exposición al plomo.
- Existe también evidencia de que el desorden, déficit de atención e hiperactividad (ADHD) y la discapacidad auditiva en los niños aumentan al subir los niveles de plomo en sangre, y de que la exposición al plomo puede desequilibrar y dañar la función de los nervios periféricos (ATSDR 2005).

Algunos de los efectos neurológicos del plomo pueden persistir hasta la adultez.

#### **4.9.5 Adultos**

Puede haber una diferencia en cuanto a los efectos neurológicos entre un adulto expuesto al plomo en la edad adulta y un adulto expuesto al plomo en su niñez, puesto que en este último caso su cerebro se estaba desarrollando.

- Los efectos neurológicos en los niños, incluyendo el ADHD, pueden persistir en la edad adulta. Los adultos expuestos al plomo pueden experimentar también muchos de los síntomas neurológicos de los niños expuestos, aunque los umbrales para los adultos tienden a ser más altos.

La encefalopatía causada por el plomo puede presentarse a niveles extremadamente altos de plomo en sangre, por ejemplo: 460 µg/dL (ATSDR 2005).

Algunos precursores de la encefalopatía, como matidez, irritabilidad, un bajo lapso de atención, temblores musculares y pérdida de memoria pueden presentarse a niveles menores de plomo en sangre.

Se han informado efectos neurológicos y conductuales menos severos en trabajadores expuestos al plomo que presentan niveles de plomo en sangre de entre 40 y 120 µg/dL. (ATSDR 2005). Estos efectos incluyen:

- Disminución de la libido.
- Depresión/cambios de estado de ánimo, dolor de cabeza.
- Disminución del desempeño cognitivo.
- Disminución en la destreza de las manos.
- Disminución en los tiempos de reacción.
- Disminución en el desempeño visual motor.
- Mareos.
- Fatiga.
- Tendencia a olvidar cosas.
- Problemas de concentración.
- Impotencia.
- Nerviosismo creciente.
- Irritabilidad.
- Letargo.
- Malestar.
- Reducción en los valores del coeficiente intelectual.
- Debilidad

Existe también evidencia de que la exposición al plomo puede afectar el balance postural de los adultos y la función de los nervios periféricos (ATSDR 2005). Los trabajadores que han estado expuestos de una manera crónica a altos niveles de plomo pueden presentar los signos clásicos de envenenamiento por plomo, como una más lenta conducción nerviosa y una debilidad en el músculo extensor del antebrazo (muñeca caída).

#### **4.9.6 Efectos hematológicos**

El plomo inhibe la habilidad del cuerpo para fabricar hemoglobina, al interferir con varios pasos enzimáticos de la ruta del grupo hemo.

La ruta de biosíntesis del grupo hemo y los sitios de interferencia del plomo se muestran en la Figura 2.

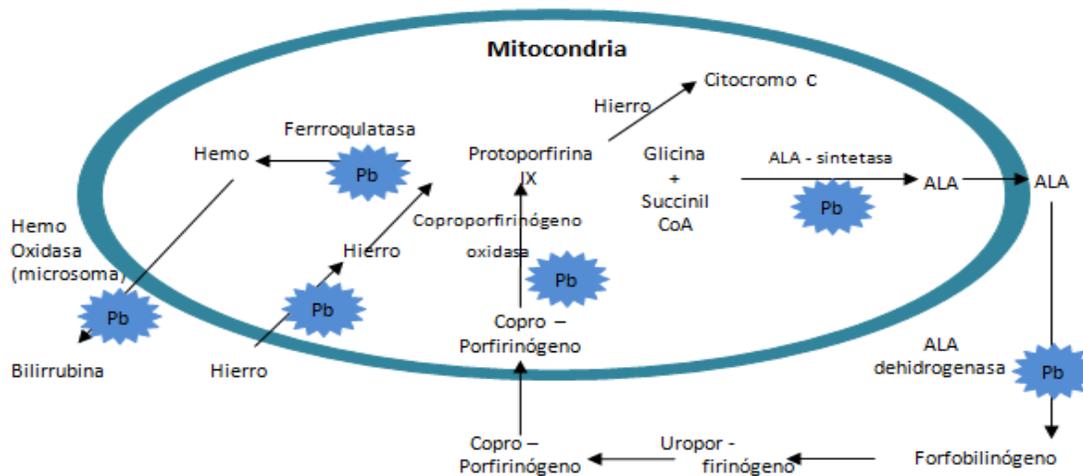


Figura 2. Interrupción en la biosíntesis del grupo hemo por plomo ALA (ácido D-aminolevulínico),  $\delta$  - aminolevulinato; Pb, sitios por efectos del plomo. Los principales sitios de inhibición por plomo son ALA dehidrogenasa y ferroquelatasa. (Curtis D. Klaassen, Ph.D., 2008)

El plomo puede provocar anemia (ATSDR 2005).

- La exposición aguda a niveles altos de plomo está asociada a la anemia hemolítica.
- La anemia franca no es una manifestación temprana de la exposición al plomo y se hace evidente sólo cuando los niveles de plomo en sangre se elevan por periodos prolongados.
- La exposición crónica al plomo induce la anemia al interferir con la biosíntesis del grupo hemo y al disminuir la supervivencia de los glóbulos rojos.

La ruta de síntesis del grupo hemo, que se ve afectada por el plomo, está involucrada en muchos otros procesos corporales, que incluyen las rutas neurológica, renal, endocrina y hepática.

#### 4.9.7 Toxicidad renal

Muchas investigaciones revelan la existencia de una fuerte asociación entre la exposición al plomo y efectos renales (ATSDR, 2005).

No se conoce cuál es el nivel más bajo en el cual el plomo ejerce un efecto adverso sobre el riñón.

Los efectos latentes de exposición al plomo durante la niñez, y que se manifiestan años después, pueden dar lugar a algún tipo de enfermedad renal crónica avanzada o a una disminución en la función renal.

Hay que mencionar que la enfermedad renal en etapa terminal e inducida por plomo es un acontecimiento relativamente raro entre la población.

- La enfermedad renal puede ser asintomática hasta que pasa a etapas más tardías, y quizás no pueda detectarse si no es por medio de análisis.
- Puesto que una exposición excesiva de plomo, tanto anterior o actual, puede ser un agente causal de la enfermedad renal asociada a hipertensión esencial (ATSDR 2005), los proveedores de atención primaria deben vigilar cuidadosamente la función renal de sus pacientes que sufran de hipertensión y que tengan datos de haber estado expuestos al plomo en el pasado.

Es posible que la exposición al plomo contribuya también a la «gota saturnínica,» que puede presentarse por una hiperuricemia inducida por plomo, debido a una menor excreción renal de ácido úrico.

- La gota saturnínica se caracteriza por provocar ataques menos frecuentes que la gota primaria. La gota asociada al plomo puede ocurrir en mujeres premenopáusicas, algo que no es común en la gota no asociada al plomo (ATSDR 2005).

#### **4.9.8 Efectos en el sistema cardiovascular**

La hipertensión es una enfermedad compleja que tiene muchas diferentes causas y muchos factores de riesgo, incluyendo la edad, el peso, la dieta y los hábitos de ejercicio.

- La exposición al plomo es uno de muchos factores que pueden contribuir a la aparición y al desarrollo de la hipertensión.
- Aunque existe una asociación baja entre la hipertensión y niveles bajos de exposición al plomo (niveles de plomo en sangre <30 µg/dL), existen estudios recientes que revelan que exposiciones más altas (principalmente ocupacionales) aumentan el riesgo de sufrir enfermedad hipertensa coronaria y enfermedad cerebrovascular (ATSDR 2005)

#### **4.9.9 Efectos endocrinos**

Ciertos estudios de niños expuestos a altos niveles de plomo revelan que existe una fuerte correlación inversa entre los niveles de plomo en sangre y los niveles de vitamina D.

- El plomo impide la conversión de la vitamina D en su forma hormonal, la 1,25-dihidroxitamina D, responsable del mantenimiento de la homeostasis del calcio extracelular e intracelular.
- Una reducción de la 1,25-dihidroxitamina D puede dificultar el crecimiento celular, la maduración y el desarrollo de huesos y dientes.
- En general, estos efectos adversos parecen estar restringidos a niños con niveles de plomo en sangre crónicamente altos (más destacados en niños con niveles de plomo en sangre >62 µg/dL) y con deficiencia nutricional crónica, especialmente referida al calcio, fósforo y vitamina D (ATSDR 2005).

Aparentemente, el plomo tiene un mínimo efecto sobre la función tiroidea.

#### **4.9.10 Efectos gastrointestinales**

En casos severos de envenenamiento por plomo, niños y adultos pueden presentar dolores abdominales severos que pueden confundirse con un dolor abdominal agudo o con una apendicitis.

#### **4.9.11 Efectos reproductivos**

Los efectos en el aparato reproductor incluyen la cuenta de espermatozoides, la fertilidad y los resultados de embarazos. Aunque algunas investigaciones han implicado al plomo como un factor con efectos reproductivos y en el desarrollo, estos efectos no se han establecido para niveles bajos de exposición.

Efectos reproductivos en hombres

Investigaciones recientes sobre función reproductiva sugieren que las exposiciones actuales al plomo disminuyen las cuentas totales de espermatozoides y aumentan las cantidades de espermatozoides anormales (ATSDR 2005).

- Estos efectos pueden presentarse desde niveles de plomo en sangre de 40 µg/dL (ATSDR 2005).
- La exposición a largo plazo al plomo (independientemente de los niveles actuales de exposición al plomo) también puede provocar una disminución de las concentraciones de espermatozoides, de la cuenta total de espermatozoides y de la motilidad total de estas células (ATSDR 2005).
- No está claro aún cuánto tiempo pueden durar estos efectos en los humanos, aún y cuando ya haya pasado el periodo de exposición.

#### Resultados en el embarazo

No está muy claro cuál es el efecto de las exposiciones a niveles bajos de plomo sobre los resultados del embarazo. Parece ser que a niveles de exposición más altos (en situaciones ocupacionales) la evidencia marca una clara asociación entre el plomo y resultados adversos en el embarazo. Esta asociación se torna ambigua cuando se considera el caso de mujeres expuestas a niveles ambientales más bajos de plomo. Los datos relacionados con los niveles de exposición están incompletos, posiblemente como resultado de mayores exposiciones que las que se encuentran en la industria del plomo.

- Algunas investigaciones revelaron que las mujeres con un nivel de plomo en sangre de 5-9 µg/dL tenían una probabilidad 2 o 3 veces mayor de tener un aborto espontáneo que las mujeres con niveles de plomo en sangre menores a 5 µg/dL (Borja-Aburto, 1999).

#### **4.9.12 Efectos en el desarrollo**

Los efectos en el desarrollo examinados en la literatura incluyen a los resultados en el embarazo (nacimientos prematuros y bajo peso al nacer), anomalías congénitas y efectos posteriores al nacimiento en lo referente al desarrollo neurológico y al crecimiento.

- Hay una evidencia creciente de que el plomo, capaz de cruzar fácilmente la placenta, afecta de manera adversa la viabilidad del feto así como el desarrollo fetal y el desarrollo en la niñez temprana.

- La exposición prenatal a niveles bajos de plomo (niveles de plomo en sangre de 14 µg/dL en la madre) pueden aumentar el riesgo de tener niños con bajo peso al nacer y de nacimientos prematuros (ATSDR 2005).
- Aunque se conoce que el plomo es un teratógeno animal, la mayor parte de las investigaciones en humanos no han encontrado una asociación entre los niveles de plomo y malformaciones congénitas.
- Una investigación hecha por Needleman *en* 1984 encontró correlaciones entre la creciente exposición prenatal al plomo y un incremento en el riesgo de sufrir anomalías congénitas menores (anomalías menores en la piel y testículos no descendidos).
- En un estudio retrospectivo, se encontró que padres biológicos que habían sufrido envenenamiento por plomo cuando eran niños, con hijos en edad escolar que presentaban una mayor proporción de problemas de aprendizaje (Hu 1991).

#### **4.9.13 Otros efectos**

Se ha relacionado al plomo con problemas de desarrollo y salud óseos. A niveles altos, el plomo puede provocar una reducción en el crecimiento de los niños.

Investigaciones que se están desarrollando actualmente quizás arrojen más luz en el futuro sobre los impactos potenciales del plomo en la osteoporosis (salud ósea).

Los datos disponibles actualmente no son suficientes para determinar la carcinogenicidad del plomo en seres humanos.

- La EPA clasificó al plomo elemental y a los compuestos de plomo inorgánico como pertenecientes al Grupo 2B: probables carcinógenos humanos (ATSDR 1999). Esta clasificación está basada en parte en estudios con animales, lo que le ha acarreado críticas puesto que las dosis de plomo que se administraron eran extremadamente altas. (ATSDR 1999).
- El Programa Nacional de Toxicología clasifica al plomo y a los compuestos de plomo como razonablemente y de manera anticipada, como cancerígenos (NTP 2004).

Los científicos están investigando actualmente los efectos del plomo en la salud de los dientes. En los años 80 se hizo un estudio entre Facultad de Medicina, de Química y Filosofía y Letras con la finalidad de ver si había relación entre la concentración de Pb en dientes desiduales y CI (coeficiente intelectual). En FQ se hizo la cuantificación de Pb y Ca en dientes de niños entre 9 y 10 años de edad. Se obtuvieron muestras de niños de escuelas públicas de las 16 delegaciones del DF, pensando en que tienen una alimentación similar. A todos los niños se les aplicaron pruebas para ver su CI (coeficiente intelectual) y otras para ver sus habilidades. Los niveles de Pb encontrados, con cierta dispersión, fueron similares para todas las delegaciones. Las concentraciones altas de Pb no indicaron zonas más contaminadas del DF ni viceversa. De los resultados obtenidos se separaron en 3 grupos (niveles de Pb alta, media y baja) y se encontró que los niños que tenían una concentración de Pb elevada, presentaban problemas en el sistema motriz fino. (Saldívar L, Namihira D 1983, sin publicar).

Hay estudios epidemiológicos humanos que sugieren una asociación entre la exposición al plomo y la caries, aunque esto todavía no está bien establecido (Bowen 2001).

#### **4.9.14 Tratamiento**

Está garantizado que la terapia de quelación trabaja con hombres con BLL > 60 µg/dL. Para niños, el criterio ha sido establecido para servir como directriz para ayudar en el caso individual con efectos potenciales para la salud (Tabla1) . EL ácido dimercaptosuccínico es un agente quelante oral (DMSA, también llamado Succimer) tiene ventajas sobre el EDTA , en que se puede administrar por vía oral y es eficaz en reducir temporalmente BLL. Sin embargo, el DMSA no mejora los BLL a largo plazo en niños, ni reduce los niveles de plomo en el cerebro más allá del cese de la exposición al plomo. Un estudio reciente muestra que DMSA rebajado no tiene ningún efecto benéfico detectable en el aprendizaje y comportamiento (Dietrich , 2004).

Tabla1. Agentes quelantes comunes que se usan en el tratamiento de niños con valores altos de BLLs

Nombre del producto	Nombre genérico	Nombre químico	Abreviatura
<b>Versenato de calcio disódico</b>	Edetato de calcio disódico	Etilen-diamin-tetra-acetato de calcio disódico	CaNa <sub>2</sub> EDTA
<b>BAL en aceite (British antilewisite)</b>	Dimercaprol	2,3-dimercapto-propanol	BAL
<b>Cuprimina</b>	D-penicilamina	3-mercapto-D-valina	D-penicilamina
<b>Chemet</b>	Succimer	Ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico	DMSA

#### 4.9.15 Alimentos y bebidas contaminadas por plomo

Aún y cuando no se utiliza el plomo intencionadamente para elaborar un producto, este metal puede contaminar artículos como la comida, el agua o el alcohol. Esta contaminación puede ocurrir durante

- La producción.
- El empaque.
- El almacenamiento.

- Producción

Las fuentes de contaminación durante la producción pueden incluir:

- La absorción del plomo del suelo por parte de las raíces de un cultivo.
- La deposición atmosférica del plomo en las hojas de los vegetales (AAP,1993).
- El equipo de corte y molienda usado durante el procesamiento de los vegetales.

- Empaque

El plomo presente en los empaques puede contaminar la comida.

- Las pinturas roja y amarilla brillantes que se usan en las bolsas de pan pueden contener plomo (ATSDR 2005).
- Almacenamiento

La comida o las bebidas pueden estar almacenadas en recipientes que contienen plomo, el cual puede contaminar el producto

- Una fuente potencial de exposición al plomo que comúnmente es pasada por alto es la de las vajillas que han sido abrillantadas con productos que contienen plomo.
- Aún las vajillas y piezas de cerámica que se califican como seguras pueden representar un peligro si la capa protectora del abrillantado se desgasta y expone a las personas a los pigmentos que contienen plomo.
- El vino y los licores hechos en casa y que fueron destilados y/o almacenados en contenedores con plomo, pueden también ser fuentes de exposición al metal.
- El vino y otras bebidas alcohólicas que fueron almacenadas en recipientes de cristal con plomo pueden contaminarse igualmente.

#### **4.10 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE.**

La espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (del inglés *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) es conocida como ICP-MS.

Aunque la ICP-MS (Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente) es una técnica analítica relativamente nueva, si se compara con los métodos ya descritos, se ha posicionado rápidamente como una de las técnicas más útiles y versátiles para la determinación de trazas en el análisis de alimentos. El desarrollo de la ICP-MS se produjo por el deseo de combinar la capacidad multielemento y amplio rango de trabajo lineal de la ICP-EAS (Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente) para lograr los límites de detección excepcionalmente bajos de la GFAAS (Espectrometría de absorción atómica de horno de grafito). En esta técnica (ICP-MS), se combina una fuente de ion plasma a alta temperatura y a presión atmosférica con un espectrómetro de masa al alto vacío, como un detector sensible. El plasma es generado al hacer que el Ar sea conductivo al exponerlo a

una descarga eléctrica que forma electrones e iones. Bajo la influencia del campo electromagnético de alta frecuencia, las partículas cargadas calientan el argón hasta que el plasma alcanza una temperatura de 5500-8000 °K. Esto lleva a una vaporización casi completa del analito y a una alta eficiencia de atomización (Vandecasteele, 1993)

Los iones producidos en el plasma son dirigidos en una dirección axial a través de un orificio estrecho (aproximadamente 0,7-1,2 mm de diámetro) dentro de un interfaz bombeado diferencialmente con lentes electroestáticos y desde allí extraídos hacia el analizador de masas. Para la mayoría de los tipos de ICP-MS, se utiliza un cuadrupolo para la separación de masa, pero recientemente se encuentran disponibles instrumentos de sector magnético de alta resolución. Los iones transmitidos son detectados por un multiplicador de electrones "fuera de eje", el cual puede operarse en los modos analógico y/o conteo de pulso. La captura de los datos puede hacerse en los modos de exploración (scanning) o de pico. En el primer modo, se explora la región de la masa con los isótopos de interés mientras que en el modo de pico sólo se miden los iones preseleccionados. La forma más común de introducir la muestra es la inyección directa de disoluciones utilizando un nebulizador neumático y una cámara "spray". Se dispone de una variedad de diferentes tipos de nebulizadores: para generar aerosoles a partir de muestras líquidas: nebulizador concéntrico, nebulizador Babington, nebulizador de flujo cruzado y nebulizador ultrasónico. Cada tipo de nebulizador presenta características diferentes respecto a eficiencia, tolerancia a altas cargas de sales y estabilidad (Marczenzo, 1986).

Debido a la alta temperatura del plasma, los compuestos del analito en el aerosol son disociados eficientemente, atomizados y se forman iones con una carga positiva. Más de 50 elementos son ionizados a  $M^+$  en una proporción de > 90%. Desafortunadamente, también se producen picos de iones de óxidos ( $MO^+$ ), iones cargados doblemente e iones poliatómicos (por ejemplo  $ArNa^+$ ) ya sea a partir del analito, la matriz de la muestra o del solvente. Estos picos complican el espectro y pueden causar serias interferencias espectrales si ocurren en masas de iones con carga individual (por ejemplo  $^{40}Ar\ ^{16}O^+$  en  $^{56}Fe^+$ ). Ellos no se pueden resolver utilizando analizadores cuadrupolo pero pueden minimizarse optimizando las condiciones de funcionamiento de los instrumentos o utilizando métodos

alternativos de introducción de la muestra. Adicionalmente, la elección del disolvente puede contribuir a reducir las interferencias de fondo. Por ejemplo, se prefiere  $\text{HNO}_3$  diluido en vez de  $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y  $\text{H}_3\text{PO}_4$  para la mayoría de las aplicaciones debido a que produce un espectro más simple de fondo (Gray, 1988).

El ICP-MS también sufre de efectos de la matriz, por ejemplo la matriz induce cambios de la intensidad de la señal iónica especialmente en concentraciones  $> 1$  g/L de sólidos disueltos. En altas concentraciones de sales pueden observarse efectos de la matriz tales como supresión de la ionización o efectos de carga espacial. Se utilizan diversos métodos para corregir o superar estos efectos de la matriz: dilución de la muestra, compatibilización de la matriz, uso de un estándar interno, adición de estándar, separación química dilución isotópica (Vandecasteele, 1993).

La forma más común de introducción de la muestra en ICP-MS es la nebulización de la solución de la muestra. Durante los últimos años se ha desarrollado una gran variedad de otros métodos. Las muestras sólidas pueden ser analizadas directamente, sin una disolución preliminar, mediante volatilización electro-térmica, nebulización termospray o ablación láser. Las muestras gaseosas tales como hidruros volátiles (Se, As) o compuestos que eluyen de una cromatografía de gas o HPLC ( $\text{Cr}^{3+}$  /  $\text{Cr}^{6+}$ ) también pueden introducirse en forma directa y eficiente dentro de ICP.

