

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA

UNAN-León



**FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**“VALIDACIÓN DEL MÉTODO VOLTAMPEROMÉTRICO PARA LA
DETERMINACIÓN DE PLOMO EN MUESTRAS DE ORINA”**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA

PRESENTADA POR: BR. MANUEL ANTONIO VANEGAS CARVAJAL

CATEDRÁTICO GUÍA: GUSTAVO MARCIAL DELGADO PANIAGUA

LEÓN, NICARAGUA, NOVIEMBRE DEL AÑO 2002



INDICE

I. RESUMEN.....	1	IV.19.1 Voltamperometría de	
II INTRODUCCIÓN	2	redisolución anódica.....	18
III. OBJETIVOS.....	3	IV.19.2 Fundamento teórico	21
III.1 Objetivo general	3	IV.20 Validación de métodos analíticos	22
III.2 Objetivos específicos.....	3	IV.20.1 Definición	22
IV. MARCO TEÓRICO.....	4	IV.20.2 Jerarquía de la metodología	23
IV.1 generalidades sobre el plomo	4	IV.20.3 Validación de un método.....	23
IV.2 Usos y fuentes de exposición al		IV.20.4 Desarrollo del método.....	24
plomo.....	4	IV.21 Evaluación de la incertidumbre ..	29
IV.3 Actividades de elevado riesgo.....	5	IV.21.1 Incertidumbre de medición	30
IV.4 Actividades de riesgo moderado	5	IV.21.2 La incertidumbre estándar	30
IV.5 Mecanismo de acción. Tóxico		IV.21.3 Incertidumbre estándar	
cinética del plomo inorgánico	6	combinada.....	30
IV.5.1 Vías de penetración	6	IV.21.4 Incertidumbre expandida	30
IV.6 Distribución y almacenamiento del		IV.21.5 Incertidumbre estándar relativa	31
plomo en el organismo	7	V PARTE EXPERIMENTAL	32
IV.7 Vías de eliminación del plomo		V.1 Equipo y material.....	32
absorbido.....	8	V.2 Reactivos.....	33
IV.8 Efectos sobre la salud.....	9	V.3 Procedimientos.....	33
IV.9 Efectos sobre el tejido hemapoyético		V.3.1 Preparación de soluciones.....	33
.....	9	V.3.2 Obtención de agua Tridestilada (sin	
IV.10 Efectos sobre los glóbulos rojos		plomo).....	35
circulantes	12	V.3.3 Lavado de Cristalería para uso de	
IV.11 Efectos sobre el sistema nervioso	12	análisis de trazas	36
IV.12 Efectos a nivel renal	12	V.3.4 Condiciones de trabajo del equipo	
IV.13 Efectos sobre la reproducción	13	voltamperométrico.....	37
IV.14 Efectos sobre el efecto		V.3.4.1 Condiciones experimentales del	
cardiovascular	13	analizador polarográfico.....	37
IV.15 Efectos carcinogénicos.....	13	V.3.4.2 Condiciones experimentales del	
IV.16 Manifestaciones clínicas.....	14	electrodo de mercurio	37
IV.17 Indicadores de exposición	15	V.3.4.3 Condiciones experimentales del	
IV.17.1 Plumbemia.....	15	registrador.....	37
IV.17.2 Plumburia	16	V.3.5 Optimización del tiempo de	
IV.17.3 Plumburia provocada.....	16	digestión de la muestra (orina)	38
IV.18 Compuestos Orgánicos del plomo		V.3.6 Parámetros de desempeño del	
.....	17	método	38
IV.18.1 Usos y fuentes de exposición del		V.3.6.1 Curva de calibración normal	
plomo orgánico.....	17	(C.C.N)	38
IV.18.2 Mecanismo de acción del plomo		V.3.6.2 Curva de calibración por adición	
orgánico.....	17	patrón (C.A.P), agregando estándar	
IV.18.3 Efectos sobre la salud.....	18	antes de digestar la muestra de orina .	38
IV.19 Técnica analítica electroquímica		V.3.6.3 Curva de calibración por adición	
utilizada en la determinación de plomo		patrón (C.A.P), agregando estándar	
.....	18		



después de digerir la muestra de orina	39	VI.9.2.1 Cálculo de la incertidumbre en la medición de corriente de pico (i_p)	52
V.3.6.4 Repetibilidad del método	39	VI.9.2.2 Cálculo de la incertidumbre de la concentración de plomo en la muestra de orina en el análisis de rutina	53
V.3.6.5 Porcentaje de recuperación y efecto de matriz	39	VI.10 Comparación entre los resultados obtenidos por la curva de calibración por adición patrón y los obtenidos con una sola adición patrón (Análisis de rutina).....	55
V.3.6.6 Estudio del efecto de la adición del estándar en la muestra	40	VI.10.1 Curva de calibración por adición patrón	55
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..	41	VI.10.2 Análisis de rutina (adición de un solo estándar a la muestra).....	57
VI.1 Optimización del tiempo de digestión de la muestra.....	41	VII CONCLUSIONES.....	62
VI.2 Estudio de la repetibilidad del método de análisis de plomo en orina	42	VIII RECOMENDACIONES	63
VI.3 Estudio de la exactitud del método. Porcentaje de recuperación.....	44	IX BIBLIOGRAFÍA	64
VI.4 efecto de la adición del estándar, antes y después de la digestión, en la curva de calibración	45	X ANEXOS	66
VI.5 Efecto de matriz	46	X.1 Tablas de datos de algunos parámetros de validación	66
VI.6 Linealidad.....	47	X.2 Proceso de estimación de la incertidumbre.....	69
VI.7 Límite de detección y límite de cuantificación	48	X.3 Flujograma de la determinación de plomo en muestras de orina por voltamperometría de redisolución anódica.....	70
VI.8 Control de calidad de la curva de calibración normal y de adición patrón	49	X.4 Deducción de la ecuación para la incertidumbre en el cálculo de la concentración a partir de la curva de adición patrón	71
VI.9 Evaluación de la incertidumbre en la determinación de plomo en orina.....	51	X.5 Esquema del proceso de obtención de agua tridestilada libre de plomo.....	74
VI.9.1 Evaluación de la incertidumbre en el cálculo de la concentración a partir de una curva de adición patrón.....	51		
VI.9.2 Evaluación de la incertidumbre en el cálculo de la concentración utilizando para el análisis una sola adición estándar (análisis de rutina) ..	52		



I RESUMEN

En el presente trabajo se llevo a cabo la validación del método voltamperométrico para la determinación de plomo en muestras de orina, para lo cual se evaluaron los parámetros que definen el desempeño del método. Primero se optimizó el tiempo de digestión de la muestra. Luego se estudiaron los parámetros de validación tales como: repetibilidad, linealidad, porcentaje de recobro, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LD), y la sensibilidad del método. Los valores de LD y LC son 0.066 μg de plomo / L de orina y de 2.007 μg de plomo / L de orina respectivamente, los cuales están por debajo de los niveles permisible de plomo en orina humana. En personas no expuestas a un medio ambiente contaminante el límite tolerable es de 40 μg de plomo / L de orina, y de 66 μg de plomo / L de orina en personas expuestas a un medio ambiente contaminante.

