



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Determinación de As, Cd, Cu, Hg y Pb en  
músculo e hígado de *Oreochromis niloticus*  
(mojarra Tilapia) mediante ICP-MS**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**María Guadalupe Gutiérrez Hernández.**



**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:**

<b>PRESIDENTE:</b>	<b>Profesor:</b>	<b>Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio</b>
<b>VOCAL:</b>	<b>Profesor:</b>	<b>Olga Del Carmen Velázquez Madrazo</b>
<b>SECRETARIO:</b>	<b>Profesor:</b>	<b>María Elena Castilla Madrigal</b>
<b>1er. SUPLENTE:</b>	<b>Profesor:</b>	<b>Ciro Eliseo Márquez Herrera</b>
<b>2° SUPLENTE:</b>	<b>Profesor:</b>	<b>María Guadalupe Espejel Maya</b>

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio 103, de espectroscopia de absorción atómica ubicado en la División de Estudios de Posgrado, edificio B de la Facultad de Química UNAM

**ASESOR DEL TEMA:**

Dra. Liliana Virginia Raquel Saldívar y Osorio

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

QFB. María Guadalupe Espejel Maya

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:**

María Guadalupe Gutiérrez Hernández

\_\_\_\_\_

## **Agradecimientos:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido una formación integral.

A la Facultad de Química donde me forme profesionalmente y mejore muchas de mis habilidades, donde aprendí aún más a ser persistente y perseverante además, un lugar al que sin duda alguna siempre recordare con mucho cariño.

Al Colegio de Ciencias y Humanidades donde comencé mi formación profesional.

Al jurado asignado, por el tiempo dedicado a la revisión del presente trabajo y las contribuciones hechas al mismo.

## **Agradecimientos especiales.**

A la doctora Liliana Saldívar por todo el apoyo que nos ha brindado a mi familia y a mí, sin duda alguna siempre la recordaremos con mucho cariño.

A mi familia por quererme como soy.

A la Q.F.B. María Guadalupe Espejel Maya, porque todas las ocasiones que tuve la oportunidad de platicar con ella siempre me escuchó y animó.

A la Familia Meza Cruz y Cruz Rosales por apoyarme a la vez que apoyaban a Miguel.

A Damaris, Miriam, Esther y Mari Meléndez, amigas que he conocido a lo largo de toda mi vida que han compartido momentos conmigo y que han confiado en mí, que me han apoyado sin esperar algo a cambio.

A mis amigos de CCH Annel, Bere, Cesar, Christian, Mario, Roberto, Judith, Nayeli, Yami, Grace, Liza, Evelyn, Ricardo, con quienes siempre pase buenos momentos, quienes siempre me animaron y creyeron en mí.

A mis amigos de la FQ Diana, Luz, Oliv, Jhovani, Wilber, Raquel, Jimmy, Monse, Omar, Lalo, amigos que alegraron mi estancia en la facultad, que apoyaron, ayudaron y animaron de diferentes maneras, tanto en forma académica como personal. Muchas gracias a todos ustedes, sin duda alguna sin ustedes nada hubiera sido igual.

**Dedicatorias:**

*A mi madre quien me ha apoyado muchísimo a lo largo de mi vida. Una mujer de la que quiero seguir aprendiendo un sinnfn de cosas. Mi ejemplo de fuerza.*

*A mi padre a quien llevo en mi corazón. Siempre recordare todo el impulso y ánimo que me diste.*

*A mis hermanos Hugo, Cesar y Francisco, porque siempre me apoyaron de una y de mil maneras.*

*A mi esposo Miguel porque siempre me has animado muchísimo muchísimo.*

*A mi pequeña hija Sarahí mi nueva razón de superación.*

## Índice:

1. Introducción	7
2. Objetivos	8
2.1.    Objetivo general	8
2.2.    Objetivos particulares	8
3. Hipótesis	9
4. Marco teórico	10
4.1.    La Presa Requena	10
4.2.    Descripción de <i>Oreochromis</i> (Mojarra Tilapia)	11
4.3.    Arsénico	12
4.3.1. Toxicidad en el organismo	12
4.3.2. Normatividad en productos de pescado fresco	13
4.4.    Cadmio	13
4.4.1. Toxicidad en el organismo	13
4.4.2. Normatividad en productos de pescado fresco	14
4.5.    Cobre	14
4.5.1. Toxicidad en el organismo	15
4.5.2. Normatividad en productos de pescado fresco	15
4.6.    Mercurio	15
4.6.1. Toxicidad en el organismo	16
4.6.2. Normatividad en productos de pescado fresco	17
4.7.    Plomo	17
4.7.1. Toxicidad en el organismo	17
4.7.2. Normatividad en productos de pescado fresco	18
4.8.    Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo	18
4.8.1. Introducción de la muestra	19
4.8.2. Generación de iones. Plasma Acoplado Inductivamente	20
4.8.3. Interface de acondicionamiento del haz de iones	22
4.8.4. Discriminación de iones	24
4.8.5. Sistema de detección	24
4.8.6. Ventajas del ICP-MS	25
4.8.7. Desventajas del ICP-MS	26
4.9.    Parámetros de desempeño analítico	27
4.9.1. Límite de Detección (LoD) y Límite de Cuantificación (LoQ)	27
4.9.2. Intervalo de trabajo e intervalo lineal	28
4.9.3. Exactitud	28
4.9.4. Precisión	29
4.9.5. Recuperación	29
5. Metodología y materiales	30
5.1.    Equipo, reactivos y material	30
5.1.1. Equipo	30

<b>5.1.2.</b>	Reactivos y disoluciones	30
<b>5.1.3.</b>	Material	31
<b>5.2.</b>	Recolección de muestras	31
<b>5.3.</b>	Diagrama experimental	32
<b>5.4.</b>	Lavado de material	33
<b>5.5.</b>	Tratamiento físico	33
<b>5.6.</b>	Tratamiento químico	34
<b>5.6.1.</b>	Material de Referencia Certificado	34
<b>5.6.2.</b>	Músculo	35
<b>5.6.3.</b>	Hígado	35
<b>5.6.4.</b>	Blancos	35
<b>5.7.</b>	Diluciones gravimétricas	35
<b>5.8.</b>	Introducción de disoluciones al equipo	36
<b>5.9.</b>	Analito y estándar interno	37
<b>5.10.</b>	Parámetros de desempeño analítico	37
<b>5.10.1.</b>	Límite de detección (LoD) y Límite de cuantificación (LoQ)	38
<b>5.10.2.</b>	Intervalo lineal y de trabajo	39
<b>5.10.3.</b>	Exactitud y precisión	39
<b>5.11.</b>	Aplicación de la metodología a muestras reales	39
<b>6.</b>	Resultados y discusión	40
<b>6.1.</b>	Biometría general	40
<b>6.2.</b>	Optimización de la condiciones instrumentales	42
<b>6.3.</b>	Elección de isótopos analitos	42
<b>6.4.</b>	Elección de isótopos estándar interno	44
<b>6.5.</b>	Parámetros de desempeño analítico de la metodología	50
<b>6.6.</b>	Límite de detección y límite de cuantificación	50
<b>6.7.</b>	Intervalo lineal	50
<b>6.8.</b>	Intervalo de trabajo	53
<b>6.9.</b>	Aplicación de la metodología a muestras reales	53
<b>6.9.1.</b>	Comparación entre concentraciones de músculo e hígado obtenidas	56
<b>6.9.2.</b>	Comparación entre concentraciones de As, Cd, Cu, Hg y Pb obtenidas	59
<b>6.9.3.</b>	Comparación con Normas Oficiales Mexicanas vigentes	60
<b>6.9.4.</b>	Comparación con artículos nacionales e internacionales	64
<b>7.</b>	Conclusiones	72
<b>8.</b>	Referencias	73

## 1. Introducción

El municipio Tepeji del Río, Hidalgo donde se encuentra la Presa Requena es un importante centro industrial, pero especialmente del ramo textil, cabe mencionar que dicha industria es la que principalmente vierte los desechos directamente a la presa. También es un importante centro de distribución pesquero para consumo local y hasta foráneo, y debido a que en ella se vierten residuos de fábricas textiles y de los fertilizantes probablemente usados para las siembras de avena y maíz a los alrededores de dicho lugar, es importante determinar si existe un posible factor de contaminación.

Los aspectos ambientales relacionados en la industria textil más importantes tienen que ver con la generación de residuos sólidos y con la generación de efluentes líquidos. Estos residuos inciden directamente sobre las formas de vida presentes en la presa, ya que pueden ser absorbidos por los organismos y se pueden presentar procesos biológicos como por ejemplo la bioacumulación y la biomagnificación.

Hasta la fecha se han realizado pocos trabajos relacionados con la posible contaminación en la presa Requena, en un estudio realizado por Gómez y González, en 2006, se encontró que el agua de la presa se encontraba dentro de la denominación de agua de calidad intermedia. Y en las conclusiones de su estudio sugieren un análisis de metales pesados en tejidos de peces, así como análisis microbiológicos del agua, en particular coliformes fecales.

En el presente estudio se cuantificaron las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo ya que son conocidos por sus efectos tóxicos en pequeñas cantidades, sin embargo, aunque el cobre es un metal esencial, también presenta efectos tóxicos en grandes cantidades.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general.

Desarrollar la metodología analítica con Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS).

Cuantificar con esta técnica las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo, presentes en el músculo e hígado de *Oreochromis niloticus*; para, posteriormente, comparar los resultados obtenidos contra la normatividad vigente.

### 2.2. Objetivos particulares.

- Evaluar la metodología analítica desarrollada a través de los siguientes parámetros:
  - Límite de detección (LoD)
  - Límite de cuantificación (LoQ)
  - Intervalo lineal
  - Intervalo de trabajo
  - Exactitud
  - Precisión
- Determinar la concentración de As, Cd, Cu, Hg y Pb presentes en el músculo e hígado de *Oreochromis niloticus*, muestras procedentes de la presa Requena en el estado de Hidalgo.
- Observar si las concentraciones obtenidas de As, Cd, Cu, Hg y Pb, para establecer si rebasan o no los límites establecidos por la normatividad vigente en las muestras.

### **3. Hipótesis**

- La modificación adecuada de las condiciones instrumentales y la correcta elección de isótopos, analito(s) y estándar(es) interno(s), permitirán obtener valores aceptables de precisión y exactitud al realizar las mediciones.
- Las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo obtenidas en músculo serán inferiores a las obtenidas en hígado.
- Para ambos tejidos se encontrarán niveles superiores de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo a los establecidos por la normatividad.

## 4. Marco teórico

### 4.1. Presa Requena

La Presa Requena se sitúa en el estado de Hidalgo, colindando con tres municipios de este mismo estado, al noreste con Atotonilco de Tula, al sur con Tepeji del Río de Ocampo y al noroeste con Tula de Allende. La presa capta las descargas de aguas residuales del municipio de Tepeji del Río y de la actividad industrial del mismo que recaen en la parte oeste. <sup>(2)</sup> En la figura 1 se muestra la ubicación de dicha presa.



**Figura 1.** La Presa Requena <sup>(30)</sup>

#### 4.2. Descripción de *Oreochromis sp.*

La Tilapia (*Oreochromis sp.*) es un pez nativo de África cuyo cultivo se inició en 1820. De este continente se ha extendido a gran parte del mundo, siendo considerada la tercera especie más cultivada después de las carpas y los salmónidos. La Tilapia se encuentra representada aproximadamente por 100 especies, muchas de ellas han sido introducidas en diversos países del mundo. Esta especie es resistente a enfermedades, se reproduce con facilidad, consume una gran variedad de alimentos y tolera agua con bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Comúnmente, es cultivada en estanques, jaulas y arrozales inundados. La mayoría de las especies de Tilapia pueden crecer en agua dulce y algunas se adaptan al agua de mar, donde pueden alcanzar un peso de unos 3 kg, siendo que el peso comercial es de 230 g en promedio. Todas estas características hacen que la Tilapia sea una especie de cultivo apta en la mayoría de los países en vías de desarrollo.

En México en el año 1964, la Dirección General de Pesca, del entonces Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras (hoy Instituto Nacional de la Pesca), introdujo a la Tilapia procedente de Auburn, Alabama, EUA. La cual fue depositada en la estación piscícola de Temascal, Oaxaca <sup>(11)</sup>. Las especies que se incluyeron en aquel tiempo fueron *T. aurea*, *T. melanopleura* y *T. mossambica*. Posteriormente, en 1978, se introdujo la *T. nilotica*. En 1981, se introduce una variedad de Tilapia roja, esta especie se originó como resultado de las siguientes cruces:

a) *O. mossambicus* y *O. niloticus* en Taiwán y

b) *T. mossambica* y *T. urolepishornorum* provenientes de Florida, EUA.

En 1986, llegó a México la Tilapia nilotica roja procedente de la Universidad de Stirling en Inglaterra, con dos variedades, negra y roja, depositándose en Zacatepec, Morelos <sup>(9)</sup>.

### **4.3. Arsénico**

El arsénico es un elemento que se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre formando minerales. Tiene una abundancia aproximada de 5 partes por millón (ppm) en masa. El arsénico existe en varias formas alotrópicas: La forma amarilla o  $\alpha$ , negra o  $\beta$  y la forma metálica.

El arsénico puede ser liberado al ambiente por la actividad volcánica, la erosión de depósitos minerales y las actividades humanas. México es uno de los principales productores de As, con cerca del 20% de la producción mundial.

El arsénico se utiliza en la fabricación de pigmentos, vidrio y ciertos medicamentos. Algunos compuestos se emplean como pesticidas y defoliantes. El arsénico de alta pureza (al 99.999%) se emplea en electrónica en conjunto con el galio y el talio, para producir diodos, lasers y detectores de infrarrojo. Un gran número de derivados del ácido fenil arsénico tienen propiedades biocidas, bactericidas y farmacéuticas.

#### **4.3.1. Toxicidad en el organismo**

La toxicidad del As depende completamente del estado de oxidación en el que se encuentre y el grado de metilación de la especie. La reacción debida al arsénico dependerá de la especie con la que se tenga contacto, el modo de administración y del metabolismo individual. Cuando se ingiere As (V), es procesado en el hígado, reducido a arsenito y metilado. Algunos compuestos como la arsenocolina no son transformados y se excretan en la misma forma por lo que no alteran al organismo.

Como ha sido expuesto, el arsénico ocasiona estragos a la salud desde muy bajas concentraciones, por lo que es necesario monitorear su concentración para prevenir cualquier problema a la salud humana.

### **4.3.2. Normatividad en productos de pescado fresco**

El límite máximo permitido para productos de pescado frescos refrigerados y congelados en México es de 80 mg/kg según la NOM-242-SSA1-2009.

## **4.4. Cadmio**

El cadmio es un elemento relativamente raro, se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre en una concentración promedio de 0.1 mg/kg.

La mayoría del cadmio industrial se obtiene como subproducto del refinado de los minerales de zinc y, en menor medida, también del refinado de cobre y plomo. Las condiciones ambientales, como la erosión, causan el transporte de cantidades importantes de cadmio a los ríos y de ellos a los océanos, cuyo contenido de este metal es alrededor de 0.1 mg/kg. Los sedimentos oceánicos cercanos a las áreas de alta actividad humana pueden contener concentraciones muy elevadas de cadmio, asociadas con la descarga de desechos biológicos. Aunque su presencia natural es baja, su prolongada vida media ( $t_{1/2}$  de 10-30 años) y capacidad de bioacumulación lo hacen un importante agente de contaminación ambiental <sup>(1)</sup>.

### **4.4.1. Toxicidad en el organismo**

La absorción de cadmio ocurre generalmente a través de dos vías: la primera de ellas es la oral y la segunda es la respiratoria. La oral por ingestión de agua y alimentos que contengan el metal y representa aproximadamente el 5% del total del cadmio absorbido en el organismo. Esta proporción depende de la ingestión de proteínas y presencia de vitamina D y de algunos factores nutricionales del individuo. En condiciones normales la concentración de cadmio en los alimentos y el agua es baja y la mayor parte queda retenida en la mucosa intestinal, y es eliminada posteriormente. Sin embargo cuando la dosis oral de cadmio es elevada se sobrepasa la capacidad que puede ser retenida y el metal libre atraviesa la mucosa hasta llegar a la circulación

sanguínea. La segunda vía en importancia para la absorción de este metal, como se mencionó es la respiratoria. En este caso la absorción depende del tamaño de las partículas y de su composición química, la concentración del metal en el aire y la retención de las partículas en los pulmones<sup>(1)</sup>.

#### **4.4.2. Normatividad en productos de pescado fresco.**

El límite máximo permitidos para productos de pescado frescos refrigerados y congelados en México es de 0.5 mg/kg según la NOM-242-SSA1-2009 para cadmio.

#### **4.5. Cobre**

La concentración promedio del cobre en la corteza terrestre es aproximadamente 50 partes de cobre por millón de partes de suelo (ppm). El cobre también ocurre naturalmente en todas las plantas y animales. En bajas concentraciones en la dieta es un elemento esencial para todos los organismos, incluyendo a los seres humanos y otros animales. A niveles mucho más altos pueden ocurrir efectos negativos.

El cobre metálico puede ser moldeado fácilmente. Puede ser utilizado en la producción de cables eléctricos y en algunas cañerías de agua. También se encuentra en muchas aleaciones, como por ejemplo latón y bronce. Existen muchos compuestos de cobre. El compuesto de cobre que se usa más comúnmente es el sulfato de cobre. Muchos compuestos de cobre pueden ser reconocidos por su color azul-verdoso.

Los compuestos de cobre se usan comúnmente en agricultura para tratar enfermedades de las plantas, por ejemplo hongos, o para el tratamiento de aguas y como preservativo para madera, cuero y telas.<sup>(27)</sup>

#### **4.5.1. Toxicidad en el organismo**

El cobre debe ser absorbido en pequeñas cantidades diariamente debido a que es esencial para la salud. Los niveles altos de este metal pueden ser dañinos. La inhalación de niveles altos puede producir irritación de la nariz y la garganta. La ingestión de niveles altos de cobre puede producir náusea, vómitos y diarrea. Cantidades muy altas de cobre pueden dañar el hígado y los riñones y pueden aun causar la muerte.

El cobre es importante en el proceso biológico de transferencia de electrones y es vital para la síntesis de células rojas en la sangre y ayuda al mantenimiento de la estructura del sistema nervioso y sus funciones. Una deficiencia de cobre en adultos puede resultar en desórdenes de la sangre y el sistema nervioso.

#### **4.5.2. Normatividad en productos de pescado fresco**

La ingesta diaria sugerida de cobre en México según la NOM-051-SCFI/SSA1.2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasadoses de 650 µg/día.

#### **4.6. Mercurio**

Las propiedades toxicológicas del mercurio y sus derivados dependen fundamentalmente de su forma química. Puede existir en tres de estas: mercurio elemental, compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos. El mercurio elemental, o metálico, puede evaporarse a temperatura ambiente y generar vapores de mercurio. Las sales inorgánicas de mercurio existen en dos estados de oxidación: mercúricas ( $\text{Hg}^{2+}$ ) y mercurosas ( $\text{Hg}^1$ ). El mercurio puede biotransformarse, principalmente en ambientes acuáticos, para formar derivados organometálicos de alta toxicidad, como el metilmercurio.

En el medio aéreo, el Hg puede existir en diversas formas químicas, ya sea en forma gaseosa o adherido a partículas que provienen de emanaciones naturales o antropogénicas del suelo y los océanos. A su vez parte del metal que se encuentra en el aire pasa al suelo y los depósitos acuíferos por precipitación y solubilización, lo que aumenta la concentración del Hg en estos ambientes. En la atmósfera, el ozono ( $O^3$ ) oxida el  $Hg^0$  a  $Hg^{2+}$ , el cual puede hidrolizarse y/o formar complejos; en los sedimentos, el  $Hg^{2+}$  puede metilarse y formar metilmercurio (MeHg), el cual puede ser asimilado más fácilmente por los organismos. El Hg, ya sea gaseoso o en forma de partículas, puede ser depositado hasta 100 – 180 km de distancia de la fuente de emisión, ya sea en los sedimentos, o bien, en los depósitos de agua, en donde es captado por los peces e incorporado a la cadena trófica. En el agua, el Hg se encuentra principalmente en forma inorgánica, la cual puede pasar a compuestos orgánicos por acción de los microorganismos presentes en los sedimentos. De éstos, puede pasar al plancton, algas y, sucesivamente a los organismos de niveles tróficos superiores como los peces. En los suelos, el Hg se encuentra principalmente en forma inorgánica, puede formar parte de la materia orgánica y ser incorporado a las plantas por absorción a través de las raíces.

#### **4.6.1. Toxicidad en el organismo**

La absorción más común del mercurio se da por vía respiratoria, los vapores de mercurio se absorben a través de las membranas alveolares, de donde pasan al torrente sanguíneo. Una vez en el torrente sanguíneo, el Hg puede ser oxidado por los glóbulos rojos al catión divalente o transportado a otros tejidos, en donde es oxidado. La permeabilidad del mercurio orgánico es alta, llegando a ser la absorción de Hg en esta forma hasta de un 95% de la dosis ingerida. La absorción gastrointestinal de sales de mercurio a partir de los alimentos es de aproximadamente el 20% del Hg ingerido <sup>(1)</sup>.

#### **4.6.2. Normatividad en productos de pescado fresco**

El límite máximo permitido para productos de pescado frescos refrigerados y congelados en México según la NOM-242-SSA1-2009 es de 1 mg/kg.