Los límites de detección de los instrumentos con cuadrupolo para la mayoría de los elementos son mejores que  $0,1 \mu\text{g/L}$  y por lo tanto, considerablemente más bajos que aquellos para la ICP-EAS ( $0,1-100 \mu\text{g/L}$ ). Los instrumentos de sector magnético de alta resolución permiten límites de detección inferiores a  $0,05 \text{ ng/L}$ . Ventajas adicionales, más allá de los excelentes límites de detección, incluyen un rendimiento de muestras extremadamente alto ( $>100$  muestras/día) y la disponibilidad de información isotópica. La principal desventaja de la ICP-MS consiste en el alto costo del instrumento y de funcionamiento (derivado principalmente de un gran consumo de gas argón puro) y la existencia de interferencias isobáricas en el rango de masa baja ( $< 80 \text{ uma}$ ). (Jarivis y Houyk, 1992)

Para describir con mayor facilidad un ICP-MS, se puede dividir en:

- Sistema de introducción de muestra
- Antorcha ICP y bobina de radiofrecuencia
- Interfaz
- Sistema de vacío
- Celda de colisión/reacción
- Óptica de iones
- Espectrómetro de masas
- Detector
- Manejo de datos y controlador del sistema.

#### 4.10.1 Sistema de introducción de muestras.<sup>(25)</sup>

La mayoría de las muestras introducidas en un sistema ICP – MS son líquidas. Es necesario romper la muestra líquida en pequeñas gotitas antes de que sean introducidas en el plasma de argón. La muestra líquida puede ser introducida mediante una bomba peristáltica o a través de la auto aspiración a un nebulizador que crea un aerosol de gotitas finas.

El tipo de nebulizador usado puede depender de la viscosidad, limpieza e incluso del volumen disponible de muestra a analizar.

Algunos de los nebulizadores más comúnmente usados son:

- Concéntrico
- Flujo cruzado
- Babington

Para realizar este estudio se trabajó con uno de flujo cruzado; como se muestra en la figura 3.

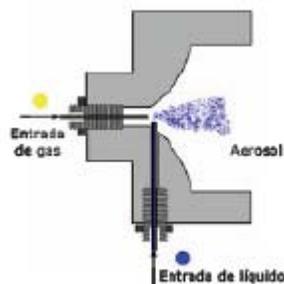


Figura3. Nebulizador de flujo cruzado. (Fernández Ruiz R. 2004)

Dentro de éstos existe un número de variaciones en el diseño y cada una de estas especialidades en el diseño del nebulizador pueden mejorar la introducción de muestras específicas y por ende, un mejor desempeño del ICP – MS.

Las gotitas finas formadas por el nebulizador se pasan a través de una cámara de “-spray” o pulverización antes de que se les permita entrar con el plasma. Las cámaras de nebulización más comerciales se dividen en 2 categorías.

- Scott
- Ciclónica

Una vez más se encuentran una gran cantidad de variaciones sobre el tema, fabricadas de polímeros, vidrio y cuarzo. Independientemente del diseño, el resultado final deseado es permitir un sustancial número de las pequeñas gotitas formadas por el nebulizador para introducir la antorcha mientras se descartan las gotas más grandes que pueden crear problemas de análisis, si se les permite entrar en la antorcha.

Para llevar a cabo este análisis se trabajó como ya se dijo anteriormente con un nebulizador de flujo cruzado asociado a la cámara de Scott.

#### **4.10.2 Antorcha ICP<sup>(25)</sup>**

El plasma generado en la antorcha ICP crea una zona caliente que tiene una variedad de funciones. A temperatura de aproximadamente 6000 °C, el plasma es igual a la temperatura en la superficie del sol. El plasma se genera haciendo pasar argón a través de una serie de tubos de cuarzo concéntricos (ICP antorcha), que se envuelven en el extremo final por una bobina de radiofrecuencia. La energía se suministra a la bobina por las parejas del generador de radiofrecuencia con el argón para producir el plasma.

Durante su trayecto en el plasma, las gotitas de líquido, que contiene la matriz de la muestra y los elementos que deben determinarse, se secan hasta un sólido y después se calienta a un gas. Como los átomos continúan su trayecto a través del plasma, absorben más energía y, finalmente, liberan un electrón para formar un

ion. Los iones con una sola carga salen del plasma y entran en la región de interfaz.

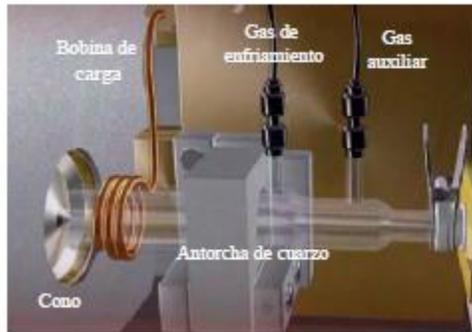


Figura 4. Antorcha, líneas de gases y bobina de radiofrecuencia (Fernández Ruíz, R., 2004)

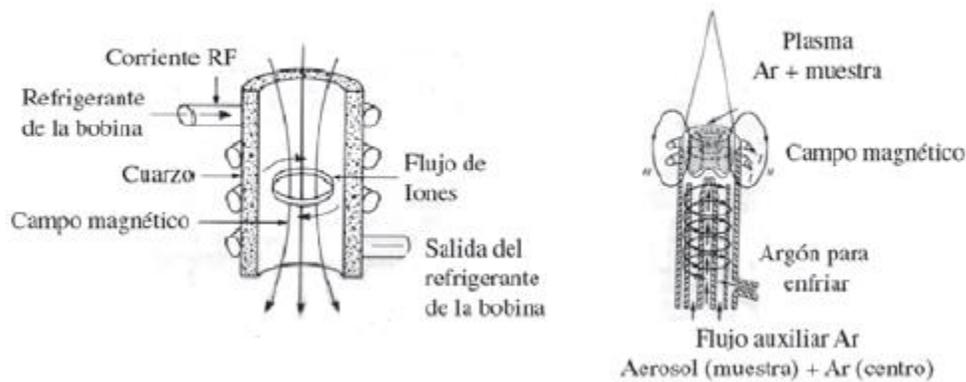


Figura 5. Bobina, interior de la antorcha y campo de RF. (Fernández Ruíz, R., 2004).

#### 4.10.3 Interfaz<sup>(25)</sup>

A una gran diferencia de temperatura, el plasma funciona a una presión que es mucho mayor que el vacío requerido por la lente de iones y porciones del espectrómetro de masa del instrumento. La interfaz permite que el plasma y el sistema de lentes de iones coexistan y los iones generados por el plasma pasen a la región de la lente de iones. La interfaz consta de dos o tres dispositivos de forma de embudo invertido llamados conos.

Hasta hace poco, todos los sistemas ICP-MS disponibles en el mercado utilizaban el diseño de dos conos. Tal diseño requiere flujo hacia abajo centrándose en el haz que sale de la región de interfaz.

Este hecho se ha logrado mediante el uso de uno solo o una serie de dispositivos cargados llamados lentes de iones. La necesidad para estas lentes de iones puede ser explicada en la figura 6.

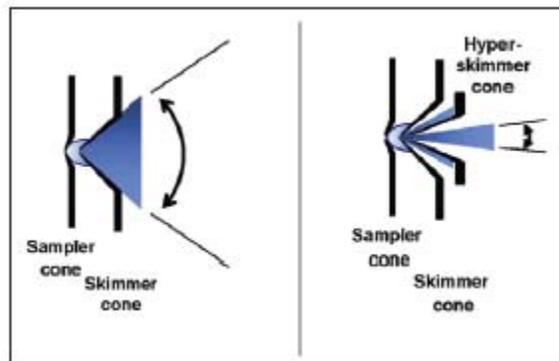


Figura 6. En la izquierda se muestra el diseño con dos conos que muestra una amplia divergencia del haz resultante de uno sólo. En la derecha se muestra el diseño de tres conos que muestra una pequeña divergencia en el haz de iones, resultantes de dos reducciones pequeñas de la presión. (PerkinElmer, 2004-2011)

El plasma (que se encuentra a la izquierda del cono sampler) opera a presión atmosférica, mientras que la filtración del cuadrupolo (situado a la derecha del cono skimmer) funciona a una presión muy baja. Con un diseño de dos conos sólo puede haber una reducción de dos pasos en la presión entre el plasma y la filtración de cuadrupolo.

Con una reducción de presión en dos etapas, el haz de iones experimenta una divergencia importante a medida que sale del segundo cono, por lo que requiere de enfoque adicional si el haz de iones se introduce correctamente a la filtración del cuadrupolo.

Una innovación reciente introdujo un tercer cono en la interfaz que reduce en gran medida la divergencia del ion haz cuando sale de la región de interfaz. El tercer

cono, llamado hiper-skimmer, ofrece una reducción de tres pasos entre el plasma y la filtración del cuadrupolo, resultando en una reducción sustancial en la divergencia del haz de iones emergente. Con el diseño de tres conos, las lentes de iones convencionales pueden ser completamente eliminadas del instrumento, lo que da como resultado una mayor transmisión de iones, mejora la estabilidad a largo plazo y la reducción en el mantenimiento del equipo.

En el diseño de tres conos, ninguno de los conos tiene una tensión aplicada tal como puede existir en una lente de extracción.

Los conos son eléctricamente neutros, cualquier acumulación de material en sus superficies no afectarán significativamente su función. Además, la experiencia ha demostrado que el diseño de tres conos no requiere más mantenimiento que el diseño convencional de dos conos. Los conos se producen a partir de níquel o platino. Mientras que los conos de níquel tienen un precio de compra más bajo, los conos de platino proporcionan una vida más larga, son más resistentes a algunos ácidos, y proporcionan una pequeña mejora en el rendimiento del equipo. Las aberturas de orificio de los conos deben ser lo suficientemente grandes para permitir el paso del haz de iones, pero al mismo tiempo, no debe permitir la entrada de mucho gas al equipo.

La experiencia muestra que la abertura ideal del orificio es de 1mm.

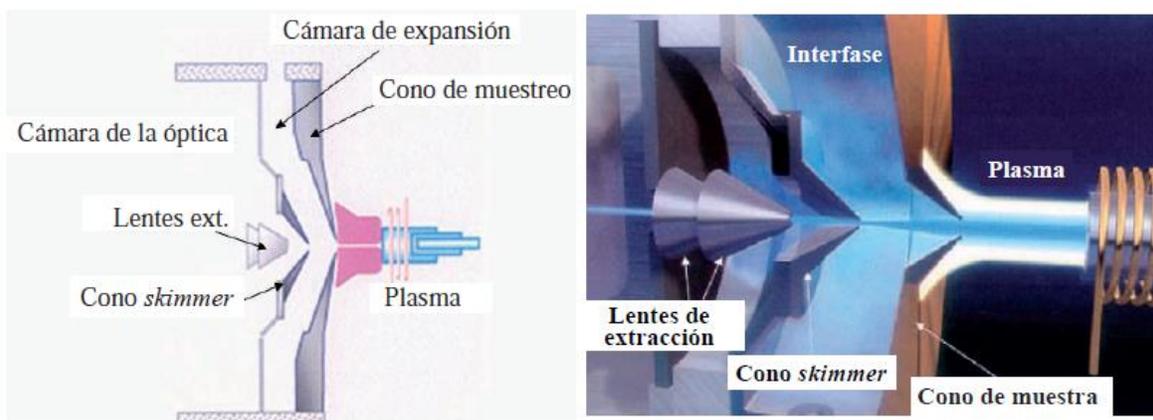


Figura 7. Interfase Plasma – Espectrómetro. (Fernández Ruíz R. 2004)

#### **4.10.4 Sistema de vacío<sup>(25)</sup>**

La distancia de la interfaz al detector de un ICP-MS es típicamente de 1 metro o menos. Si un ion recorre esa distancia, no podría colisionar con ninguna molécula de gas. Esto requiere la eliminación de casi todas las moléculas de gas en el espacio entre la interfaz y el detector.

Esto se logra usando una combinación de una bomba turbomolecular y una bomba mecánica de vacío, que comprenden los principales componentes del sistema de vacío. La bomba turbomolecular funciona como una turbina de jet y es capaz

de bombear rápidamente una cámara a una presión de  $1 \times 10^{-5}$  Torr, o menos. La bomba mecánica de vacío respalda la bomba turbomolecular y evacua la región de interfaz.

Históricamente, el mantenimiento del sistema de vacío consistía en cambiar el aceite en la bomba mecánica de vacío cada 2 ó 3 meses. Las bombas mecánicas de vacío provistas de lubricación con fluoropolímero, como Fomblin<sup>R</sup>, requieren cambios de aceite en intervalos anuales, lo que reduce el mantenimiento y el tiempo de inactividad del instrumento.

#### **4.10.5 Dispositivo de deflexión de iones<sup>(25)</sup>**

El haz de iones que sale de la región de interfaz del instrumento contiene algunos materiales no ionizados –o neutros - y fotones. Es necesario que los iones del analito puedan separarse de los neutros y fotones para alcanzar un alto rendimiento.

Los neutros pueden ser recogidos en los componentes sensibles del instrumento creando la deriva. Los fotones que llegan al detector pueden ser erróneamente contados en forma de iones, lo que aumenta el ruido de fondo y degrada los límites de detección.

Un cuadrupolo se utiliza típicamente para realizar un filtrado de masas, donde los iones se desplazan en una trayectoria paralela a las varillas.

Se ha descubierto que es de gran utilidad si se permite que el haz de iones pase en un ángulo recto (perpendicular) a las varillas. Cuando un cuadrupolo se coloca en un ángulo recto al haz de iones e inmediatamente entre la región de interfaz y la filtración del cuadrupolo, los iones se pueden transmitir de manera eficiente, mientras que los neutros y los fotones se eliminan fácilmente del haz de iones. Cabe señalar que el haz de iones que sale de la interfaz de tres conos está tan bien enfocado que ni los neutros ni los fotones entran en contacto con ninguna de las superficies del cuadrupolo en ángulo recto, lo cual elimina cualquier necesidad de limpiar este cuadrupolo. Como se muestra en la Figura 8, los iones se desvían por el cuadrupolo en un ángulo recto para su entrada en la filtración del cuadrupolo o celda universal.

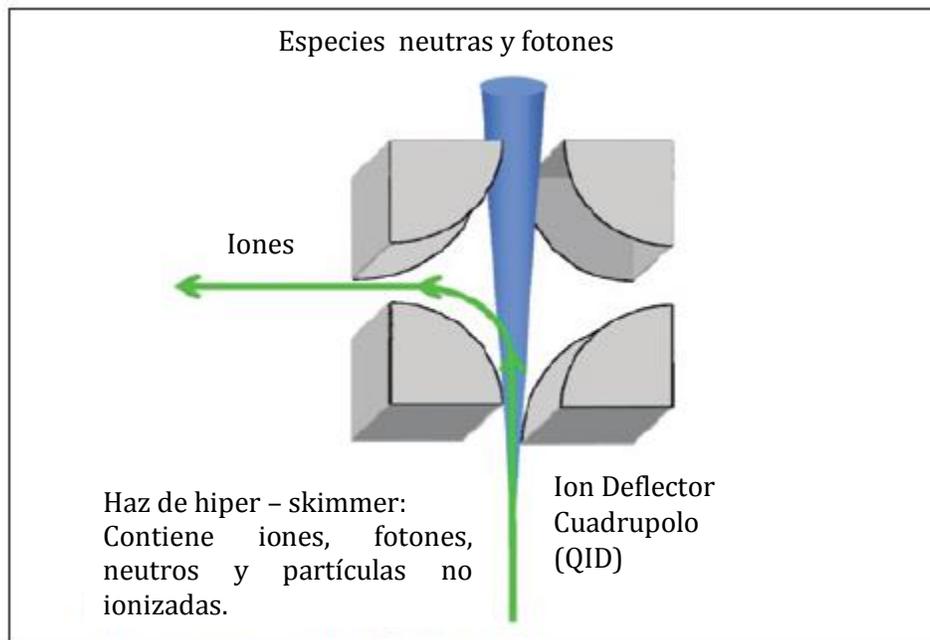


Figura 8. Diagrama de un deflector de iones cuadrupolo (QID).  
(PerkinElmer, 2004-2001).

#### 4.10.6 Celda de colisión/reacción<sup>(25)</sup>

Las interferencias en el ICP-MS son causados cuando los iones generados desde el plasma, la muestra o una combinación de los dos lleva a una relación de masa a carga que es idéntica a la del ion analito. Algunas interferencias comunes y los iones implicados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Interferencias comunes en ICP - MS

Polyatomic Species	Interfered Analyte
$^{12}\text{C}^{15}\text{N}, ^{12}\text{C}^{14}\text{NH}$	$^{27}\text{Al}$
$^{38}\text{Ar}^1\text{H}$	$^{39}\text{K}$
$^{40}\text{Ar}$	$^{40}\text{Ca}$
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}$	$^{51}\text{V}$
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}$	$^{52}\text{Cr}$
$^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$	$^{52}\text{Cr}$
$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$	$^{52}\text{Cr}$
$^{38}\text{Ar}^{16}\text{O}^1\text{H}$	$^{55}\text{Mn}$
$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$	$^{56}\text{Fe}$
$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^1\text{H}$	$^{57}\text{Fe}$
$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$	$^{75}\text{As}$
ArAr	$^{80}\text{Se}$

Por ejemplo; el argón desde el plasma con el oxígeno de la matriz se combina para formar una especie poliatómica que lleva a una masa de 56 amu con  $\text{ArO}^+$ . El hierro tiene varios isótopos, pero el isótopo de mayor abundancia se produce en masa 56 también.

Se puede elegir usar una masa alternativa para el hierro, como el isótopo 54, pero no se lograrán los mejores límites de detección posibles. Si se intenta una medida del isótopo 56 del hierro sin eliminar la interferencia  $\text{ArO}^+$ , tampoco se obtendrán los mejores límites de detección posibles ya que se obtendrá un alto espectro de fondo.

Aquí es donde la celda universal juega un papel importante. La celda universal, tiene la capacidad de operar tanto en el modo de celda de colisión como de reacción, se coloca entre la óptica de iones y el cuadrupolo analizador. Como se observa en la figura 9.

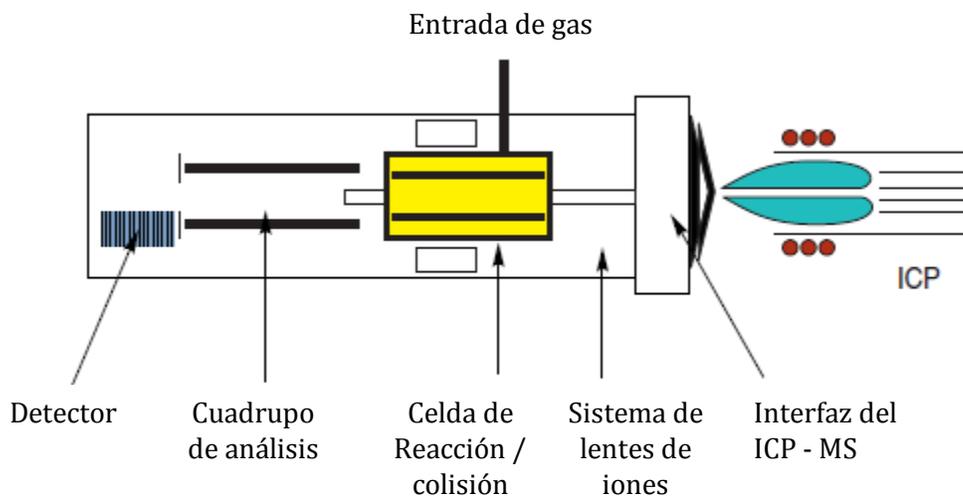


Figura9. Disposición de una típica celda de colisión / reacción en el ICP  
– MS (Thomas, R., 2002)

Cuando se opera en el modo de celda de colisión, la celda universal trabaja en la interferencia del ion -  $\text{ArO}^+$  que en este caso es físicamente más grande que el analito ion -  $\text{Fe}^+$ . Si se permite que ambos iones pasen a través de una nube de moléculas de gas inerte, el ion interferente chocará con más frecuencia con los átomos de gas inerte que con el ion analito, debido a que es mayor en su tamaño. Cada una de estas colisiones elimina una cierta cantidad de energía cinética poseída por el ion. Se deduce entonces, que al final del camino de los iones a través de esta nube de moléculas de gas inerte, el ion analito retendrá más de su energía en comparación con el ion interferente.

Una barrera de energía se coloca a la salida de la celda, ajustándola de tal manera que los iones de analitos de mayor energía pasen a través de ella, mientras que el ion interferente que tendrá baja energía no pasará.

Este proceso se conoce comúnmente como discriminación de energía cinética o KED. La celda de colisión a menudo reduce el espectro de fondo, reduciendo también la señal del analito con esta técnica.

La fuerza de la celda de colisión facilita el desarrollo del método. Para las muestras que tienen una gran variación, como las muestras ambientales, un gas y un

conjunto de parámetros de la celda proporcionan una aceptable reducción de interferencias.

Cuando la celda universal está funcionando en el modo de celda de reacción, se utiliza un principio diferente. La celda de reacción utiliza la química y toma ventaja de las reacciones: exotérmica (rápida) y endotérmica (lenta). Los iones interferentes tienden a reaccionar con un gas, (como amoníaco), exotérmicamente, mientras que los iones analitos reaccionan endotérmicamente. Si pasamos iones interferentes e iones analitos a través de una nube de un gas reactivo, nos encontraremos con que los iones interferentes serán convertidos químicamente a una nueva especie. Por ejemplo,  $\text{ArO}^+$  es un ion interferente, el ion interferente se convierte en un átomo neutro. Dado que el átomo neutro ya no lleva una carga, no es estable en la celda de reacción del cuadrupolo y se expulsa rápidamente de la celda. El ion analito no se ve afectado y pasa a través de la celda de reacción y en el filtrado del cuadrupolo. La fuerza de la celda de reacción es la que elimina eficazmente las interferencias, preservando al mismo tiempo casi todos los iones del analito.