Se efectuó el estudio de repetibilidad de las curvas de calibración (normal y de adición patrón) a través de una carta de control tomando en cuenta simultáneamente los parámetros de regresión intercepto (b_0) y pendiente (b_1), y a demás se evaluó el ajuste del modelo de regresión lineal.

Finalmente se evaluó la incertidumbre para la determinación de la concentración de plomo en muestras de orina a partir de la curva por adición patrón y por medio de la adición de un solo estándar a la muestra (método de rutina), y de todos los parámetros de dilución tanto para la muestra como para el estándar.



II INTRODUCCIÓN

El plomo es un componente normal de la corteza terrestre y se encuentra ampliamente distribuido a lo largo de la naturaleza. Las condiciones de ductilidad y maleabilidad del plomo han hecho que este metal haya sido utilizado por el hombre desde la más remota antigüedad.

Actualmente la toxicidad del plomo no solo se extiende a los ambientes laborales en los que se utiliza este metal, sino que llega también a ser un elemento importante en la contaminación ambiental debido fundamentalmente al empleo de tetraetilo de plomo y tetrametilo de plomo como antidetonante en los carburantes de los automóviles.

En los países más industrializados en los últimos 10-15 años se han dictado normas cada vez más restrictivas sobre la utilización del plomo en la gasolina llegando a disminuir la concentración de plomo en el aire, en torno al 50 % según estudios europeos llevados a cabo en el periodo 1979-89 [1].

En Nicaragua instituciones del gobierno y organismos privados han discutido seriamente el problema que ocasionan los desechos de la pequeña, mediana, y gran industria. En León existen empresas que manipulan y emplean el plomo en distintos procesos y operaciones (como fabricas de baterías) que ponen bajo riesgo de contaminación no solamente a las personas que laboran en ese medio ambiente contaminado sino también a las personas que viven en los alrededores. La emisión de vapores es una fuente importante de contaminación del medio ambiente en general. En Nicaragua se han efectuado estudios del plomo en personas expuestas y no expuestas a un medioambiente contaminado, encontrándose estudios de plomo en sangre venosa llevados a cabo con la técnica de absorción atómica de llama y de voltamperometría de redisolución anódica [2], sin embargo no se encuentran evidencias de estudios realizados en muestras de orina. El presente trabajo propone el método voltamperométrico de redisolución anódica para el análisis de plomo en orina como diagnóstico de la contaminación en un paciente.



III OBJETIVOS

III.1 Objetivo general

Validar el método voltamperométrico para la determinación de plomo en muestras de orina, utilizando la técnica de redisolución anódica.

III.2 Objetivos específicos

1. establecer el tiempo óptimo de digestión e la muestra de orina para la determinación de plomo.
2. estudiar el efecto de la matriz de orina en la determinación de plomo.
3. evaluar los parámetros de exactitud, linealidad, repetibilidad, límite de detección y límite de cuantificación.
4. evaluar la incertidumbre en la medición analítica.



IV MARCO TEÓRICO

IV.1 generalidades sobre el plomo

El plomo existe en una variedad de minerales de los cuales los más importantes son la galena (PbS), cericita ($PbCO_3$), y la anglesita ($PbSO_4$), la galena es la fuente más importante de plomo. El plomo ocupa el lugar 36 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre, de color blanco azulado, es sólido a 198 K, funde a 328 °C, su punto de ebullición es de 1740 °C, con una densidad de 11,34 g/ml (a 20 °C), se disuelve fácilmente en ácido nítrico.[3].

IV.2 Usos y fuentes de exposición al plomo

El plomo (Pb) tiene múltiples aplicaciones en la industria y se usa tanto en forma sólida como líquida, generando polvo, humos o vapores, según se realicen unas operaciones u otras. Es imposible hacer una relación exhaustiva de todas las industrias u operaciones que constituyen fuentes de exposición laboral.

Según el riesgo de intoxicación las actividades se pueden clasificar en actividades de elevado riesgo y de riesgo moderado, tomando en consideración: las características fisico-químicas de plomo (polvo, aerosoles, etc.), vías de entrada, intensidad de exposición, duración, etc. Así se puede considerar que las actividades de mayor riesgo son aquellas en las que el plomo metálico o inorgánico es calentado y se forman aerosoles y humos en grandes cantidades.[4].



IV.3 Actividades de elevado riesgo

- Metalurgia del plomo. Fundición y refinado.
- Recuperación del plomo y residuos metálicos que lo contengan (chatarra).
- Industrias de la construcción (tubos de fontanería).
- Fabricación y reciclado de acumuladores eléctricos (Baterías).
- Soldaduras de objetos y aleaciones de plomo.
- Tratamientos térmicos en baños de plomo.
- Fabricación de explosivos.
- Fabricación y manipulación de arseniato de plomo como insecticida.
- Fabricación y utilización de pinturas, esmaltes y barnices compuestos de sales y óxidos de plomo.
- Industrias de plástico que utilicen aditivos a base de plomo.

IV.4 Actividades de riesgo moderado

- Fabricación de municiones de plomo y su utilización en locales cerrados.
- Trabajos de demolición, especialmente raspados, quemado y oxicorte de materiales recubiertos con pinturas de plomo.
- Fabricación de cables.



IV.5 Mecanismo de acción. Tóxico cinética del plomo inorgánico

IV.5.1 Vías de penetración

- *Vía respiratoria*

Es la vía de entrada más importante, penetrando por inhalación de vapores, humos y partículas de polvo. El 50 % del plomo depositado en los pulmones se encuentra en sangre circulante tras aproximadamente 50 horas, pasando un porcentaje a tejidos o siendo eliminado.[5]. el grado de absorción de plomo por esta vía depende de la concentración ambiental en el puesto de trabajo, del tiempo de exposición, de la forma física (vapores, humos, tamaños de partículas) y química del plomo inhalado, de factores personales (edad, tipo de ventilación), y de las condiciones de trabajo (temperatura, humedad y ventilación ambiental, y nivel de esfuerzo físico).