#### **4.7. Plomo**

El plomo es un constituyente natural del suelo y del polvo; es un contaminante permanente, por lo tanto, es indestructible y no puede ser transformado a forma inocua. El plomo se encuentra muy extendido en la naturaleza, tanto por ser un elemento natural, como por las emisiones antropogénicas derivadas de sus usos. Su presencia en los seres vivos se debe a que las plantas lo absorben a través de la raíz y a su vez las especies animales lo hacen para alimentarse de aquéllas.

Por sí mismo, el plomo metálico no representa ningún problema ambiental o de salud: éste comienza cuando se disuelve y pasa a su forma iónica.

La mayor fuente de plomo para el agua de bebida es causada por las tuberías y las uniones de plomo, sin embargo desde la década de los 90's se ha disminuido notablemente su uso. Si el agua es poco ácida o muy suave, el plomo se disuelve y pasa a su forma iónica; por esto, se puede liberar gran cantidad de plomo de las tuberías, sobre todo si la descarga permanece estancada en ellas, aún el agua estancada por corto tiempo en una tubería de cobre-plomo puede llegar a tener hasta 100 mg Pb/L. Por otra parte las concentraciones normales de plomo en un suelo no contaminado están entre las 10 y las 50 ppm.

##### **4.7.1. Toxicidad en el organismo**

El plomo es biodisponible en todas sus formas químicas. Debido al contacto con el ácido gástrico, aun el plomo metálico puede pasar a su forma iónica al ingerirse. La absorción de plomo a partir

de fuentes ambientales no depende sólo de la concentración de plomo, sino de su estado físico y químico y de factores dependientes del receptor, como edad, estado fisiológico y nutricional.

La vía respiratoria es la vía de entrada más importante para el plomo, el cual penetra al organismo por inhalación de vapores, humo y partículas de polvo que lo contenga.

La segunda vía más importante de entrada de plomo al organismo es la vía oral. La absorción por esta vía no sólo depende del compuesto, sino de otros factores tales como el ayuno, el vaciado gástrico, la motilidad gastrointestinal, el pH gástrico, la interacción del compuesto con otros componentes del tracto y de factores dietéticos como falta de hierro o calcio en la dieta.

#### **4.7.2. Normatividad en productos de pescado fresco.**

El límite máximo permitido para productos de pescado frescos refrigerados y congelados en México según la NOM-242-SSA1-2009 es de 0.5 mg/kg.

#### **4.8. Espectrometría de Masas con fuente de Ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo**

Desde principios de los años ochenta, la espectrometría de Masas-Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) se ha desarrollado hasta convertirse en una de las técnicas más importantes para el análisis elemental, debido a sus bajos límites de detección para la mayoría de los elementos, su alto grado de selectividad, su razonable buena precisión y exactitud así como su capacidad de análisis multielemental. <sup>(12)</sup>

Los límites de detección alcanzados para el ICP-MS son mucho más bajos que los de otras técnicas analíticas convencionales como la fluorescencia de rayos x, espectrometría de emisión o absorción atómica, etc.

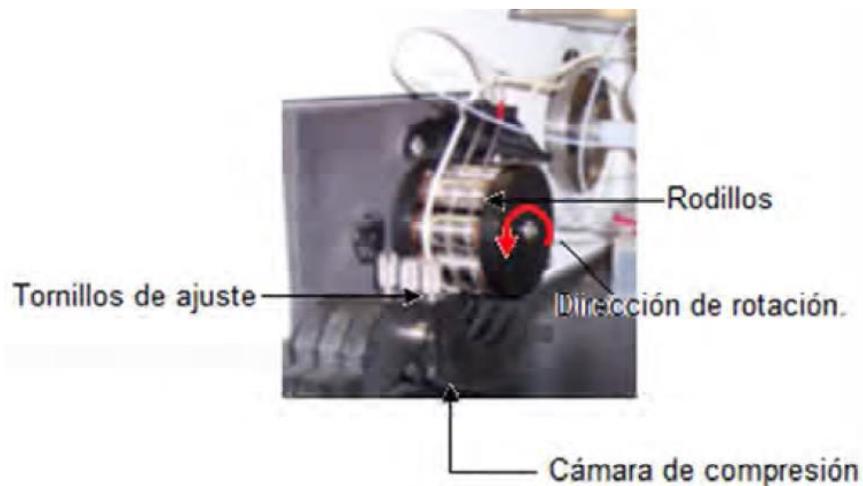
Las aplicaciones incluyen el análisis de muestras geológicas, biológicas, metalúrgicas, petroquímicas, suelos y sedimentos así como muestras forenses. <sup>(14)</sup>

Para describir con mayor facilidad un ICP-MS, se puede dividir el sistema en cinco partes

- Introducción de muestras
- Generación de iones (Plasma). Plasma Acoplado Inductivamente.
- Interfase de acondicionamiento del haz de iones.
- Discriminador de iones (cuadrupolo).
- Sistema de detección.

#### 4.8.1. Introducción de muestras.

La técnica de ICP-MS se utiliza principalmente para la determinación de concentraciones de elementos traza en los sólidos inorgánicos y líquidos. La muestra acuosa, que en general es ligeramente acidulada, se introduce por un capilar, mediante una bomba peristáltica, dicha bomba se ilustra en la figura 4.



**Figura 4.** Bomba Peristáltica <sup>(10)</sup>.

El propósito de la bomba peristáltica integrada es compensar las diferencias en la velocidad de absorción de la muestra. Debido a la diferente viscosidad que ésta presenta regula la velocidad de absorción de la misma mediante la variación de la velocidad de los rodillos y garantiza un caudal constante de dicha muestra líquida al nebulizador.

La muestra entra al nebulizador a través del tubo capilar y se ve forzado a pasar a través de la punta de éste, al mismo tiempo que el argón ingresa para producir pequeñas gotas de niebla, "spray". Estas gotitas luego viajan en la cámara de nebulización que está unida al nebulizador.

La cámara de nebulización separa las gotas de aerosol de la muestra. Las gotas grandes son conducidas a un drenaje por gravedad y por el impacto con la pared de la cámara de nebulización. Sólo alrededor del 1% de las gotitas se transportan a través de un pequeño tubo de inyección en la antorcha del ICP. El tubo inyector es parte del sistema estándar. Está construido de alúmina, pero opcionalmente puede ser de cuarzo. Las gotas de aerosol de muestra a continuación pasan a través de una región de la antorcha.

#### **4.8.2. Generación de iones. Plasma Inductivamente Acoplado.**

El plasma inductivamente acoplado alcanza temperaturas de 6000 a 10 000 K. La elevada temperatura, la estabilidad y el entorno inerte de Ar, eliminan gran parte de las interferencias que se encuentran en llamas de combustión. Los plasmas se usan casi exclusivamente en emisión, porque la temperatura es lo bastante alta para excitar a la mayoría de los átomos.

El plasma inductivamente acoplado tiene la finalidad de deshidratar la muestra, atomizarla (romper su estructura molecular), excitar los átomos presentes y por último ionizarlos; esto se logra gracias a las temperaturas que alcanzan este tipo de plasmas.

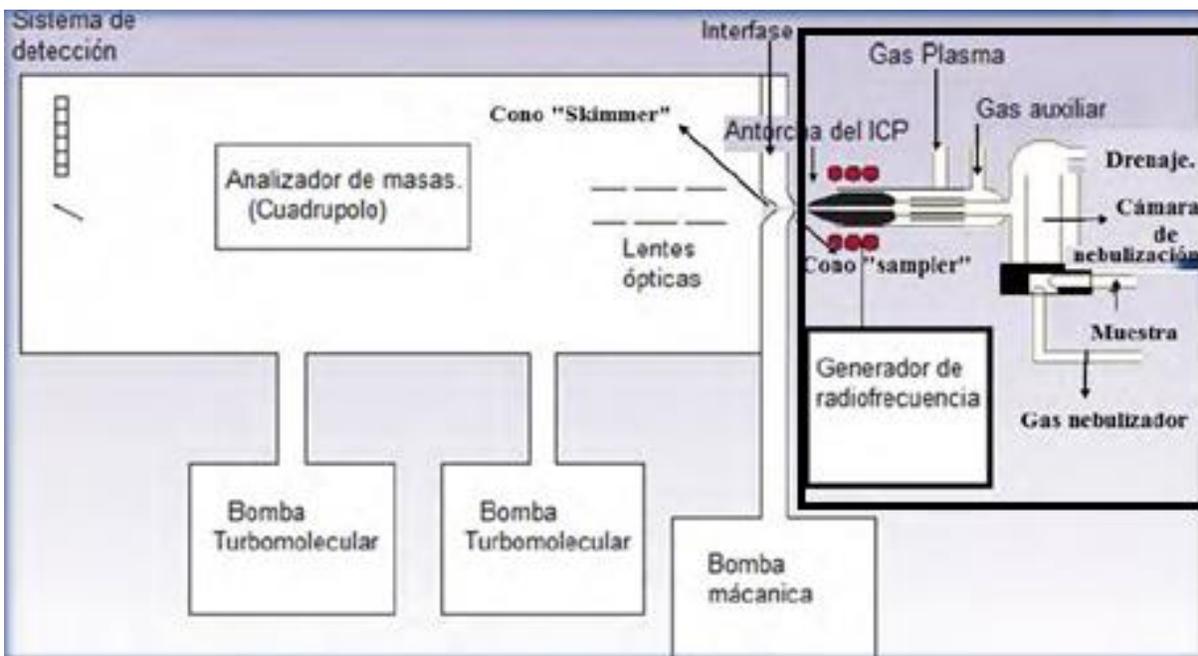
Cuando se utiliza un gas como el argón para obtener un plasma, se necesita una fuente de energía externa en forma de campo electromagnético para ionizar los átomos del gas y así crear y

mantener el plasma. Cuando el plasma está encendido, se observa una luminosidad azulada proveniente de los átomos de Ar en su continua excitación-des-excitación.

Los plasmas inductivamente acoplados se obtienen cuando se aplica una corriente de radiofrecuencia (RF) a través de una bobina. De esta forma, el campo electromagnético oscilante dentro de ésta es el encargado de suministrar energía a los iones.

Dentro de la bobina, se encuentra un dispositivo de cuarzo llamado antorcha donde se forma el plasma. La antorcha consta de dos tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluye el argón a diferentes velocidades.

El tubo exterior está rodeado por la bobina de carga de RF. La alimentación de la bobina está acoplada al plasma por inducción eléctrica. En la figura 5 se muestra el sistema de introducción de muestras y antorcha del equipo. <sup>(10)</sup>



**Figura 5.** Antorcha y sistema de introducción de muestras <sup>(10)</sup>.

### 4.8.3. Interface de acondicionamiento del haz de iones.

En la figura 6 se muestra el equipo ICP-MS utilizado, éste presenta una dificultad fundamental en la introducción de iones (generados en el plasma) dentro del sistema: requiere que el espectrómetro de masas trabaje en condiciones de alto vacío, mientras que el ICP opera a presión atmosférica.



**Figura 6.** ICP-MS Spectrometer ELAN DRC-E, Axial Field Technology, Perkin Elmer SCIEX <sup>(10)</sup>.

Debido a los requisitos de presiones diferentes, el equipo incluye una región de interfase que transfiere los iones de plasma al espectrómetro de masas a través de varias reducciones de la presión por pasos.

La interfase contiene dos conos, el cono de muestreo “sampler” y el cono “skimmer” dichos conos se ilustran en la figura 7. El cono de muestreo es un cono truncado con un orificio central. El diámetro del orificio es de 1.1mm. El plasma se dirige hacia el cono de muestreo, el cual aísla

los gases que se desplazan a través de la porción central del plasma, permitiendo que solamente los gases que son más ricos en iones de la muestra entren a la región de la interfase. La mayor parte del gas de plasma de argón es rechazada en el cono de muestra y se retira por una bomba de vacío.



**Figura 7.** Conos de níquel “sampler” y “skimmer” <sup>(10)</sup>.

Los iones restantes pasan a través de un cono secundario, el cono de “skimmer” el cual tiene un orificio de diámetro de 0.9mm. Esta acción de nuevo restringe el flujo de gas y sólo pasa la parte central del flujo procedente del plasma.

La región detrás del cono “skimmer” es bombeada por una bomba de vacío turbo molecular, y se mantiene a una presión de aproximadamente  $8 \times 4^{-10}$  Torr. Esta zona puede aislarse de las presiones más altas.

Después de pasar la región de interfase a través del cono “skimmer”, la corriente de iones de la muestra se enfoca por una lente de iones. La función de la lente es enfocar los iones cargados a través de un cilindro con un campo eléctrico controlado cuidadosamente. Los iones se dirigen y centran en la celda de reacción dinámica (CR) en la que se lleva a cabo la modificación química del haz de iones, para eliminar las interferencias el haz de iones pasa entonces al cuadrupolo, siguiendo así con la discriminación de los iones <sup>(10)</sup>.

#### 4.8.4. Discriminador de iones.

El espectrómetro utilizado cuenta básicamente con un cuadrupolo electromagnético (también puede ser un hexapolo o un octupolo), que consiste en 4 barras metálicas montadas de forma equidistante entre ellas alrededor de una circunferencia y sometidas a una combinación de corrientes continuas (DC) y alternas (RF), estas últimas en el intervalo de las radiofrecuencias. Se aplica una combinación de potenciales RF/DC a los pares de las barras del cuadrupolo, de forma que las barras diagonales tienen el mismo potencial, pero las barras adyacentes están a  $180^\circ$  en cuanto a la componente alterna. Con los voltajes DC y RF se consigue atraer y repeler a los iones de tal manera que su trayectoria dentro del cuadrupolo se altera, generando así fluctuaciones en el plano perpendicular al eje principal de movimiento. Debido a esto, los iones de una específica relación  $m/z$  (masa / carga) pasan a través del analizador y alcanzan el detector. <sup>(8)</sup>

Una de las principales ventajas de este sistema, es que los valores de los potenciales directo y alterno pueden ser modificados en tiempos muy cortos (milisegundos). De esta forma se puede seleccionar una determinada relación  $m/z$ , recolectar los isótopos ionizados que logren atravesar hasta el detector y luego modificar los parámetros para seleccionar rápida y secuencialmente otra masa. <sup>(6)</sup>

#### 4.8.5. Sistema de detección.

El detector que se utiliza generalmente es un multiplicador de electrones (*channeltrone-multiplier*). Este tipo de detectores funciona por el mismo principio que el tubo fotomultiplicador, pero con iones. El detector está constituido por una serie de dinodos conectados a potenciales cada vez mayores conforme se va recorriendo de uno al siguiente. Una vez que los iones pasan el cuadrupolo, son atraídos por el alto voltaje aplicado al interior del detector; cuando un ion colisiona con la superficie (interior) del primer dinodo, se emiten electrones secundarios que son atraídos por la siguiente diferencia de potencial y así sucesivamente. Por cada etapa, se generan cada vez más electrones secundarios ya que se produce un efecto en cascada. La amplificación

que logra este tipo de detectores llega hasta 10<sup>8</sup> (cargas eléctricas elementales) por cada ion en la entrada.

El hecho de disponer de factores de amplificación elevados es conveniente ya que se traduce en altos niveles de sensibilidad, el detector cuenta con dos modos de detección, un contador de pulsos propiamente dicho y un integrador de señales que funciona sólo para altas tasas de recuento. Este circuito integrador produce señales menos estables pero cuando se utiliza con señales suficientemente intensas los resultados son satisfactorios.

El sistema de ICP-MS puede medir simultáneamente la mayoría de los elementos del sistema periódico <sup>(23)</sup>.

#### **4.8.6. Ventajas del ICP-MS**

- Límites de detección muy bajos (LoDI ~ ng/L)
- Elevada capacidad de procesamiento de muestras
- Posibilidad de acoplamiento con otras técnicas como cromatografía líquida o cromatografía de gases.
- Técnica multielemental: posibilidad de medir varios elementos durante la misma medición de un amplio rango de masa entre <sup>6</sup>Li y <sup>238</sup>U.
- Posibilidad de obtener información isotópica.
- Amplio rango lineal (más de nueve órdenes de magnitud).<sup>(27)</sup>

#### 4.8.7. Desventajas del ICP-MS

Algunas veces se presentan serios problemas de interferencias en la espectrometría de masas atómica, que se pueden clasificar en cuatro grupos: solapamientos isobáricos, interferencias poliatómicas, óxidos refractarios e iones doblemente cargados <sup>(12)</sup>.

- Solapamientos isobáricos: Son causados por isótopos de otros elementos que tienen masas muy cercanas con una diferencia de aproximadamente 0.005 m/z. Este problema se disminuye utilizando ecuaciones de corrección incluidas en el software del equipo o bien reportadas en la literatura.
- Interferencias poliatómicas: Se producen por las reacciones entre la matriz de la muestra, los componentes del plasma de argón, el aire del medio y el agua. Para minimizar este tipo de interferencias en los últimos años se han introducido nuevas tecnologías, como el método de plasma frío, la tecnología de la celda de colisión (CCT), la celda de reacción dinámica ICP-MS (ICP-DRC-MS), entre otras.
- Óxidos refractarios: Estas especies se forman a causa del oxígeno y el agua, al entrar en contacto con el plasma y a su vez se forman óxidos con los componentes del mismo y con la matriz de la muestra. Se pueden formar  $MO^+$ ,  $MO^{2+}$  y  $MO^{3+}$  pero se pueden eliminar al controlar la potencia para la RF y el flujo del gas nebulizador.
- Iones doblemente cargados: La mayoría de los elementos químicos que se pueden analizar mediante ICP-MS sólo se ionizan a grado de oxidación  $1^+$  sin embargo, hay elementos que alcanzan su segunda energía de ionización por debajo de la primera energía de ionización del plasma, formando iones de carga  $2^+$ . La formación de estas especies se minimiza al controlar el flujo del gas nebulizador. A flujos bajos, la temperatura aumenta desplazando el equilibrio hacia la formación de iones de carga  $2^+$ .

Además de las interferencias de tipo espectral mencionadas anteriormente, existen las interferencias no espectrales como son los efectos de la matriz. Estos efectos suelen causar una reducción en la señal del analito, aunque en ciertas condiciones experimentales se observa un aumento de dicha señal. El efecto de la matriz es bastante general produciéndose a elevadas concentraciones de casi cualquier elemento contaminante. Por lo general, dichos efectos se pueden minimizar utilizando disoluciones más diluidas, modificando el proceso de introducción de la muestra o separando las especies que lo provocan. También pueden ser compensados de forma significativa utilizando un estándar interno apropiado, es decir, introduciendo un elemento estándar interno que tenga aproximadamente la misma masa y potencial de ionización que el analito, y que además no esté presente de forma significativa en la matriz a analizar <sup>(12)</sup>.

#### **4.9. Parámetros de desempeño analítico**

Los siguientes parámetros dan información acerca de la calidad del método analítico.

##### **4.9.1. Límite de detección (LoD) y Límite de cuantificación (LoQ).**

En términos generales, el límite de detección (LoD) de un analito se puede describir como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento (*b*) significativamente diferente de la señal del blanco. Aun no existe un acuerdo total entre investigadores, editores y asociaciones profesionales sobre este punto. Sin embargo, va en aumento la tendencia a definir el límite de detección como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, (*b*), más tres veces la desviación estándar del blanco, (*s*), como lo señala la ecuación 1. <sup>(4)</sup>

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

Es preciso insistir de nuevo que esta definición de límite de detección es muy arbitraria, y está totalmente abierta a cualquier analista para que proponga una definición alternativa para un propósito concreto.

Se han realizado algunos intentos para definir con posterioridad otro límite, el “límite de cuantificación” (LoQ), el cual es considerado como el límite inferior para medidas cuantitativas precisas. En la ecuación 2 se muestra un valor de LoQ sugerido para este límite, si bien no se utiliza profusamente.

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

#### 4.9.2. Intervalo de trabajo e intervalo lineal.

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito, sobre los cuales el método puede aplicarse, esto se refiere al intervalo de concentraciones, 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 limitaciones 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.

#### 4.9.3. Exactitud

La exactitud es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. Se determina mediante el porcentaje de error relativo, el cual debe ser menor que  $\pm 20\%$ <sup>(4)</sup>. El porcentaje de error relativo se obtiene con la ecuación 3, donde el valor aceptado como verdadero es el valor de referencia.

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

#### 4.9.4. Precisión.

La precisión es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas <sup>(24)</sup>. Se determina mediante el porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) y el método será preciso si el %RSD ≤ 20 %<sup>(4)</sup>. El %RSD se calcula con la ecuación 4, donde “DESVEST” es la desviación estándar de los resultados y “x” es el promedio de los resultados.

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

Ecuación 4

#### 4.9.5. Recuperación.

Debido a que usualmente no se conoce la cantidad de un analito, 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 cuantificación es realizar estudios de recuperación sobre materiales de referencia adecuados. En esta investigación los materiales de referencia empleados fueron DORM-4 (proteína de pescado) y DOLT-4 (hígado de cazón). <sup>(27)</sup>

## 5. Metodología y materiales.

### 5.1. Equipo, reactivos y materiales

#### 5.1.1. Equipo

- Espectrómetro de Masas ICP-MS, Modelo ELAN DRC-E, Perkin Elmer.
- Equipo de digestión vía húmeda en sistema cerrado, Milestone Microwave Laboratory Systems, MLS 1200 Mega.
- Balanza analítica, Sartorius modelo BP 221s.
- Estufa Heraeus modelo RB 360.
- Desionizador Barnstead Subron Corporation.