No todos los sistemas ICP-MS basados en celda de colisión/reacción pueden operar utilizando un gas reactivo sin diluir tal como amoníaco. Mientras que un gas reactivo elimina eficazmente las interferencias, también es capaz de crear nuevas interferencias si no está adecuadamente controlado. Una verdadera celda de reacción requiere el uso de un cuadrupolo activo para prevenir la formación de estas nuevas interferencias a través de la creación de un filtro de paso de banda de masas, el mismo principio utilizado por el analizador de masas cuadrupolar para permitir el paso de una sola relación masa/carga. Sistemas ICP-MS basados en celdas usando hexapolos u octapolos no pueden crear este tipo de filtro. Una celda universal puede ser utilizada tanto en el modo de celda de colisión como en el modo de celda de reacción, dando lo mejor de ambos modos. En algunos sistemas ICP-MS, el operador tiene la flexibilidad de operar el sistema en tres modos, todo en el mismo método: modo estándar para elementos que no presentan interferencias; modo de colisión

para la eliminación de interferencias menores; y en el modo de reacción para la eliminación de grandes interferencias.

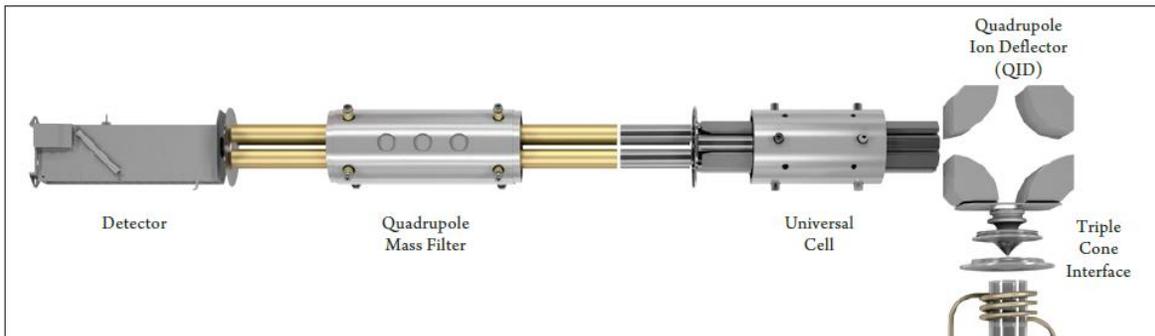
La capacidad de un equipo ICP-MS bien diseñado para eliminar interferencias utilizando su modo estándar, modo de colisión y el modo de reacción puede verse fácilmente en la Figura 10.



Figura 10. Interferencias eliminadas en el modo estándar, colisión y reacción. (PerkinElmer, 2004-2011).

La celda universal proporciona una reducción consistente en el nivel de interferencias, es importante que ésta se mantenga libre de especies neutras que puedan salir del plasma. En la figura 11 se muestra un sistema global de “ión óptico” explícamelo, por favor de una generación actual disponible comercialmente ICP – MS (Nexion® 300 ICP-MS).

Figura11. Ruta de la óptica de iones del ICP – MS (Nexion® 300 ICP-MS). (PerkinElmer 2004-2011).



Hay que tener en cuenta que la celda universal se encuentra en ángulo recto al deflector de iones cuadrupolo (QID). Este posicionamiento asegura que la celda esté completamente aislada de las especies neutras que pueden salir del plasma. Esto se traduce en un menor mantenimiento.

#### 4.10.7 Manejo de datos y controlador del sistema<sup>(25)</sup>

Todos los instrumentos ICP-MS requieren computadoras y un software sofisticado para controlar el espectrómetro de masas, así como realizar cálculos sobre los datos recogidos. Además, los parámetros de operación del espectrómetro, incluyendo el encendido adecuado del plasma, la presión dentro de la región de alto vacío y la tensión aplicada al detector, deben ser constantemente monitoreadas por el controlador, y el operador debe ser alertado si cualquier parámetro cae fuera de la gama de trabajo adecuada y de la respuesta de masa del instrumento. El controlador debe vigilar más de 100 parámetros diferentes del espectrómetro.

#### 4.10.8 Manejo de datos y cálculo<sup>(25)</sup>

El software traduce los recuentos de iones medidos por el detector en información que puede ser más útil para el operador. El equipo ICP-MS puede proporcionar datos en cuatro maneras - análisis semi-cuantitativo, el análisis cuantitativo, análisis por dilución isotópica y el análisis de la relación isotópica. Los resultados pueden ser generados usando formatos de informes personalizados o fácilmente transferido a un sistema de gestión de información de laboratorio (LIMS) u otro sistema de manejo de datos.

#### 4.10.9 Análisis cuantitativo <sup>(25)</sup>

El ICP-MS determina con precisión la cantidad de un determinado elemento presente en el material analizado. En un típico análisis cuantitativo, la concentración de cada elemento se determina por la comparación de los recuentos medidos para un isótopo seleccionado con una curva de calibración externa que se genera para ese elemento.

Los estándares de calibración líquidos se analizan para establecer la curva de calibración. Las muestras se analizan y las señales de sus intensidades son comparadas con la curva de calibración para determinar la concentración del analito en la muestra, como se muestra en la figura 12.

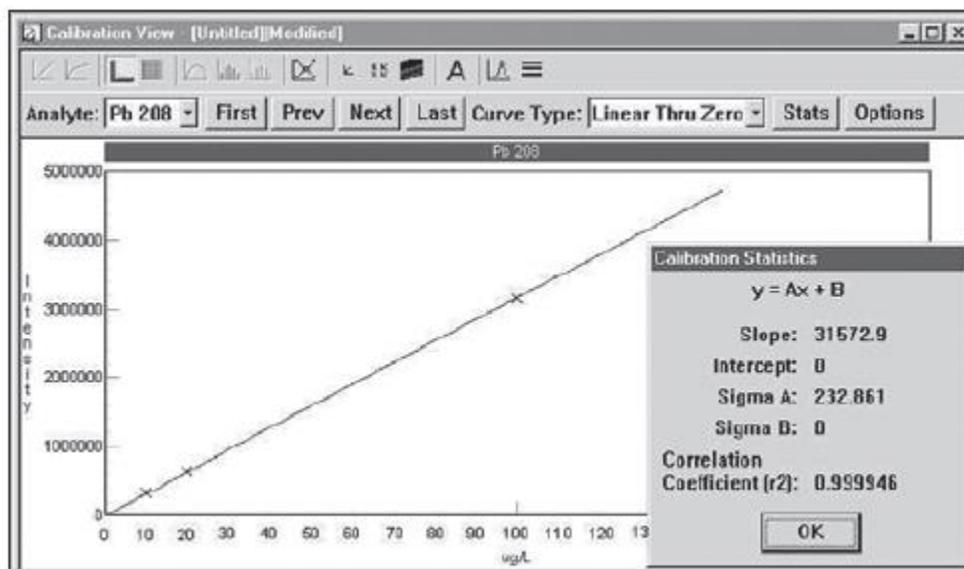


Figura 12. Ejemplo de curva de calibración obtenida en un equipo ICP - MS

#### 4.10.10 Parámetros y condiciones de medida

A lo largo del sistema de introducción de muestras y en la fase de acondicionamiento, existen una gran cantidad de variables que condicionan la cantidad de iones que finalmente llegan al detector. En la mayoría de los equipos comerciales, estas variables se controlan mediante una computadora. Sin embargo, existen fluctuaciones y derivas importantes en una medida realizada por esta técnica. Principalmente, las fluctuaciones tienen su origen en el bombeo de la muestra mediante la bomba peristáltica, en el desplazamiento de la nube (o niebla) de la muestra dentro de la cámara de nebulización y las fluctuaciones que

se producen en el plasma, las cuales afectan el grado de ionización de las distintas especies. Por otro lado, las derivas en la sensibilidad del sistema están vinculadas con la posible obturación parcial de los conos (*sampler* y *skimmer*) debido a la acumulación de material en ellos, y al deterioro de las conducciones plásticas por las que circula la muestra. Por estas razones, la calibración se realiza generalmente en función de las concentraciones y no de las cantidades absolutas de analito. Otra de las características de esta técnica es que se hace necesaria la incorporación de un patrón interno para monitorear las derivas de la sensibilidad a lo largo del tiempo y poder corregirlas. Esto se hace sobre la hipótesis de que las derivas relativas de sensibilidad son las mismas para el analito y para el patrón interno. Esa suposición no tiene carácter general y debe ser verificada en cada caso. También se verifica que el trazador interno no esté presente en las matrices de interés; este trazador interno es un elemento que, en cada muestra, se añade con una concentración conocida y que se utiliza para corregir las derivas instrumentales que puedan ocurrir a lo largo de la medida. La sintonización para conseguir los parámetros óptimos del equipo se realiza manualmente; para ello, el programa informático ofrece la posibilidad de monitorear la respuesta del sistema en tiempo real (CEPIS/SDE/OPS, 2005).

Se utiliza una solución con elementos de masas bajas, medias y altas (p. ej., 1 µg/L de Be, Co, In, Ce y U) para registrar la respuesta del sistema. Se monitorea también el cociente de masas 140/156 correspondiente a Ce/CeO ya que es indicador del nivel de óxidos en general; este parámetro debe mantenerse por debajo del 2%.

Debido al tiempo que toma el *-spray* en atravesar la cámara de nebulización, otros de los parámetros fundamentales a considerar son los tiempos de entrada y toma de muestra. Éstos se determinan observando la respuesta en tiempo real de un patrón multielemental y se optimizan variando la velocidad de la bomba peristáltica.

Tabla 3. Comparativo entre las ventajas y limitaciones de la espectrometría de masas con fuente de plasma inductivamente acoplado

Método	Ventajas	Limitaciones
Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Límite de detección excelente (~0,1 µg/dl)</li> <li>• Rapidez</li> <li>• Tamaño reducido de la muestra (50–100 µl)</li> <li>• Relativamente pocas interferencias espectrales, bien conocidas</li> <li>• Permite mediciones isotópicas</li> <li>• Método económico si se procesan grandes cantidades de muestras</li> <li>• Capacidad para investigar más de un elemento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Precio y costos de funcionamiento elevados</li> <li>• Requiere operadores altamente especializados</li> </ul>

#### 4.10.11 Interferencias en el ICP – MS<sup>(15)</sup>

##### 4.10.11.1 Interferencias espectrales<sup>(15)</sup>

Existen dos fuentes principales:

Presencia de otros elementos

- Solapamiento isobárico de más de un elemento compartiendo la misma masa nominal.
- Especies doblemente cargadas (menos frecuente e importante).

Especies moleculares

- Especies poliatómicas

##### 4.10.12.1.1 Estrategias para reducir los problemas de interferencias:<sup>(15)</sup>

- Simplemente elegir el mejor isótopo para la muestra en cuestión.
- Cambiar etapa de preparación de la muestra.
- Cambiar algún componente del sistema.
- Utilizar ecuaciones de corrección matemáticas.
- O eliminar la interferencia con la tecnología de la celda de colisión/ reacción

#### **4.10.12.1.2 Interferencias poliatómicas en matrices complejas/ desconocidas<sup>(15)</sup>**

“**Provenientes del plasma**” – derivados de combinaciones de elementos presentes en el plasma y en el agua/nítrico de las muestras:  $\text{ArO}^+$ ,  $\text{ArH}^+$ ,  $\text{Ar}^{2+}$ ,

“**Provenientes de la matriz**” – provienen de la matriz de la muestra – en combinación con elementos presentes en el plasma y en el agua: Derivados de S ( $\text{S}^{2+}$ ,  $\text{SO}^{2+}$ ), poliatómicos con Cl ( $\text{ClO}^+$ ,  $\text{ArCl}^+$ ), con P ( $\text{PO}^{2+}$ ,  $\text{ArP}^+$ ), derivados de C ( $\text{ArC}^+$ ,  $\text{C}^{2+}$ )

Pueden ser variables en intensidad (en función de la matriz de la muestra), impredecibles si la matriz de la muestra es desconocida.

#### **4.10.12.2 No-Espectrales<sup>(15)</sup>**

- Debidas a la muestra (matriz)

Pueden afectar al análisis por ICP-MS originando:

- Pérdida/aumento de sensibilidad.
- Resultados inexactos (malas recuperaciones)
- Pobre precisión y deriva en los resultados.
- Incremento de las tareas de mantenimiento

#### **4.10.12.2.1 Formas de reducir las interferencias de matriz<sup>(15)</sup>**

- Mayor potencia RF (>1300) para un plasma de mayor temperatura. Habitualmente 1500W

Maximiza el tiempo de residencia de la matriz en el plasma.

- Usar antorcha 2.5mm diámetro interno
- Trabajar con flujos bajos de gas.

Crear condiciones de ionización más robustas

- Diluir muestras con muy alto contenido en matriz.
- Usar siempre un estándar Interno.

Estándares internos son la herramienta principal para compensar los posibles efectos de matriz en ICP-MS.

- Análisis por adiciones estándar.

## **4.11 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS<sup>(10)</sup>**

Es 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 qué punto.

Es el proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito; para resolver un problema analítico particular.

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio.

Generalmente se considera que la validación del método está ligada estrechamente con el desarrollo del método. De hecho, no es posible determinar exactamente dónde termina el desarrollo del método y dónde empieza la validación. Por lo general, muchos de los parámetros de desempeño del método que están asociados a su validación son evaluados, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método.

### **4.11.1 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO<sup>(10)</sup>**

#### **4.11.1.1 Límite de detección (LoD)<sup>(10)</sup>**

Es el menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable.

Es la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método establecido. La importancia de determinar este parámetro y los problemas implícitos, radica en el hecho de que la probabilidad de detección no cambia repentinamente de cero a la unidad cuando se cruza un umbral. De acuerdo con la ISO es el "valor mínimo detectable de la variable de estado definida". De acuerdo con la IUPAC es el "valor (verdadero) mínimo detectable".

Normalmente, para propósitos de validación es suficiente proporcionar un indicativo de nivel al cual la detección resulta problemática. Para este propósito la aproximación  $\text{blanco} + 3s$  es suficiente.

#### **4.11.1.2 Límite de cuantificación (LoQ) <sup>(10)</sup>**

Es la menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión y una exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas de la prueba.

También se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco. Algunas veces también se conoce como “límite de determinación”.

Cabe destacar que ni el LoD ni el LoQ representan niveles a los cuales la cuantificación es imposible. Es simplemente, que el tamaño de las incertidumbres asociadas se hace comparable con el resultado real en la región del LoD.

#### **4.11.1.3 Intervalo de trabajo e intervalo lineal <sup>(10)</sup>**

Hablando de métodos cuantitativos es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. Esto se refiere al intervalo de concentraciones o valores de la propiedad relacionada, de las disoluciones medidas realmente más que de las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación. En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitantes serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal.

Dentro del intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o del valor de la propiedad relacionada. La extensión de este intervalo puede establecerse durante la evaluación del intervalo de trabajo y

los cálculos de regresión son suficientes para establecer la linealidad. Para hacer esto, puede ser suficiente una inspección visual de la línea y de los residuales.

Dentro del intervalo lineal, un punto de calibración puede ser suficiente para establecer la pendiente de la curva de calibración pero en el intervalo de trabajo será necesaria la calibración con varios puntos (preferentemente más de 6).

Para que el método sea efectivo; la relación entre la respuesta del instrumento con la concentración no tiene que ser perfectamente lineal pero la curva debe ser repetible día con día.

#### **4.11.1.4 Exactitud** <sup>(10)</sup>

Expresa la cercanía entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y los aleatorios sobre los resultados. La exactitud se compone de: "veracidad" y "precisión".

#### **4.11.1.5 Veracidad** <sup>(10)</sup>

Es una expresión de qué tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados respecto al valor de referencia (un valor verdadero o un valor verdadero convencional) y normalmente se expresa en términos de sesgo.

Se cuenta con dos técnicas básicas:

La verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado o bien, de otro método caracterizado. Los valores de referencia son idealmente trazables a patrones internacionales.

Para verificar la veracidad utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se comparan contra el valor caracterizado del material de referencia.

Debe usarse un material de referencia certificado adecuado e idealmente de la misma matriz.

#### **4.11.1.6 Sesgo** <sup>(10)</sup>

Es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.

El sesgo tiene dos componentes: los debidos al método y al laboratorio.

El sesgo del método surge de los errores sistemáticos inherentes al método cualquiera que sea el laboratorio que lo usa.

El sesgo del laboratorio surge de errores sistemáticos adicionales característicos del laboratorio y de la interpretación que éste hace del método.

#### **4.11.1.7 Precisión** <sup>(10)</sup>

Es una medida de la cercanía entre los resultados de pruebas independientes y obtenidos bajo condiciones estipuladas, generalmente se expresa mediante medidas como la "desviación estándar", la cual nos describe la dispersión de los resultados.

Las medidas más comunes de precisión son la "repetibilidad" y la "reproducibilidad".

La precisión se determina en términos de la desviación estándar o la desviación estándar relativa.

Para métodos cualitativos, la precisión se puede expresar por medio de índices de verdadero y falso positivo (y negativo). Estos índices se deben determinar a varias concentraciones por debajo y por encima del umbral.

#### **4.11.1.8 Repetibilidad** <sup>(10)</sup>

Precisión en condiciones de repetibilidad; es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.

##### **4.11.1.8.1 Repetibilidad (de resultados de mediciones)** <sup>(10)</sup>

Es la proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando realizadas bajo las mismas condiciones de medición.

#### **4.11.1.8.2 Repetibilidad (de un instrumento de medición) <sup>(10)</sup>**

Es la aptitud de un instrumento de medición para proporcionar indicaciones muy semejantes entre sí por aplicaciones repetidas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición.

#### **4.11.1.8.3 Desviación Estándar de Repetibilidad <sup>(10)</sup>**

Es una medida de la dispersión de la distribución de los resultados de prueba bajo condiciones de repetibilidad. La varianza de repetibilidad y el coeficiente de variación de repetibilidad pueden definirse y utilizarse como medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo condiciones de repetibilidad.

#### **4.11.1.9 Reproducibilidad <sup>(10)</sup>**

Precisión bajo condiciones de reproducibilidad; es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos. La reproducibilidad puede expresarse cuantitativamente en términos de la dispersión de los resultados.

#### **4.11.1.9.1 Desviación Estándar de la Reproducibilidad <sup>(10)</sup>**

Es una medida de la dispersión de la distribución de los resultados de prueba bajo condiciones de reproducibilidad. La varianza de reproducibilidad y el coeficiente de variación de reproducibilidad pueden definirse y utilizarse como medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo condiciones de reproducibilidad.

#### **4.11.1.10 Recuperación <sup>(10)</sup>**

Es necesario evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito, aunque la incapacidad de un método para determinar todo el analito presente puede reflejar un problema inherente, dado que; los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en las muestras de las cuales no todas son de interés para el analista. Entonces, el método debe diseñarse deliberadamente para determinar solamente una forma específica del analito.

Debido a que usualmente no se conoce la cantidad de un analito en particular que

está presente en una porción de prueba, es difícil estar seguros de qué tan exitoso ha sido el método para extraer el analito de la matriz.

Una forma de determinar la eficiencia de extracción es agregar a una matriz porciones de prueba con el analito a varias concentraciones, después se extraen las porciones de prueba fortificadas y se mide la concentración del analito. Un problema inherente a este proceso es que el analito introducido de este modo no estará tan fuertemente ligado como aquél que se encuentra naturalmente en la porción de prueba de matriz y por consiguiente, la técnica dará una impresión irrealmente alta de la eficiencia de extracción. Sin embargo, ésta es la forma más común de determinar la eficiencia de recuperación y está reconocida como una forma aceptable de hacerlo. Alternativamente es posible realizar estudios de recuperación sobre materiales de referencia certificados adecuados, si éstos se encuentran disponibles. Siempre que los materiales de referencia hayan sido producidos a partir de materiales naturales, en lugar de materiales sintéticos en los que el analito ha sido agregado, el estudio de recuperación deberá representar exactamente la extracción en porciones de pruebas reales.

#### **4.11.1.11 Sensibilidad <sup>(10)</sup>**

Es el cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio del estímulo.

Es la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito.