- *Vía oral*

Las partículas de polvo de plomo son ingeridas directamente a través de las manos, alimentos, bebidas o cigarrillos contaminados en el ambiente de trabajo. Constituye la segunda vía de entrada, en importancia de plomo en el organismo. Hay también un porcentaje de plomo que después de haber sido absorbido es posteriormente vertido al tubo digestivo por los mecanismos de aclaramiento pulmonar.

Del 5 al 10 % del plomo ingerido por esta vía pasa a la sangre, siendo el resto eliminado por las heces [6]. Por otra parte la absorción de plomo por esta vía es más elevada en la mujer que en el hombre [5].

No respetar las reglas de higiene en el lugar de trabajo (comer, beber o fumar), así como deficiencias en la higiene personal y/o deficiencias en las instalaciones sanitarias en la empresa pueden tener como consecuencia una importancia importante del tóxico por esta vía.

- *Vía cutánea*

La absorción por esta vía es débil en el caso del plomo inorgánico al contrario que en el plomo orgánico.

Hay que señalar que la población expuesta al plomo por razones laborales esta más o menos en contacto continuo con este metal a través de la alimentación habitual o en el ambiente urbano, sin que en ninguna de las poblaciones adultas estudiadas en nuestro continente la concentración media de plumbemia alcance el nivel de 30 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. En los últimos años se ha constatado un aumento en el número de estudios sobre efectos del plomo en población general expuesta a bajas concentraciones.

IV.6 Distribución y almacenamiento del plomo en el organismo

Una vez que el plomo pasa a la sangre se establece un intercambio dinámico entre los diferentes tejidos a los que el plomo se dirige. Estudios científicos realizados [7] sugieren que un modelo de tres compartimentos permite explicar la distribución del plomo en el organismo humano (Fig. 1).

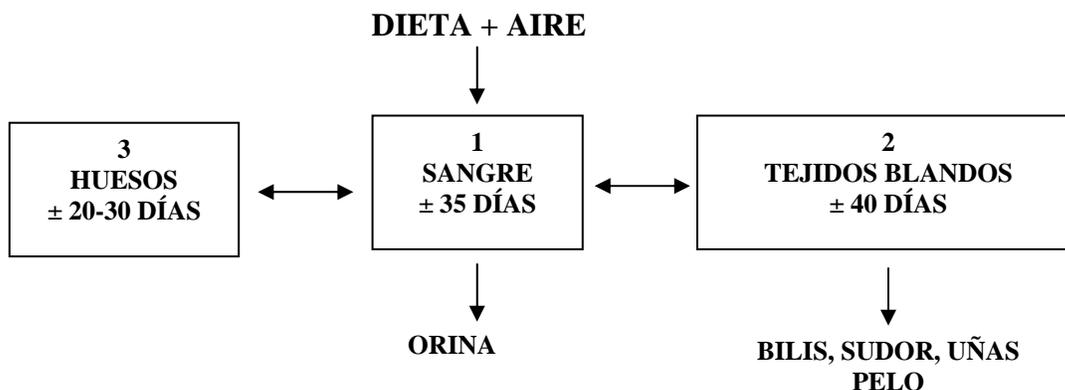


Figura 1. Distribución del plomo. Modelo de los tres compartimentos en el organismo humano. Puede verse la vida media del plomo en el organismo humano en cada uno de ellos [7].



Tras la inhalación o ingestión del plomo absorbido pasa al torrente sanguíneo desde donde se distribuye a los diferentes compartimentos. El 95 % del plomo sanguíneo está unido a los eritrocitos. La vida media del plomo en el compartimento sanguíneo es de 35 días, pero pueden aparecer grandes variaciones individuales.

El segundo compartimento lo constituyen los tejidos blandos (tejido nervioso, riñón, hígado, etc.) la vida media del plomo en este caso es de 40 días. De entre todos los compartimentos el esqueleto es quien contiene la gran mayoría (80-90 %) del plomo almacenado en el organismo. La vida media del plomo en los huesos es de 20 a 30 años [7]. Una parte del plomo depositado a nivel óseo se encuentra en forma inestable y por tanto fácilmente movilizable en determinadas condiciones (acidosis, descalcificación) y en equilibrio con la sangre. El resto queda almacenado (tejido óseo compacto) y va aumentando progresivamente a medida que continua la exposición.

Tanto los tejidos blandos como la sangre constituyen las unidades de intercambio activo, mientras que el esqueleto constituye la unidad de almacenamiento o de intercambio lento [8].

IV.7 Vías de eliminación del plomo absorbido

El plomo absorbido es eliminado principalmente a través de la orina, una pequeña parte es eliminada a través de las bilis en las heces. La porción de plomo que ha sido ingerida y no absorbida es eliminada por las heces. Otras vías de eliminación son la saliva, el sudor y la leche.

En el caso de baja exposición al plomo existe un equilibrio entre el aporte del tóxico y la eliminación. Pero una vez pasado cierto nivel, la eliminación del plomo no se corresponde con el grado de carga corporal del metal; se ha producido acumulación y comienza el riesgo de intoxicación. El nivel referido depende no solamente del grado de exposición al plomo, sino también de la edad y de la integridad de órganos importantes para su metabolismo y eliminación, como el hígado y el riñón.



IV.8 Efectos sobre la salud

Aunque el plomo es uno de los metales de utilización más antiguo, el mecanismo de su acción tóxica es todavía imperfectamente conocido y sigue siendo objeto de numerosos estudios. Sin embargo, se conocen las acciones más importantes:

IV.9 Efectos sobre el tejido hemapoyético

Los efectos de la acción del plomo en este tejido, aunque a nivel clínico no sean necesariamente los más importantes, han permitido proponer métodos de despistaje precoz de la impregnación saturnina [5].

La concentración de plomo en la médula ósea es muy importante lo que explicaría la alteración de los glóbulos rojos que este metal produce:

a) Inhibiendo la síntesis de hem en los heritroblastos

El plomo bloque varias enzimas necesarias para la síntesis del grupo hem de la hemoglobina: delta-ALA-deshidratasa (ALA-D), coproporfirinógeno III, decarboxilasa y ferroquelatasa (Fig. 2). Estos efectos dependen de la dosis de absorción, siendo la más temprana la de la inhibición del ALA-D. Por otro lado, la actividad de la enzima ALA-sintetasa será estimulada por un estímulo “feed-back” como consecuencia del déficit del hem produciéndose también un aumento del ALA.