#### 5.1.2. Reactivos y soluciones

- $\text{HNO}_3$  (concentrado) ultrex II , J.T Baker
- $\text{HNO}_3$  (Grado R.A.) al 30% (V/V) J.T Baker
- $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) ultrex II , J.T Baker
- Disoluciones de estándares (High Purity) de As, Cd, Cu, Hg, Pb, Bi, Ga, Ge, Ru y Tl de 1000  $\mu\text{g/L}$
- Disolución daily. Smart tune solution Std. ELAN & DRC-e al 1%  $\text{HNO}_3$  de 10  $\mu\text{g/L}$  Ba, Be, Ce, Co, In, Mg, Pb, Rh y U. Perkin Elmer Pure, Atomic Spectrometry Standard.
- Disolución estándar multielemental (As, Cd, Cu, Hg y Pb) de 10  $\text{mg/L}$  y 0.2  $\text{mg/L}$ .
- Disolución de estándares internos (Bi, Ga, Ge, Ru y Tl) de 10  $\text{mg/L}$  y 0.2  $\text{mg/L}$ .
- Gas argón grado ultra alta pureza (99.999%)
- DORM-4 (proteína de pescado)
- DOLT-4 (hígado de cazón)
- Adquiridos en el National Research Council of Canada

### 5.1.3. Material

- Espátula con cubierta de teflón.
- Cuchillo de cerámica.
- Charolas de polietileno.
- Papel filtro Whatman No.42.
- Recipientes de polietileno de 10, 25, 50 y 100 mL.
- Matraces aforados de 10, 25 y 50 mL y 1L.
- Cajas de Petri.
- Bolsas de polietileno.
- Pipetas volumétricas de 1 y 5 mL.
- Morteros de cerámica.
- Micropipetas (20-200  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L y 500-5000  $\mu$ L).

### 5.2. Recolección de muestras

En el mes de junio de 2014 se realizó la recolección de 30 individuos de *Oreochromis niloticus*, procedentes de La Presa Requena situada en el estado de Hidalgo.

Se transportaron las muestras al laboratorio manteniéndolas a una temperatura baja (aproximadamente 4 °C). Una vez que se llevaron las muestras al laboratorio, se almacenaron en congelación en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas, para su posterior tratamiento.

### 5.3. Diagrama experimental

A continuación en la figura 8 se presenta el diagrama experimental que se llevó a cabo.

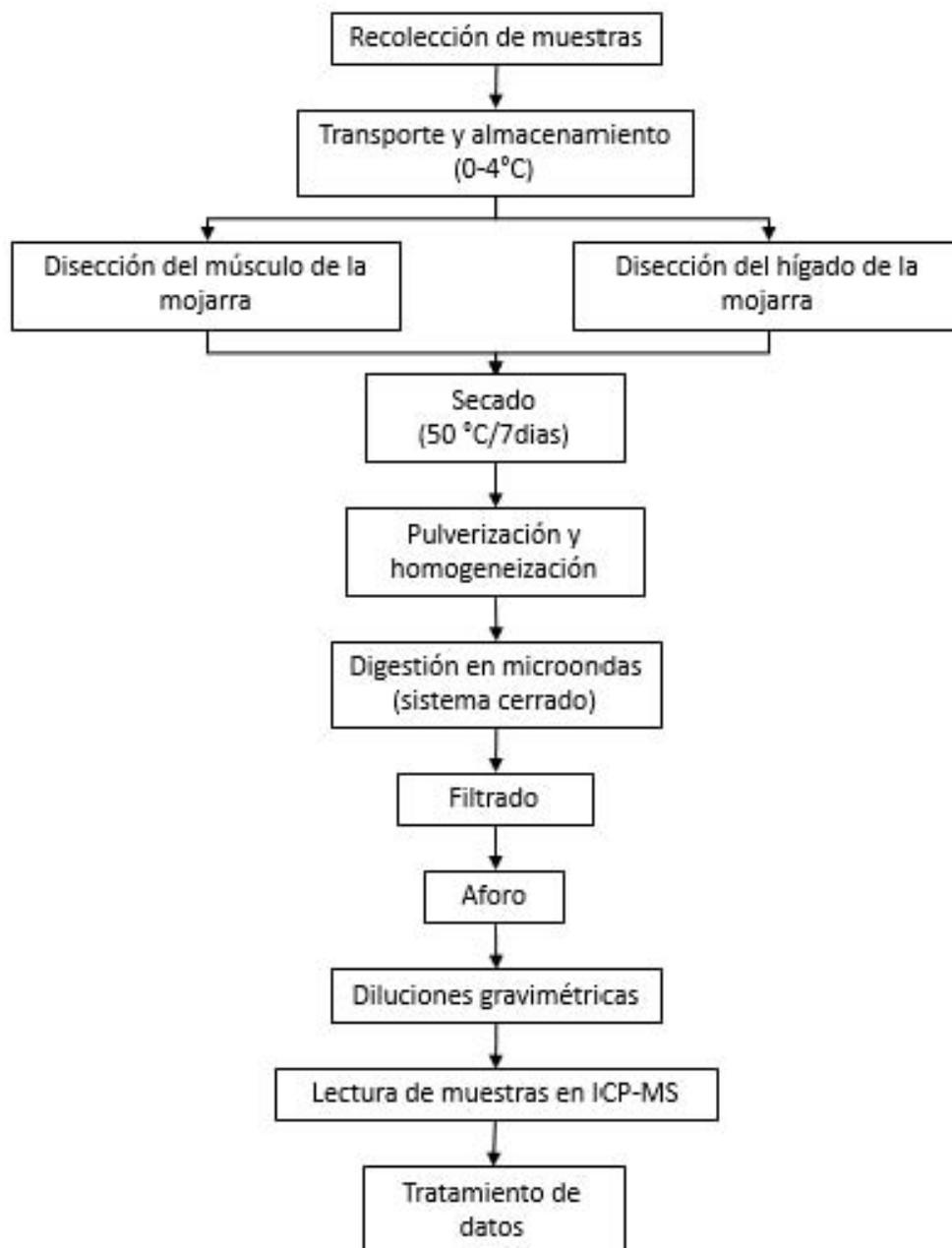


Figura 8. Diagrama experimental.

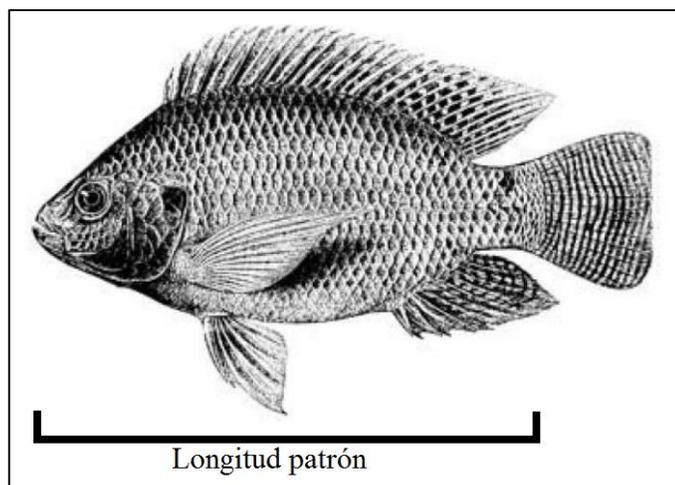
#### 5.4. Lavado de material

Previo a la manipulación física de las muestras, es de gran importancia el adecuado lavado del material, ya que se estima que los metales a analizar se encuentran a nivel de trazas, por lo que todo material que estuvo en contacto directo con las muestras, materiales de referencia certificados y blancos se lavó de acuerdo al siguiente procedimiento <sup>(13)</sup>:

- Enjuagar con agua de la llave.
- Introducir en solución detergente Hyclin (10% v/v) por 8 horas.
- Enjuagar con agua de la llave.
- Introducir a una solución de HNO<sub>3</sub> (30 % v/v) grado reactivo, por 8 horas.
- Enjuagar 10 veces con agua desionizada.
- Dejar secar a temperatura ambiente en un lugar limpio.
- Almacenar en bolsas de polietileno en un lugar limpio.

#### 5.5. Tratamiento físico

El tratamiento físico de las muestras se realizó después del lavado del material. Se registró el sexo, peso y longitud patrón de cada individuo. La longitud patrón se muestra en la figura 9. Después se procedió a realizar la disección del músculo e hígado con cuchillo de porcelana, conservando cada uno en congelación en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas.



**Figura 9.** Longitud patrón <sup>(7)</sup>

Posteriormente, se secaron las muestras de músculo e hígado en vidrios de reloj debidamente etiquetados, en estufa a temperatura de 50°C durante 7 días. Cuando las muestras de tejido alcanzaron un peso constante se llevó a cabo un proceso de pulverización y homogeneización de los tejidos en mortero de porcelana, se almacenaron en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas dentro de un desecador a temperatura ambiente.

## 5.6. Tratamiento químico

### 5.6.1. Material de Referencia Certificado

De cada material de referencia certificado se tomó 1g y se sometió a predigestión ácida con 2mL HNO<sub>3</sub> (ULTREX II) durante una hora, posteriormente se agregó 1mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ULTREX II) durante una hora, después de este tratamiento se colocaron las muestras dentro del horno de microondas para la digestión húmeda. Se empleó el programa de digestión propuesto en la bibliografía del equipo de microondas Milestone MLS 1200 Mega, descrito en la tabla 6 seleccionado con base en la literatura <sup>(2)</sup>. Seguido de 10 minutos de ventilación dentro del equipo.

**Tabla 1.** Programa de digestión empleado.

Paso	Potencia (W)	Tiempo (min)
1	250	1
2	0	2
3	250	5
4	400	10

Se enfriaron las muestras a temperatura ambiente por un tiempo de 20 minutos, después de haber sido digeridas.

Posteriormente se filtraron las muestras con papel Whatman No. 42 en matraces aforados de 10mL, el filtrado se aforó con agua desionizada y se guardaron en recipientes de polietileno debidamente etiquetados en refrigeración, para su posterior tratamiento.

### **5.6.2. Músculo**

De este tejido se tomaron 0.5g y al igual que el material de referencia se sometieron al procedimiento antes descrito.

### **5.6.3. Hígado**

De hígado se tomó la muestra completa, puesto que ésta era de muy poco peso, con valores que variaban desde 0.09g a 0.5g y se sometieron a una predigestión ácida con 1mL HNO<sub>3</sub> (ULTREX II) durante una hora, posteriormente se agregó 1mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ULTREX II) durante una hora, después de este tratamiento se colocaron las muestras dentro del horno de microondas para la digestión siguiendo el procedimiento antes descrito para el material de referencia.

### **5.6.4. Blancos**

Para todos los casos (MRC, músculo e hígado) los respectivos blancos se prepararon con HNO<sub>3</sub> (ULTREX II) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ULTREX II) en las mismas cantidades y condiciones que las muestras, colocándolas en el mismo carrusel del horno de microondas.

## **5.7. Diluciones gravimétricas**

El propósito de diluir las muestras fue con la finalidad de disminuir las interferencias de matriz y de asegurar que la concentración de los analitos en materiales de referencia certificados y muestras se encontrara dentro del intervalo lineal.

Se diluyó gravimétricamente y no volumétricamente con la finalidad de tener menos fuentes de error. Las muestras y blancos se diluyeron gravimétricamente 1:2, 1:10 y 1:100 como lo indica la Tabla 2.

**Tabla 2.** Preparación de diluciones gravimétricas.

Dilución	Muestra (g)	Estándar interno (g) (30 µg/L)	Agua desionizada (g)	Masa total (g)
1:2	5	1.5	3.5	10
1:10	1	1.5	7.5	10
1:100	0.5	0.15	49.35	50

### 5.8. Introducción de disoluciones al equipo

El procedimiento de introducción de muestras al equipo ICP-MS, consistió primeramente en prender el equipo, esperar media hora para la estabilización del plasma, posteriormente se introdujo la solución “daily”, para verificar que las condiciones de trabajo fueran las adecuadas.

- Cuentas por segundo (cps): de acuerdo con la información proporcionada por el manual del equipo deben obtenerse los siguientes valores al analizar la disolución “daily”, que se emplea para verificar que las cps sean adecuadas para masas bajas (Mg), medias (In) y masas altas (U):

Mg > 5000 cps

In > 25000 cps

U > 20000 cps

- % Óxidos: se calcula como el cociente de las cps obtenidas para CeO entre las obtenidas para el Ce. Se elige la especie CeO porque es la especie más refractaria, lo que significa que si logramos un porcentaje bajo de la misma entonces cualquiera otra especie que se encuentre como óxido será disociada con seguridad. El criterio es obtener un % de óxidos < 3%.

- % De especies doblemente cargadas: se calcula como el cociente de las cps obtenidas para Ba<sup>++</sup> entre las obtenidas para el Ba. Se elige la especie Ba<sup>++</sup> porque es la que tiene la segunda energía de ionización más baja, lo que significa que si logramos un porcentaje bajo de la misma entonces cualquiera otra especie doblemente cargada no se presentará. El criterio es obtener un % de especies doblemente cargadas < 3%.

Se analizaron 3 flujos distintos de gas nebulizador, los cuales se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3.** Modificación del flujo del gas nebulizador. 0.76

<b>Flujo del gas nebulizador (L/min)</b>		<b>0.72</b>	<b>0.76</b>	<b>0.81</b>
Cuentas por segundo (cps)	Mg	3978.986	7659.467	18565.374
	In	19765.324	27096.653	42620.717
	U	15634.987	23455.093	39876.658
%RSD	Mg	1.3	1.5	2.3
	In	0.9	0.8	2.5
	U	0.5	0.6	2.4
%Óxidos		3.1	2.7	1.7
%Especies doblemente cargadas		3.4	3.7	3.1

Después se introdujeron los estándares para obtener la curva de calibración y finalmente las muestras correspondientes comenzando con los blancos, luego las muestras más diluidas hasta las muestras más concentradas. <sup>(11)</sup>

### **5.9. Analito y estándar interno.**

Las parejas de isótopo analito/isótopo estándar interno elegidas fueron aquellas que dieron los mejores resultados de exactitud y precisión en los materiales de referencia certificados.

### **5.10. Parámetros de desempeño analítico.**

Una vez elegidas las condiciones instrumentales adecuadas y los analitos con sus respectivos estándares internos, se procedió a determinar los parámetros de desempeño analíticos con la

finalidad de identificar las limitaciones del método y los factores que pueden cambiar los resultados y así verificar que la metodología es apropiada para los analitos de estudio <sup>(4)</sup>.

Los parámetros de desempeño del método que fueron evaluados son los siguientes:

#### **5.10.1. Límite de detección (LoD) y Límite de cuantificación (LoQ).**

Para obtener el LoD se siguió el siguiente procedimiento:

- Se analizaron 10 blancos de calibración independientes.
- Se obtuvieron las concentraciones en  $\mu\text{g/L}$  para arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo.
- Se obtuvo el promedio ( $b$ ) y la desviación estándar ( $s$ ) de las mediciones.
- Se sustituyeron los datos en la ecuación 1.

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

Ecuación 1

Por otra parte para obtener el LoQ, se siguió el siguiente procedimiento:

- Se analizaron 10 blancos de calibración independientes.
- Se obtuvieron las concentraciones en  $\mu\text{g/L}$  para arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo.
- Se obtuvo el promedio ( $b$ ) y la desviación estándar ( $s$ ) de las mediciones.
- Se sustituyeron los datos en la ecuación 2.

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

Ecuación 2

### **5.10.2. Intervalo lineal y de trabajo.**

Para obtener el intervalo lineal y de trabajo se preparó la curva de calibración con concentraciones que iban de 1 a 60  $\mu\text{g/L}$  de: As, Cd, Cu, Hg y Pb incluyendo sus respectivos blancos de calibración (0  $\mu\text{g/L}$ ).

Todos los puntos de la curva fueron preparados gravimétricamente de la siguiente manera: Intervalo [1-150  $\mu\text{g/L}$ ] estándar de As, Cd, Cu, Hg y Pb+ El (Bi, Ga, Ge, Ru y Tl) [30  $\mu\text{g/L}$ ] + 20 mL  $\text{HNO}_3$  1 % v/v y se llevaron a 50 g con agua desionizada.

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

### **5.10.3. Exactitud y precisión.**

La exactitud y precisión se obtuvieron al analizar los dos Materiales de Referencia Certificados mencionados en el punto 4.1.4., dichos materiales fueron analizados por triplicado ( $n=3$ ) realizando los cálculos indicados en los puntos 3.9.4 y 3.9.5.

### **5.11. Aplicación de la metodología a muestras reales.**

Una vez establecidos los parámetros de desempeño de la metodología, se procedió a aplicar la misma a las muestras reales procedentes de la Presa Requena, Hidalgo, un total de 30 muestras, 7 se analizaron por triplicado y el resto fueron muestras únicas.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Biometría general

En la tabla 4 se muestran los pesos y longitudes patrón registrados para machos <sup>(7)</sup>. En la tabla 5 se encuentran los datos recopilados para hembras.

**Tabla 4.** Longitud patrón y peso de machos

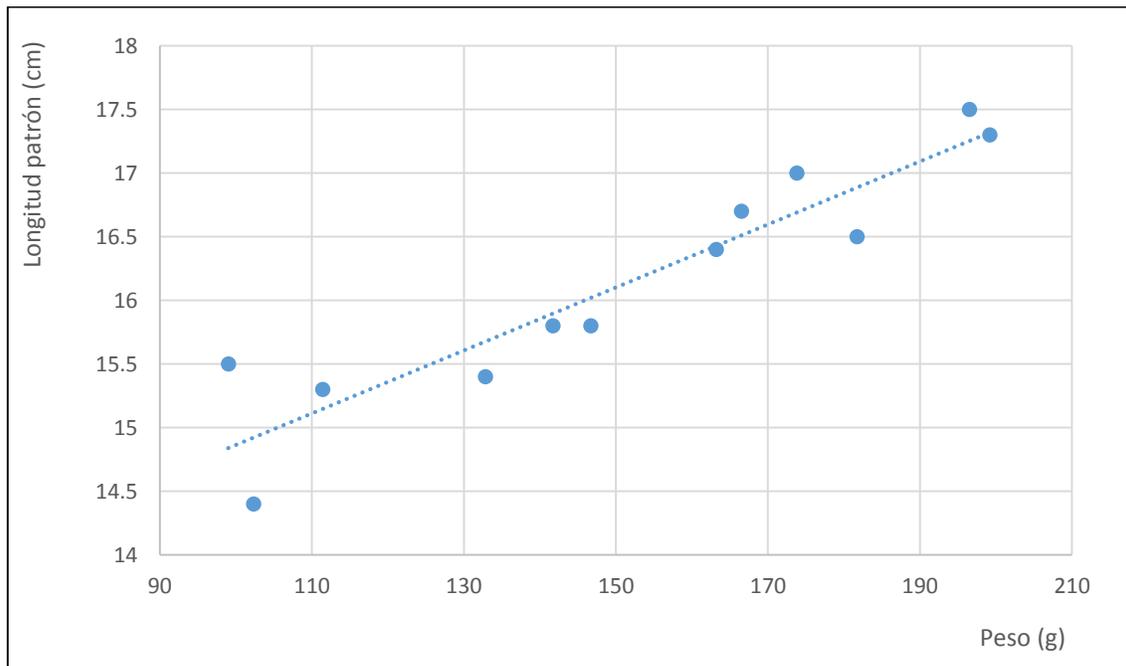
Muestra	Peso (g)	Longitud patrón (cm)
Máximo	172.1	17.5
Mínimo	116	14.3
Promedio	148.3	16.0

**Tabla 5.** Longitud patrón y peso de hembras

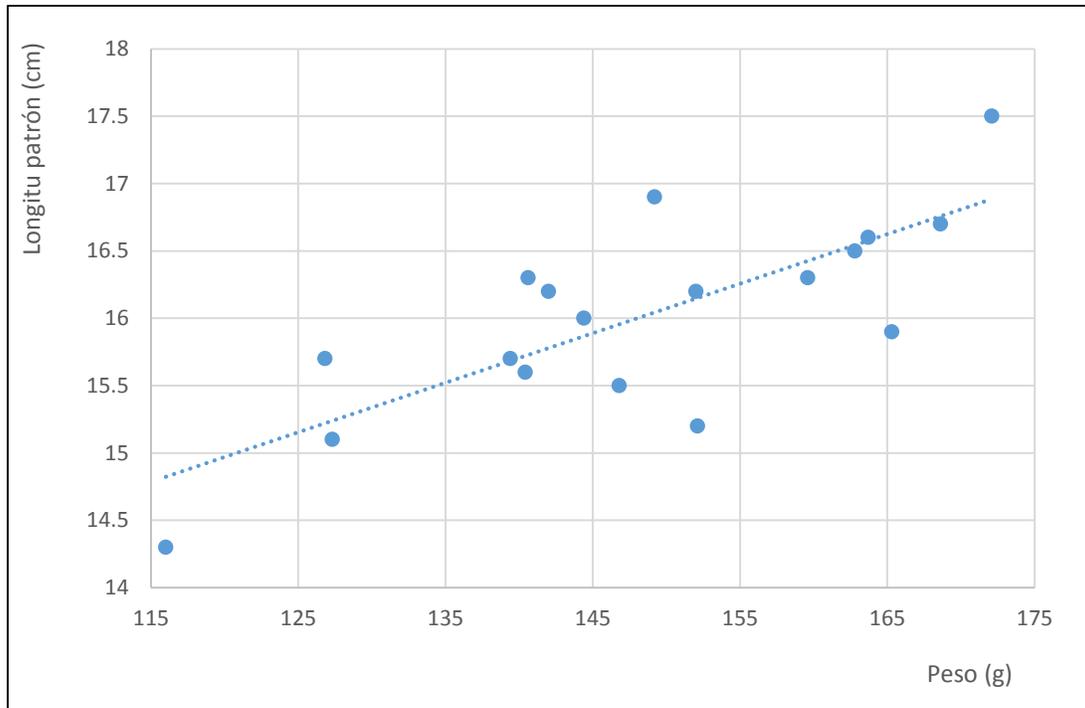
Muestra	Peso (g)	Longitud patrón (cm)
Máximo	199.2	17.5
Mínimo	99	14.4
Promedio	151.2	16.1

En los gráficos 1 y 2 se puede observar la relación longitud patrón contra peso para machos y hembras.