## 5. METODOLOGÍA

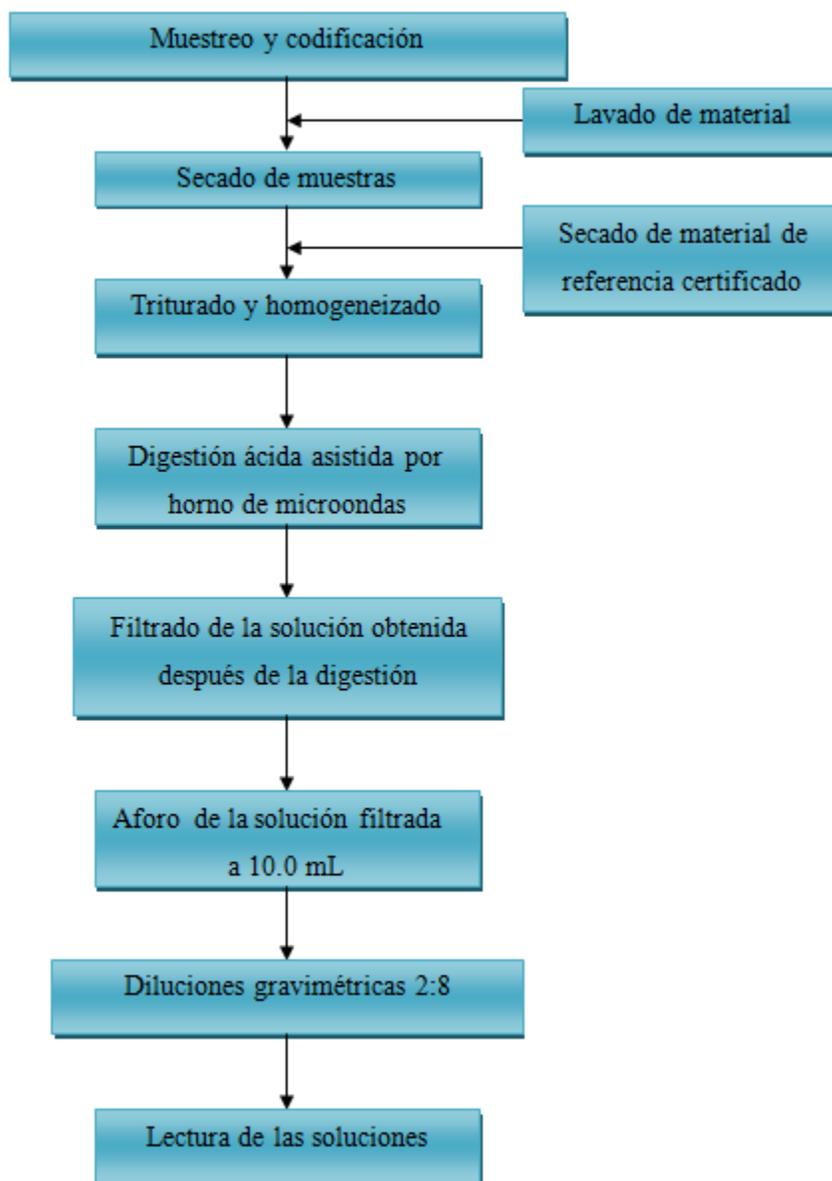


Figura 12. Metodología

### 5.1 Materiales, reactivos y equipo.

#### 1) Lavado de material

- Detergente neutro concentrado libre de fosfatos, pH = 7.
- HNO<sub>3</sub> grado reactivo - 30% (v/v).
- Desionizador BARNSTEAD
- Agua desionizada (ASTM TIPO I)

#### 2) Trituración y homogeneización

- Estufa. Marca HERAEUS, modelo RB 360.

- Molino de bolas. Marca SPEX Industries \_Inc. No. 8000.
- Balanza analítica Marca SARTORIUS modelo BP221S.
- Desecador.

### 3) Digestión

- Pipetas Beral.
- Frascos de polietileno previamente lavados.
- Papel filtro Whatman No. 42.
- HNO<sub>3</sub> 69.0 – 70.0 % (J.T. Baker INSTRA).
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estabilizado 30% (J.T. Baker ).
- Horno de microondas. Marca CEM. MDS – 2000 Series.

### 4) Lectura de muestras

- Espectrómetro de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo. Marca Perkin Elmer. ELAN DRC-e ICP – MS Series.
- Gas argón grado ultra alta pureza 99.999%
- Solución Daily. Smart Tune solution Std. ELAN & DRC-e al 1% HNO<sub>3</sub> de 10 µg/L Ba, Be, Ce, Co, In, Mg, Pb, Rh y U. Marca Perkin-Elmer, Atomic Spectrometry Standard.

### 5) Preparación de curvas de calibración

- Micropipetas (Eppendorf – Reference) 10 – 100 y 100 – 1000 µL.
- Puntas descartables para micropipetas.
- Solución multielemental. Marca High Purity Standards Lote 529004.

Tabla4. Concentración en la solución multielemental.

<b>Elementos</b>	<b>Concentración (µg /mL)</b>
<b>P, K,</b>	500
<b>Al, Bi, Pb, Mo, Se, As, B, Li,</b>	200
<b>Ni, Sr, Cu, Mg, Tl, Fe</b>	
<b>Zn, Co, Ba, Cd, Be, Mn, V,</b>	100
<b>Cr</b>	50

### 6) MRC

- Hojas de durazno (NIST – 1547)
- Hojas de espinaca (NIST – 1570a)

## **5.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **5.2.1 Muestreo y codificación**

El muestreo se realizó en la Central de Abastos Iztapalapa, de la Ciudad de México, considerando que es uno de los principales centros de abastecimiento de frutas secas, tanto del Distrito Federal como de algunos estados de la República.

Se compraron 30 muestras de mango deshidratado natural y 30 de mango deshidratado enchilado en diferentes puestos, el tamaño de cada una de las muestras fue de 250 g.

Las muestras de mango deshidratado natural se codificaron como: A1, A2, ... , A30 y las muestras de mango deshidratado enchilado como: B1, B2, ... , B30.

### **5.2.2 Lavado de material**

Debido a que los analitos se encuentran a nivel de trazas, es necesario contar con un procedimiento de lavado muy cuidadoso para evitar la contaminación de la muestra con los mismos elementos que se analizan ya que esto nos llevaría a mediciones y conclusiones erróneas.

Procedimiento de lavado (vidriería, frascos de polietileno, material de porcelana, etc.).

- Lavar con agua del grifo.
- Sumergir en solución al 2% de detergente líquido neutro concentrado libre de fosfatos durante 8 horas.
- Enjuagar con abundante agua (del grifo) para remover los residuos de detergente.
- Sumergir en HNO<sub>3</sub> grado reactivo al 30% (v/v) durante 24 horas.
- Enjuagar 10 veces con agua desionizada.
- Dejar escurrir y secar a temperatura ambiente en un lugar limpio y seco.
- Almacenar el material ya lavado, en bolsas de polietileno cerradas, en un lugar limpio y seco.

### **5.2.3 Secado de muestras**

Por cada 250 g de muestra se tomaron aleatoriamente 3 rodajas de mango deshidratado, se cortaron y se secaron.

Las muestras se secaron en estufa a una temperatura de 60 °C, se registró el peso de cada muestra hasta llegar a peso constante, esto se logró en 2 semanas.

Se trabajó a 60 °C para prevenir la volatilización de los elementos traza. Una vez que las muestras llegaron a peso constante se almacenaron en un desecador hasta la trituración.

### **5.2.4 Trituración y homogeneización**

Se realizó la molienda de las muestras para reducir el tamaño de partícula y así facilitar su digestión, ya que al tener mayor superficie de contacto, las muestras se pueden digerir en un menor tiempo.

Se molieron en un molino de bolas, cada muestra se molió por separado, utilizando un recipiente y bolas de porcelana, durante 10 minutos.

Tratamiento químico de muestras: Digestión ácida asistida por horno de microondas.

- Se pesaron aproximadamente 0.5 g de cada muestra por triplicado, registrando el peso exacto y se trasvasaron a los recipientes de teflón del horno de microondas.
- Se añadieron 3 mL de HNO<sub>3</sub> con una pipeta Beral. Se dejó en pre – digestión 40 minutos hasta que cesaron los vapores originados de la digestión.
- Se añadió 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con una pipeta Beral,
  - Por cada corrida de digestión se prepararon 3 blancos que llevaron el mismo procedimiento, excluyendo la adición de la muestra.
- Se cerraron los vasos de teflón del horno de microondas y se sometieron al siguiente programa de digestión.

Tabla 5. Programa de digestión

Paso	Potencia (W)	Tiempo (min)
1	250	2
2	0	2
3	250	6
4	400	5
5	550	8
<b>Ventilación</b>		8

- Después de ser digeridas las muestras, se enfriaron a temperatura ambiente durante 40 minutos.
- Se filtró la solución obtenida con papel filtro. Se enjuagaron los vasos con 4 mL de agua desionizada con la finalidad de recuperar toda la solución obtenida después de la digestión de la muestra y se llevó a un aforo de 10.0 mL con agua desionizada.
- Las soluciones obtenidas se almacenaron en recipientes de polietileno y se conservaron en refrigeración.

### 5.2.5 Dilución gravimétrica

Las diluciones se prepararon de forma gravimétrica con la finalidad de aportar la menor incertidumbre. Las diluciones se hicieron considerando que la densidad de todas las soluciones empleadas es igual a 1g/mL.

En el presente trabajo, se prepararon diluciones 1:4 para los MRC, mientras que las muestras se leyeron de forma directa, a la par de hacer las diluciones se agregó el estándar interno seleccionado experimentalmente  $^{209}\text{Bi}$  a cada solución, de tal forma que el procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- 1) Colocar un recipiente de plástico limpio y seco en la balanza analítica, registrar su masa.
- 2) Tomar una alícuota de 5 000  $\mu\text{L}$  del MRC, depositarla en el recipiente y registrar la masa.

- 3) Tomar una alícuota de 240  $\mu\text{L}$  (Conc =  $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de estándar interno, depositarlo en el recipiente, registrar la masa.
- 4) Adicionar agua destilada hasta 12.0 g, registrar la masa final.

Para el caso de las muestras que se analizaron sin dilución, el procedimiento que se siguió fue:

- 1) Colocar un recipiente de plástico limpio y seco en la balanza analítica, registrar su masa.
- 2) Tomar una alícuota de 5 000  $\mu\text{L}$  de la muestra digerida, depositarla en el recipiente y registrar la masa.
- 3) Tomar una alícuota de 102  $\mu\text{L}$  (Conc =  $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de estándar interno, depositarlo en el recipiente, registrar la masa.

#### **5.2.6 Curvas de calibración**

De igual forma, las curvas de calibración se prepararon de forma gravimétrica. Se prepararon curvas de Pb primero de 0 a 74  $\mu\text{g}/\text{L}$  con el fin de conocer el intervalo lineal, con ésta curva se leyó MRC y tres muestras de cada una, una vez analizados los resultados se observó que las muestras contenían una pequeña cantidad de plomo por lo que después se preparó otra curva de 0 a 20  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

El procedimiento que se siguió para la primera curva de calibración fue:

- 1) Colocar un recipiente de plástico limpio y seco en la balanza analítica registrar su masa.
- 2) Tomar la alícuota necesaria de Pb, registrar peso (ver tabla 6).
- 3) Tomar alícuota de 20  $\mu\text{L}$  (Conc = 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de estándar interno, registrar peso.
- 4) Agregar agua desionizada hasta 10.00 g.

Tabla 6. Preparación de curva de calibración 0 – 74 µg/L

Folio	Concentración Pb  $\frac{\mu g}{L}$	Alícuota de Pb  $\mu L$ $\frac{1\mu g}{mL}$	Alícuota de E. I. ( $^{209}\text{Bi}$ )  $\frac{10\mu g}{mL}$	Agua desionizada
STD1	0.00	0	20 µL	Llevar al aforo a 10.00 g
STD2	1.00	10		
STD3	1.50	15		
STD4	3.00	30		
STD5	4.00	40		
STD6	5.00	50		
STD7	7.00	70		
STD8	8.50	85		
STD9	10.00	100		
STD10	12.50	125		
STD11	15.00	150		
STD12	17.50	175		
STD13	20.00	200		
STD14	22.50	225		
STD15	30.00	300		
STD16	40.00	400		
STD17	45.00	450		
STD18	50.00	500		
STD19	75.00	750		

El procedimiento que se siguió para la segunda curva de calibración fue:

- 1) Colocar un recipiente de plástico limpio y seco en la balanza analítica registrar su masa.
- 2) Agregar la alícuota necesaria de Pb, registrar peso.

- 3) Adicionar alícuota de 1000  $\mu\text{L}$  (Conc =  $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de estándar interno, registrar peso.
- 4) Completar con agua desionizada hasta 50.0g.

Tabla7. Preparación de curva de calibración 0 – 20  $\mu\text{g}/\text{L}$

Folio	Concentración Pb $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$	Alícuota de Pb $\mu\text{L}$ $\frac{1\mu\text{g}}{\text{mL}}$	Alícuota de E. I. ( $^{209}\text{Bi}$ $\frac{1\mu\text{g}}{\text{mL}}$ )	Agua desionizada
STD1	0.00	0	1000 $\mu\text{L}$	Llevar al aforo a 50.00 g
STD2	1.00	50		
STD3	2.50	125		
STD4	4.00	200		
STD5	5.50	275		
STD6	7.00	350		
STD7	8.50	425		
STD8	10.00	500		
STD9	12.00	600		
STD10	15.00	750		
STD11	20.00	1000		

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Condiciones instrumentales de análisis

Antes de comenzar a trabajar con el equipo, es necesario que se haga una optimización del mismo; de este modo se puede garantizar que las lecturas que se hagan con el equipo, serán confiables.

Se utiliza una solución "Daily"; la cual contiene elementos de masas bajas, medias y altas ( $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{238}\text{U}$ ), las intensidades de señales óptimas deben ser 5 000 cps, >25 000 cps, >20 000 cps, respectivamente. También se monitorea el cociente de masas 140/156 correspondiente a CeO/Ce ya que es indicador del nivel de óxidos en general, la intensidad de señal del cociente CeO/Ce debe mantenerse por debajo de 0.03, por otro lado también monitorea el cociente de las intensidades de señal  $^{138}\text{Ba}^{2+} / ^{138}\text{Ba}^{+}$  que es indicador de las especies doblemente cargadas, la intensidad de señal del cociente  $^{138}\text{Ba}^{2+}/^{138}\text{Ba}^{+}$  debe mantenerse por debajo de 0.03.

En este análisis se leyó cada muestra tres veces, obteniendo el promedio y la desviación estándar relativa (RSD)

Se realizaron varias sesiones de trabajo en el ICP – MS y las condiciones con las que se trabajo fueron las siguientes:

### 6.2 Optimización del ICP - MS

Tabla 8. Datos de la optimización del equipo durante la primera lectura.

Summary		
Analyte	Mass	Net Intens. Mean
Mg	24.0	8587.125
In	114.9	28649.493
U	238.1	25646.470
Ce	139.9	33366.370
CeO	155.9	0.028
Ba	137.9	27773.805
Ba <sup>++</sup>	69.0	0.025

Current Optimization File Data	
Current Value	Description
0.75	Nebulizer Gas Flow (NEB)
1.20	Auxiliary Gas Flow
13.50	Plasma Gas Flow
6.00	Lens Voltage
1100.00	ICP RF Power
-1850.00	Analog Stage Voltage
950.00	Pulse Stage Voltage
0.00	Quadrupole Rod Offset Std (QRO)
-10.00	Cell Rod Offset Std (CRO)
70.00	Discriminator Threshold
-15.00	Cell Path Voltage Std (CPV)
0.00	RPa
0.25	RPq
0.00	DRC Mode NEB
-6.00	DRC Mode QRO
-1.00	DRC Mode CRO
-15.00	DRC Mode CPV
0.00	Cell Gas A

Tabla 9. Datos de la optimización del equipo durante la segunda lectura.

Summary		
Analyte	Mass	Net Intens. Mean
Mg	24.0	5230.037
In	114.9	25397.361
U	238.1	24538.607
Ce	139.9	28159.613
CeO	155.9	0.029
Ba	137.9	21540.767

Ba <sup>++</sup>	69.0	0.029
Current Optimization File Data		
Current Value	Description	
0.76	Nebulizer Gas Flow (NEB)	
1.20	Auxiliary Gas Flow	
13.50	Plasma Gas Flow	
11.00	Lens Voltage	
1100.00	ICP RF Power	
-1850.00	Analog Stage Voltage	
950.00	Pulse Stage Voltage	
0.00	Quadrupole Rod Offset Std (QRO)	
-10.00	Cell Rod Offset Std (CRO)	
70.00	Discriminator Threshold	
-15.00	Cell Path Voltage Std (CPV)	
0.00	RPa	
0.25	RPq	
0.74	DRC Mode NEB	
-6.00	DRC Mode QRO	
-1.00	DRC Mode CRO	
-15.00	DRC Mode CPV	
0.00	Cell Gas A	

Como se puede ver en las tablas 8 y 9, aunque sólo se trabajó con masas medianas a grandes, se ajustó la intensidad de las masas chicas, medianas, grandes, la formación de óxidos y las especies doblemente cargadas a las intensidades óptimas.

Como parte del desarrollo de la metodología se hizo el tratamiento de los resultados para estimar los parámetros de desempeño de la validación parcial probando diferentes estándares internos y sin estándar interno, los resultados se muestran a continuación:

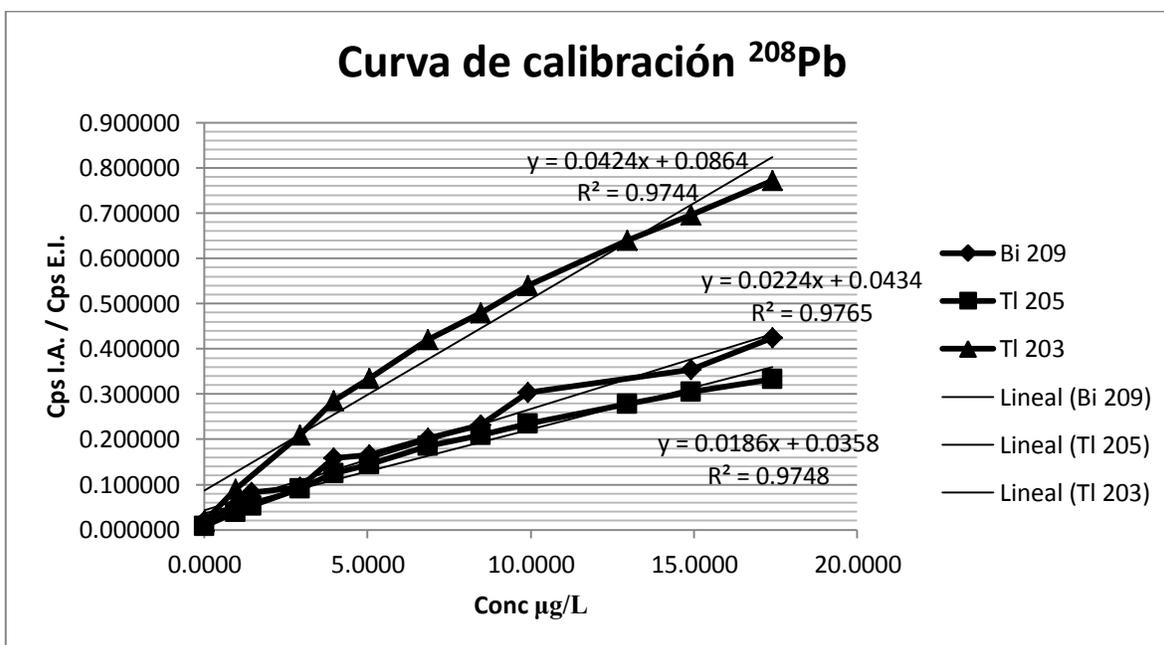
## 6.3 Validación parcial con estándar interno

### 6.3.1 Selección de estándar interno

Para el desarrollo de la metodología, se consideraron tres estándares internos:  $^{209}\text{Bi}$ ,  $^{205}\text{Tl}$ ,  $^{203}\text{Tl}$ , esto considerando que el estándar interno no estaría presente en las muestras de interés y que tuviera una masa similar al isótopo analito. El estándar interno se añadió a cada muestra en una concentración conocida y se utilizó para corregir la deriva instrumental que puede ocurrir a lo largo de la sesión de lecturas en el equipo.

Las curvas de calibración que se obtuvieron fueron las siguientes:

Gráfica 1. Curva de calibración de  $^{208}\text{Pb}$  con los diferentes estándares internos.



Gráfica 2. Curva de calibración para <sup>206</sup>Pb con los diferentes estándares internos

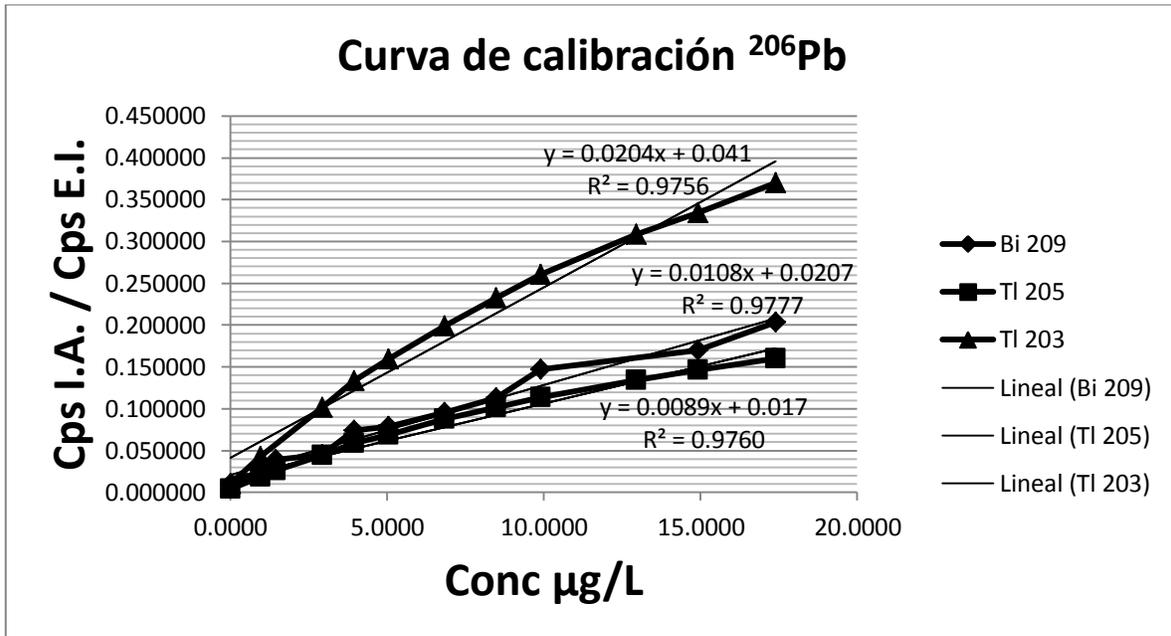


Tabla 10. Ecuaciones y coeficientes de correlación para cada relación Pb/E.I.