Las consecuencias biológicas de este efecto de inhibición son:

- Aumento de la tasa de ALA en sangre y orina (ALA-B, ALA-U).
- Aumento de la concentración de coproporfirinógeno III en los hematíes y de coproporfirinógeno III en orina.
- Aumento de la tasa de protoporfirina IX en los hematíes.
- Aumento en la tasa de hierro sérico.



b) Alteración morfológica de los precursores de los glóbulos rojos

En una punción esternal pueden ser observados algunos megaloblastos, eritroblastos poliploides y punteado basófilo en los eritroblastos. La acción inhibidora del plomo sobre la enzima piridin-5-nucleotidasa es responsable de la reducción-degradación del ARN en los retículos en vía de maduración y de persistencia en las granulaciones basófilas [5].

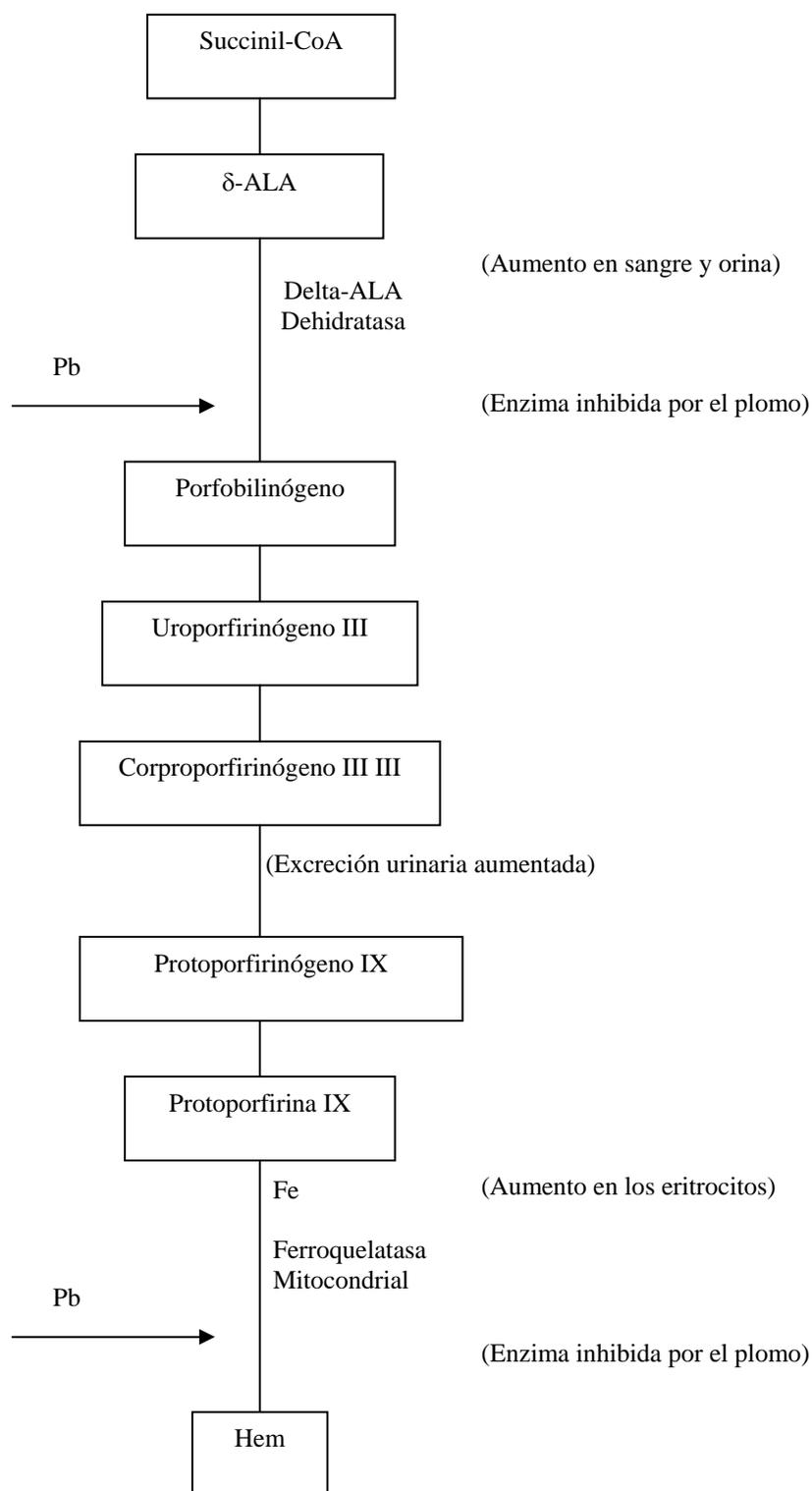


Figura 2. Efectos del plomo en la biosíntesis del Hem [7].



IV.10 Efectos sobre los glóbulos rojos circulantes

La fragilidad mecánica de los glóbulos rojos parece aumentar, aunque este factor no es suficiente para explicar la anemia. La vida media de los glóbulos rojos disminuye ligeramente. Este hecho permite clasificar la anemia saturnina entre las anemias hemolíticas [5].

IV.11 Efectos sobre el sistema nervioso

El plomo es un neurotóxico periférico y central. Interfiere la aceleración de la acetil colina o bien la reabsorción de colina y la síntesis consecuente de la acetilcolina. La adenilciclase del SNC es inhibida por el plomo [5].

IV.12 Efectos a nivel renal

Se distinguen tres fases en la respuesta renal a una exposición prolongada al plomo:

- I. Primera fase (de duración inferior a un año): caracterizada por la presencia de inclusiones intranucleares del complejo plomo-proteína en las células tubulares, excreción elevada de plomo; no hay todavía perturbaciones de la función renal.
- II. Segunda fase: tras algunos años de exposición las células tubulares han perdido la capacidad de formar inclusiones intranucleares. Los riñones excretan menos plomo y presentan un cierto grado de fibrosis intestinal. La función renal comienza a alterarse.
- III. Tercera fase: se produce una nefritis crónica. La lesión es principalmente tubular si bien puede afectar también a nivel glomerular.



IV.13 Efectos sobre la reproducción

Según datos de la organización intercambios del trabajo (OIT) [9], el plomo puede ser transmitido de la madre al feto por transferencia placentaria estando expuesto casi a la misma concentración de plomo que la madre.

A este nivel se ha escrito un aumento de abortos espontáneos, también la exposición paterna esta asociada con la aparición de abortos [10].

IV.14 Efectos sobre el efecto cardiovascular

Ha sido descrito el efecto favorecedor del plomo en el desarrollo de afecciones cardiovasculares: hipertensión y aumento de riesgo coronario, entre otros [11].

Las alteraciones cardíacas pueden producirse por tres mecanismos:

- Hipertensión arterial por afección renal primaria.
- Aumento de las resistencias periféricas por alteración de la pared de los vasos sanguíneos.
- Por infiltración celular en el tejido específico de conducción [12].