**Gráfico 1.** Relación longitud patrón vs peso para hembras



**Gráfico 2.** Relación longitud patrón vs peso para machos.



Es evidente que no existe una correlación, pero de manera general se puede notar relación entre longitud patrón vs peso, que refleja una tendencia positiva (a mayor peso, mayor longitud). Esta tendencia es notable tanto para machos como para hembras. También se puede observar que \*las hembras son de mayor peso que los machos sin embargo, para llegar a un mejor resultado hubiera sido deseable encontrar un número equivalente de machos y de hembras.

\*La dispersión de peso en las hembras es mayor que en los machos, sin embargo la media de hembras es mayor que la media de los machos. El mayor peso correspondió a una hembra.

## 6.2. Optimización de las condiciones instrumentales

En la tabla 6, se muestran las condiciones elegidas para trabajar los materiales de referencia certificados y las muestras.

**Tabla 6.** Condiciones finales elegidas para la determinación.

Parámetro	Valor/descripción
Flujo del gas nebulizador	0.76 L/min
Flujo del gas auxiliar	1.2 L/min
Flujo del gas plasmógeno	13.5 L/min
Potencia de radiofrecuencia del ICP	1100 W
Voltaje de lentes iónicas	6 V
Nebulizador	Flujo cruzado
Conos discriminador y de muestreo	Níquel
Número de réplicas	3

## 6.3. Elección de isótopos analitos.

Los analitos se seleccionan tomando en cuenta cuáles son los más abundantes y también por el menor número de interferencias que presentan. En la tabla 7 se menciona la abundancia natural para los isótopos analito propuestos sus interferencias poliatómicas e isobáricas y la abundancia natural de las interferencias isobáricas presentes.

**Tabla 7.** Interferencias isobáricas y poliatómicas para los isótopos analitos.

Isótopo analito	Abundancia natural (%)	Interferencias Poliatómicas	Interferencias isobáricas	Abundancia natural (%)
<sup>75</sup> As	100	<sup>40</sup> Ar <sup>35</sup> Cl, <sup>40</sup> Ca <sup>35</sup> Cl		
<sup>111</sup> Cd	12.80			
<sup>112</sup> Cd	24.13		<sup>112</sup> Sn	0.97
<sup>114</sup> Cd	28.73	<sup>98</sup> Mo <sup>16</sup> O, <sup>98</sup> Mo(OH)	<sup>114</sup> Sn	0.65
<sup>63</sup> Cu	69.17			
<sup>65</sup> Cu	30.83			
<sup>200</sup> Hg	23.1			
<sup>201</sup> Hg	13.18			
<sup>202</sup> Hg	29.86	<sup>186</sup> W <sup>16</sup> O		
<sup>206</sup> Pb	24.1			
<sup>207</sup> Pb	22.1			
<sup>208</sup> Pb	52.4	<sup>192</sup> W <sup>16</sup> O		

Los estándares internos se eligen con base en las características de los analitos de interés, por lo tanto se seleccionan elementos con unidades de masa atómica similares a las que poseen los analitos, cabe mencionar que es sólo una suposición que se hace con base en los conceptos teóricos, sin embargo es imprescindible realizar el experimento para encontrar la pareja más adecuada. Se cuantificaron los analitos y se probaron los estándares internos mostrados en la tabla 8.

**Tabla 8.** Isótopos analitos y estándares internos propuestos

Isótopo analito propuesto	Isótopo estándar interno propuesto
<sup>75</sup> As	<sup>69</sup> Ga, <sup>71</sup> Ga, <sup>72</sup> Ge
<sup>111</sup> Cd, <sup>112</sup> Cd, <sup>114</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru, <sup>205</sup> Tl, <sup>209</sup> Bi
<sup>63</sup> Cu, <sup>65</sup> Cu	<sup>69</sup> Ga, <sup>74</sup> Ge, <sup>102</sup> Ru
<sup>200</sup> Hg, <sup>201</sup> Hg, <sup>202</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl, <sup>209</sup> Bi, <sup>102</sup> Ru
<sup>206</sup> Pb, <sup>207</sup> Pb, <sup>208</sup> Pb	<sup>102</sup> Ru, <sup>205</sup> Tl, <sup>209</sup> Bi

Es necesario utilizar materiales de referencia para evaluar la precisión y exactitud y dar veracidad a la metodología. En la Tabla 9 se muestran las concentraciones de los analitos reportadas en los MRC.

**Tabla 9.** Concentraciones de As, Cd, Cu, Hg y Pb reportadas en MRC.

Analito	DORM-4 (mg/kg) (proteína de pescado)	DOLT-4(mg/kg) (hígado de cazón)
As	6.80 ± 0.64	9.66 ± 0.62
Cd	0.306 ± 0.015	24.3 ± 0.80
Cu	15.9 ± 0.90	31.2 ± 1.10
Hg	0.410 ± 0.055	2.58 ± 0.22
Pb	0.416 ± 0.053	0.16 ± 0.04

#### 6.4. Elección de isótopos estándar interno.

En las siguientes tablas (10 – 19) se muestran los resultados obtenidos para los materiales de referencia, aparecen sombreados los analitos y estándares internos que dieron los mejores resultados. Podemos observar también que los porcentajes de recuperación fueron buenos.

**Tabla 10.** Resultados para As en DORM-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>75</sup> As	<sup>69</sup> Ga	-29.36	1.5	6.8		
	<sup>71</sup> Ga	-19.02	1.3		5.51	81.03
	<sup>72</sup> Ge	20.2	0.7			

**Tabla 11.** Resultados para As en DOLT-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>75</sup> As	<sup>69</sup> Ga	3.76	3.5	9.66		
	<sup>71</sup> Ga	-5.8	3		9.37	97.00
	<sup>72</sup> Ge	-3.02	4			

Para el MRC DORM-4 (tabla 10) el mejor resultado en exactitud (-19.02%) y precisión (1.3%) se obtuvo con el analito <sup>75</sup>As con el estándar interno <sup>71</sup>Ga aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%. Respecto al MRC DOLT-4 (tabla 11) Puede notarse que el mejor resultado en exactitud (3.02%) y precisión (4%) se obtuvo con el analito <sup>75</sup>As con el estándar interno <sup>72</sup>Ge aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%.

**Tabla 12.** Resultados para Cd en DORM-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>111</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	0.1	4.6	0.306		
	<sup>209</sup> Bi	3.0	1.9			
	<sup>205</sup> Tl	-5.1	3.5			
<sup>112</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	-1.4	4.6			
	<sup>209</sup> Bi	-0.4	2.1			
	<sup>205</sup> Tl	-7.6	3.8			
<sup>114</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	11.5	9.9		0.34	111.11
	<sup>209</sup> Bi	12.6	1.1			
	<sup>205</sup> Tl	-3.2	4.0			

**Tabla 13.** Resultados para Cd en DOLT-4

Isótopo a34fnalito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>111</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	-13.7	3.0	24.3		
	<sup>209</sup> Bi	-17.6	3.0			
	<sup>205</sup> Tl	-25.4	3.9			
<sup>112</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	-12.4	2.7			
	<sup>209</sup> Bi	-18.1	2.8			
	<sup>205</sup> Tl	-25.1	4.0			
<sup>114</sup> Cd	<sup>102</sup> Ru	-8.7	2.6		22.2	91.36
	<sup>209</sup> Bi	-13.6	2.4			
	<sup>205</sup> Tl	-21.8	3.2			

Referente al MRC DORM-4 (Tabla 12) el mejor resultado en exactitud (-3.2%) y precisión (4%) se obtuvo con el analito <sup>114</sup>Cd con el estándar interno <sup>205</sup>Tl aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%. Respecto al MRC DOLT-4 (Tabla 13.) Puede notarse que el mejor resultado en exactitud (-8.7%) y precisión (2.6%) se obtuvo con el analito <sup>114</sup>Cd con el estándar interno <sup>102</sup>Ru aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%.

**Tabla 14.** Resultados para Cu en DORM-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>63</sup> Cu	<sup>74</sup> Ge	-20.3	4.4	15.9		
	<sup>69</sup> Ga	-57.7	3.7			
	<sup>102</sup> Ru	-10.6	4.4			
<sup>65</sup> Cu	<sup>74</sup> Ge	-17.3	1.7		14.8	93.08
	<sup>69</sup> Ga	-56.6	2.1			
	<sup>102</sup> Ru	-7.00	2.7			

**Tabla 15.** Resultados para Cu en DOLT-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>63</sup> Cu	<sup>74</sup> Ge	-24.2	1.7	31.2		
	<sup>69</sup> Ga	-28	2.7			
	<sup>102</sup> Ru	-18.3	2.3			
<sup>65</sup> Cu	<sup>74</sup> Ge	-18.8	4.1		27.3	87.5
	<sup>69</sup> Ga	-27.3	2.5			
	<sup>102</sup> Ru	-12.40	4.80			

En cuanto al MRC DORM-4 (Tabla 14) se obtuvieron los mejores resultados de exactitud (-7%) y precisión (2.7%) se obtuvo con el analito <sup>65</sup>Cu con el estándar interno <sup>102</sup>Ru, para el MRC DOLT-4 (Tabla 15.) se puede ver que los mejores resultados en exactitud (-12.40%) y precisión (4.8%) con la misma pareja de analito estándar interno, y aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%.

**Tabla 16.** Resultados para Hg en DORM-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>200</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-12.11	5.4	0.41		
	<sup>209</sup> Bi	-3.23	4.2		0.4	97.56
	<sup>102</sup> Ru	-4.58	7.3			
<sup>201</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-17.42	3.6			
	<sup>209</sup> Bi	-10.33	2.7			
	<sup>102</sup> Ru	-10.31	6.90			
<sup>202</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-13.93	4.4			
	<sup>209</sup> Bi	-7.57	3.6			
	<sup>102</sup> Ru	-4.54	2.2			

**Tabla 17.** Resultados para Hg en DOLT-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>200</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-19.93	4.4	2.58		
	<sup>209</sup> Bi	-11.08	2.6			
	<sup>102</sup> Ru	-6.11	2.3		2.44	94.57
<sup>201</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-21.41	3.5			
	<sup>209</sup> Bi	-13.68	1.7			
	<sup>102</sup> Ru	-7.48	1.40			
<sup>202</sup> Hg	<sup>205</sup> Tl	-20.31	3.2			
	<sup>209</sup> Bi	-13.26	1.4			
	<sup>102</sup> Ru	-9.28	1.1			

En relación al MRC DORM-4 (Tabla 16) puede notarse que el mejor resultado en exactitud (3.23%) y precisión (4.2%) se obtuvo con el analito <sup>200</sup>Hg con el estándar interno <sup>209</sup>Bi aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%. Respecto al MRC DOLT-4 (Tabla 17.) puede notarse que el mejor resultado en exactitud (-6.11%) y precisión (2.3%) se obtuvo con el analito <sup>200</sup>Hg con el estándar interno <sup>102</sup>Ru aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%.

**Tabla 18.** Resultados para Pb en DORM-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>206</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-20.23	15.1	0.416	0.35	84.13
	<sup>209</sup> Bi	-13.39				
	<sup>102</sup> Ru	-15.31	10.3			
<sup>207</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-22.41	18.2			
	<sup>209</sup> Bi	-15.78				
	<sup>102</sup> Ru	-17.13	12.90			
<sup>208</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-21.81	15			
	<sup>209</sup> Bi	-11.98				
	<sup>102</sup> Ru	-16.6	9.7			

**Tabla 19.** Resultados para Pb en DOLT-4

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<sup>206</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-29.72	53.7	0.16	0.13	81.25
	<sup>209</sup> Bi	-23.2				
	<sup>102</sup> Ru	-17.11	10.6			
<sup>207</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-35.21	59.5			
	<sup>209</sup> Bi	-29.06				
	<sup>102</sup> Ru	-21.29	50.00			
<sup>208</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl	-33.67	54.6			
	<sup>209</sup> Bi	-28.21				
	<sup>102</sup> Ru	-19.5	50.4			

Finalmente respecto al MRC DORM-4 (Tabla 18) se obtuvieron los mejores resultados de exactitud (-15.31%) y precisión (10.3%) se obtuvo con el analito <sup>206</sup>Pb con el estándar interno <sup>102</sup>Ru para el MRC DOLT-4 (Tabla 19) se obtuvieron los mejores resultados en exactitud (-17.11%) y precisión (10.6%), con la misma pareja de analito estándar interno, y aunque no haya sido el mejor en cuanto a precisión, el resultado se considera como aceptable debido a que es menor al 20%

Las parejas de isótopo analito/estándar interno elegidos fueron el  $^{75}\text{As}/^{71}\text{Ga}$  y  $^{75}\text{As}/^{72}\text{Ge}$ , para DORM-4 y DOLT-4 respectivamente;  $^{114}\text{Cd}/^{205}\text{Tl}$  y  $^{114}\text{Cd}/^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4 respectivamente;  $^{65}\text{Cu}/^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4;  $^{200}\text{Hg}/^{209}\text{Bi}$  y  $^{200}\text{Hg}/^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4 respectivamente;  $^{206}\text{Pb}/^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4; debido a que mostraron los mejores resultados de exactitud y precisión. En la tabla 20 se hace una recopilación del isótopo analito con el estándar interno con el que se obtuvieron los mejores resultados, así como sus respectivos resultados de exactitud, precisión, valor reportado en MRC, concentración experimental y % de recuperación para DORM-4 Y DOLT-4.

**Tabla 20.** Parejas isótopo analito estándar interno con los cuales se obtuvieron los mejores resultados para DORM-4 y DOLT-4.

Isótopo analito	Isótopo estándar interno	% Error relativo (Exactitud)	% RSD (Precisión)	Valor reportado en MRC (mg/kg)	Concentración experimental (mg/kg)	% Recuperación
<b>DORM-4</b>						
$^{75}\text{As}$	$^{72}\text{Ge}$	-19.02	1.3	6.8	5.51	81.029
$^{65}\text{Cu}$	$^{102}\text{Ru}$	-7.00	27.00	15.9	14.8	93.08
$^{200}\text{Hg}$	$^{209}\text{Bi}$	-3.23	4.2	0.41	0.4	97.56
$^{206}\text{Pb}$	$^{102}\text{Ru}$	-15.31	10.3	0.416	0.35	84.13
<b>DOLT-4</b>						
$^{75}\text{As}$	$^{72}\text{Ge}$	-3.02	4	9.66	9.37	97.00
$^{65}\text{Cu}$	$^{102}\text{Ru}$	-12.40	4.80	31.2	27.3	87.5
$^{200}\text{Hg}$	$^{102}\text{Ru}$	-6.11	2.3	2.58	2.44	94.57
$^{206}\text{Pb}$	$^{102}\text{Ru}$	-17.11	10.6	0.16	0.13	81.25

## 6.5. Parámetros de desempeño analítico de la metodología

Los parámetros de desempeño del método que fueron evaluados son los siguientes:

## 6.6. Límite de detección y Límite de cuantificación

Los resultados obtenidos para los límites de detección y cuantificación instrumentales para cada elemento se encuentran en la tabla 21.

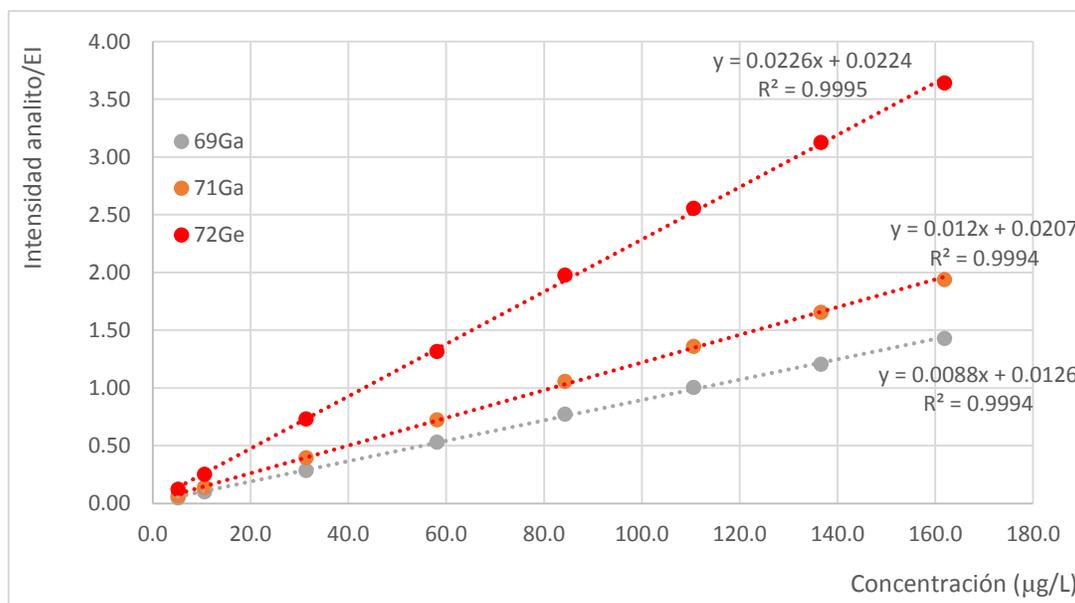
**Tabla 21.** Límites de cuantificación y detección calculados

Analito	LoD ( $\mu\text{g/L}$ )	LoQ ( $\mu\text{g/L}$ )
Arsénico	0.13	0.25
Cadmio	0.4	0.9
Cobre	0.7	1.2
Mercurio	0.36	0.86
Plomo	0.13	0.35

## 6.7. Intervalo lineal

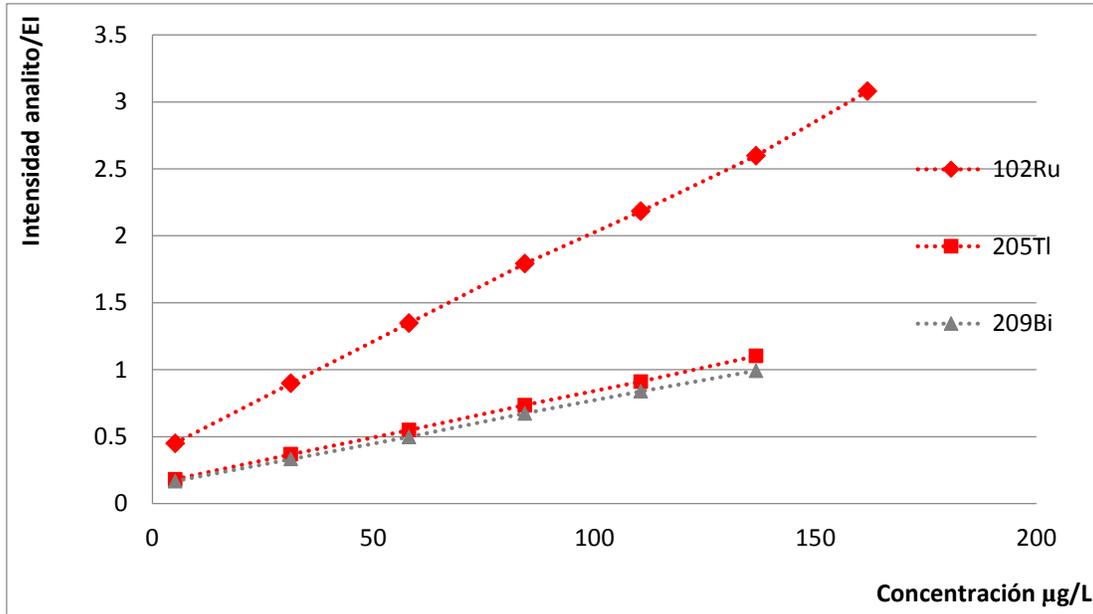
Para la elección del intervalo lineal se siguió el procedimiento en el punto 5.10.2., dichos intervalos lineales se muestran a continuación (gráficas 3 – 10).

**Gráfico 3.** Curva de calibración para  $^{75}\text{As}$  con  $^{69}\text{Ga}$ ,  $^{71}\text{Ga}$  y  $^{72}\text{Ge}$ .



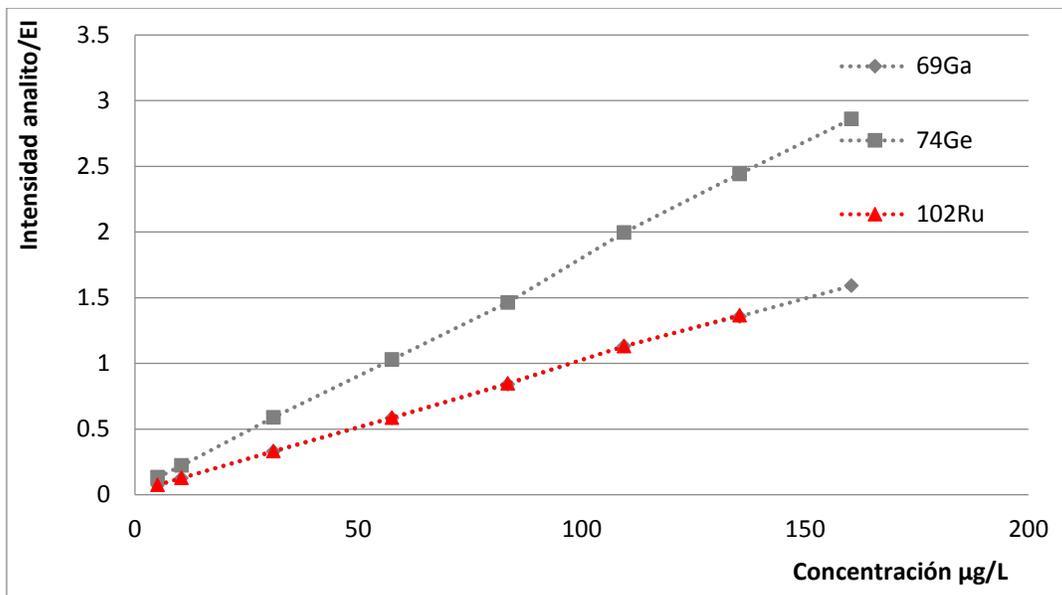
Intervalo lineal de 5 – 160  $\mu\text{g/L}$  para arsénico con los estándares internos  $^{71}\text{Ga}$  y  $^{72}\text{Ge}$ , para DORM-4 y DOLT-4 respectivamente.