Isótopo	E.I.	Ecuación	r
<sup>208</sup> Pb	<sup>209</sup> Bi	<b>y = 0.0224x + 0.0434</b>	<b>0.9765</b>
	<sup>205</sup> Tl	y = 0.0186x + 0.0358	0.9748
	<sup>203</sup> Tl	y = 0.0424x + 0.0864	0.9744
<sup>206</sup> Pb	<sup>209</sup> Bi	y = 0.0108x + 0.0207	0.9777
	<sup>205</sup> Tl	0.0089x + 0.017	0.9760
	<sup>203</sup> Tl	0.0204x + 0.041	0.9756

En la tabla 10, se observa resaltada la relación isótopo analito/estándar interno que se ocupó considerando el coeficiente de correlación y la recuperación.

De la tabla 9 se observa que para el isótopo analito <sup>208</sup>Pb el estándar interno con mejor coeficiente de correlación es el <sup>209</sup>Bi, mientras que para <sup>206</sup>Pb, se hubiera podido trabajar con <sup>205</sup>Tl ó <sup>203</sup>Tl, pero cabe mencionar que no es suficiente el coeficiente de correlación para elegir el mejor estándar interno, habrá que considera también otros parámetros como la recuperación.

## Recuperación obtenida con los diferentes estándares

Tabla 11. Porcentajes de recuperación para plomo con diferentes estándares internos

% de Recuperación						
Folio	$^{208}\text{Pb}/^{209}\text{Bi}$	$^{208}\text{Pb}/^{205}\text{Tl}$	$^{208}\text{Pb}/^{203}\text{Tl}$	$^{206}\text{Pb}/^{209}\text{Bi}$	$^{206}\text{Pb}/^{205}\text{Tl}$	$^{206}\text{Pb}/^{203}\text{Tl}$
P1	100.43	193.12	190.72	98.66	172.78	199.51
P2	100.68	296.60	302.41	98.14	283.05	319.02
P3	98.40	297.18	302.57	95.89	281.17	316.30
P4	103.05	293.02	339.13	98.76	269.37	348.48
P5	99.43	304.89	323.09	101.89	274.56	337.01
P6	103.45	296.47	336.57	96.12	269.20	344.73
<b>Promedio</b>	<b>100.91</b>	280.21	299.08	<b>98.24</b>	258.36	310.84

En la tabla 11 se observa resaltado el estándar interno que mostró mejor porcentaje de recuperación.

Finalmente, considerando los resultados obtenidos en la tabla 10 y en la tabla 11 se decidió trabajar con el  $^{209}\text{Bi}$  como estándar interno.

Para estimar los parámetros de desempeño se trabajó con estándar interno  $^{209}\text{Bi}$  e isótopo analito  $^{208}\text{Pb}$ . Se eligió  $^{208}\text{Pb}$  primero porque el equipo da el doble de intensidad de señal para  $^{208}\text{Pb}$  que para  $^{206}\text{Pb}$  y segundo porque las muestras de mango deshidratado contienen muy poca cantidad de plomo entonces fue más favorable trabajar con este isótopo.

### 6.3.2 Parámetros de desempeño

Los parámetros de desempeño se estimaron conforme la Guía EURACHEM.

#### 6.3.2.1 Límite de detección y Límite de cuantificación

La guía EURACHEM establece que para determinar el límite de detección se necesita la lectura del analito en cuestión de por lo menos 6 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno, sin embargo un blanco de muestra es

esencialmente la matriz sin el analito y esto es difícil de obtener, sin embargo la guía EURACHEM afirma que si no se cuenta con los blancos de muestra es posible obtener una buena aproximación del límite de detección y de cuantificación a partir de los blancos de reactivos.

En la tabla 12 se muestran los resultados de las lecturas de blancos de reactivos

Tabla 12. Cuantificación de  $^{208}\text{Pb}$  en blancos de reactivos

Folio	$^{208}\text{Pb}/^{209}\text{Bi}$
	$\mu\text{g/L}$
Bco - 1	2.04
Bco - 2	2.14
Bco - 3	2.08
Bco - 4	2.11
Bco - 5	2.35
Bco - 6	2.19
Promedio	2.15
s	0.11

Una vez que se tuvieron las lecturas, se calculó el promedio y la desviación estándar y el límite de detección se calculó mediante la ecuación 1.

$$LoD = \overline{\text{blanco de reactivo}} + 3s \quad \text{ecuación 1}$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$LoD = 2.15 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} + 3 \left( 0.11 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = 2.48 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$$

Así, la concentración de  $2.48 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$  se tomará como la mínima concentración a la cual se puede alcanzar un grado aceptable de incertidumbre.

Mientras que el límite de cuantificación se calculó mediante la ecuación 2.

$$LoQ = \overline{\text{blanco de reactivo}} + 10s \quad \text{ecuación 2}$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$LoQ = 2.15 \frac{\mu g}{L} + 10 \left( 0.11 \frac{\mu g}{L} \right) = 3.25 \frac{\mu g}{L}$$

Entonces, la concentración del analito que se usa como el punto de concentración más baja de la curva de calibración es de:  $3.25 \frac{\mu g}{L}$ .

Tabla 13. LoD y LoQ para  $^{208}\text{Pb}$

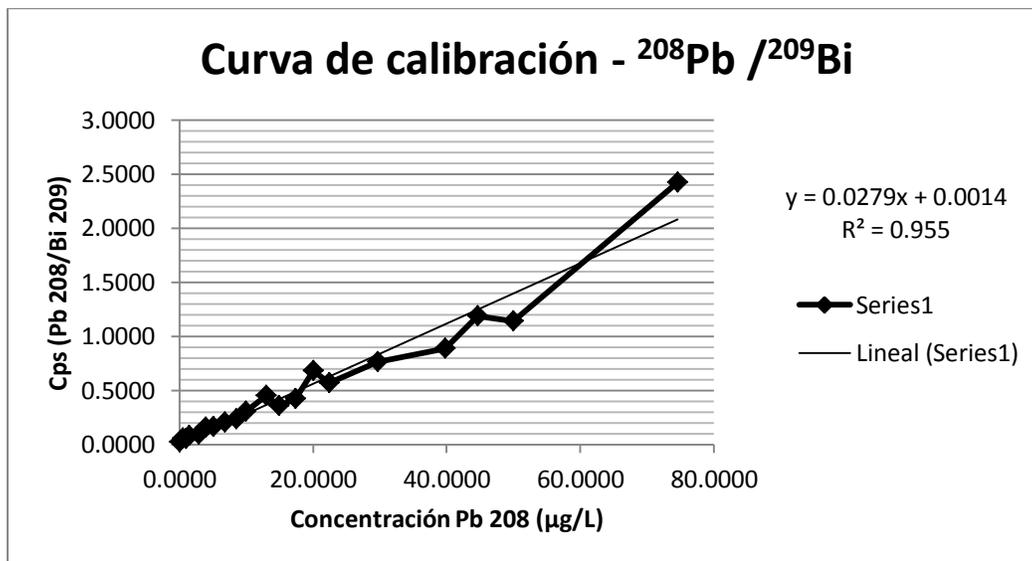
Analito	LoD $\frac{\mu g}{L}$	LoQ $\frac{\mu g}{L}$
$^{208}\text{Pb}$	2.48	3.25

### 6.3.2.2 Intervalo lineal

Durante la primera lectura se leyó una curva de calibración de 0 a  $74.6 \frac{\mu g}{L}$  con la finalidad de explorar el intervalo lineal y establecer el intervalo de trabajo. La curva de calibración se elaboró con el estándar interno propuesto ( $^{209}\text{Bi}$ ).

Como se establece en la Guía EURACHEM, para revisar la linealidad se requieren de al menos 10 puntos a diferentes concentraciones; obteniéndose la siguiente curva de calibración:

Gráfica 3. Curva de calibración para Pb 208 usando como estándar interno  $^{209}\text{Bi}$

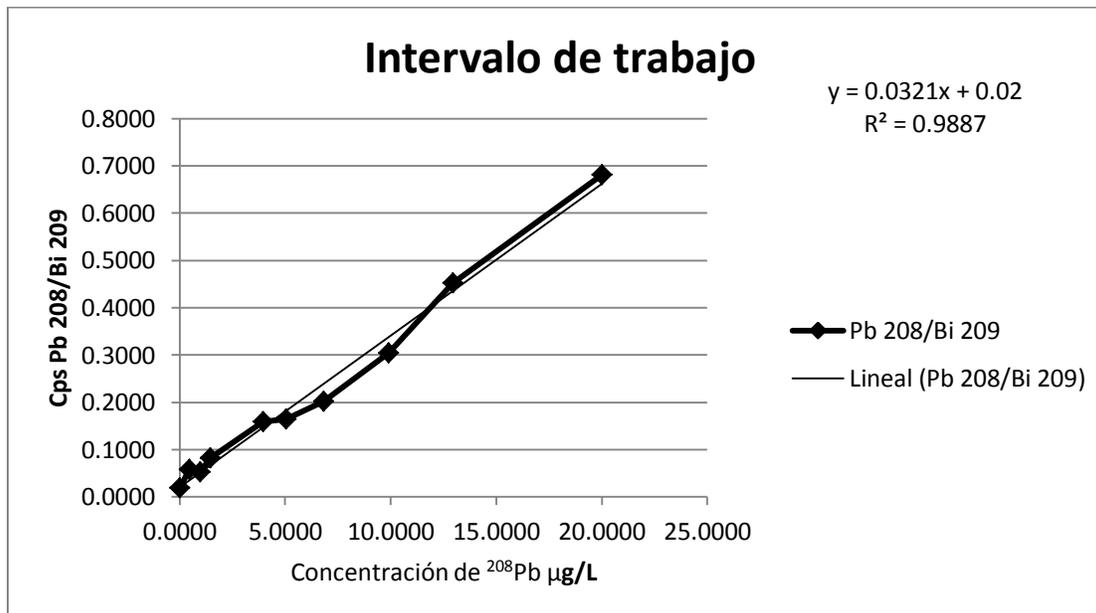




### 6.3.2.3 Intervalo de trabajo

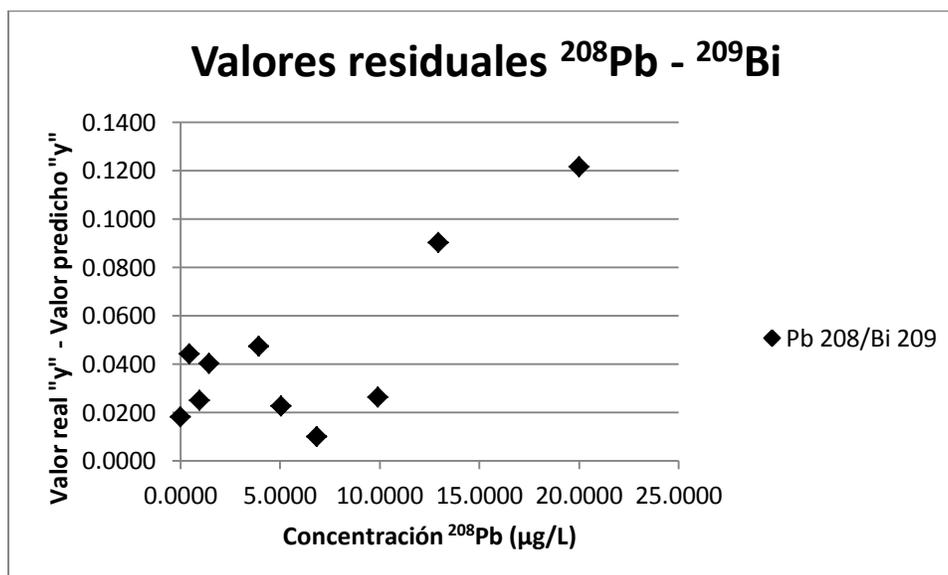
De acuerdo con la Guía EURACHEM para establecer el intervalo de trabajo es necesaria una curva de calibración preferentemente con más de 6 puntos.

Gráfica 5. Intervalo de trabajo para  $^{208}\text{Pb}$  utilizando  $^{209}\text{Bi}$  con estándar interno



En la gráfica 5 se puede observar que el intervalo de trabajo, se redujo hasta una concentración de  $20 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ , lo cual representa alrededor de una tercera parte del intervalo lineal.

Gráfica 6. Residuales para el intervalo de trabajo



En la gráfica 6, se puede observar que no se cometieron errores sistemáticos durante la preparación de la curva de calibración y la distribución aleatoria confirma la linealidad.

En la tabla 15 se muestra el intervalo de trabajo:

Tabla 15. Intervalo de trabajo para  $^{208}\text{Pb}$  usando  $^{209}\text{Bi}$  como estándar interno

Isótopo analito	Intervalo de trabajo ( $\mu\text{g/L}$ )
$^{208}\text{Pb}$ 208	3.25 - 20.04

Una vez que se estableció el intervalo lineal, se evaluó el intervalo de trabajo; donde LoQ forma el extremo inferior del intervalo de trabajo y el extremo superior del intervalo se definió hasta aproximadamente el doble de las concentraciones del analito  $^{208}\text{Pb}$  en las muestras analizadas en un estudio preliminar.

#### 6.3.2.4 Exactitud

Como ya se mencionó anteriormente, la exactitud se estudia en dos componentes: la "veracidad" y la "precisión"

#### 6.3.2.5 Veracidad

Se estimó la veracidad utilizando MRC 1547, Peach Leaves (NIST); se determinó la media y la desviación estándar de 10 réplicas de MRC; tal como lo establece la Guía EURACHEM y se comparó contra el valor caracterizado del material de referencia.

El material de referencia ideal hubiera sido mango deshidratado pero no se encontró, razón por la cual se eligió éste, que es de matriz natural, orgánico y lo más semejante a la muestra.

Se prefirió usar el MRC, en lugar de materiales de referencia preparados internamente por la estabilidad y homogeneidad bien conocida del MRC.

Los datos obtenidos de la lectura se muestran en la tabla 16.

Tabla 16. Concentraciones encontradas en el MRC1547, NIST.

Folio	Concentración <sup>208</sup> Pb(μg/L)	Concentración <sup>208</sup> Pb(μg/g)
P-1.1	31.66	0.88
P-1.2	33.09	0.94
P-1.3	31.07	0.86
P-1.4	31.58	0.90
P-1.5	32.63	0.92
P-1.6	30.66	0.87
P-1.7	32.54	0.93
P-1.8	32.17	0.91
P-1.9	31.85	0.90
P-1.10	32.85	0.94
<b>Promedio</b>		<b>0.90</b>
<b>Valor verdadero en MRC</b>		<b>0.87</b>

Normalmente la veracidad se expresa en términos de sesgo y se calculó mediante la ecuación 3.

$$sesgo = \overline{C_{experimental}} - \overline{C_{teórica}} \quad \text{ecuación 3}$$

Sustituyendo:

$$sesgo = 0.90 \frac{\mu g}{g} - 0.87 \frac{\mu g}{g} = 0.03 \frac{\mu g}{g}$$

Lo cual quiere decir; que se obtuvo un  $0.03 \frac{\mu g}{g}$  lo que indica que hubo una estimación de la concentración de <sup>208</sup>Pb en el MRC por exceso; que puede deberse a problemas de contaminación de la muestra; ya que el plomo es un elemento ubicuo y puede contaminar las muestras de muchas maneras; por ejemplo, durante la recolección, almacenamiento y/o su manipulación. Por lo tanto, la calidad de la manipulación es un aspecto crucial.

Durante la manipulación de las muestras en el laboratorio también existe algún grado de riesgo de contaminación. La preparación de las muestras idealmente se debería realizar en un entorno con no más de  $\frac{10^5 \text{ partículas}}{\text{m}^3 \text{ de aire}}$  o mejor.

En el laboratorio se debe intentar minimizar la cantidad de partículas en el aire (polvo, partículas del aire exterior o ambos factores).

### 6.3.2.6 Precisión

Como ya se mencionó anteriormente en el marco teórico, las medidas de precisión más comunes son la “repetibilidad” y la “reproducibilidad”; éstas representan las dos medidas extremas de precisión que pueden obtenerse.

### 6.3.2.7 Repetibilidad

Se determinó la repetibilidad, tomando tres puntos de la curva; uno abajo de LoQ, cerca del LoQ y por encima del LoQ, tomando el promedio de las tres réplicas que da el equipo y su respectiva desviación estándar relativa.

Tabla 17. Repetibilidad en tres puntos distintos de la curva de calibración

	<b>Estándar 2 (debajo de LoQ)</b>	<b>Estándar 6 (cerca de LoQ)</b>	<b>Estándar 11 (encima de LoQ)</b>
<b>Concentración de Pb 208 (<math>\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}</math>)</b>	0.7	4.9	14.7
<b>RSD (<math>\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}</math>)</b>	1.6	1.2	0.6

En la tabla 17, se puede ver que abajo del límite de cuantificación la desviación estándar es mayor que cerca del límite de cuantificación y encima del límite de cuantificación.

### 6.3.2.8 Reproducibilidad

A la par se estuvo realizando el análisis de cobre en mango deshidratado, entonces la reproducibilidad se determinó haciendo y leyendo la misma curva de

calibración con su respectiva desviación estándar relativa, pero con dos analistas distintos.

Tabla 18. Desviación estándar relativa en condiciones de reproducibilidad empleando la misma técnica, laboratorio y equipo, pero dos analistas distintos.

<b>Analista 1</b>			
	Estándar 2 (debajo de LoQ)	Estándar 6 (cerca de LoQ)	Estándar 11 (encima de LoQ)
<b>Concentración de</b> $^{208}\text{Pb} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)$	<b>2.5</b>	<b>4.4</b>	<b>12.7</b>
<b>RSD</b> $\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)$	<b>3.2</b>	<b>2.0</b>	<b>1.3</b>

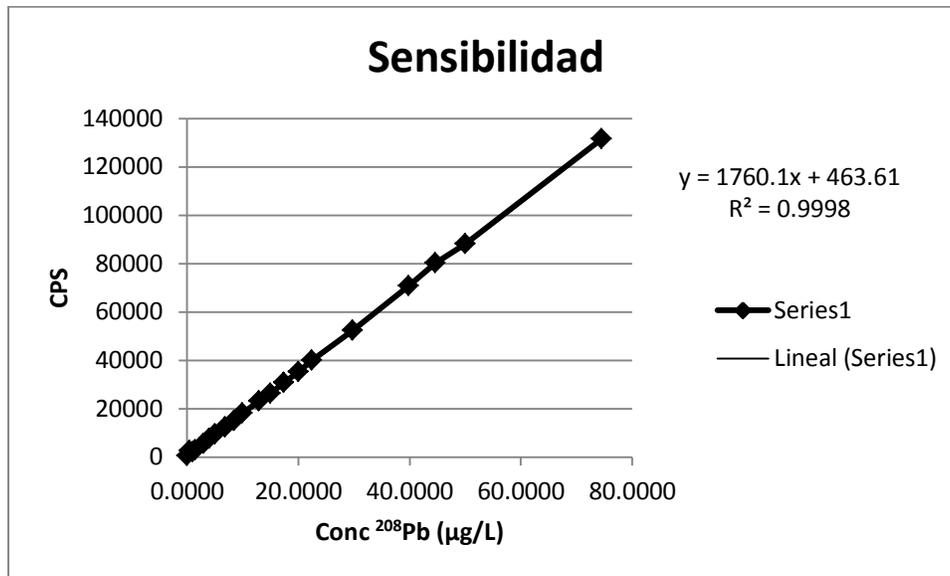
<b>Analista 2</b>			
	Estándar 2 (debajo de LoQ)	Estándar 6 (cerca de LoQ)	Estándar 11 (encima de LoQ)
<b>Concentración de</b> $^{208}\text{Pb} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)$	<b>2.6</b>	<b>3.8</b>	<b>12.2</b>
<b>RSD</b> $\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)$	<b>4.6</b>	<b>2.9</b>	<b>1.8</b>

De la tabla 18, se puede observar que la metodología desarrollada es reproducible y se observa también que por debajo del límite de cuantificación, la incertidumbre asociada es mayor, tal como su definición lo indica.

### 6.3.2.9 Sensibilidad

Mediante la gráfica 7 se puede observar que la sensibilidad es expresada como la pendiente de la curva de respuesta; es decir, es el cambio de la respuesta del equipo con un cambio de concentración del analito.

Gráfica 7. Sensibilidad analítica



Entonces:  $sensibilidad = 1760.1 \frac{cps \cdot L}{\mu g}$

### 6.3.2.10 Recuperación

Se determinó la recuperación del analito relativa al valor certificado en MRC 1547, NIST (Hojas de durazno). Se realizaron 6 repeticiones en la tabla 19 se observan los resultados.

Tabla 19. Recuperación obtenida mediante el MRC 1547. NIST

Folio	Porcentaje de Recuperación		
	Concentración <sup>208</sup> Pb	Concentración <sup>208</sup> Pb	Recuperación
	µg/L	µg/g	%
P1	31.66	0.88	100.68
P2	33.09	0.94	108.14
P3	31.07	0.86	98.40
P4	31.58	0.90	103.05
P5	32.63	0.92	105.50
P6	30.66	0.87	99.43
	Promedio		<b>102.53</b>
	Desviación estándar		<b>3.76</b>

A partir de las concentraciones de  $^{208}\text{Pb}$  expresadas en  $\frac{\mu\text{g}}{\text{g}}$  mostradas en la tabla 19 se calculó el porcentaje de recuperación mediante la ecuación 4.

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{C_{\text{experimental}}}{C_{\text{teórica}}} * 100\% \quad \text{ecuación 4}$$

Se calculó el promedio y su desviación estándar.

Cabe mencionar que es posible obtener recuperaciones superiores al 100 %. Una recuperación aceptable está en función de la concentración y del propósito del análisis; en la tabla 20; se muestran algunos porcentajes de recuperación (Horrat, 2008).

Tabla 20. Porcentajes de recuperación aceptables de acuerdo a la concentración.  
(Horrat, 2008).