IV.15 Efectos carcinogénicos

Se ha demostrado repetidamente que la exposición al plomo produce cáncer en animales de laboratorio. Estudios epidemiológicos han encontrado un aumento significativo para varios tipos de cáncer (estómago, pulmón, y vjiga) [10]. Por ello queda abierta todavía la cuestión de una eventual acción cancerígena del plomo.



IV.16 Manifestaciones clínicas

A. *Intoxicación aguda*

Es muy fácil observarla actualmente en la industria de nuestro medio. Los síntomas son:

- A nivel del aparato digestivo: cólico saturnino con dolor, vómitos y estreñimientos.
- A nivel del sistema nervioso: encefalopatía saturnina con convulsiones y coma que conduce a la muerte en dos o tres días. También puede presentarse en forma de delirio o psicosis tóxica.
- A nivel renal: albuminuria, cilindruria, oliguria.
- A veces hay afección hepática pudiendo aparecer desde una necrosis hepática hasta una ligera histolisis [13].

A. *Intoxicación crónica*

Es la que podemos encontrar en la industria. Pueden distinguirse tres fases [5]:

- Presaturnismo o fase de impregnación.
- Intoxicación franca.
- Intoxicación aguda (secuelas).

(a) Fase de impregnación: caracterizada por una plumbemia menor, es en esta fase cuando la acción de prevención del saturnismo es clave. No se trata todavía de una enfermedad establecida, pero existen ya datos indicadores de alteraciones metabólicas. Puede haber estreñimiento y molestias gastrointestinales, fatiga, modificaciones del humor, pérdida de memoria y la capacidad de atención, dolores musculares y articulares e insomnio.

(b) Fase de intoxicación franca: las manifestaciones pueden ser:

- Alteraciones del estado general.



- Cólico saturnino.
- Poli neuritis motora: se trata de una afección motora que atañe en general a los músculos más activos de las extremidades superiores, se puede curar en semanas o meses al suprimir la exposición al tóxico.
- Encefalopatía saturnina: es la manifestación más grave del saturnismo. Las formas más agudas pueden variar del delirio y la psicosis tóxica, a las convulsiones, coma y muerte.
- Acción tiroidea: disminución de la captación del yodo por la glándula tiroides.
- Afección testicular: hipoespermia.

(c) fase de impregnación antigua: la absorción prolongada de plomo puede tener como consecuencia hipertensión permanente, nefritis crónica [5] y alteraciones cardíacas [11].

IV.17 Indicadores de exposición

IV.17.1 Plumbemia

En la práctica esta puede ser revelada como el medio más útil para evaluar el grado de exposición del individuo al plomo. La cantidad de plumbemia es función del plomo absorbido por el organismo menos el depositado en los huesos y tejidos blandos y el plomo excretado en orina y heces [8].

Siendo la plumbemia un indicador válido para revelarnos el grado de exposición reciente, no lo es sin embargo para informar sobre la carga corporal o cantidad de plomo acumulado en el organismo, sino sobre la intensidad de las alteraciones metabólicas.

Alejado el trabajador de la exposición, la plumbemia disminuye aunque el metal acumulado en el organismo puede seguir ejercitando su acción tóxica durante un tiempo.

La plumbemia se expresa en μg de plomo/100 ml de sangre, a pesar que sería preferible expresarlo por volumen de hematies, ya que el 95 % del plomo sanguíneo está fijado en los glóbulos rojos.

La recogida de la muestra se hace mediante la extracción de sangre venosa en pacientes exentos de plomo, utilizando heparina o EDTA como anticoagulantes. El mantenimiento de las muestras debe hacerse a temperaturas entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ [1].



IV.17.2 Plumburia

A veces, este parámetro de exposición es preferido a otros por la simple ventaja de no necesitar extracción sanguínea, pero la correlación entre la plumburia y la plumbemia para valoraciones individuales no es muy buena en razón de la fluctuación de la plumburia en el tiempo.

La plumburia es más fidedigna que la plumbemia para la vigilancia del enfermo y la valoración de los resultados del tratamiento, (las concentraciones en orina son fijas, mientras que las plasmáticas cambian fácilmente).

La plumburia se expresa en μg de plomo/g de creatinina o en μg de plomo/L de orina, la plumburia se da a concentraciones mayores de $80 \mu\text{g}$ de plomo/orina de 24 horas. La muestra de orina se recoge en recipientes exentos de plomo y deber ser mantenida entre 2°C y 8°C de temperatura. Debe tenerse especial cuidado en evaluar la concentración ambiental de la muestra [1].

IV.17.3 Plumburia provocada

Se realiza mediante sustancias quelantes del plomo como EDTA Na_2Ca o por el ácido dimercaptosuccinico. Es el mejor indicador de la carga corporal total del plomo. Depende directamente del depósito activo del metal en los tejidos blandos y en la trabécula ósea.

Se utiliza como medio diagnóstico y tratamiento en la intoxicación aguda, así como medio diagnóstico en las manifestaciones crónicas atribuibles al plomo y que se presentan como casos dudosos [1].



IV.18 Compuestos Orgánicos del plomo

El plomo se combina con el radical alquilo formando compuestos alquílicos, de los cuales los únicos con importancia industrial actual son el plomo tetraetilo y el plomo tetrametílico. Son compuestos líquidos, miscibles en todas las proporciones con gasolina (y otros disolventes orgánicos) por lo que se utilizan como antidetonantes en la gasolina [9].

IV.18.1 Usos y fuentes de exposición del plomo orgánico

El riesgo de exposición se da sobretodo en la preparación y transporte de las mezclas antidetonantes, constituidas en un 50-60 % de tetraetilo de plomo y tetrametilo de plomo. Colorantes y mezclas de hidrocarburos clorados o bromados, entre otras sustancias, forman parte del resto de los componentes de los preparados antidetonantes.

IV.18.2 Mecanismo de acción del plomo orgánico

Las vías fundamentales de penetración son la respiratoria y la cutánea. La vía digestiva estará reservada a la ingestión accidental. Una vez absorbido el tetraetilo de plomo se concentra principalmente en el hígado donde es transformado en trietilo de plomo. Este último se distribuye en diferentes órganos, sobre todo en el cerebro donde ejerce su acción tóxica [5].

El tetraetilo de plomo no interfiere directamente en la síntesis del Hem aunque la actividad de la ALA-D es significativamente inhibida en trabajadores expuestos tanto a tetraetilo de plomo como a tetrametilo de plomo. La explicación de este fenómeno sería la liberación de plomo inorgánico en el organismo [14].