**Gráfico 4.** Curva de calibración  $^{114}\text{Cd}$  con  $^{102}\text{Ru}$ ,  $^{205}\text{Tl}$  y  $^{209}\text{Bi}$



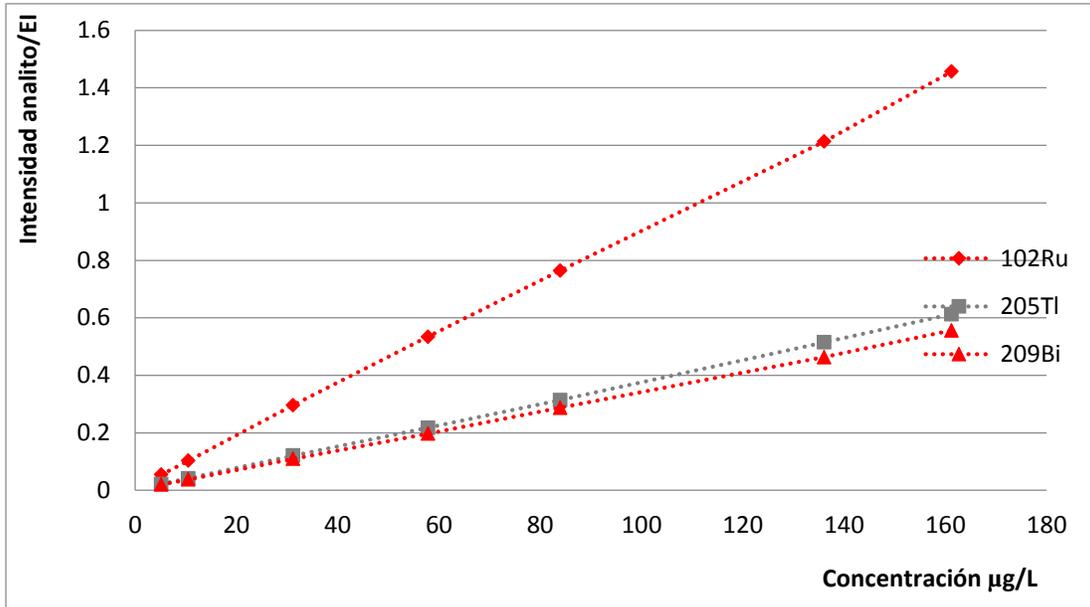
Intervalo lineal de 5 – 140 µg/L para cadmio con el estándar interno  $^{205}\text{Tl}$  para DORM-4. Intervalo lineal de 5 – 160 µg/L para cadmio con estándar interno  $^{102}\text{Ru}$  para DOLT-4.

**Gráfico 5.** Curva de calibración para  $^{65}\text{Cu}$  con  $^{74}\text{Ge}$ ,  $^{69}\text{Ga}$  y  $^{102}\text{Ru}$



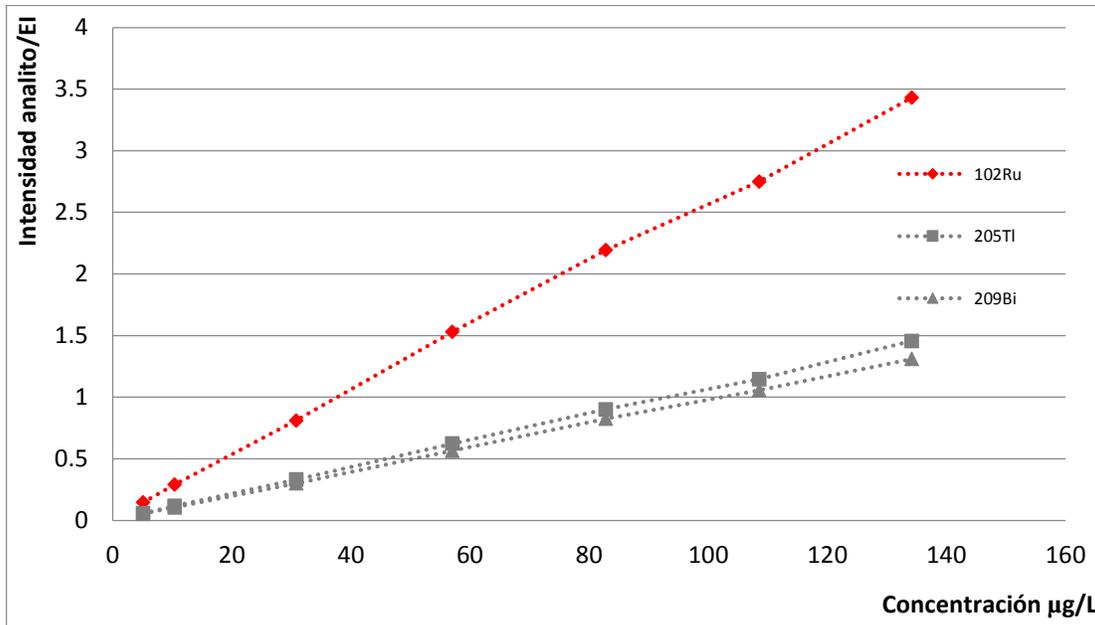
Intervalo lineal de 5 – 140 µg/L para cobre con el estándar interno  $^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4. Es importante mencionar que se presenta una misma curva de calibración para cobre ya que se utiliza la misma pareja de isótopo analito-isótopo estándar interno debido a que presentó los mejores resultados en cuanto a exactitud y precisión.

**Gráfico 6.** Curva de calibración  $^{200}\text{Hg}$  con  $^{102}\text{Ru}$ ,  $^{205}\text{Tl}$  y  $^{209}\text{Bi}$



Intervalo lineal de 5 – 160 µg/L para mercurio con los estándares internos  $^{208}\text{Bi}$  y  $^{102}\text{Ru}$  para DORM-4 y DOLT-4 respectivamente.

**Gráfico 7.** Curva de calibración para  $^{200}\text{Pb}$  con  $^{102}\text{Ru}$ ,  $^{205}\text{Tl}$  y  $^{209}\text{Bi}$



Intervalo lineal de 5 – 140 µg/L para plomo con estándar interno  $^{102}\text{Ru}$ , para DORM-4 y DOLT-4. Es importante mencionar que se presenta una misma curva de calibración para plomo ya que similar al caso del cobre, se utiliza la misma pareja de isótopo analito-isótopo estándar interno debido a que presento los mejores resultados en cuando a exactitud y precisión.

## 6.8. Intervalo de trabajo

En la tabla 22 se muestran los intervalos lineal y de trabajo que se utilizaron.

**Tabla 22.** Intervalos lineal y de trabajo para cada isótopo analito.

Isótopo analito	Intervalo lineal (µg/L)		Intervalo de trabajo (µg/L)	
	DORM-4	DOLT-4	DORM-4	DOLT-4
As	5 – 160		0.25 – 160	
Cd	5 – 140	5 – 160	0.9 – 140	0.9 – 160
Cu	5 – 140		1.2 – 140	
Hg	5 – 160		0.86 – 160	
Pb	5 – 140		0.35 – 140	

## 6.9. Aplicación de la metodología a muestras reales.

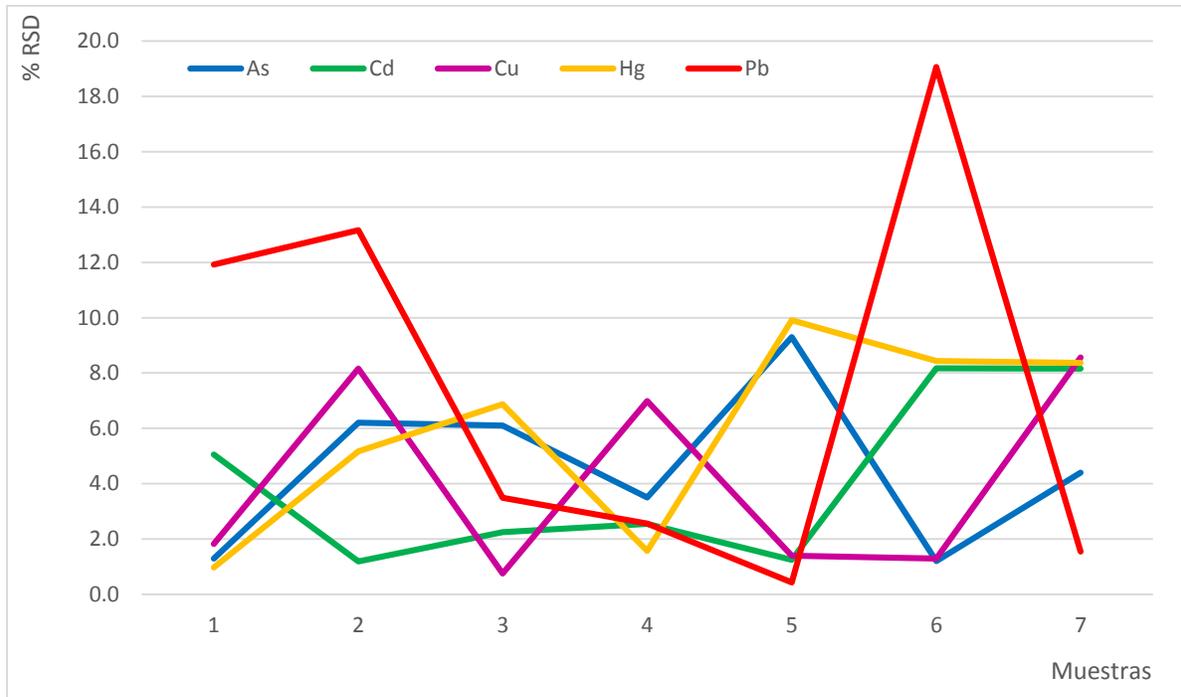
Una vez establecidos los parámetros de desempeño de la metodología, se procedió a aplicar la misma metodología a las muestras reales procedentes de la presa Requena de Hidalgo, de un total de 30 muestras, 7 se analizaron por triplicado y del resto sólo se tomó una única muestra. En la tabla 23 se muestran los resultados obtenidos para las muestras analizadas por triplicado.

**Tabla 23.** Concentraciones promedio de las determinaciones realizadas por triplicado en siete muestras de músculo\*.

Muestras	As		Cu		Hg		Pb	
	(mg/kg)	% RSD						
2	0.018	1.3	0.500	1.8	0.176	1.0	0.044	11.9
3	0.024	6.2	0.251	8.2	0.237	5.2	0.046	13.2
4	0.018	6.1	0.226	0.8	0.115	6.9	0.043	3.5
5	0.025	3.5	0.304	7.0	0.084	1.6	0.049	2.6
6	0.016	9.3	0.262	1.4	0.117	9.9	0.034	0.4
18	0.018	1.2	0.220	1.3	0.101	8.4	0.084	19.1
33	0.019	4.4	0.339	8.6	0.138	8.4	0.047	1.5
Intervalo de concentraciones	[0.016-0.025]		[0.220-0.500]		[0.084-0.237]		[0.034-0.084]	

\* Base seca

**Gráfica 8.** % RSD para As, Cd, Cu, Hg y Pb.



En el Gráfico 8 se observa que en general todos los metales presentan un % RSD menor a 20. Para el caso de plomo aunque presenta en algunas muestras un % RSD mayor se considera aceptable ya que no es mayor a 20%.

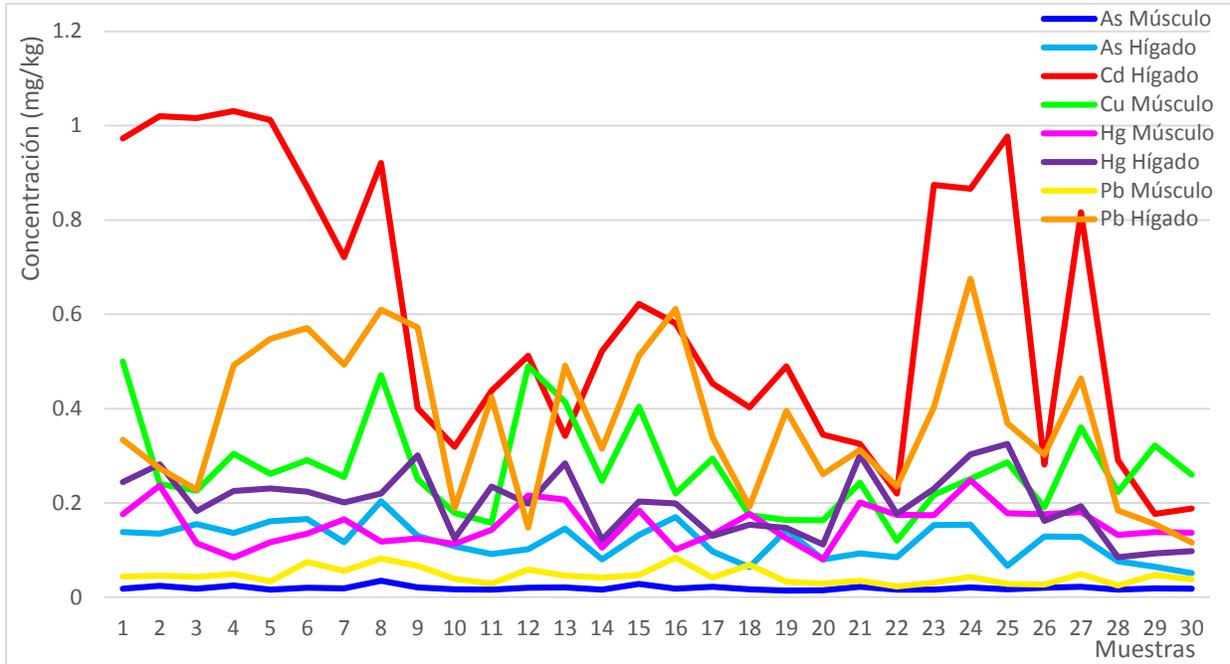
En la tabla 24 se muestran los resultados obtenidos en concentración de As, Cd, Cu, Hg y Pb para las muestras únicas.

**Tabla 24.** Concentraciones promedio, mínimas y máximas obtenidas para As, Cd, Cu, Hg y Pb en músculo e hígado.

Muestra	As (mg/kg)		Cd (mg/kg)		Cu (mg/kg)		Hg (mg/kg)		Pb (mg/kg)	
	Músculo	Hígado	Músculo	Hígado	Músculo	Hígado	Músculo	Hígado	Músculo	Hígado
Promedio	0.020	0.119	ND	0.600	0.273	119.797	0.153	0.200	0.045	0.374
Mínimo	0.014	0.051	ND	0.177	0.120	36.919	0.080	0.085	0.023	0.116
Máximo	0.035	0.204	ND	1.031	0.500	300.218	0.248	0.325	0.084	0.675

ND: No detectable.

Gráfica 9: concentraciones obtenidas de As, Cd, Cu, Hg y Pb en músculo e hígado

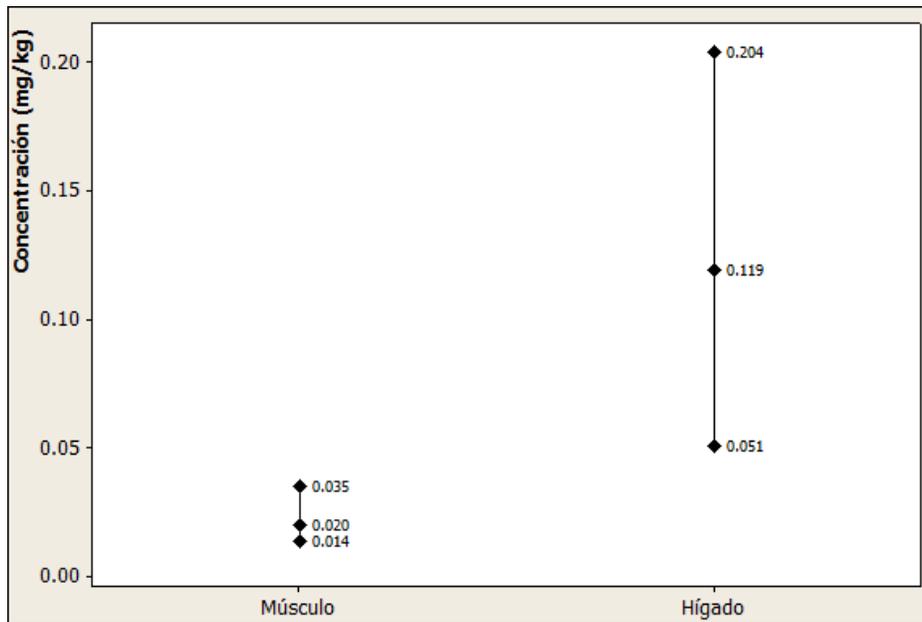


En el grafico 9 se presentan la concentración de cada muestra para cada tejido y metal, excepto para cadmio en músculo ya que no fue detectable, y para cobre en hígado ya que la cantidad de cobre cuantificado fue muy alta y en el grafico no eran apreciables las variaciones para los otros metales analizados.

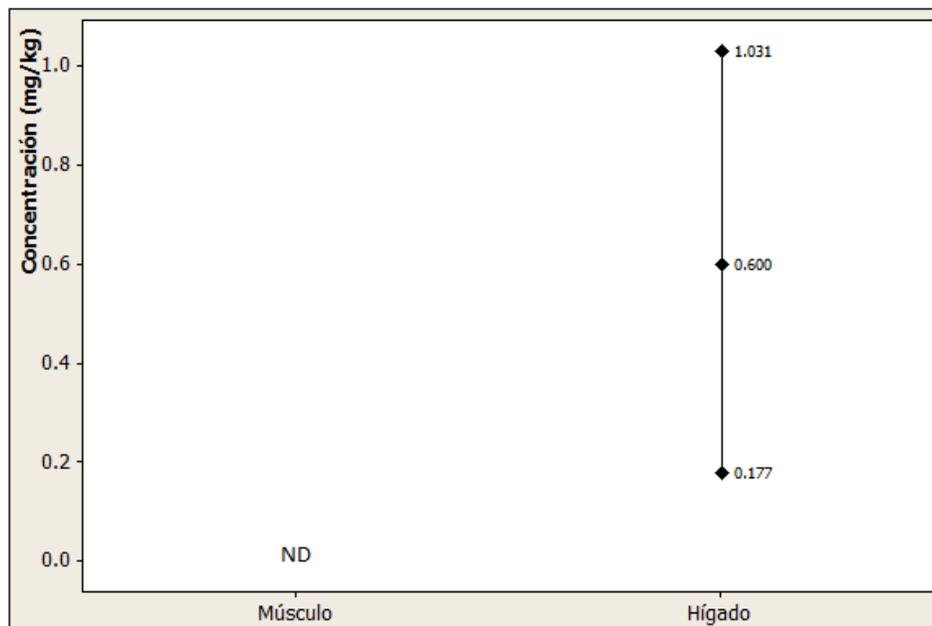
### 6.9.1. Comparación entre concentraciones de músculo e hígado encontradas obtenidas

Los siguientes gráficos (10 – 14) muestran la diferencia promedio de concentraciones obtenidas entre músculo e hígado para As, Cu, Hg y Pb.

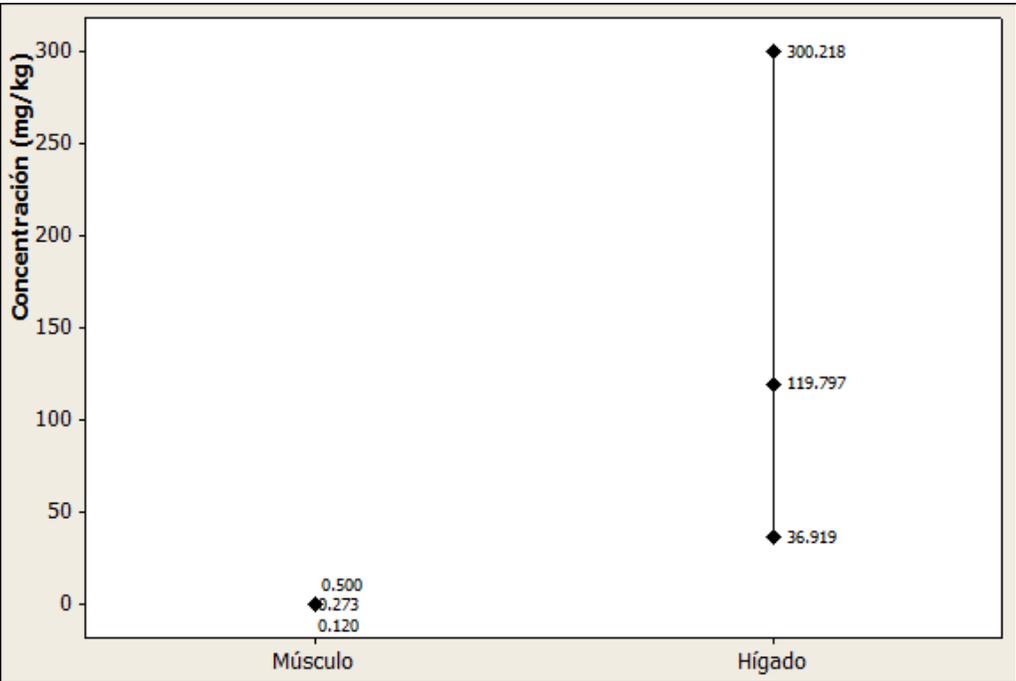
**Gráfico 10.** Intervalo de concentraciones obtenidas de As en músculo e hígado.