Recuperación (R)	Concentración	Dimensión	Unidad de valor	Recuperación (%)
	100	1	100% (100 g/100g)	<b>98 – 102</b>
	≥10	10 <sup>-1</sup>	≥ 10% (10 g/100g)	<b>98 – 102</b>
	≥1	10 <sup>-2</sup>	≥ 1% (1 g/100g)	<b>97 - 103</b>
	≥0.1	10 <sup>-3</sup>	≥ 0.1% (1 mg/g)	<b>95 – 105</b>
	0.01	10 <sup>-4</sup>	100 mg/kg	<b>90 – 107</b>
	0.001	10 <sup>-5</sup>	10 mg/kg	<b>80 – 110</b>
	0.0001	10 <sup>-6</sup>	1 mg/kg	<b>80 – 110</b>
	0.00001	10 <sup>-7</sup>	100 μg/kg	<b>80 – 110</b>
	0.000001	10 <sup>-8</sup>	10 μg/kg	<b>60 – 115</b>
	<b>0.0000001</b>	<b>10<sup>-9</sup></b>	<b>1 μg/kg</b>	<b>40 – 120</b>

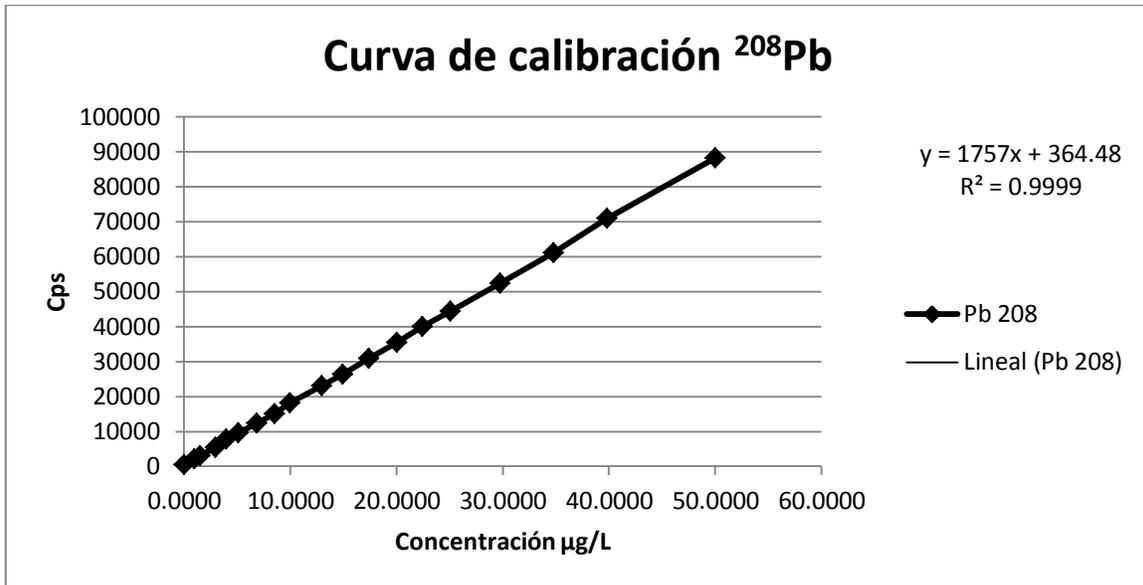
En la tabla 19 podemos observar que el porcentaje de recuperación aceptado para este trabajo está en el orden de 80 – 110 %, y que 102.53% obtenido queda dentro de este intervalo.

## 6.4 Validación parcial sin estándar interno

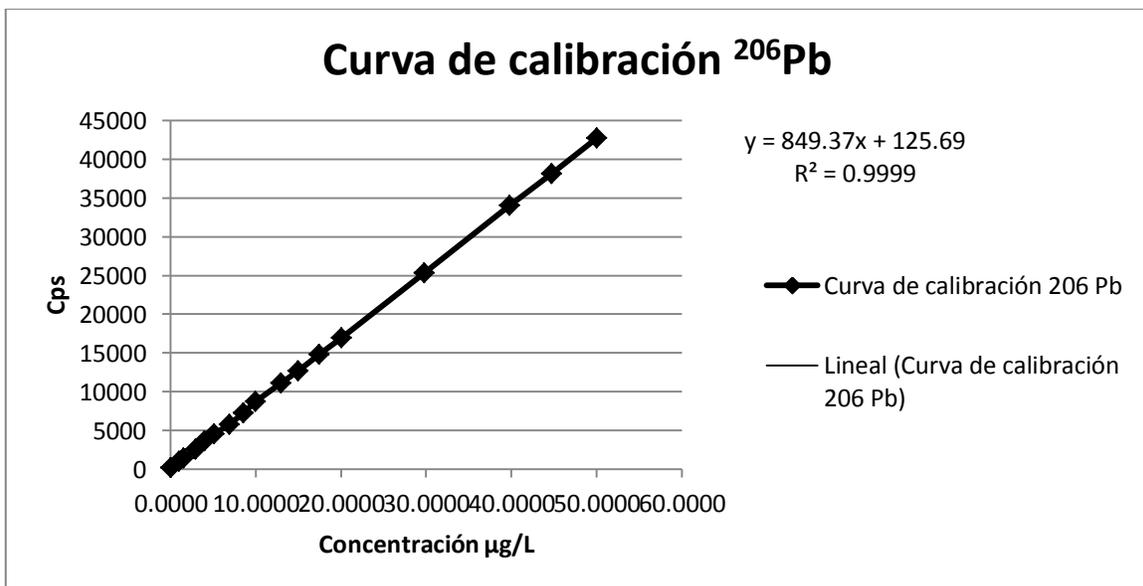
### 6.4.1 Curvas de calibración

A continuación en las gráficas 8 y 9 respectivamente se presentan las curvas de calibración para  $^{208}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}$ , donde se puede observar un mejor coeficiente de correlación que con  $^{209}\text{Bi}$  (E.I.).

Gráfica 8. Curva de calibración  $^{208}\text{Pb}$



Gráfica 9. Curva de calibración  $^{206}\text{Pb}$



#### 6.4.2 Recuperación

En la tabla 21 se presenta la recuperación obtenida para los dos isótopos del plomo, y más adelante se detalla cómo se obtuvieron estos resultados.

Tabla 21. Recuperación para  $^{208}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}$

Recuperación						
	$^{208}\text{Pb}$			$^{206}\text{Pb}$		
Folio	Conc	Conc	Recuperación	Conc	Conc	Recuperación
	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/g}$	%
S1	11.09	0.22	109.50	9.03	0.18	88.72
S2	9.03	0.18	88.72	8.94	0.18	89.55
S3	10.61	0.21	103.28	6.17	0.17	85.25
S4	10.45	0.21	103.62	7.71	0.21	106.79
S5	10.98	0.22	109.93	7.79	0.21	106.48
S6	8.94	0.18	89.55	7.44	0.19	96.66
Promedio	10.18	0.20	<b>100.76</b>	7.84	0.19	<b>95.58</b>

Aunque se obtuvieron buenos coeficientes de correlación y porcentajes de recuperación para ambos isótopos, los parámetros de desempeño sólo se calcularon para  $^{208}\text{Pb}$  porque el equipo da el doble de intensidad de señal para  $^{208}\text{Pb}$  que para  $^{206}\text{Pb}$ ; esto se puede observar claramente en la gráfica 8 de  $^{208}\text{Pb}$  donde se observa que el eje que muestra las cuentas por segundo llega hasta 100 000 mientras que en la gráfica 9 de  $^{206}\text{Pb}$  llega hasta 50 000 y porque las muestras de mango deshidratado contienen poca cantidad de plomo entonces fue más favorable trabajar con este isótopo.

#### 6.4.3 Parámetros de desempeño

Cada uno de los parámetros de desempeño se estimó de la misma manera que en la validación parcial con estándar interno, conforme la Guía EURACHEM, a continuación se presentan los resultados obtenidos:

### 6.4.3.1 Límite de detección y Límite de cuantificación

Para determinar el límite de detección y cuantificación se leyeron de manera independiente una vez cada uno 6 blancos de reactivos.

En la tabla 21 se muestran los resultados de las lecturas de blancos de reactivos

Tabla 21. Cuantificación de  $^{208}\text{Pb}$  en blancos de reactivos

Folio	$^{208}\text{Pb}$
	$\mu\text{g/L}$
Bco - 1	1.16
Bco - 2	1.18
Bco - 3	1.23
Bco - 4	1.17
Bco - 5	1.14
Bco - 6	1.18
Promedio	1.18
s	0.03

El límite de detección se calculó mediante la ecuación 1.

$$LoD = \overline{\text{blanco de reactivo}} + 3s \quad \text{ecuación 1}$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$LoD = 1.18 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} + 3 \left( 0.03 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = 1.27 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$$

La concentración de  $1.27 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$  será la concentración mínima a la cual se puede alcanzar un grado aceptable de incertidumbre.

Mientras que el límite de cuantificación se calculó mediante la ecuación 2.

$$LoQ = \overline{\text{blanco de reactivo}} + 10s \quad \text{ecuación 2}$$

Sustituyendo en la fórmula:

$$LoQ = 1.18 \frac{\mu g}{L} + 10 \left( 0.03 \frac{\mu g}{L} \right) = 1.48 \frac{\mu g}{L}$$

La concentración del analito que se usó como el punto de concentración más baja de la curva de calibración fue de:  $1.48 \frac{\mu g}{L}$ .

Tabla 22. LoD y LoQ para  $^{208}\text{Pb}$

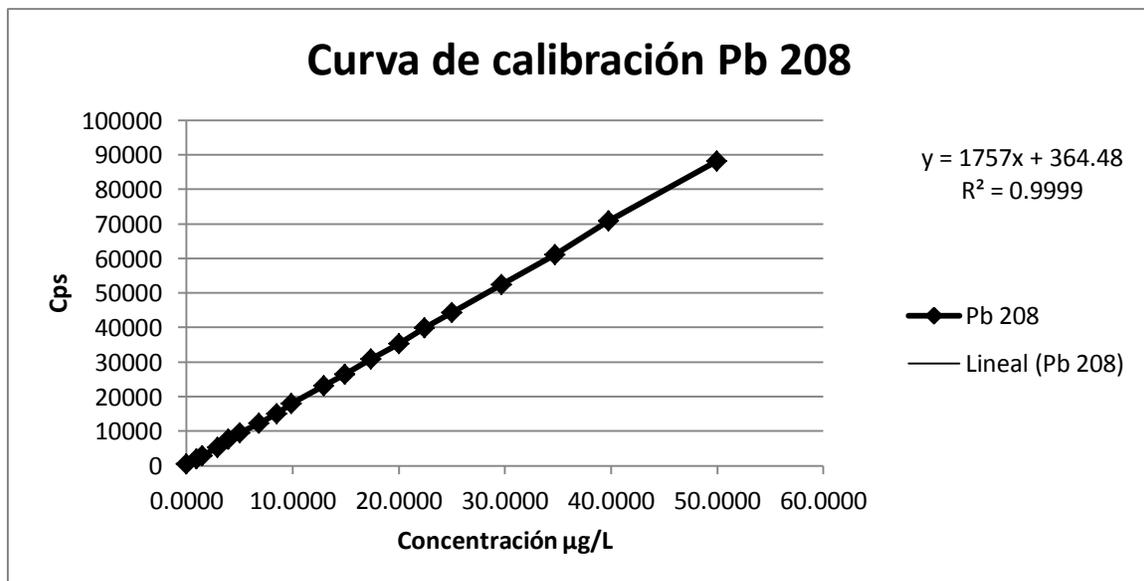
Analito	LoD $\frac{\mu g}{L}$	LoQ $\frac{\mu g}{L}$
$^{208}\text{Pb}$	1.27	1.48

#### 6.4.3.2 Intervalo lineal

Se leyó una curva de calibración de 0 a  $49.98 \frac{\mu g}{L}$  con la finalidad de explorar el intervalo lineal y establecer el intervalo de trabajo.

Como se establece en la Guía EURACHEM, para revisar la linealidad se requieren de al menos 10 puntos a diferentes concentraciones; obteniéndose la siguiente curva de calibración:

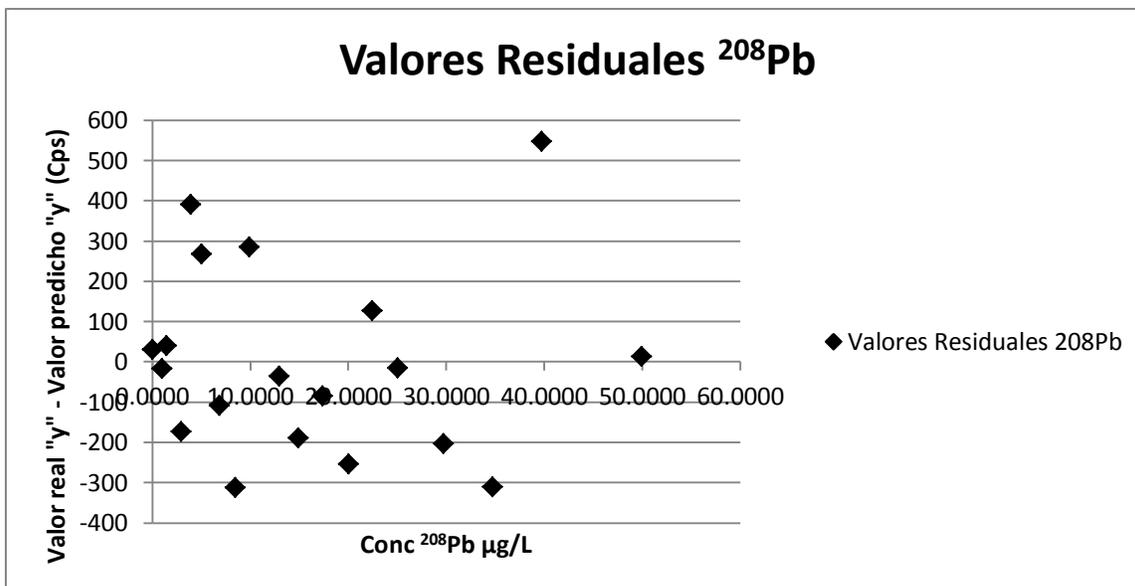
Gráfica 10. Curva de calibración  $^{208}\text{Pb}$



Dado que los cálculos de regresión por sí mismos, son insuficientes para establecer la linealidad, se realizó una inspección visual de la línea y de los residuales.

Se calcularon y graficaron los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de  $\bar{y}$  y el valor predicho por la línea recta, para cada valor de  $\bar{x}$ ), obteniendo la gráfica 11.

Gráfica 11. Valores residuales para  $^{208}\text{Pb}$



La gráfica 11 muestra la distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirmando la linealidad, por lo cual se puede decir que no se cometieron errores sistemáticos durante la preparación de la curva de calibración.

Afirmando que el analito se comporta de manera lineal dentro del intervalo mostrado en la tabla 23; donde el extremo inferior del intervalo está limitado por el límite de detección y el extremo superior del intervalo está limitado por la concentración hasta la cual se exploró el comportamiento lineal del analito.

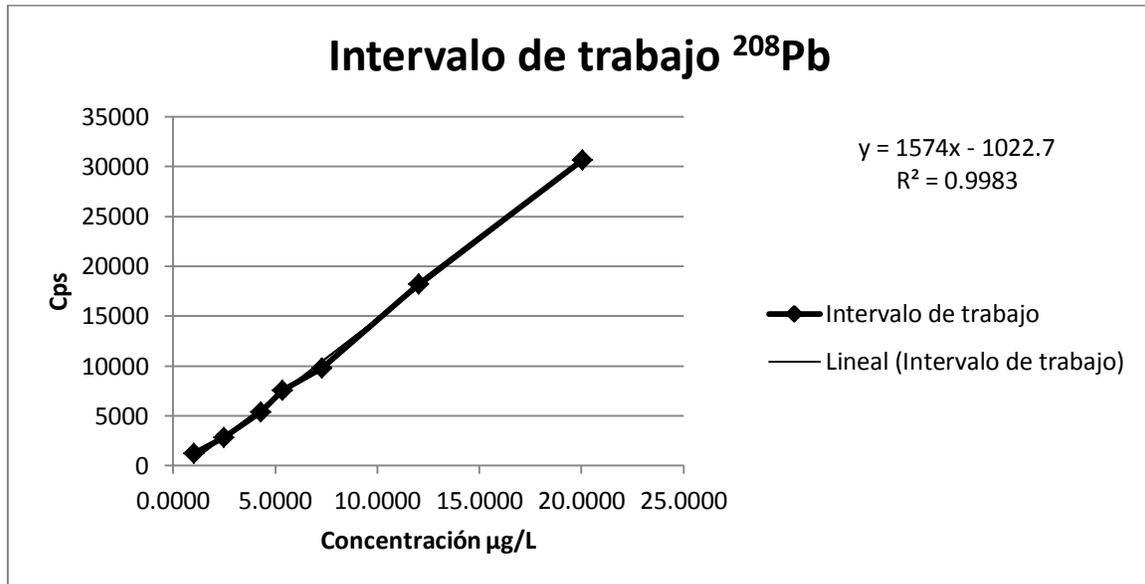
Tabla 23. Intervalo lineal para  $^{208}\text{Pb}$ .

Isótopo analito	Intervalo lineal (µg/L)
$^{208}\text{Pb}$	1.27 – 49.98

### 6.4.3.3 Intervalo de trabajo

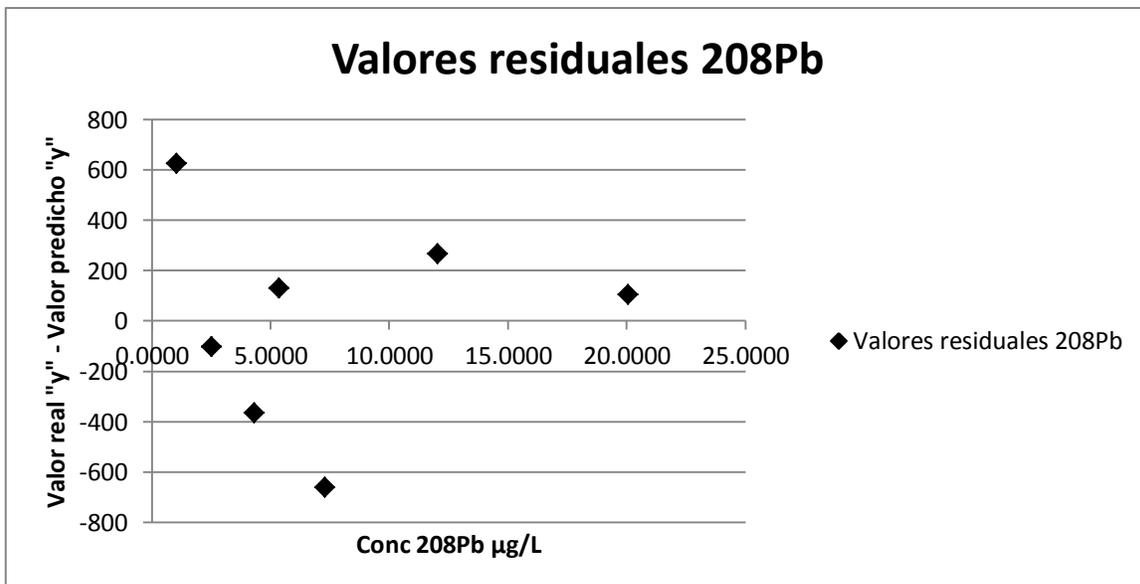
De acuerdo con la Guía EURACHEM para establecer el intervalo de trabajo es necesaria una curva de calibración preferentemente con más de 6 puntos.

Gráfica 12. Intervalo de trabajo para  $^{208}\text{Pb}$ .



En la gráfica 12 se puede observar que el intervalo de trabajo, se redujo hasta una concentración de  $20 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ .

Gráfica 13. Valores residuales  $^{208}\text{Pb}$



En la gráfica 13, se puede observar que no se cometieron errores sistemáticos durante la preparación de la curva de calibración y la distribución aleatoria confirma la linealidad.

En la tabla 24 se muestra el intervalo de trabajo:

Tabla 24. Intervalo de trabajo para  $^{208}\text{Pb}$ .

Isótopo analito	Intervalo de trabajo ( $\mu\text{g/L}$ )
$^{208}\text{Pb}$	1.48 - 20.04

El intervalo de trabajo está delimitado por el extremo inferior el LoQ y el extremo superior del intervalo se definió hasta aproximadamente el doble de las concentraciones del analito  $^{208}\text{Pb}$  en las muestras analizadas en un estudio preliminar.

#### 6.4.3.4 Exactitud

Como ya se mencionó anteriormente, la exactitud se estudia en dos componentes: la "veracidad" y la "precisión"

#### 6.4.3.5 Veracidad

Se verificó la veracidad utilizando MRC 1570<sup>a</sup> NIST; se determinó la media y la desviación estándar de 10 réplicas de MRC; como lo establece la Guía EURACHEM y se comparó contra el valor caracterizado del material de referencia.

Se prefirió usar el MRC, en lugar de materiales de referencia preparados internamente por la estabilidad y homogeneidad bien conocida del MRC.

Los datos obtenidos de la lectura se muestran en la tabla 25.

Tabla 25. Concentraciones encontradas en el MRC1570a, NIST.