La toxicidad del tetraetilo de plomo es mayor que la del tetrametilo de plomo como represor del sistema nervioso central.

La eliminación de estos compuestos orgánicos se hace fundamentalmente por vía urinaria.

La sintomatología se atribuye más a los propios compuestos y a la parte del plomo inorgánico liberado que a la acción de los hidrocarburos [14].



IV.18.3 Efectos sobre la salud

Se manifiesta como una intoxicación aguda sobre el SNC. Las manifestaciones más leves toman la forma de insomnio, excitación nerviosa en asociación con temor, contracciones musculares espasmódicas, hipotensión e hipotermia. Las formas más severas incluyen episodios recurrentes de completa desorientación, como alucinaciones e intensa actividad muscular.

IV.19 Técnica analítica electroquímica utilizada en la determinación de plomo

IV.19.1 Voltamperometría de redisolución anódica

Cuando las concentraciones de las especies electroactivas son muy pequeñas, la principal causa del límite de detección es la presencia de corrientes faradáicas débiles con respecto a las corrientes capacitivas. Una manera de resolver este problema es de acumular la especie electroactiva cerca de la superficie del electrodo indicador.

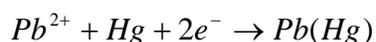
Esta técnica comprende dos etapas principales: se realiza primero una acumulación de materia (depósito) sobre o en el electrodo (electrodo sólido o de mercurio) por microelectrólisis a potencial controlado en condiciones adecuadas (agitación, duración, temperatura). Luego, después de un corto tiempo de reposo se empieza la redisolución imponiendo un barrido conveniente de potencial, mientras se registra en función del tiempo la corriente que atraviesa el electrodo. En general, la electrólisis consiste en una reducción, la reducción efectuándose mediante un barrido anódico de los potenciales, sin embargo, existen varios ejemplos de redisolución catódica [15].

La preelectrólisis se realiza en régimen de difusión estacionaria con un electrodo de gotas de mercurio (solución agitada). El potencial en esta etapa es constante y elegido de tal manera que la sustancia a analizar sea reducible y forme una amalgama con el mercurio (gota pendiente de mercurio). Debido a que el área del electrodo es pequeña y que el tiempo de electrólisis no es muy largo con respecto al tiempo que se necesite para una

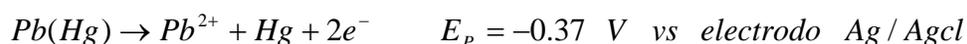


electrólisis completa, la corriente durante esta etapa queda relativamente constante e igual a la corriente de difusión (i_d). El número de moles depositados se obtiene por $i_d \cdot t_{\text{elect}} / nF$. Como la electrólisis no es completa, la obtención de una buena precisión necesita que las condiciones experimentales (agitación, tiempo de electrólisis, temperatura) sean idénticas en todas las manipulaciones.

La reacción en el transcurso de esta etapa es la siguiente:



Después de la preelectrólisis se interrumpe la agitación de la solución, esta queda en reposo durante un tiempo relativamente corto. Luego se procede a la variación lineal del potencial (solución no agitada; régimen de difusión natural) en el sentido positivo a partir del potencial de preelectrólisis, la especie amalgamada se oxida:



Esta etapa, llamada de redisolución puede corresponder a un barrido sencillo de potencial (cronoamperometría lineal por redisolución anódica) o a una polarografía de impulsos constantes (polarografía por redisolución anódica), combinando las ventajas de las dos técnicas a nivel analítico, se obtiene un pico de redisolución proporcional a la concentración de la especie y al tiempo de preelectrólisis. Se pueden alcanzar límites de detección de 10^{-10} M.

La voltamperometría de redisolución anódica (ASV) es una de las técnicas más sensibles para el análisis de metales trazas, es de 10 a 100 veces más sensible que las técnicas de absorción atómica para algunos metales, lo que corresponde a límites de detección del orden de ng/L. Esta técnica no requiere un procedimiento de extracción o de preconcentración de las muestras, no es destructiva y pueden determinarse de 4 a 6 elementos a la vez. Las principales desventajas es que solo se pueden analizar metales que forman amalgamas con el mercurio, el tiempo de análisis es muy grande con respecto a los métodos espectroscópicos, y se presentan ciertos inconvenientes cuando se requieren grandes sensibilidades al requerir el uso de reactivos de calidad ultrapuro (calidad análisis



de trazas), cuartos blancos, el uso de materiales y equipos de laboratorios adecuados y tratados para tal fin, así como de agua muy pura.

La voltamperometría es una técnica electroquímica que está basada en el comportamiento de la corriente y el potencial en una superficie de un electrodo que en la ASV es el electrodo de mercurio. El potencial del electrodo se varía de manera sistemática, esto es una razón magnitud/tiempo para provocar una reducción u oxidación de la especie electroactiva.

Se obtiene una señal de respuesta en forma de un pico caracterizado por un valor de corriente de pico (i_p) que es proporcional a la concentración de la especie en solución y un potencial de pico (E_p) que es característico de cada especie en un medio particular.

La voltamperometría esta destinada principalmente para el análisis de trazas, pero puede utilizarse para análisis de rutina a niveles de sub-ppm. No es recomendable el uso para muestras que exceden 1 ppm.

En la ASV, el electrodo de trabajo es el electrodo de gotas de mercurio con la particularidad de que la gota está suspendida mientras dura el análisis, éste cumple con ciertas características: al brindar una superficie reproducible y una baja corriente residual, los dos tipos de electrodos más ampliamente usados son el electrodo de gotas de mercurio suspendida (HMDE) y el electrodo de película de mercurio (TFME). La escogencia del tipo depende del rango de concentraciones requerido. El electrodo de HMDE se recomienda para analizar muestras desde 1 $\mu\text{g/L}$ a 10 mg/L y el TFME para muestras menores de 1 $\mu\text{g/L}$ [16].



IV.19.2 Fundamento teórico

La voltamperometría de redisolución anódica consta de tres etapas:

1. Consiste en una electrodeposición de la especie electroactiva por medio de una oxidación o reducción, se realiza a un potencial E_d que debe ser elegido de tal manera que se obtenga una electrodeposición cuantitativa de la especie, el valor de E_d debe estar comprendido en la zona de potencial donde se alcanza la corriente límite de difusión. Para seleccionar éste valor se debe hacer un estudio del dominio de electroactividad de la especie en el electrolito soporte por medio de la polarografía de corriente directa o la polarografía diferencial de impulsos, a la vez se obtiene información sobre el valor del potencial de pico de la especie como criterio cualitativo.