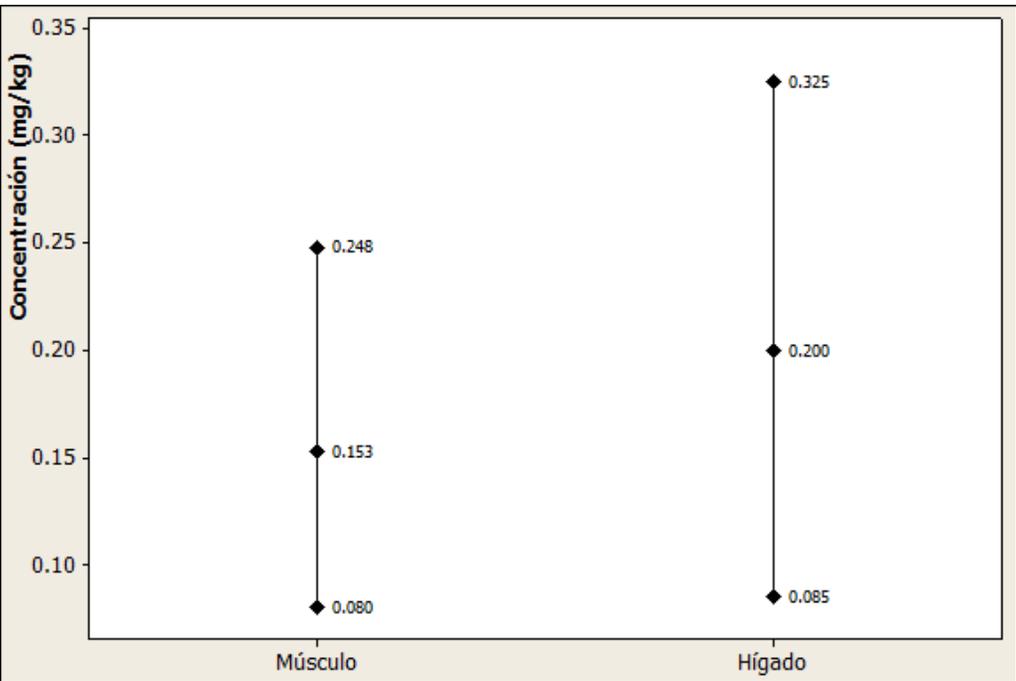
**Gráfico 11.** Intervalo de concentraciones obtenidas de Cd en músculo e hígado.



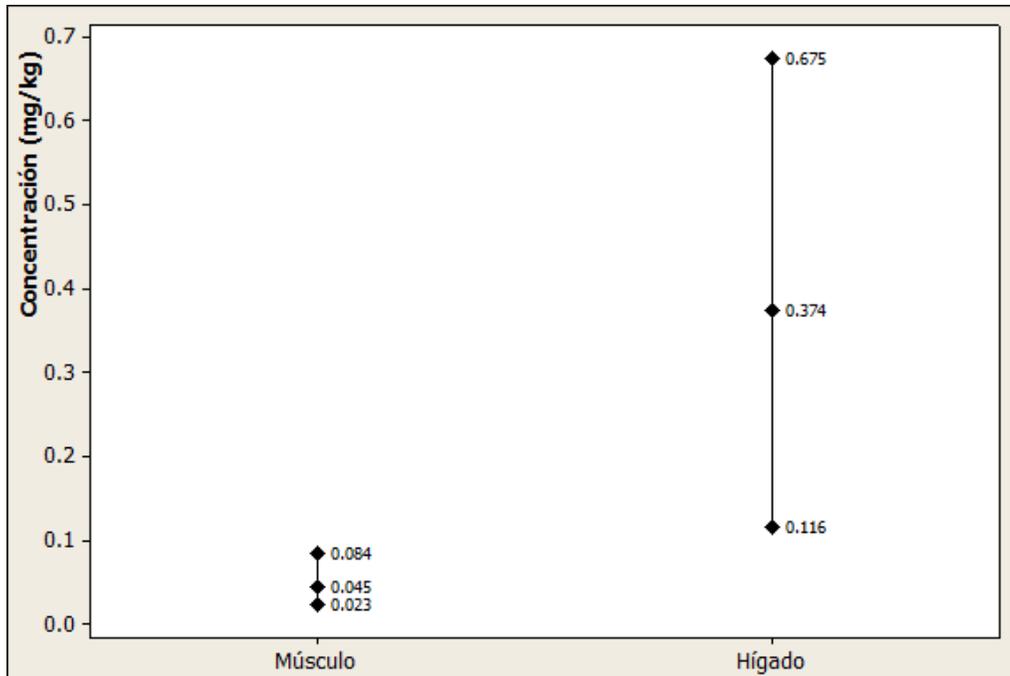
**Gráfico 12.** Intervalo de concentraciones obtenidas de Cu en músculo e hígado.



**Gráfico 13.** Intervalo de concentraciones obtenidas de Hg en músculo e hígado.



**Gráfico 14.** Intervalo de concentraciones obtenidas de Pb en músculo e hígado.



Puede observarse en los gráficos anteriores que para todos los casos la mayor concentración cuantificada de isótopos analitos fue la cuantificada en hígado y que en los mismos tejidos hay mayor dispersión de los resultados.

En el gráfico 10 puede observarse que el promedio obtenido de concentración de arsénico en hígado es 6 veces mayor que la encontrada en músculo.

Para el caso del cadmio en el gráfico 11 no fue detectable el cadmio en músculo, sin embargo en hígado presento una concentración promedio de 0.06 mg/kg.

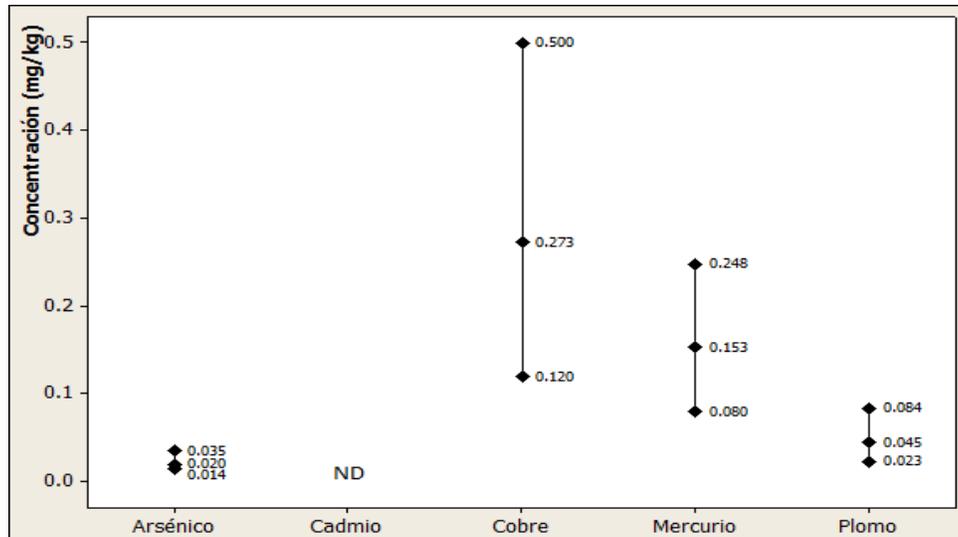
En el gráfico 12 puede observarse que la concentración promedio de cobre cuantificada en hígado es más de 430 veces mayor que la cuantificada en músculo.

En el gráfico 13 se observa que la concentración promedio de mercurio cuantificada en hígado es más de una vez mayor que la cuantificada en músculo.

En el gráfico 14 se puede observar que la concentración promedio de plomo cuantificada en hígado es 8 veces mayor que la cuantificada en músculo.

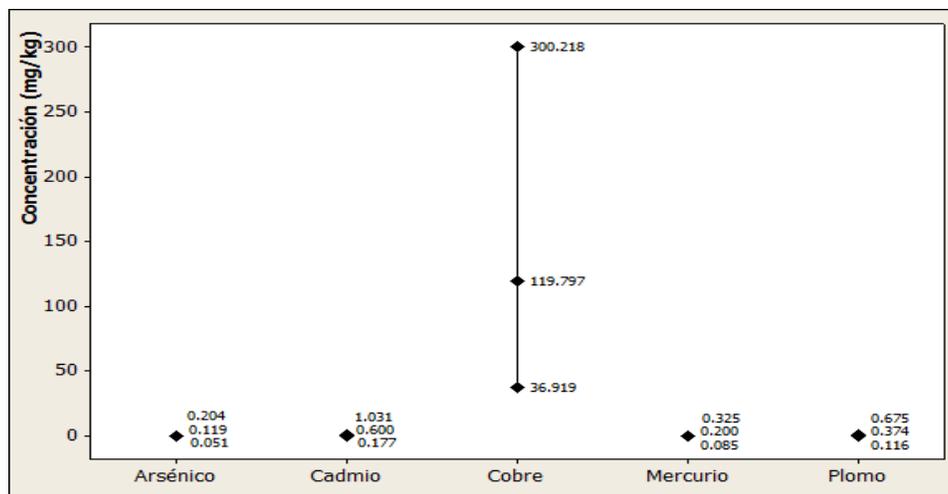
### 6.9.2. Comparación entre concentraciones de As, Cd, Cu, Hg y Pb obtenidas

**Gráfico 15.** Mínimo, máximo y promedio de concentración obtenidos para As, Cu, Hg y Pb en músculo en muestras.



Para el caso del cadmio no se incluyó en esta gráfico dado que no estuvo dentro del límite de detección en músculo.

**Gráfico 16.** Intervalo y promedio de concentración obtenidos para As, Cd, Cu, Hg y Pb en hígado en muestras.

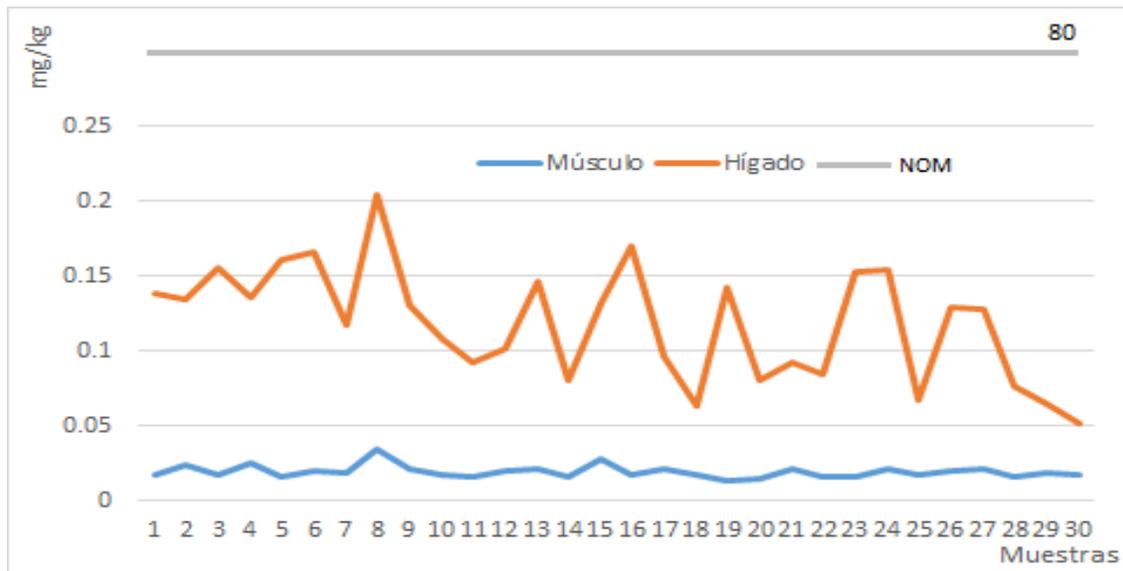


En los gráficos 15 y 16 se puede observar que tanto en músculo como en hígado la concentración obtenida de cobre es mayor que los demás metales analizados.

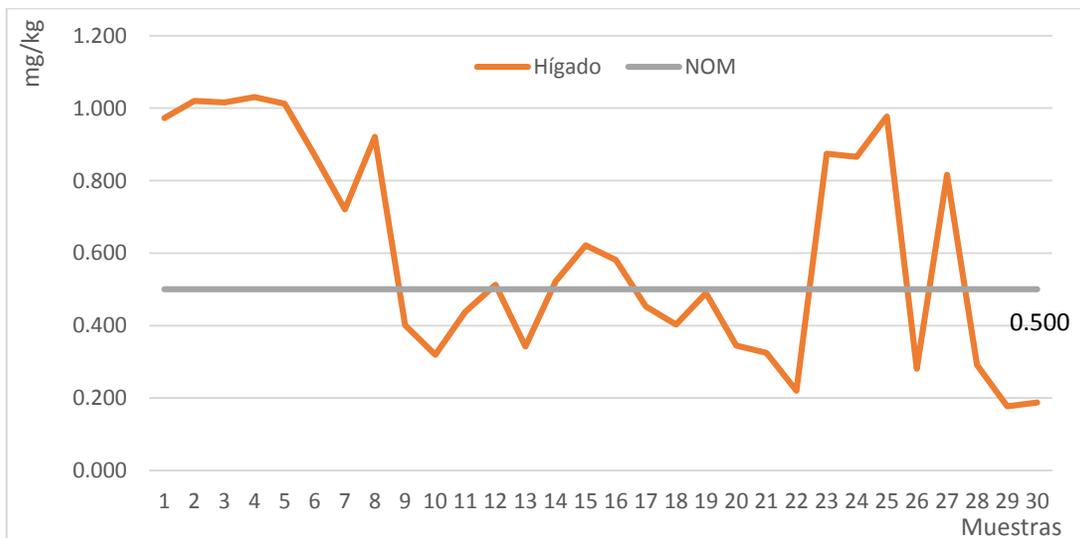
### 6.9.3. Comparación de concentraciones obtenidas con Normas Oficiales Mexicanas Vigentes.

En los gráficos 17 – 22 se comparan los resultados obtenidos de las concentraciones de As, Cd, Cu, Hg y Pb con los expresados por disposiciones oficiales mexicanas.

**Gráfico 17.** Comparación de concentraciones de As obtenidas en músculo, hígado y valor reportado en la NOM-242-SSA1-2009.

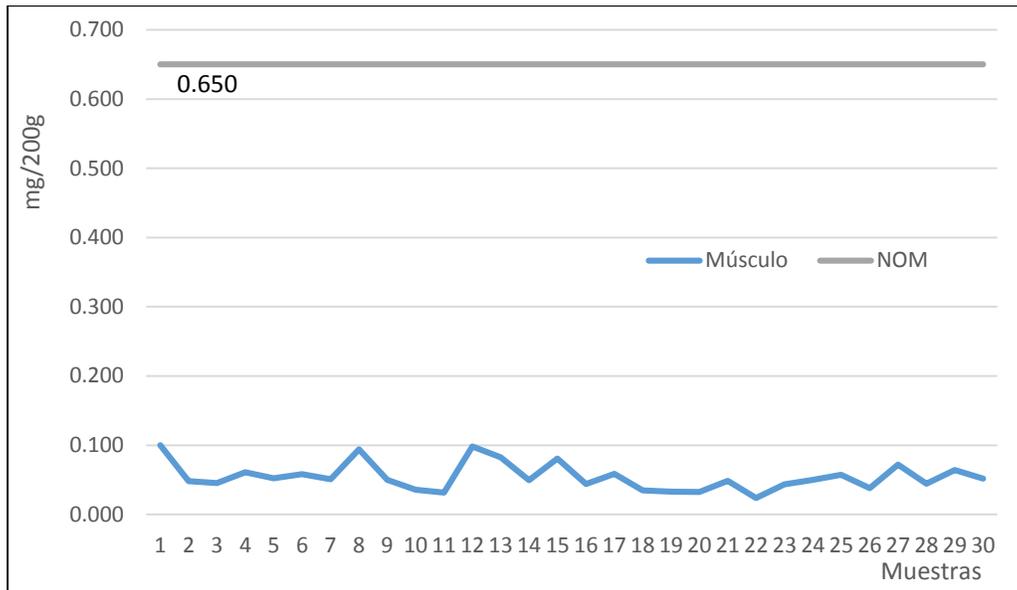


**Gráfico 18.** Comparación de concentraciones de Cd obtenidas en hígado y valor reportado en la NOM-242-SSA1-2009

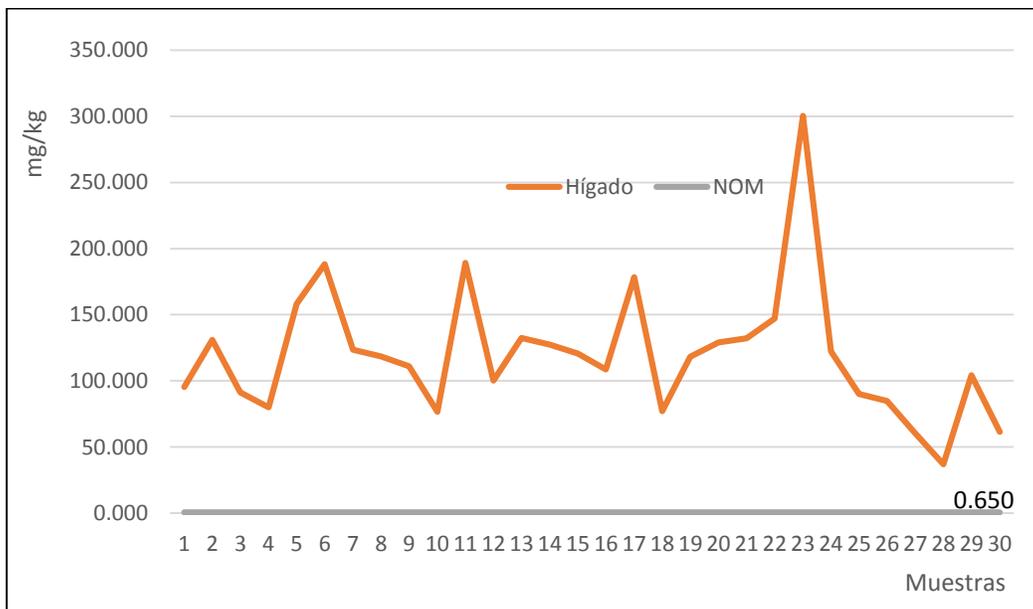


Para el caso del cadmio no se incluyó en esta gráfica dado que, en caso de estar presente, tendría un valor menor al límite de detección en músculo.