Folio	Concentración $^{208}\text{Pb}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	Concentración $^{208}\text{Pb}$ ( $\mu\text{g/g}$ )
S-1.1	11.09	0.22
S-1.2	9.03	0.18

S-1.3	10.61	0.21
S-1.4	10.45	0.21
S-1.5	10.98	0.22
S-1.6	8.94	0.18
S-1.7	10.23	0.20
S-1.8	10.27	0.20
S-1.9	9.45	0.19
S-1.10	9.77	0.19
Promedio	10.08	<b>0.20</b>
	<b>Valor verdadero en MRC</b>	<b>0.20</b>

La veracidad se expresa en términos de sesgo y se calculó mediante la ecuación 3.

$$sesgo = \overline{C_{experimental}} - \overline{C_{teórica}} \quad \text{ecuación 3}$$

Sustituyendo:

$$sesgo = 0.20 \frac{\mu g}{g} - 0.20 \frac{\mu g}{g} = 0.00 \frac{\mu g}{g}$$

Por lo cual, para dar una mejor estimación del sesgo, se calculó desde la concentración más baja  $0.18 \frac{\mu g}{g}$  y la más alta  $0.22 \frac{\mu g}{g}$  que se obtuvo en el MRC 1570<sup>a</sup>, NIST.

$$sesgo = 0.18 \frac{\mu g}{g} - 0.20 \frac{\mu g}{g} = -0.02 \frac{\mu g}{g}$$

$$sesgo = 0.22 \frac{\mu g}{g} - 0.20 \frac{\mu g}{g} = +0.02 \frac{\mu g}{g}$$

Por lo cual la concentración encontrada en el MRC fue de  $0.20 \frac{\mu g}{g} \pm 0.02$ .

#### 6.4.3.6 Precisión

Las medidas de precisión más comunes son la “repetibilidad” y la “reproducibilidad”; éstas representan las dos medidas extremas de precisión que pueden obtenerse.

#### 6.4.3.7 Repetibilidad

Se determinó la repetibilidad, tomando tres puntos de la curva; uno abajo de LoQ, cerca del LoQ y por encima del LoQ, tomando el promedio de las tres réplicas que da el equipo y su respectiva desviación estándar relativa.

Tabla 26. Repetibilidad en tres puntos distintos de la curva de calibración

	<b>Estándar 2 (debajo de LoQ)</b>	<b>Estándar 6 (cerca de LoQ)</b>	<b>Estándar 11 (encima de LoQ)</b>
<b>Concentración de Pb 208 (<math>\frac{\mu g}{L}</math>)</b>	0.4	2.9	14.9
<b>RSD (%)</b>	2.6	1.2	0.3

En la tabla 17, se puede ver que abajo del límite de cuantificación la desviación estándar es mayor que cerca del límite de cuantificación y encima del límite de cuantificación.

#### 6.4.3.8 Reproducibilidad

A la par se estuvo realizando el análisis de cobre en mango deshidratado, entonces la reproducibilidad se determinó haciendo y leyendo la misma curva de calibración con su respectiva desviación estándar relativa, pero con dos analistas distintos.

Tabla 27. Desviación estándar relativa en condiciones de reproducibilidad empleando la misma técnica, laboratorio y equipo, pero dos analistas distintos.

<b>Analista 1</b>			
	Estándar 2 (debajo de LoQ)	Estándar 6 (cerca de LoQ)	Estándar 11 (encima de LoQ)
<b>Concentración de</b> $^{208}\text{Pb}$ ( $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ )	<b>0.4</b>	<b>2.9</b>	<b>14.9</b>
<b>RSD</b> ( $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ )	<b>2.6</b>	<b>1.2</b>	<b>0.3</b>

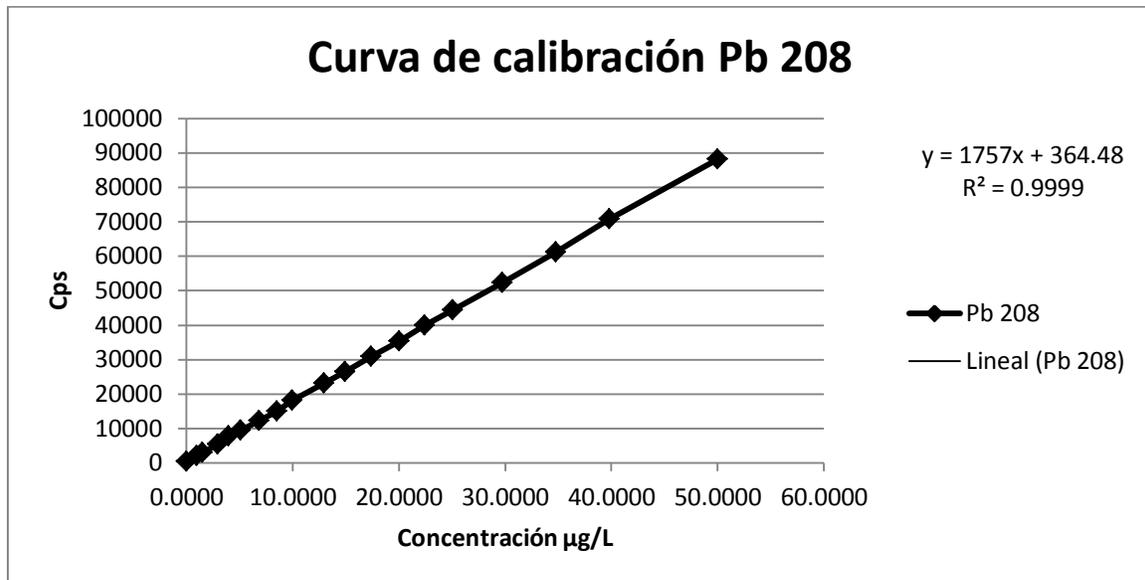
<b>Analista 2</b>			
	Estándar 2 (debajo de LoQ)	Estándar 6 (cerca de LoQ)	Estándar 11 (encima de LoQ)
<b>Concentración de</b> $^{208}\text{Pb}$ ( $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ )	<b>0.4</b>	<b>2.9</b>	<b>14.9</b>
<b>RSD</b> ( $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$ )	<b>3.8</b>	<b>1.0</b>	<b>0.5</b>

De la tabla 27, se puede observar que la metodología desarrollada es reproducible y se observa también que por debajo del límite de cuantificación, la incertidumbre asociada es mayor, tal como su definición lo indica.

#### 6.4.3.9 Sensibilidad

En la gráfica 14 se puede observar que la sensibilidad se expresa como la pendiente de la curva de respuesta; es decir, es el cambio de la respuesta del equipo con un cambio de concentración del analito.

Gráfica 14. Sensibilidad analítica



$$sensibilidad = 1757 \frac{cps * L}{\mu g}$$

#### 6.4.3.10 Recuperación

La recuperación se estimó mediante la lectura de 6 réplicas del MRC 1570a NIST, cada una leída una vez y de manera independiente, los datos obtenidos se muestran en la tabla 28.

Tabla 28. Recuperación obtenida en MRC 1570a NIST.

Porcentaje de Recuperación			
Folio	Concentración <sup>208</sup> Pb µg/L	Concentración <sup>208</sup> Pb µg/g	Recuperación %
S1	11.09	0.22	109.50
S2	9.03	0.18	88.72
S3	10.61	0.21	103.28
S4	10.45	0.21	103.62
S5	10.98	0.22	109.93
S6	8.94	0.18	89.55
Promedio			100.76
Desviación estándar			9.44

El porcentaje de recuperación aceptado cuando se trabaja a 1  $\mu\text{g/g}$  está en 80 – 110%, por lo que el porcentaje obtenido en este trabajo 100.76% queda comprendido dentro de ese intervalo.

### 6.5 Aplicación del método analítico desarrollado a muestras de mango deshidratado.

Una vez desarrollada y optimizada la parte instrumental de la metodología se procedió a determinar plomo en las muestras de interés; mango deshidratado natural y mango deshidratado enchilado. Las muestras recibieron el tratamiento físico y químico anteriormente descrito.

Se trabajó con una curva de calibración de 0  $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$  a 20.04  $\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$  sin estándar interno, dado que se obtuvo un coeficiente de correlación más alto que empleando el estándar interno y un porcentaje de recuperación aceptable (100.76%).

Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes:

#### 6.5.1 Mango deshidratado natural

Tabla 29. Contenido de  $^{208}\text{Pb}$  en mango deshidratado natural

<b>Mango deshidratado natural</b>		
	Concentración $^{208}\text{Pb}$	Concentración $^{208}\text{Pb}$
<b>Folio</b>	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/g}$
<b>A1</b>	13.00	0.26
<b>A2</b>	10.03	0.20
<b>A3.1</b>	8.07	0.17
<b>A3.2</b>	8.25	0.17
<b>A3.3</b>	9.96	0.20
<b>A4.1</b>	12.14	0.25
<b>A4.2</b>	6.02	0.12
<b>A4.3</b>	11.52	0.24

<b>A5</b>	12.57	0.25
<b>A6</b>	4.38	0.09
<b>A7</b>	7.34	0.15
<b>A8</b>	8.91	0.17
<b>A9</b>	11.03	0.23
<b>A10</b>	7.07	0.15
<b>A11</b>	48.17	0.98
<b>A12</b>	3.89	0.08
<b>A13</b>	<LoQ	
<b>A14</b>	13.24	0.27
<b>A15</b>	16.42	0.33
<b>A16</b>	4.68	0.10
<b>A17</b>	5.55	0.11
<b>A18</b>	6.44	0.13
<b>A19</b>	7.94	0.16
<b>A20</b>	<LoQ	
<b>A21</b>	5.03	0.10
<b>A22</b>	<LoQ	
<b>A23</b>	<LoQ	
<b>A24</b>	<LoQ	
<b>A25</b>	<LoQ	
<b>A26</b>	6.98	0.14
<b>A27</b>	<LoQ	
<b>A28</b>	7.04	0.14
<b>A29.1</b>	7.39	0.15
<b>A29.2</b>	5.67	0.11
<b>A29.3</b>	5.47	0.11
<b>A30</b>	<LoQ	
<b>Promedio</b>	10.13	0.20

### 6.5.2 Mango deshidratado enchilado

Tabla 30. Contenido de  $^{208}\text{Pb}$  en muestras de mango deshidratado enchilado

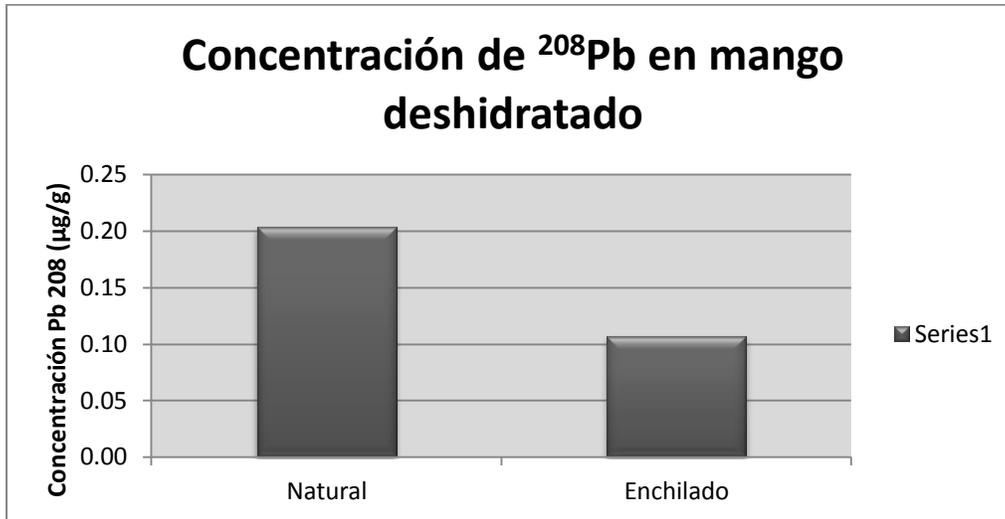
<b>Mango deshidratado enchilado</b>		
	Concentración $^{208}\text{Pb}$	Concentración $^{208}\text{Pb}$
<b>Folio</b>	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/g}$
<b>B1.1</b>	3.62	0.07
<b>B1.2</b>	3.43	0.07
<b>B1.3</b>	3.44	0.07
<b>B2</b>	6.42	0.13
<b>B3</b>	7.18	0.15
<b>B4</b>	6.84	0.14
<b>B5</b>	5.01	0.10
<b>B6</b>	6.57	0.14
<b>B7</b>	4.93	0.10
<b>B8</b>	6.50	0.13
<b>B9</b>	5.42	0.11
<b>B10</b>	4.55	0.09
<b>B11</b>	<LoQ	
<b>B12</b>	<LoQ	
<b>B13.1</b>	10.85	0.22
<b>B13.2</b>	3.98	0.08
<b>B13.3</b>	3.90	0.08
<b>B14</b>	<LoQ	
<b>B15</b>	<LoQ	
<b>B16</b>	<LoQ	
<b>B17</b>	<LoQ	
<b>B18</b>	<LoQ	
<b>B19</b>	7.31	0.15
<b>B20</b>	<LoQ	
<b>B21</b>	<LoQ	

<b>B22</b>	<LoQ	
<b>B23</b>	<LoQ	
<b>B24</b>	<LoQ	
<b>B25</b>	<LoQ	
<b>B26</b>	<LoQ	
<b>B27</b>	<LoQ	
<b>B28</b>	<LoQ	
<b>B29</b>	<LoQ	
<b>B30.1</b>	6.54	0.13
<b>B30.2</b>	4.40	0.09
<b>B30.3</b>	5.17	0.10
<b>Promedio</b>	5.2898	0.1070

Tabla 31. Concentración promedio encontrada en mango deshidratado natural y enchilado

<b>Muestra</b>	<b>Mango deshidratado natural</b>	<b>Mango deshidratdo enchilado</b>
<b>Concentración <math>\left(\frac{\mu g}{g}\right)</math> <math>^{208}\text{Pb}</math> En base seca</b>	<b>0.20</b>	<b>0.11</b>

Gráfica 15. Concentraciones promedio de  $^{208}\text{Pb}$  en Mango deshidratado



Con los resultados obtenidos en este estudio, se puede dar un estimado de la cantidad de rodajas de mango deshidratado que se tendrían que consumir para alcanzar la ISTP (Ingesta Semanal Tolerable Provisional) establecida por el comité mixto FAO /OMS; que es de 25  $\mu\text{g}$ / semana/ kg peso corporal.

Para mango deshidratado natural:

Considerando que, el peso promedio de una rodaja es de: 14.93 g y asumiendo que la concentración promedio de plomo es de 0.20  $\mu\text{g/g}$ :

$$\frac{\text{cantidad de } 208\text{Pb}}{\text{rodaja de mango deshidratado}} = \left(\frac{0.20 \mu\text{g Pb}}{\text{g}}\right) \left(\frac{14.93 \text{ g}}{\text{rodaja}}\right) = 2.986 \frac{\mu\text{g Pb}}{\text{rodaja}}$$

Ahora; de acuerdo con un estudio de las dimensiones antropométricas del mexicano realizado por la Conaive en apoyo con el INEGI y la Secretaría de Economía, el hombre mexicano promedio pesa 74.8 kg; considerando esto:

$$\begin{aligned} &\text{cantidad de plomo que se puede consumir semanalmente} \\ &= \left(\frac{25 \mu\text{g Pb}}{\text{semana por kg de peso corporal}}\right) \left(\frac{74.8 \text{ kg}}{\text{hombre mexicano promedio}}\right) \\ &= \frac{1870 \mu\text{g de Pb}}{\text{semana}} \end{aligned}$$

Finalmente:

*cantidad de rodajas que se tendrían que consumir para alcanzar la ISTP*

$$= \left( \frac{1870 \mu\text{g de Pb}}{\text{semana}} \right) \left( \frac{\text{rodaja}}{2.986 \mu\text{g Pb}} \right) = \frac{626 \text{ rodajas}}{\text{semana}}$$

Para el cálculo del mango deshidratado enchilado el peso promedio por rodaja fue de 19.83 g, entonces la cantidad de rodajas de mango deshidratado enchilado que se tendrían que consumir para alcanzar la ISTP es de 857

Tabla 32. Rodajas que se tendrían que consumir para alcanzar la ISTP de plomo

	<b>Mango deshidratado natural</b>	<b>Mango deshidratado enchilado</b>
<i><math>\frac{\text{rodajas}}{\text{semana}}</math></i>	626	857

## 7. CONCLUSIONES

---

---

Se desarrolló y se validó parcialmente la metodología analítica para la cuantificación de plomo en mango deshidratado mediante ICP – MS. Con base en los valores obtenidos de los parámetros de desempeño, se puede asegurar que la metodología desarrollada es idónea analíticamente hablando.

Para lograr esto, hay puntos clave en los cuales se debe poner especial atención como los que se mencionan a continuación:

El lavado especial de todo el material utilizado, para tener resultados certeros y confiables.

En la etapa de la digestión, se prefirió realizar una digestión asistida por horno de microondas por las siguientes ventajas: precisión, simplicidad, altos valores de recuperación.

Se optimizó la metodología realizando diluciones gravimétricas con la finalidad de disminuir la incertidumbre asociada.

La utilidad del estándar interno es corregir la deriva instrumental del equipo, ya que los tiempos de análisis son muy largos, a pesar de que el estándar que mejor funcionó para el presente trabajo fue Bi 209. En este caso el estándar interno probablemente no estuvo en la concentración adecuada y no fue útil para este análisis, sin embargo sirvió como control, ya que se observaba que las cuentas por segundo del  $^{209}\text{Bi}$  se mantuvieron durante toda la sesión de lecturas.

Se evaluó la metodología analítica realizando una validación parcial.

Se planteó como hipótesis encontrar mayor cantidad de plomo en las muestras de mango deshidratado enchilado sin embargo se obtuvo lo contrario, esto puede atribuirse a una contaminación del mango deshidratado natural en el punto de venta, ya que al estar destapado y tener una superficie pegajosa puede depositarse mayor cantidad de polvo que en el mango deshidratado enchilado, pues éste tiene una superficie cubierta por polvo de chile y menos húmeda que el mango deshidratado natural.

Por otro lado, se demostró que el consumo de mango deshidratado tanto natural como enchilado, no representa ningún riesgo a la salud pública, ya que se tendría que consumir una cantidad muy grande de rodajas para presentar los síntomas de la intoxicación por plomo. Sería necesario consumir 626 rodajas de mango deshidratado natural y 857 rodajas de mango deshidratado enchilado para sobrepasar la ingesta semanal tolerable provisional.

Se conoció el adecuado funcionamiento y la optimización que se debe realizar antes de efectuar un análisis mediante el ICP - MS

Si bien es cierto, que el empleo del ICP – MS representa una gran variedad de ventajas para este tipo de análisis, también es necesario que el operador esté consciente del tipo de análisis a desarrollar. Puesto que dependiendo de los elementos de interés en el análisis y el tipo de matriz en que se encuentran, se deberán elegir las variables a controlar es decir; cuando hay una concentración pequeña del analito de interés se aumenta el número de barridos, para hacer al equipo más sensible, otro ejemplo es, si el analito de interés es de masa grande, no es del todo necesario que las cuentas por segundo del magnesio (elemento de masa pequeña) estén debajo de 5 000. Cuando el análisis se quisiera realizar a nivel de partes por trillón o se quisieran leer tierras raras, en este caso se deben tener especialmente controlados todos los parámetros de la optimización del equipo

Si al leer la solución “Daily” para verificar el buen funcionamiento del equipo, se encuentra que no se obtienen los valores preestablecidos, entonces es necesario: verificar el capilar de la toma de muestra, alinear la antorcha, limpiar los conos, etc.

Explicado lo anterior y dado que el plomo es de masa mediana a grande, se demuestra que la optimización para llevar a cabo este análisis fue la adecuada. Sin embargo se requiere mucho más práctica para el conocimiento de un equipo tan complejo como lo es el ICP - MS, ya que al estar trabajando con masas, las variables son muchas; de tipo electrónicas, físicas, se requiere de ajuste de flujos de argón, la lente, la antorcha, la temperatura y aunque el equipo puede realizar

un ajuste automático, es necesario conocer todo esto para determinar las causas de alguna falla y saber cómo eliminar el problema.

## 8. ANEXO

### 8.1 MRC 1547 Peach Leaves



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 ( $^{60}\text{Co}$ ) 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

Element	Concentration, wt. percent		
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

Element	Concentration, µg/g		Element	Concentration, µg/g	
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.

Element	Concentration, wt. percent
*Nitrogen (Kjeldahl)	(2.96)
Sulfur	(0.2)

Element	Concentration, µg/g	Element	Concentration, µg/g
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.

Table 3. Methods and Analytes for Certified Elemental Determinations

<u>Element</u>	<u>Method Code</u>	<u>Element</u>	<u>Method Code</u>
Aluminum	ICP INAA	Mercury	CVAAS RNAA
Arsenic	HGAAS RNAA	Molybdenum	IDICPMS RNAA
Barium	IDICPMS INAA	Nickel	LEIS IDICPMS RNAA
Boron	IDICPMS PGAA	Nitrogen	KJEL PGAA
Cadmium	RNAA IDICPMS	Phosphorus	DCPES ICP
Calcium	IDTIMS INAA	Potassium	IDTIMS INAA
Chlorine	INAA PGAA	Rubidium	DCPES INAA
Copper	POL RNAA	Selenium	HGAAS INAA RNAA
Iron	INAA DCPES	Sodium	FAES INAA
Lead	IDTIMS	Strontium	IDICPMS INAA
Magnesium	IDTIMS INAA FAAS	Vanadium	INAA RNAA
Manganese	LEIS INAA	Zinc	POL INAA

Methods Used for Analysis of SRM 1547:

CVAAS = Cold-Vapor Atomic Absorption Spectrometry  
 DCPES = Direct Current Plasma Emission Spectrometry  
 FAAS = Flame Atomic Absorption Spectrometry  
 FAES = Flame Atomic Emission Spectrometry  
 GFAAS = Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry  
 HGAAS = Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry  
 ICP = Inductively-Coupled Plasma Emission Spectrometry  
 IDICPMS = Isotope Dilution, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry  
 IDTIMS = Isotope Dilution, Thermal Ionization Mass Spectrometry

INAA = Instrumental Neutron Activation Analysis  
KJEL = Kjeldahl Nitrogen Determination

-4-

LEIS= Laser-Enhanced Ionization Spectrometry  
PGAA = Prompt Gamma Activation Analysis  
POL = Polarography  
RNAA = Radiochemical Neutron Activation Analysis

*Analysts, National Institute of Standards and Technology*

I.L. Barnes	P.J. Paulsen
E.S. Beery	K.W. Frett
D.A. Becker	T.A. Rush
D.S. Breverman	G. Sleeter
C.A. Clements	S.F. Stone
R.R. Greenberg	G.C. Turk
L.B. Jassie	T.W. Vetter
H.M. Kingston	R.D. Vocke
J.R. Moody	L.J. Wood
T.J. Murphy	Xu Zhen

Cooperating Analysts

D.L. Anderson, Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC

A.R. Byma, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia

J. Kucera, Nuclear Research Institute, Rez, Czechoslovakia

N. Miller-Ihli, Nutrient Composition Laboratory, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD

B. Smodis, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Yugoslavia

REFERENCE

1. Becker, D.A., Homogeneity and Evaluation of the New NIST Leaf Certified Reference Materials, in Nuclear Analytical Methods in the Life Sciences, R. Zeisler and V.P. Quinn, eds. Clifton, NJ, Humana Press, 1990, 571-577 [Proceedings of the International Conference, "Nuclear Analytical Methods in the Life Sciences", held at NIST, Gaithersburg, MD, April 1989.]