En esta etapa un parámetro fundamental es el tiempo de electrodeposición (T_d). La selección de éste debe tomar en cuenta la sensibilidad requerida de acuerdo con la concentración de la especie o los límites de detección que se quieren alcanzar y considerar también el tiempo del análisis porque a medida que se incrementa el T_d se aumenta la sensibilidad de la técnica pero el tiempo del análisis también se aumenta, por lo que se sugiere un sacrificio entre la sensibilidad y el tiempo del análisis que será determinado por la concentración de la especie, se sugiere un tiempo de 180 seg.

2. La segunda etapa es la etapa de equilibrio o reposo, en esta se restablece la homogeneidad de la solución y se evitan corrientes de convección que se originan después de un periodo de agitación durante la etapa de electrodeposición. Un tiempo de 30 seg.
3. En la tercera etapa se realiza la redisolución que en nuestro caso es anódica, la especie previamente reducida en la primera etapa se oxida, al realizarse en el electrodo de mercurio un barrido de potencial desde un valor de potencial que corresponde al E_d a un potencial final que debe tener un valor de potencial donde la señal de respuesta se defina bien y se pueda obtener una muy buena línea base para hacer las mediciones de corriente de pico.



En esta etapa el potencial que es aplicado al electrodo se hace variar a una velocidad v (potencial/tiempo) que recorre una rampa de potencial, la selección de este parámetro es fundamental ya que influye sobre: el tiempo de análisis y la forma de los picos, dado que dependiendo del comportamiento cinético de la especie en la superficie del electrodo la v puede influir significativamente sobre la reversibilidad o irreversibilidad de la especie y esto puede hacer variar la forma del pico.

Sobre la rampa de potencial se pueden superponer impulsos u ondas (cuadradas) que dan origen a dos modalidades de la ASV como la voltamperometría de redisolución anódica con diferencial de impulso (DPASV) y la voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada (SWASV).

La instrumentación que tenemos permite realizar la DPASV y no la SWASV, en la DPASV se superponen impulsos, la magnitud de los impulsos ΔE es un parámetro fundamental al influir sobre la sensibilidad y la resolución porque al aumentar la magnitud del impulso se obtienen corrientes de pico más grandes con lo que se incrementa la sensibilidad pero los picos son más anchos [17].

IV.20 Validación de métodos analíticos

IV.20.1 Definición

La validación del método es un requisito importante en la práctica del análisis químico. La validación es el conjunto de verificaciones necesarias para asegurar las características de desempeño y limitaciones de un método y demostrar que este está regido bajo las condiciones para las cuales debe ser aplicado. Se comparan los parámetros de desempeño del método con los requerimientos necesarios de los datos analíticos

La validación de un método es un proceso basado en la confirmación de su desempeño y de que el mismo es consistente con los requerimientos de su aplicación. El laboratorio de servicio y su personal tienen una clara responsabilidad de justificar la confianza del cliente, proporcionando la respuesta correcta a la parte analítica del problema, en otras palabras debe demostrarse que los resultados son “adecuados para el propósito”. Para esto será



suficiente que cualquier decisión que se tome basada en él sea confiable. De manera que, el desempeño del método debe ser válido y, de igual manera, deberá estimarse la incertidumbre del resultado y analizar las muestras adecuadas [18].

IV.20.2 Jerarquía de la metodología

La jerarquía de la metodología procede de lo general a lo específico, puede considerarse como sigue:

Técnica → método → procedimiento → protocolo

TÉCNICA: principio científico útil para proveer información sobre la composición de una sustancia.

MÉTODO: Adaptación de una técnica para mediciones de parámetros analíticos seleccionados.

PROCEDIMIENTOS: direcciones generales escritas necesarias para utilizar un método.

PROTOCOLO: serie de direcciones definitivas que deben seguirse sin excepción para utilizar un método.

IV.20.3 Validación de un método

Algunos aspectos importantes a tomar en cuenta para ver si es necesario verificar las características de desempeño de la validación de un método, y saber si son las adecuadas para su uso en la resolución de un problema analítico en particular. La validación es necesaria en los siguientes casos:



- ◆ Desarrollo de un método nuevo para resolver un problema.
- ◆ Revisión de un método establecido para incorporar mejoras o ampliar su aplicación a un nuevo problema.
- ◆ Cuando el control de calidad indica que un método establecido está cambiando a través del tiempo.
- ◆ Un método establecido por primera vez en un laboratorio (diferente) o con diferentes analistas o instrumentos de laboratorio.
- ◆ Para desarrollar la equivalencia entre dos o más métodos (el nuevo y el normal o revalidación).

IV.20.4 Desarrollo del método

Puede tomarse de diferentes formas: en un extremo, puede significar adaptar un método existente, realizando cambios menores, de tal manera que sea adecuado para la nueva aplicación, en el otro extremo el químico analista podrá comenzar desde unas ideas en borrador y aplicar la experiencia para establecer un método adecuado, al punto de que podría involucrar una innovación significativa [18].

IV.20.5 Parámetros de desempeño del método y su significado

El método de la adición patrón

Uno de los principales problemas en las determinaciones de los analitos en las muestras es el efecto de matriz, la cual se define como las interferencias de los diferentes componentes de la muestra en la determinación del componente principal. Esto significa que la señal detectada será una respuesta no solamente del componente principal (o analito) sino debido a otros componentes de la matriz, el efecto de matriz puede o aumentar o disminuir la señal verdadera, lo que trae como consecuencia un error sistemático en la determinación analítica. Para minimizar las interferencias de la matriz, se ha implementado la curva de calibración por el método de adición estándar [19].



La técnica analítica más común para el análisis cuantitativo se basa en la concentración de una curva patrón o estándar.

Adición patrón: para ganar seguridad en la utilización de las rectas de calibrado, o sea, de la correcta similitud en el comportamiento de patrones y problemas, es aconsejable el método de la adición estándar.

Las dudas suelen presentarse en los sistemas analíticos complejos o para las muestras difícilmente reproducibles en los patrones, cual es el caso de alimentos, muestras biológicas o del medio ambiente, y evidentemente cuando ocurren las dos circunstancias, por ejemplo en la determinación de metales pesados por voltamperometría de redisolución anódica en sangre. La duda surge al no disponer de muestras de la misma matriz pero sin contaminación del metal, para utilizarla en la preparación de los patrones de calibración. Una solución es preparar los patrones con la misma muestra. Para ello se toman varios volúmenes iguales de la disolución a analizar, añadiendo a alguna de ellas cantidades perfectamente conocidas de la especie química a determinar y todas las alícuotas se enrazan al mismo volumen. Con ello se dispone de una serie de patrones que contienen a demás de la cantidad problema (no conocida). Las cantidades adicionadas, incluyendo la adición cero y valores que cubren el margen de linealidad. El método de las adiciones se apoya en dos premisas no siempre válidas, una es suponer que en el sistema analítico los patrones los patrones adicionados se comportan de la misma forma que lo hace la sustancia contenida en la muestra, pues no podemos asegurar que correspondan a la misma especie o combinación química (estado de oxidación o complejación, etc.). otra suposición es que la relación señal/concentración, mantiene la misma función lineal (concretamente la misma pendiente) fuera del margen calibrado, pues se deduce la concentración por extrapolación. Si con el método de la adición patrón se detecta interferencia, se recomienda modificar las condiciones experimentales o utilizar modificaciones de la matriz para eliminar o reducir al mínimo las interferencias [19].