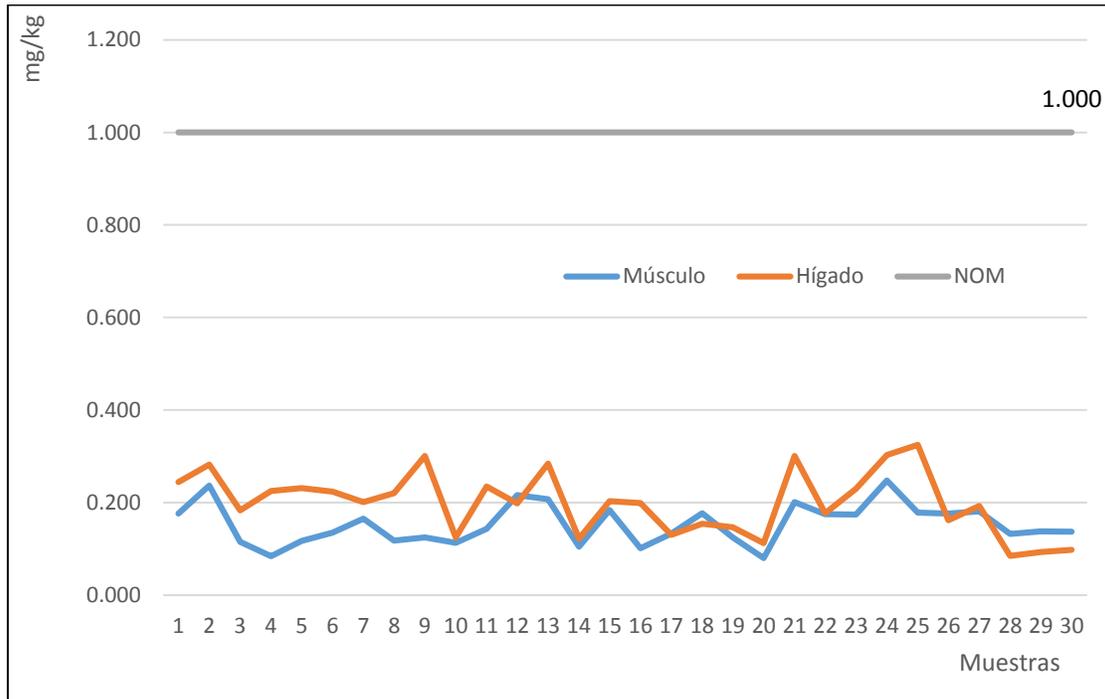
**Gráfico 19.** Comparación de concentración de Cu en 200g de músculo contra la Ingesta Diaria Sugerida en Norma Oficial Mexicana 051



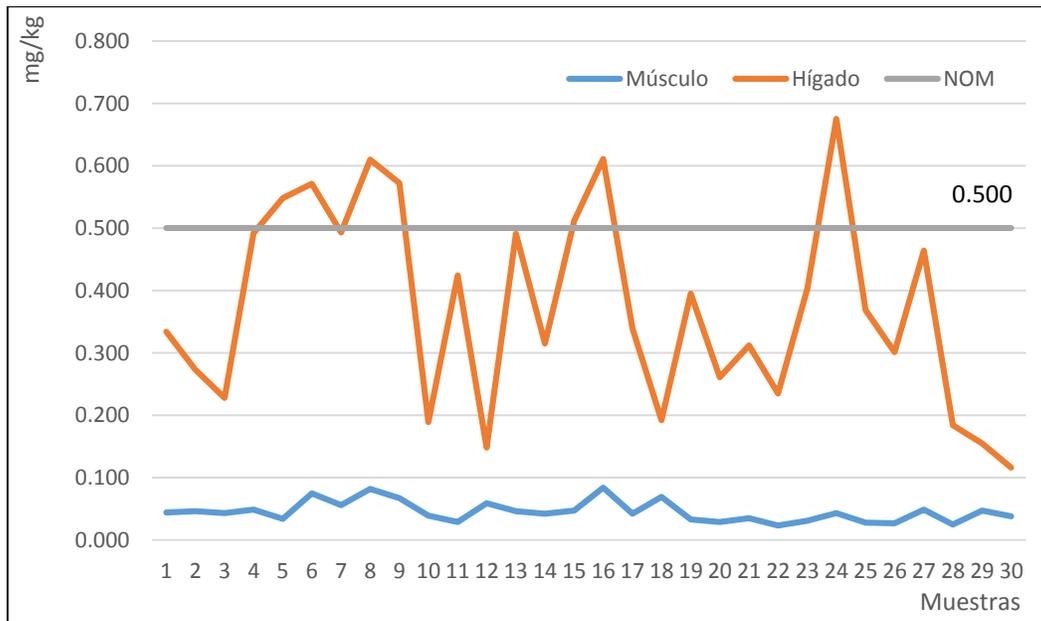
**Gráfico 20.** Comparación de concentración de Cu en hígado de pescado contra la Ingesta Diaria Sugerida en Norma Oficial Mexicana 051.



**Gráfico 21.** Comparación de concentración de Hg obtenida en músculo e hígado y valor reportado en la NOM-242-SSA1-2009



**Gráfico 22.** Comparación de concentración de Pb obtenida en músculo e hígado y valor reportado en la NOM-242-SSA1-2009



En los gráficos 17, 19 y 21 se puede notar que las concentraciones obtenidas de As en músculo e hígado están por debajo de los límites permitidos para las Normas oficiales disponibles en México al igual que Cu en músculo y Hg en músculo e Hígado.

El gráfico de Cd en músculo no se realizó pues su cuantificación estuvo por debajo del límite de detección; en el gráfico 18 se puede notar que en hígado 16 muestras sobrepasan los valores establecidos por la NOM-242-SSA1-2009.

En el gráfico 20 puede notarse que la cuantificación de Cu en hígado todas las muestras sobrepasan los valores establecidos por la NOM-051-SCFI/SSA1-2010

En el gráfico 22 se puede notar que en hígado 7 muestras sobrepasan los valores establecidos por la NOM para Pb, sin embargo en músculo todas las muestras estuvieron por debajo del valor establecido por la NOM-242-SSA1-2009.

Para el caso del cadmio, en México el límite máximo permitido para este metal según la NOM-242-SSA1-2009 es de 0.5 mg/kg en la parte comestible. Debido a que el cadmio se encontró por debajo del límite de cuantificación en este tejido, no se realizaron gráficas pues se deduce que las muestras de pescado presentaron niveles de cadmio por debajo del límite de detección y por ende, menores al máximo permitido en México. Sin embargo en hígado algunas muestras si sobrepasaron el límite máximo permitido en la NOM-242-SSA1-2009. Esto es importante ya que la alimentación del ganado en ocasiones está compuesta por tejidos como hígados de los pescados, así que los contenidos de metales tóxicos que están presentes en estos tejidos finalmente son consumidos por el hombre indirectamente.

#### 6.9.4. Comparación con artículos nacionales e internacionales

En la tabla 25 se muestran las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo reportadas por otros autores, para diferentes especies de peces.

**Tabla 25.** Concentraciones promedio de As, Cd, Cu, Hg y Pb en músculo reportadas en el presente estudio y por otros autores.

Sitio	Referencia	Especie	As	Cd	Cu	Hg	Pb
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Requena (México)	Análisis actual	<i>Oreochromis sp.</i>	0.02	ND	0.27	0.15	0.045
Acua Iluvias (México)	Flores R., Meza C. (2014).	<i>Oreochromis niloticus</i>	0.72	NR	0.97	0.1	0.08
Tlacotalpan Iluvias (México)		<i>Oreochromis niloticus</i>	0.42	NR	1.25	0.07	0.06
Acua secas (México)		<i>Oreochromis niloticus</i>	0.25	NR	1.00	0.07	0.06
Tlacotalpan secas (México)		<i>Oreochromis niloticus</i>	0.26	NR	0.86	0.1	0.04
Rio Neretva (B&H/Croacia)	Djedjibegovic J. et al (2012)	Trucha café	NA	0.055	0.502	0.101	0.077
		Carpa común	NA	0.013	0.807	0.083	0.073
		Carpa Prussian	NA	0.045	0.369	0.05	0.055
Neretva (Croacia)	Bogut y Bukvic´ (2003)	Trucha	NA	0.010	NA	0.083	NA
		Carpa común	NA	0.010	NA	0.003	NA
		Carpa Prussian	NA	0.010	NA	0.095	NA
Neretva (Croacia)	Has-Schön et al. (2006)	Carpa común	NA	0.075	NA	0.19	0.317
Hutovo Blato (B&H)	Has-Schön et al. (2008)	Carpa común	NA	0.011	NA	0.031	0.012
		Carpa Prussian	NA	0.010	NA	0.147	0.1
Rio Una (B&H)	Alic´ et al. (2004)	Trucha	NA	1.349	1.098	0.091	0.317
Rio Vrbas (B&H)		Trucha	NA	1.664	1.295	0.08	0.31
Rio Una (B&H)	Alibabic´ et al. (2007)	Trucha café	NA	0.065	0.850	NA	0.63
		Trucha de california (silvestre)	NA	0.060	0.820	NA	0.725
		Trucha de california (criadero)	NA	0.055	0.965	NA	0.96
Nueva Zelanda	Shailini A., et al (2010)	<i>Genypterus blacodes</i> (abadejo)	16	0.012	1.300	NA	NA
Norte América	Aziz A, et al (2011)	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (criadero)	0.934	0.097	21.813	0.314	1.108
		<i>Oncorhynchus mykiss</i> (silvestre)	1.119	0.130	8.398	0.292	1.201

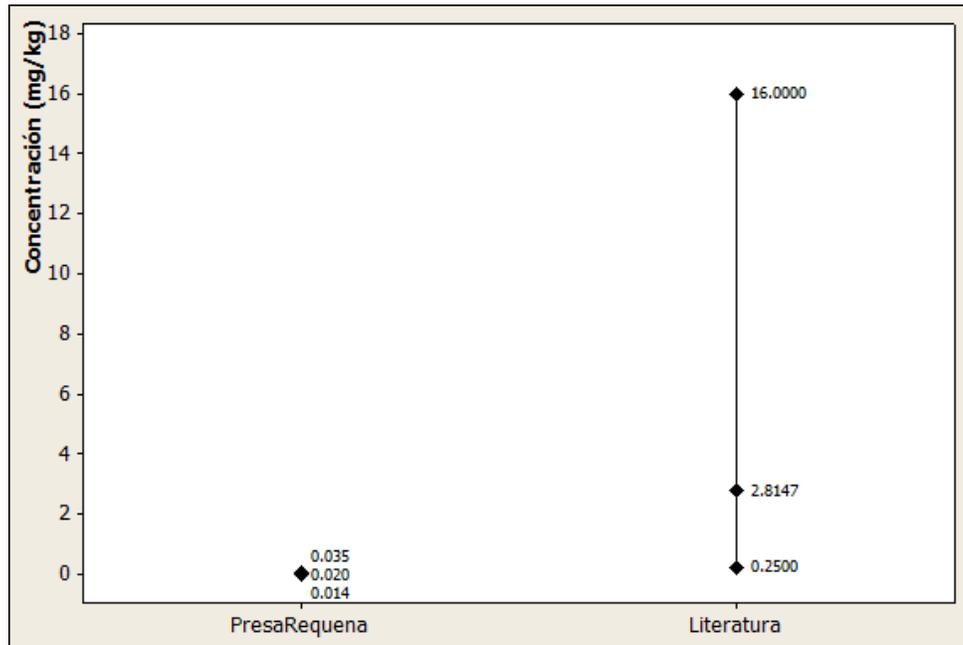
NA: no analizado

ND: no detectado

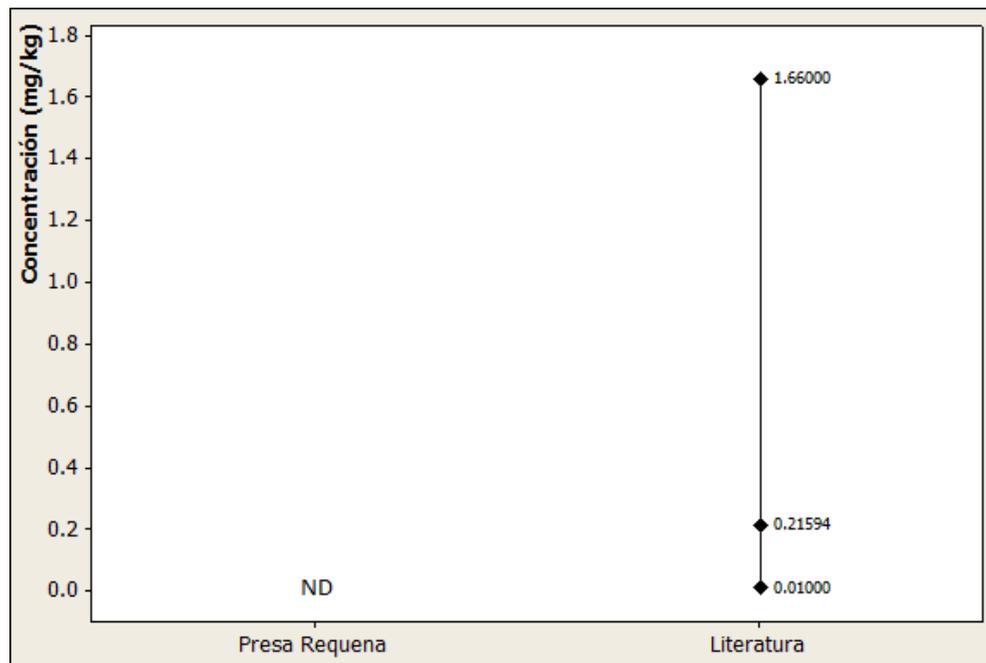
NR: no reportado

A partir de la tabla anterior se construyeron las siguientes gráficas.

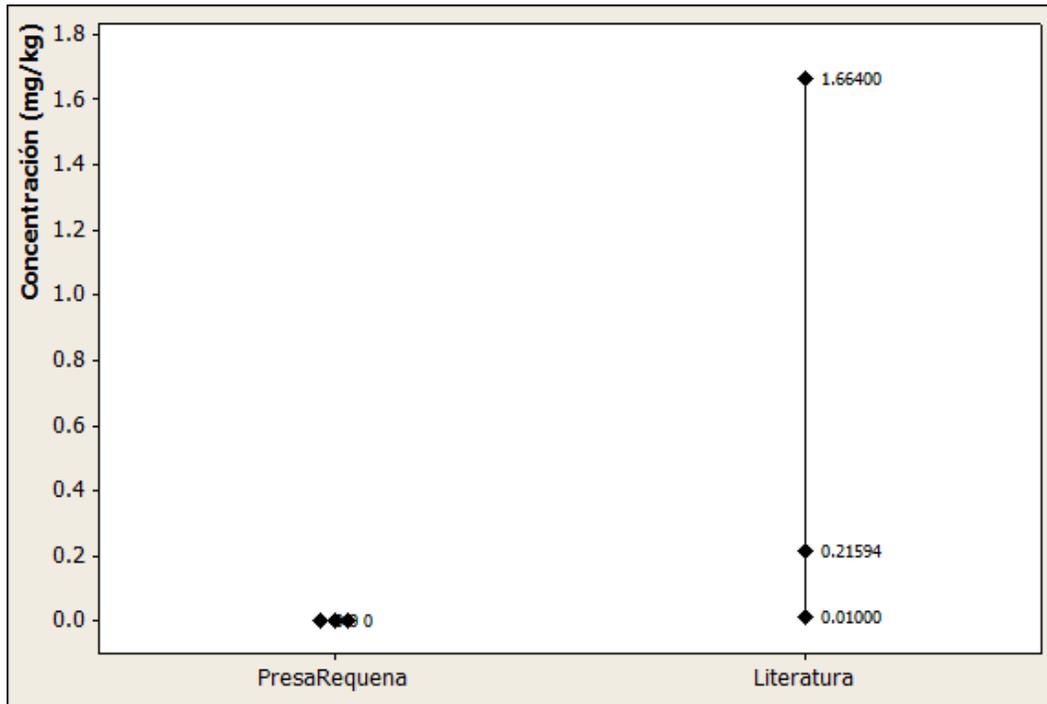
**Gráfica 23.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para As en músculo.



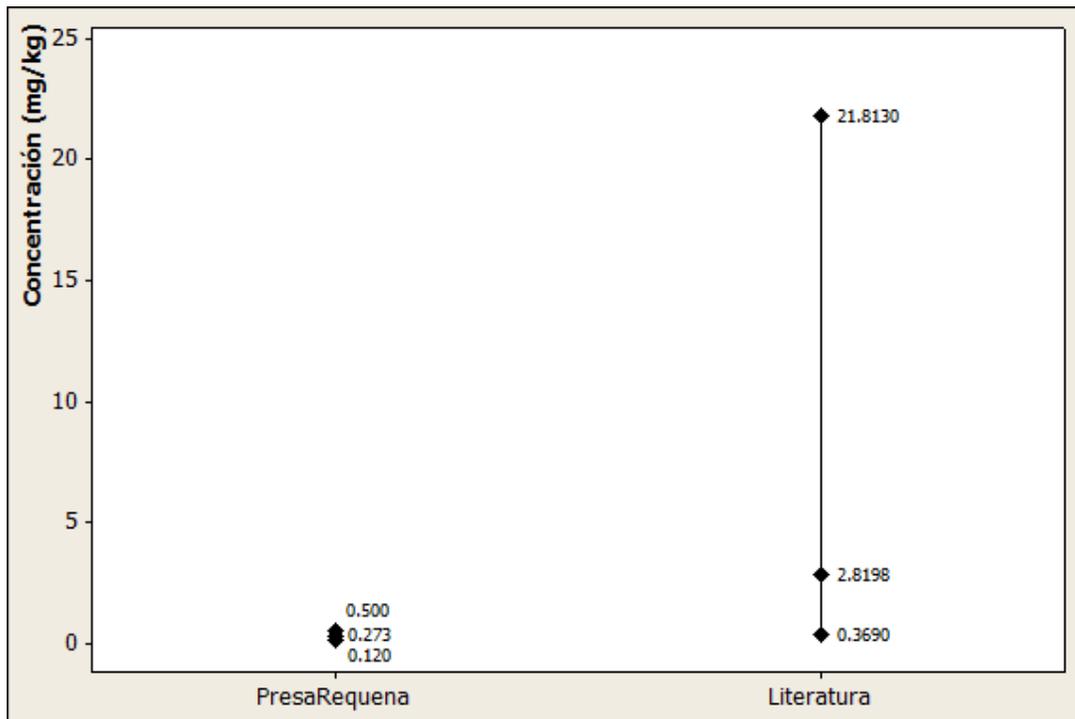
**Gráfica 24.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Cd en músculo.



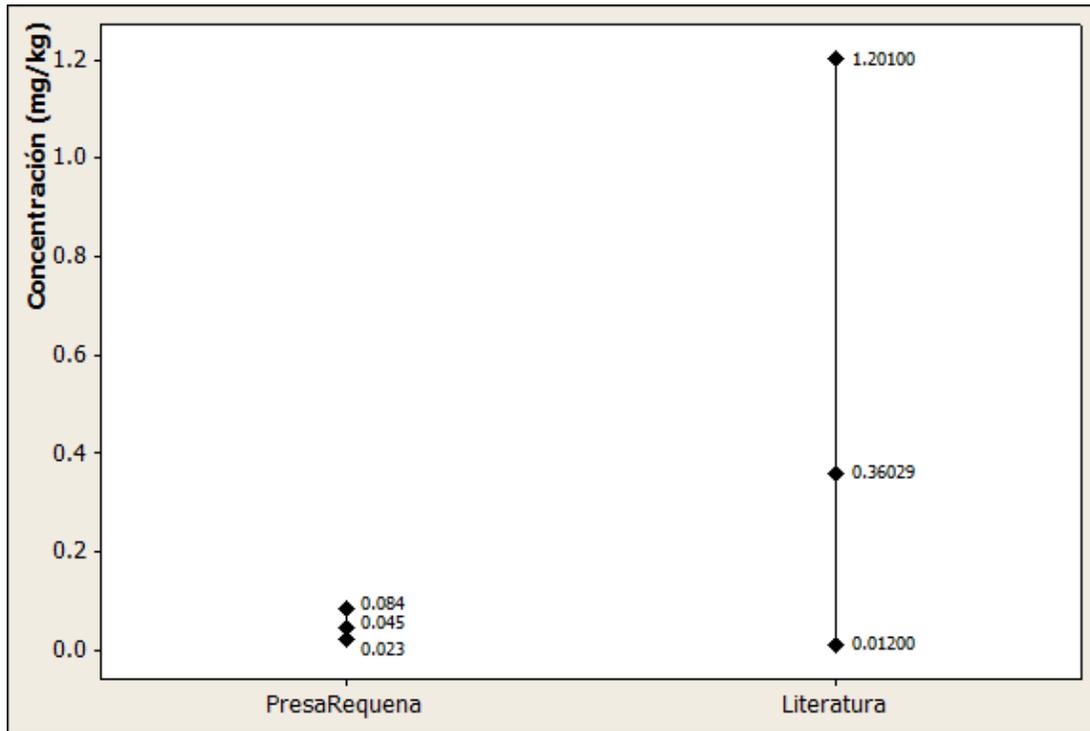
**Gráfica25.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Cu en músculo.



**Gráfica 26.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Hg en músculo.



**Gráfica 27.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Pb en músculo.



De la gráfica 23 y 25 se puede notar que la concentración promedio cuantificada para arsénico y cobre en músculo de pescado de la Presa Requena es menor a las reportadas por otros autores, siendo las diferencias de 2.2 y 2.4 mg/kg respectivamente, así mismo para el caso del cadmio en la gráfica 24 se puede notar que la concentración obtenida fue inferior a la reportada por otros autores. En la gráfica 26 se puede notar que la concentración promedio obtenida para Hg en músculo de la presa Requena es 0.04 mg/kg mayor que la reportada por otros autores sin embargo, el intervalo de concentraciones obtenidas en el presente estudio es más chico al reportado en literatura. En la gráfica 27 se puede notar que la concentración promedio obtenida para plomo en músculo de pescado de la presa Requena es de 0.3mg/kg menor que el reportado en literatura.

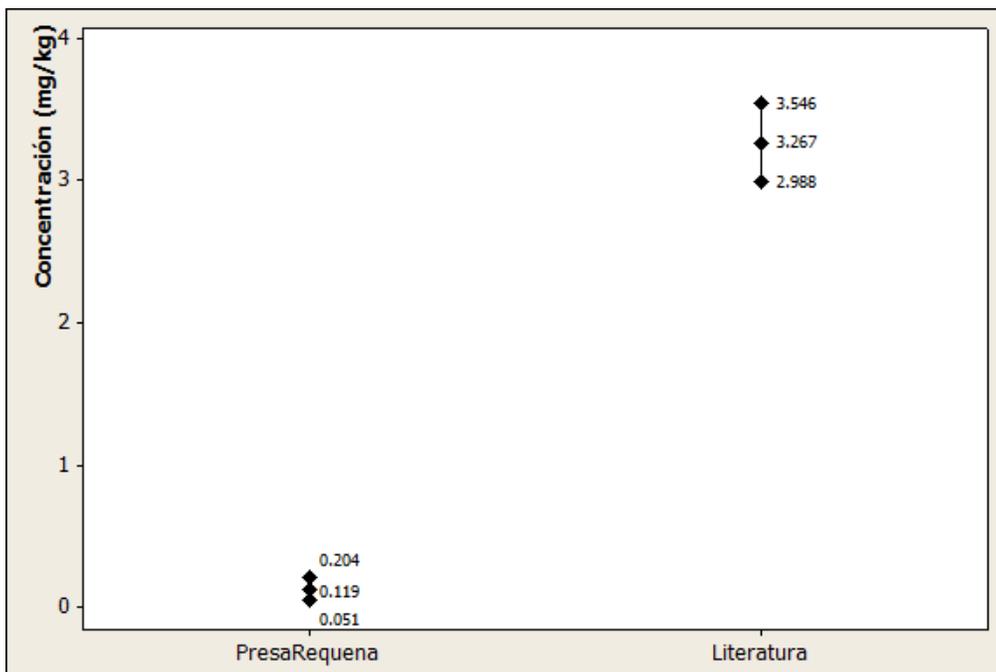
En la tabla 26 se encuentran las concentraciones promedio (mg/kg) de As, Cu, Hg y Pb obtenida en el presente estudio y las reportadas en literatura.