-5-

## 8.2 MRC 1570a Spinach Leaves



National Institute of Standards & Technology

# Certificate of Analysis

Standard Reference Material® 1570a

## Trace Elements in Spinach 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; proximates; calories; and total dietary fiber in botanical materials, agricultural food products, and materials of similar matrix. A unit of SRM 1570a consists of 60 g of finely powdered dried spinach leaves.

**Certified Concentration Values:** The certified concentration values 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 from a method of known accuracy. Analytical methods are provided in Appendix A.

**Reference Concentration Values:** Reference concentration values of constituent elements are provided in Table 2; analytical methods are provided in Appendix A. Reference concentration values for selected proximates and total dietary fiber are provided in Table 3; analytical methods are provided in Appendix B. Reference values are noncertified values that are the best estimates of the true values; however, the values do not meet NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may reflect only measurement precision, may not include all sources of uncertainty, or may reflect a lack of sufficient statistical agreement among multiple analytical methods.

**Information Concentration Values:** Information concentration values for additional constituent elements are provided in Table 4. Information values for carbohydrate, caloric content, fat, and individual fatty acids are provided in Table 5. These are noncertified values with no reported uncertainties as there is insufficient information to assess uncertainties. The information values are given to provide additional characterization of the material. Use of this SRM to quantitatively monitor method performance for analytes other than those with certified or reference concentration values in Tables 1 through 3 is not warranted.

**Expiration of Certification:** The certification of SRM 1570a is valid, within the measurement uncertainty specified, until 31 August 2013, provided the SRM is handled in accordance with the instructions given in this certificate (see "Instructions for Use"). The certification is nullified if the SRM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

**Maintenance of SRM Certification:** NIST will monitor this SRM over the period of its certification. If substantive technical changes occur that affect the certified values before the expiration of this certificate, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

Support aspects involved in the issuance of this SRM were coordinated through the NIST Measurement Services Division.

Stephen A. Wise, Chief  
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899  
Certificate Issue Date: 08 October 2008  
*See Certificate Revision History on Page 6*

Robert L. Watters, Jr., Chief  
Measurement Services Division

Coordination of analytical measurements for the characterization of this SRM was performed by D.A. Becker and K.E. Sharpless of the NIST Analytical Chemistry Division.

Analytical measurements at NIST were performed by E.S. Beary, D.A. Becker, C.M. Beck II, M.S. Epstein, J.D. Fassett, K.M. Garrity, R.R. Greenberg, R.M. Lindstrom, E.A. Mackey, P. Morales, K.E. Murphy, P.J. Paulsen, B.J. Porter, T.A. Rush, R. Saraswati, J.M. Smeller, G.C. Turk, R.D. Vocke, R.L. Watters, Jr., and L.J. Wood. Additional elemental analyses were performed by D.L. Anderson (Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC), A.R. Byrne (Nuclear Chemistry Department, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia), and J. Kucera (Nuclear Physics Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Rez, Czech Republic). Several elements were also measured in an International Atomic Energy Agency (IAEA) interlaboratory comparison exercise. Proximates, calories, fatty acids, and total dietary fiber were determined by Covance Laboratories (Madison, WI), Lancaster Laboratories (Lancaster, PA), Medallion Laboratories (Minneapolis, MN), and Southern Testing and Research Laboratories (Wilson, NC).

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

#### NOTICE AND WARNINGS TO USERS

**Stability:** This material was radiation sterilized at an estimated minimum dose of 27.8 kGy for microbiological control; however, its stability has not been rigorously assessed. Spinach leaves have a tendency to rapidly bleach and to turn a tan or light brown color in the presence of visible light. Based on 15 years experience with the original SRM 1570, there is no evidence documenting any change in elemental concentrations as a result of that color change. However, NIST will monitor this material and will report any substantive changes in certified values to the purchaser.

**Storage:** The material should be kept tightly closed in its original bottle and stored in the dark at a temperature between 10 °C 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.

**Instructions for Use:** The contents of a bottle should be thoroughly mixed by rotating and/or rolling before each use. Allow the contents to settle for 1 minute prior to opening to minimize the loss of fine dust particles. A minimum sample mass of 150 mg of the material, dried as described in the section (see "Instructions for Drying"), should be used to relate analytical determinations to the certified values on 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 taken at the same time, and convert the analytical results to a dry-mass basis.

Digestion procedures should be designed to avoid loss of volatile elements, such as arsenic and mercury. 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 this SRM and should be dissolved with a small amount of hydrofluoric acid to obtain total dissolution. All certified values are based on the total dissolution.

**Instructions for Drying:** Samples of this SRM must be dried by one of the following two procedures in order for certified values to be valid:

1. Drying in a desiccator at room temperature (approximately 22 °C) for 120 h over fresh anhydrous magnesium perchlorate. The sample depth should not exceed 1 cm.
2. Freeze-drying for 24 h 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 1 cm in depth) at -40 °C or lower for at least 1 h. At the end of the 24 h period, samples should be placed immediately in a desiccator with fresh anhydrous magnesium perchlorate. Samples should be weighed after allowing a minimum of 4 h to establish temperature equilibrium.

**Note:** Vacuum drying at room temperature and oven drying at elevated temperatures have resulted in excessive mass losses and therefore are NOT recommended.

**Source and Preparation of Material:** The material (approximately 2270 kg) for this SRM was obtained from commercial supplier Oregon Freeze-Drying Corp., Albany, OR. It consists of U.S. Grade A chopped frozen spinach. The material was thawed, placed in a ribbon mixer, thoroughly mixed, and blended. After mixing, the spinach was freeze-dried. The freeze-dried material was then ground in a stainless steel grinder and shipped to NIST. At NIST, the freeze-dried material was sieved through a polypropylene sieve having openings of 0.25 mm (equivalent to a U.S. Series 60 standard sieve). The sieved material was then jet milled and air classified to a particle size of approximately 75  $\mu\text{m}$  (200 mesh). After mixing in a large blender, the spinach was irradiated with cobalt-60 radiation to a minimum absorbed dose of approximately 27.8 kGy for microbiological control and bottled.

**Homogeneity Assessment:** Samples from randomly selected bottles of SRM 1570a were tested for homogeneity by instrumental neutron activation analysis (INAA). No evidence of statistically significant inhomogeneity was observed.

Table 1. Certified Concentration Values of Constituent Elements <sup>(a,b)</sup>

Element	Mass Fraction (%)
Calcium	1.527 $\pm$ 0.041
Phosphorus	0.518 $\pm$ 0.011
Potassium	2.903 $\pm$ 0.052
Sodium	1.818 $\pm$ 0.043

Element	Mass Fraction (mg/kg)	Element	Mass Fraction (mg/kg)
Aluminum	310 $\pm$ 11	Mercury	0.030 $\pm$ 0.003
Arsenic	0.068 $\pm$ 0.012	Nickel	2.14 $\pm$ 0.10
Boron	37.6 $\pm$ 1.0	Selenium	0.117 $\pm$ 0.009
Cadmium	2.89 $\pm$ 0.07	Strontium	55.6 $\pm$ 0.8
Cobalt	0.39 $\pm$ 0.05	Thorium	0.048 $\pm$ 0.003
Copper	12.2 $\pm$ 0.6	Vanadium	0.57 $\pm$ 0.03
Manganese	75.9 $\pm$ 1.9	Zinc	82 $\pm$ 3

<sup>(a)</sup> The certified concentrations are equally weighted means of results from two or more different analytical methods or the mean of results from a single method of known high 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.

<sup>(b)</sup> These certified values are reported on a dry-mass basis. For certified values to be valid, the material must be dried according to the instructions provided above.

Table 2. Reference Concentration Values of Constituent Elements <sup>(a,b,c)</sup>

Element	Mass Fraction (%)	Element	Mass Fraction (mg/kg)
Nitrogen (Total) <sup>(d)</sup>	6.06 ± 0.20	Rubidium	12.7 ± 1.6
Nitrogen (Organic) <sup>(d)</sup>	6.20 ± 0.25	Uranium	0.155 ± 0.023
Nitrogen (Protein) <sup>(d)</sup>	5.68 ± 0.13		
Element	Mass Fraction (mg/kg)	Element	Mass Fraction (mg/kg)
Europium	0.0055 ± 0.0010		
Scandium	0.0055 ± 0.0006		

- <sup>(a)</sup> NIST has replaced the previously used term "non-certified" with "reference value" or "information value," as appropriate.
- <sup>(b)</sup> Each reference concentration value, expressed as a mass fraction on a dry-mass basis, is an equally weighted mean of results provided by NIST and/or collaborating laboratories. The uncertainty in the reference concentration values is calculated as  $U = k u_c$ . The quantity  $u_c$  is the combined standard uncertainty calculated according to the ISO and NIST Guides [1], which accounts for the combined effect of the within-laboratory variance for all participating laboratories at one standard deviation and bias between methods. The coverage factor,  $k$ , is determined from the Student's  $t$ -distribution corresponding to the appropriate associated degrees of freedom and 95 % confidence for each analyte.
- <sup>(c)</sup> These reference values are reported on a dry-mass basis. In order for these reference values to be valid, the material must be dried according to the instructions provided above.
- <sup>(d)</sup> Data from three methods for the determination of nitrogen have been treated separately. Total nitrogen was determined by prompt gamma activation analysis; "organic" nitrogen was determined by the Dumas method, and "protein" nitrogen was determined by the Kjeldahl method.

Table 3. Reference Concentration Values of Selected Proximates and Total Dietary Fiber <sup>(a)</sup>

Analyte	Mass Fraction, as received (%)	Mass Fraction, dry-mass basis (%) <sup>(b)</sup>
Moisture <sup>(c)</sup>	3.45 ± 0.25	0 (by definition)
Solids <sup>(c)</sup>	96.55 ± 0.25	100 (by definition)
Ash	14.66 ± 0.38	15.18 ± 0.38
Protein <sup>(d)</sup>	35.8 ± 3.0	37.0 ± 3.1
Total dietary fiber	30.5 ± 4.3	31.6 ± 4.4

- <sup>(a)</sup> Each reference concentration value, expressed as a mass fraction on an as-received or dry-mass basis, is an equally weighted mean of results from the laboratories shown in Appendix C. (NIST and one of these laboratories provided results used in value assignment of mass fractions of moisture and solids; see footnote c.) The uncertainty in the reference values is expressed as an expanded uncertainty,  $U$ , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the method described in the ISO and NIST Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as  $U = k u_c$ , where  $u_c$  is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effect of between-laboratory and within-laboratory components of uncertainty. The coverage factor,  $k$ , is determined from the Student's  $t$ -distribution, corresponding to the appropriate associated degrees of freedom and 95 % confidence for each analyte. Analytical methodology information is provided in Appendix B.
- <sup>(b)</sup> Results have been converted to a dry-mass basis using the reference value for solids. Uncertainty in the solids determination has been included in the uncertainties provided for the mass fractions on a dry-mass basis.
- <sup>(c)</sup> Moisture has been determined by NIST (using freeze-drying and desiccation) and one of the collaborating laboratories (using desiccation) as specified in this certificate. Drying in a forced-air or vacuum oven by three laboratories resulted in a moisture value of 6.3 % ± 1.5 %.
- <sup>(d)</sup> The protein concentration was calculated from the nitrogen values reported by the laboratories (two laboratories using the Dumas method, two laboratories using Kjeldahl) using a conversion factor of 6.25. The value for protein is the mean of the individual protein calculations reported by the laboratories shown in Appendix C. If the mean nitrogen values above are used for calculation, the mean protein concentrations are 35.8 % and 37.1 % on an as-received and dry-mass basis, respectively.

Table 4. Information Concentration Values of Constituent Elements<sup>(a)</sup>

Element	Mass Fraction (%)
Magnesium	0.89
Sulfur	0.46
Element	Mass Fraction (mg/kg)
Lead	0.20

<sup>(a)</sup> NIST has replaced the previously used term "non-certified" with "reference value" or "information value," as appropriate.

Table 5. Information Concentration Values of Carbohydrate, Fat, Caloric Content, and Selected Fatty Acids (as Triglycerides)<sup>(a)</sup>

Analyte	Mass Fraction, as received (%)	Mass Fraction, dry-mass basis (%)
Carbohydrate <sup>(b)</sup>	45	46
Fat	2	2
Calories <sup>(b,c)</sup>	340 kcal/100g	350 kcal/100g
Pentadecanoic Acid (C15:0)	0.010	0.011
Hexadecanoic Acid (C16:0) (Palmitic Acid)	0.61	0.64
Heptadecanoic Acid (C17:0) (Margaric Acid)	0.006	0.006
Octadecanoic Acid (C18:0) (Stearic Acid)	0.031	0.032
(Z)-9-Octadecenoic Acid (C18:1) (Oleic Acid)	0.25	0.26
(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic Acid (C18:2) (Linoleic Acid)	0.27	0.28
(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic Acid (C18:3) (Linolenic Acid)	0.63	0.65
Linolenic Acid (C18:3)	0.048	0.050
Docosanoic Acid (C22:0) (Behenic Acid)	0.028	0.029
Tetracosanoic Acid (C24:0) (Lignoceric Acid)	0.044	0.046

<sup>(a)</sup> These information values, reported on an as-received and dry-mass basis, are the equally weighted means of results reported by the collaborating laboratories shown in Appendix C. These values are based on results from determinations by two to four of the laboratories and are included to provide additional characterization of the material; no uncertainties are provided. Analytical methodology information is provided in Appendix B.

<sup>(b)</sup> These information values are calculated from the results reported by one laboratory.

<sup>(c)</sup> If the mean proximate values in Tables 2 and 4 are used for calculation, with caloric equivalents of 9, 4, and 4 for fat, protein, and carbohydrate, respectively, the mean caloric content is 340 kcal/100 g and 350 kcal/100g on an as-received and dry-mass basis, respectively.

## REFERENCE

- [1] ISO; *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, ISBN 92-67-10188-9, 1st ed., International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland (1993); see also Taylor, B.N.; Kuyatt, C.E.; *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*, NIST Technical Note 1297, U.S. Government Printing Office: Washington, DC (1994); available at <http://physics.nist.gov/Pubs/>.

**Certificate Revision History:** 08 October 2008 (Update of expiration date and editorial changes); 31 August 2001 (This technical revision reports the addition of reference and information values for proximates, calories, total dietary fiber, and fatty acids and a change from non-certified to reference and information values for several inorganic constituents); 15 July 1996 (Editorial change); 20 October 1994 (Original certificate date).

*Users of this SRM should ensure that the certificate in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program at: telephone (301) 975-2200; fax (301) 926-4751; e-mail [srminfo@nist.gov](mailto:srminfo@nist.gov); or via the Internet at <http://www.nist.gov/srm>.*

## 9. BIBLIOGRAFIA

---

- 1) Altundag, H., Mustafa T. 2011. Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP – OES. Elsevier Science. Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 2800-2807.
- 2) ATSDR: Toxicological Profile for Lead, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service., Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia 1999a.
- 3) ATSDR: Toxicological Profile for Lead. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 2005c, pág 577.
- 4) Awad, M.A., Jager, A., Westing, L.M., 2000. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. Scientia Horticulturae 83, 249–263.
- 5) Campbell JR, Rosier RN, Novotny L, et al.: The association between environmental lead exposure and bone density in children. Environ Health Perspect 112:1200–1203, 2004.
- 6) Carmouche JJ, Puzas JE, Zhang X, et al.: Lead exposure inhibits fracture healing and is associated with increased chondrogenesis, delay in cartilage mineralization, and a decrease in osteoprogenitor frequency. Environ Health Perspect 749–755, 2005.
- 7) CEPIS/SDE/OPS, 2005. Procedimiento Normalizado de Operación para la Determinación de Trazas de Metales por el Método de Espectrometría de Plasma Inductivamente Acoplado con Detector de Masas.
- 8) CDC: Blood lead levels—United States, 1999–2002. Morb Mortal Wkly Rep (MMWR) 54:513–516, 2005.
- 9) Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten L: Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. J Biol Chem 281:24085–24089, 2006.
- 10) Dietert RR, Lee JE, Hussain I, et al.: Developmental immunotoxicology of lead. Toxicol Appl Pharmacol 198:86–94, 2004.
- 11) EURACHEM. Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. Centro Nacional de Metrología Segunda Edición. 2005

- 12) FAO. 1997. Análisis de minerales y elementos traza en alimentos. [En línea]. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s22.htm#22.1>  
[Último acceso el 22 de septiembre de 2013]
- 13) Food and Drug Administration. FDA. Reported Findings of Low Levels of Lead in Some Food Products Commonly Consumed by Children. 2010. [En línea](Actualizado el 29 de noviembre de 2011). Disponible en:  
<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm233520.htm> [Último acceso el 16 de agosto de 2013]
- 14) Goyer RA: Mechanisms of lead and cadmium nephrotoxicity. *Toxicology Lett* 46:153–162, 1989.
- 15) Goyer RA: Results of lead research: prenatal exposure and neurological consequences. *Environ Health Perspect* 104:1050–1054, 1996.
- 16) Gray, A.L., in *Inorganic Mass Spectrometry*, eds. Adams, F., Gibjels, R., and van Grieken, R., Wiley-Interscience, New York, 1988, pp. 257-300.
- 17) Grzesik- B., E., Jako´bik – K., A. 2007. Leaching of cadmium and lead from dried fruits and fruit teas to infusions and decoctions. Elsevier Science. *Journal of Food Composition and Analysis* 21 (2008) 326–331
- 18) Hakkinen, S., Heinonen, M., Karenlampi, S., Mykkanen, H., Ruuskanen, J., Torronen, R., 1999. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International* 32, 345–353.
- 19) *Handbook of Inductively Coupled Mass Spectrometry*, Jarvis, K.E., Gray, A.L., and Houk, R.S., Blackie, Glasgow and London, 1992.
- 20) IARC: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Inorganic Lead and Organic Lead Compounds*, vol. 87. Lyon, France: IARC, 2006.
- 21) Karmaus W, Brooks KR, Nebe T, et al.: Immune function biomarkers in children exposed to lead and organochlorine compounds: A cross-sectional study. *Environ Health* 4:1–10, 2005.
- 22) Kasprzak KS: Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 958–967, 2002.

- 23)Klaassen CD, Liu J: Induction of metallothionein as an adaptive mechanism affecting the magnitude and progression of toxicological injury. *Environ Health Perspect* 297–300, 1998.
- 24)Leiva – Guzmán, M.A. 2006. Materiales de referencia. Comparaciones interlaboratorios. Herramientas para el control de la calidad en laboratorios de ensayo. Santiago de Chile. Fundación Centro Nacional del Medio Ambiente CENMA. Universidad de Chile.
- 25)Litter, M, Armienta, M., Farías, S. 2009. Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado. En: H. Barros, M.L, Castro de Esparza, M., Wong, V., Mori. Eds. Metodologías analíticas para la determinación y especiación de Arsénico en aguas y suelos. Argentina: CYTED, 113-138.
- 26)Manton WI, Angle CR, Krogstrand KL: Origin of lead in the United States diet. *Environ Sci Technol* 15:8995–9000. 2005
- 27)Marczenko, Z., Separation and Spectrophotometric Determination of Elements, Horwood, Chichester, 1986.
- 28)Perkin Elmer Inc. 2011. The 30-Minute Guide to ICP-MS. (En línea) Disponible en:  
[http://www.perkinelmer.com/pdfs/downloads/tch\\_icpmsthirtyminuteguide.pdf](http://www.perkinelmer.com/pdfs/downloads/tch_icpmsthirtyminuteguide.pdf)  
. (Último acceso el 13 de mayo de 2015).
- 29)Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P., Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology* 56, 3–12, 2000.
- 30)Rodríguez, M y Gallego, A.,1999. Tratado de nutrición. Madrid: Díaz de Santos S.A.
- 31)Silbergeld EK, Schwartz J, Mahaffey K: Lead and osteoporosis: Mobilization of lead from bone in postmenopausal women. *Environ Res* 47:79– 94, 1988.
- 32)Silbergeld EK, Waalkes M, Rice JM: Lead as a carcinogen: Experimental evidence and mechanisms of action. *Am J Ind Med* 38:316–323, 2000.
- 33)Silbergeld EK: Facilitative mechanisms of lead as a carcinogen. *Mutat Res* 533:121–133, 2003.
- 34)Steenland K, Boffetta P: Lead and cancer in humans: Where are we now? *Am J Ind Med* 38:295–299, 2000.

- 35) Vandecasteele, C, Block, C.B. in *Modern Methods for Trace Element Determination*, Wiley & Sons, Chichester, 1993, pp. 68-71.
- 36) Waalkes MP, Diwan BA, Ward JM, et al.: Renal tubular tumors and atypical hyperplasias in B6C3F1 mice exposed to lead acetate during gestation and lactation occur with minimal chronic nephropathy. *Cancer Res* 55:5265–5271, 1995.