**Tabla 26.** Concentraciones promedio de As, Cd, Cu, Hg y Pb en hígado en el presente estudio y las reportadas por otros autores.

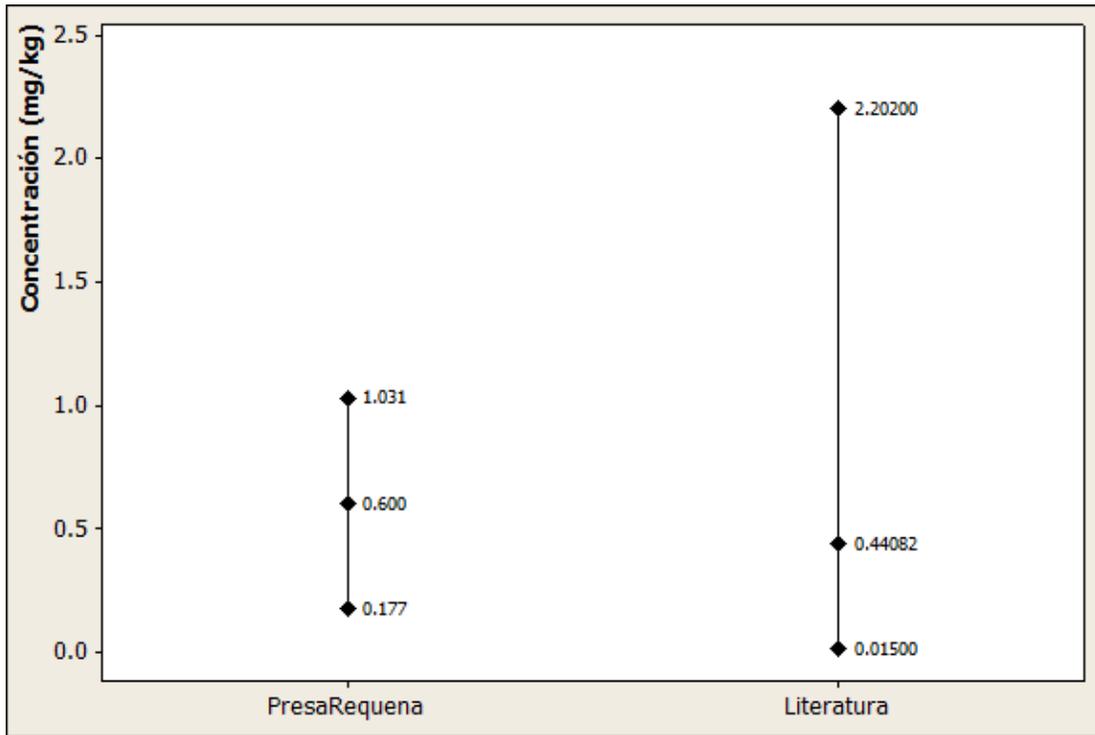
Sitio	Referencia	Especie	As	Cd	Cu	Hg	Pb
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Requena (México)	Análisis actual	<i>Oreochromis niloticus</i>	0.12	0.60	119.78	0.2	0.37
Rio Neretva (B&H/Croacia)	Djedjibegovic J. et al (2012)	Trucha café	NA	0.046	22.2	0.111	0.085
		Carpa común	NA	0.031	2.01	0.132	0.02
		Carpa Prussian	NA	0.015	7.98	0.049	0.122
Neretva (Croacia)	Bogut and Bukvic´ (2003)	Trucha	NA	0.130	NA	0.019	NA
		Carpa común	NA	0.137	NA	0.007	NA
		Carpa Prussian	NA	0.137	NA	0.021	NA
Neretva (Croacia)	Has-Schon et al. (2006)	Carpa común	NA	0.091	NA	0.08	0.276
HutovoBlato (B&H)	Has-Schon et al. (2008)	Carpa común	NA	0.052	NA	0.011	0.017
		Carpa Prussian	NA	0.136	NA	0.033	0.125
Norte America	Aziz A, et al (2011)	<i>Oncorhinchusmykiss</i> (criadero)	3.546	1.872	58.494	1.261	2.885
		<i>Oncorhinchusmykiss</i> (silvestre)	2.988	2.202	33.687	1.408	2.907

NA: no analizado

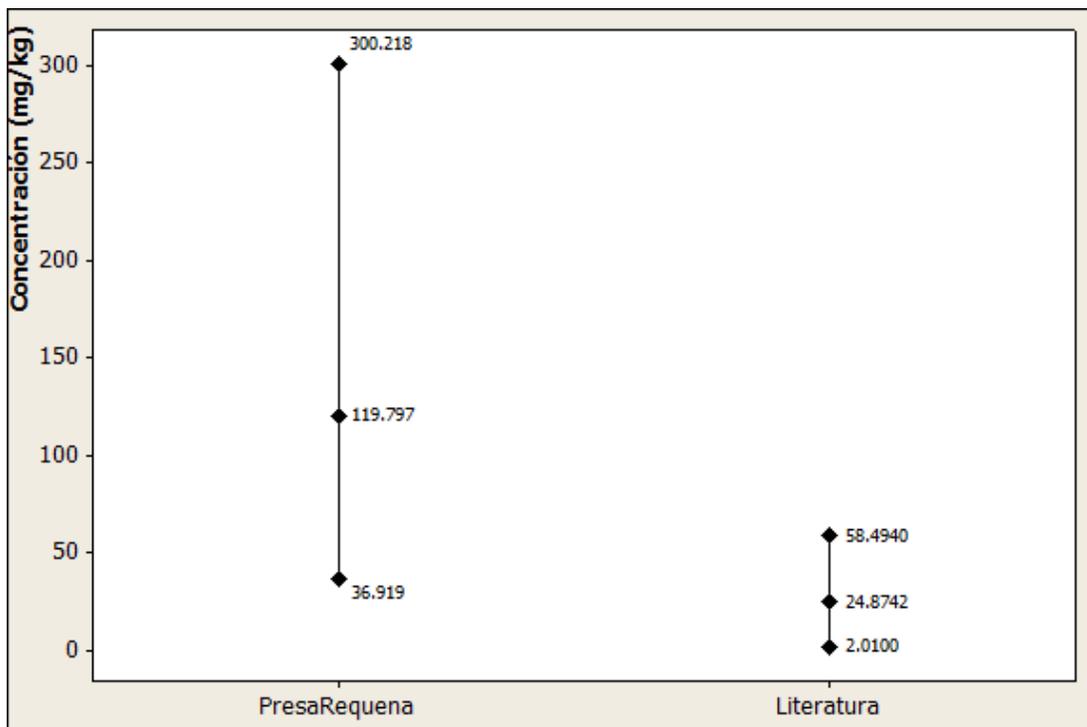
**Gráfica 28.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en la literatura para As en hígado.



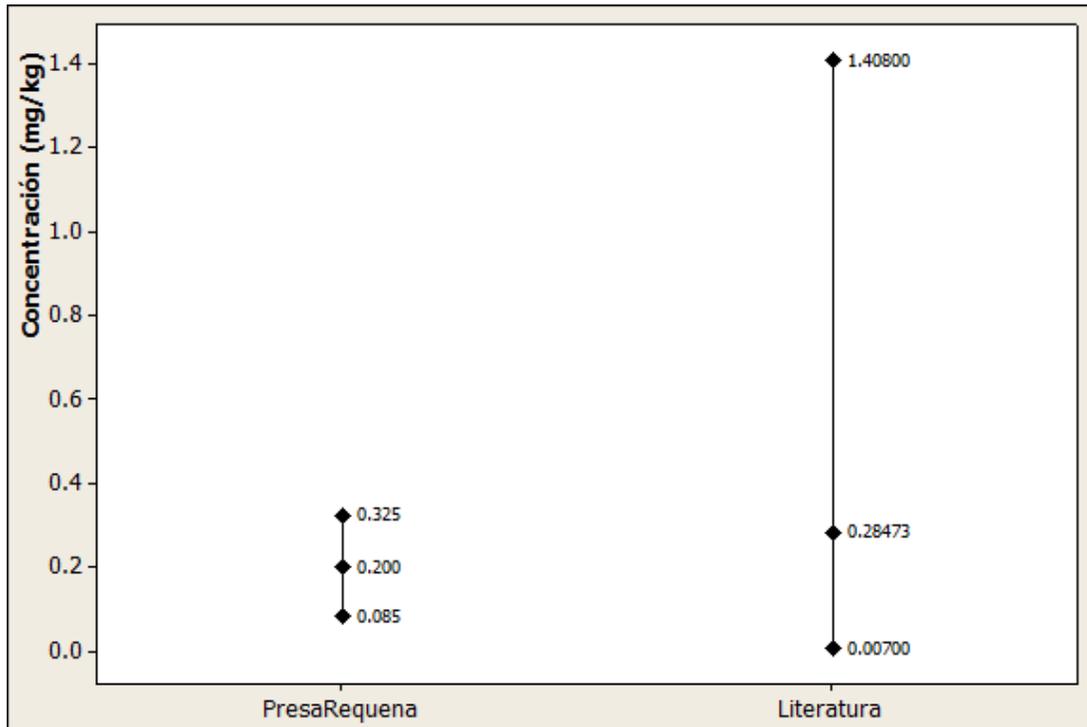
**Gráfico 29.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Cd en hígado.



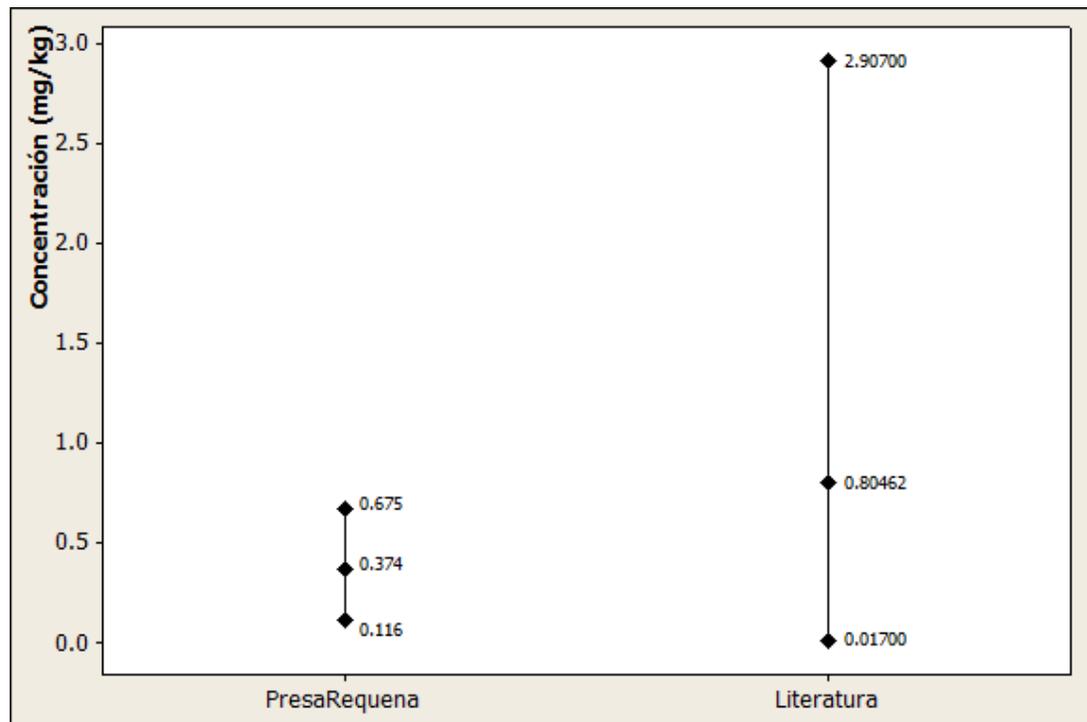
**Gráfica 30.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Cu en hígado.



**Gráfica 31.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Hg en hígado.



**Gráfica 32.** Intervalo de concentraciones obtenidas en la Presa Requena y reportadas en literatura para Pb en hígado.



En la gráfica 28 se puede notar que el intervalo de concentración obtenido de la cuantificación de arsénico en hígado de pescado procedente de la Presa Requena es muy pequeño siendo el promedio de 0.119 mg/kg y el promedio de concentración reportado por diferentes autores es de 3.27 mg/kg, para este caso podemos ver una diferencia de 3.1 mg/kg.

En la gráfica 29 puede observarse que la diferencia de los promedios de concentraciones de cadmio en hígado de pescado procedente de la presa Requena y reportados en literatura es de 0.60 y 0.44 mg/kg respectivamente siendo habiendo una diferencia de 0.2 mg/kg.

En la gráfica 30 se puede notar una gran diferencia entre los resultados de la Presa Requena y el reportado en la literatura para cobre, siendo el promedio de ambos de 119.27 y 24.87 mg/kg respectivamente y teniendo una diferencia de 95 mg/Kg.

En la gráfica 31 se puede notar que el promedio de concentraciones de mercurio obtenido en la Presa Requena es de 0.2 mg/kg y el reportado en diferentes literaturas es de 0.28 mg/kg, sin embargo el máximo reportado para ambos casos es de 0.325 y 1.41 mg/kg respectivamente, determinándose una concentración mayor en las muestras de hígado analizadas por diferentes autores.

En la gráfica 32 se puede notar que el intervalo de concentraciones de plomo obtenido de las muestras de hígado es más pequeño que el reportado en literatura siendo el promedio de 0.3 y 0.8 mg/kg respectivamente, presentando una diferencia de 0.5mg/kg.

## 7. Conclusiones.

- ☞ Se logró cuantificar mediante Espectrometría de Masas con fuente de ionización por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo presentes en el músculo e hígado de *Oreochromis niloticus*; excepto cadmio en musculo ya que la concentración de este analito estuvo por debajo del LoD en este tejido.
- ☞ Las concentraciones obtenidas de As, C As, Cd, Cu, Hg y Pb no rebasan los límites establecidos por la normatividad vigente nacional, por lo tanto cabe mencionar que en cuanto a este aspecto, este alimento no presenta riesgo a la salud, sin embargo sería bueno realizar un estudio que cuantifique el contenido de metales en alimento para ganado ya que por ejemplo para el caso de las muestras analizadas de hígado, algunas si presentaban un contenido mayor de cadmio que el valor límite máximo reportado en la NOM-242-SSA1-2009
- ☞ Haciendo una comparación general de los resultados obtenidos para musculo estuvieron por debajo del promedio reportado por otros autores.
- ☞ Por otro lado cadmio, mercurio y plomo no difieren mucho del promedio reportado en hígado por otros autores sin embargo, la cantidad de cobre determinada en el presente estudio fue más alta que la reportada por otros autores
- ☞ Por los resultados obtenidos en esta investigación, se puede decir que el musculo de mojarra tilapia adquirido de la Presa Requena en el estado de Hidalgo no presenta riesgo en cuanto a los metales analizados, sin embargo, sería deseable realizar un análisis más extenso para confirmar su inocuidad.
- ☞ Aunque en general los niveles de As, Cd, Cu, Hg y Pb presentes en los tejidos están dentro de las Normas Oficiales Mexicanas, y también por debajo de los reportados, sería recomendable realizar un estudio donde el muestreo se componga de un tamaño de muestra mayor para asegurar que las concentraciones de estos (u otros metales) son bajas también.
- ☞ A pesar de que en un estudio previo se reportó al agua de la presa como de calidad media, se encontraron niveles relativamente bajos de los metales en estudio, esto es algo positivo ya que es un importante centro de crianza y distribución de esta especie para consumo local y hasta foráneo.

## 8. Referencias

- (1) Albert et al (2004). *Toxicología ambiental*. México. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. 455p
- (2) Campbell, M; Vermeir, G; Dams, R. (1992), *Influence of Chemical Species on the Determination of Mercury in a Biological Matrix (Cod Muscle) Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 7, 617-621.
- (3) Djedjibegovic, J; Larssen, T. (2012), *Contents of cadmium, copper, mercury and lead in fish from the Neretva river (Bosnia and Herzegovina) determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)*, Food Chemistry 131, 469–476.
- (4) EURACHEM, (1998). *A focus for analytical chemistry in Europe*. The Fitness for Analytical Methods, A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Reino unido: Teddington. Primera edición
- (5) Gómez y González. (2006). *Estudio biológico-pesquero, socioeconómico y elaboración del plan de manejo del embalse de la presa Requena, municipio de Tepeji del Rio de Ocampo*, COFEMER.
- (6) Harris C. Daniel. (2001). *Análisis químico cuantitativo*. 2ª ed. España. Editorial Reverté. Pp.499
- (7) Instituto de Biología, Departamento de Zoología, peces óseos, anatomía.  
<http://www.ib.unam.mx/cnpe/informacion/oseos/anatomia/> 5/07/2014.
- (8) Litter M.I, Armieta M.A. *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*. CYTED. Pp 79-87.
- (9) Lorenzo, J. (2011). *Efecto de métodos de cocción sobre el contenido nutricional de la mojarra Tilapia (Oreochromis sp.)*, Papaloapan Veracruz, Universidad de Papaloapan, Tesis de Licenciatura, 73 pp.
- (10) Márquez A. O. (2012). *Determinación de plomo (Pb), bario (Ba) y antimonio (Sb) en residuos de disparo de armas de fuego comparando las técnicas analíticas GFAAS e ICP-MS*. Tesis de Licenciatura, 154 pp.
- (11) Meza C. C. M. (2014). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de cromo y selenio en músculo de Oreochromis niloticus, mediante ICP-MS*. Tesis de Licenciatura, 57 pp
- (12) Skoog, D; et al. (2001). *Principios de análisis instrumental*, quinta edición; Mc Graw Hill, México.
- (13) Torres G. (2013). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de plomo y níquel en especies marinas, mediante ICP-MS*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM.
- (14) Universidad de Almería  
<http://cms.ual.es/UAL/universidad/serviciosgenerales/stecnicos/Pagina/SCI010>
- (15) Alibabic´, V., Vahc´ic´ , N., & Bajramovic´ , M. (2007). *Bioaccumulation of Metals in Fish of Salmonidae family and the impact on fish meat quality*. Environmental Monitoring and Assessment, 131, 349–364.
- (16) Alic´, B., Milanovic´ , A., Č aklovica, F., & Sarac´evic´ , L. (2004). *Sadržaj bakra, cinka, kadmija, olova i žive u mišićnom tkivu pastrva (Salmo trutta Fario L.) i škobalja (Chondrostomus toxostoma L.) iz lovljenih u Ubi, Vrbasa and Drina*. Meso, 6, 40–46.

- (17) Aziz A, Siavash S, Amin N, Tina J. (2011). *Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) using ICP-OES technique*. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, 275 – 279.
- (18) Bogut, I., & Bukvić, V. (2003). *Toksikološka analiza težkih metala delte Neretve*. The Regional Environmental Center for Central and Eastern Europe Bulletin, January/February/March, 9–10.
- (19) Diario Oficial de la Federación, NOM-051-SCFI/SSA1-2010  
[http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5137518&fecha=17/11/2014](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5137518&fecha=17/11/2014)
- (20) Flores R. C. I. (2014). *Determinación de elementos traza en músculo de Oreochromis niloticus procedentes de Acula y Tlacotalpan, Veracruz mediante la técnica de espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)*. Tesis de maestría.
- (21) Has-Schön, E., Bogut, I., & Strelec, I. (2006). *Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of river Neretva (Croatia)*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 50, 545–551.
- (22) Has-Schön, E., Bogut, I., Rajković, V., Bogut, S., Čučić, M., & Horvatić, J. (2008). *Heavy metal distribution in tissues of six fish species included in human diet, inhabiting freshwaters of the nature park "Hutovo Blato" (Bosnia and Herzegovina)*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 54, 75–83.
- (23) Hernández M. L. G. (2014). *Desarrollo de la metodología analítica para la determinación de cadmio y vanadio en especies marinas, mediante ICP-MS*. Tesis de Licenciatura.
- (24) Rodríguez M. (2001). *Evaluación de metodologías analíticas para la determinación de arsénico en muestras sólidas ambientales*. Tesis de maestría, Facultad de Química UNAM.
- (25) Shailini A., Barrie M. Peake, Graeme B, Kimberly J. Hageman. (2010). *Distribution of trace metals in a ling (Genypterus blacodes) fish fillet*. Tema. Pag. Chemistry Department, University of Otago, P.O. Box 56, Dunedin 9054, New Zealand 402 – 409.
- (26) Diario Oficial de la Federación. NORMA Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, *Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba*.  
[http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011) 16-10-2013
- (27) Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 2004. Resumen de Salud Pública Cobre. Departamento de salud y servicios humanos de los E.U.A.
- (28) León Z. R (2013). *Desarrollo de la metodología analítica para la determinación de vanadio y manganeso en matrices biológicas mediante ICP-MS*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM.
- (29) Venegas N. J. A (2014). *Determinación de plomo y zinc en muestras de chilacayote (cucurbita f. bouché) por diversas técnicas de absorción atómica*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM.
- (30) <https://www.google.com.mx/maps/@19.9447626,-99.3160912,11z> tomado de google treet view 1-11-14