Los criterios de eficiencia pueden clasificarse en primarios y secundarios, los criterios primarios son:



- A. Precisión, es una medida de que tan cerca están los resultados entre sí y usualmente se expresa por medio del valor de la desviación estándar, que describe la dispersión o sea, que describe el tamaño de los errores aleatorios.
- B. Exactitud o Bias (sesgo), mide la magnitud de los errores sistemáticos.
- C. Límite de detección, mide la cantidad mínima que puede diferenciarse de la señal de ruido de fondo.

$$L.D = \frac{3.29 * Sb_0}{b_1}$$

Uno de los puntos característicos de la resta de calibrado es la señal para la concentración cero, que puede tener diferente significado si corresponde a la medida realizada sobre los reactivos sin la muestra (prueba en blanco de los reactivos). O bien, se realiza sobre la muestra sin alguno de los reactivos esenciales (prueba en blanco de la matriz de la muestra). Las explicaciones que pueden darse a las desviaciones desde cero hacia valores positivos o negativos de la señal para las pruebas en blanco, constituyen un buen índice en el grado de conocimiento que el científico posee del conocimiento analítico [19].

Ambas señales de las pruebas en blanco suelen acumularse sobre las de la muestra, aunque de manera diferente a las señales de los patrones, por lo que es más prudente mantener estos valores en la representación de la recta de calibrado, y sustraer al resultado de concentración del correspondiente a la prueba del blanco. La señal de la prueba en blanco también presenta errores experimentales y, por lo tanto, una dispersión de valores que afectan al límite de detección del procedimiento.

Así como la pendiente de la recta de calibrado es un índice de la sensibilidad del procedimiento analítico, la precisión de esta pendiente y de la ordenada en el origen establecen el límite de detección, o sea la cantidad mínima de sustancia detectable cuantitativamente. El valor del límite de detección se establece con criterios de probabilidad de cometer error por asignar un valor a la señal de un blanco, o bien por asignar el valor del blanco (no detectable) cuando en realidad la muestra contiene cantidad significativa de sustancia. También aquí la estadística proporciona diversos modelos para



establecer estos límites, según el grado de seguridad que se desee alcanzar. En algunas técnicas instrumentales se llama “ruido de fondo” a la dispersión de la señal del blanco, estableciéndose como límite de detección la concentración que da una señal doble o triple respecto a la señal de fondo.

Es incorrecto utilizar expresiones como “no detectable” o “0”, como resultado correspondiente a señales iguales a la prueba en blanco, siendo correcto decir que el resultado de una señal no diferenciable de la prueba en blanco es “inferior al límite de detección” cuyo valor se ha determinado previamente [19].

Los criterios secundarios son los que tienen influencia en los primarios; estos son:

- a. linealidad, describe el comportamiento entre la respuesta y la concentración a través del modelo de calibración (una desviación del modelo representa un bias).
- b. Rango, representa el intervalo (niveles inferior y superior del analito) en el cual la relación lineal u otro modelo de calibración utilizado es correcta.
- c. Límite de cuantificación, es la más baja concentración del analito que puede ser cuantificada con suficiente precisión y exactitud. También es definido, convencionalmente, como la concentración de analito que corresponde al blanco de la muestra, mas 5, 6, ó 10 desvíos estándar de la media (del blanco), también se le conoce como “límite de determinación”.

$$L.Q = \frac{10 * Sb_0}{b_1}$$

- d. Selectividad, este parámetro asegura que la señal medida no es influenciada por otras sustancias presentes en la muestra y en caso contrario, garantiza la remoción de las mismas, otro aspecto importante de la selectividad es si el analito puede existir en la muestra de una forma, tal como enlazado o libre, inorgánico u organometalico, o en diferentes estados de oxidación.
- e. Sensibilidad, es el parámetro que mide la magnitud del cambio en la función de respuesta (o señal) con la concentración y corresponde a la pendiente de la curva de respuesta.



- f. Robustez o fortaleza, en cualquier método, existen ciertas etapas que, si no se llevan a cabo con cuidado provocan un efecto degradante sobre su desempeño e inclusive, podría hacer que el método no responda del todo. Estas etapas deben identificarse, normalmente como parte del desarrollo del método y de ser posible evaluar su influencia utilizando pruebas de robustez. Esto se refiere a hacer variaciones deliberadas al método e investigar su consecuente efecto en el desempeño (ya sea en su precisión o exactitud), esto hace posible la identificación de variables en el método que tienen el efecto más significativo y por tanto, aseguran que cuando se utiliza el método, son controladas adecuadamente.

La respuesta en práctica de la robustez se puede ver a tres niveles:

1. Requiere verificar la insensibilidad del método a cambios menores en las condiciones operacionales y del medio ambiente incluyendo la reproducibilidad de otro analista.
2. Requiere una verificación del efecto de cambios en condiciones severas, tal como, el uso de columnas cromatográficas obtenidas por diferentes proveedores o la sustitución de diferentes equipos y efectuar la experimentación en diferentes laboratorios conocido como análisis de ínter laboratorio.
3. Requiere verificar la robustez en un estudio de colaboración entre al menos ocho laboratorios diferentes.

Una prueba de robustez requiere de tiempo, paciencia, y en muchos laboratorios no la efectúan porque la consideran como un gasto y no como una inversión. Esta prueba se puede ver como parte de las buenas prácticas de laboratorio, sobre todo en laboratorios donde más de un experimentador efectúa el mismo procedimiento analítico (o similar) [19].



IV.21 Evaluación de la incertidumbre

En la “Guía para la expresión de la incertidumbre e las mediciones” (GEUM, por sus siglas en inglés) de la organización internacional para la normalización (ISO) [15], se dan métodos prácticos para determinar, calcular y reportar la incertidumbre de las mediciones de una manera clara.

Es importante notar que hasta el presente, cualquier medición realizada por un científico ha tenido un error y lo será así en el futuro. Se hace necesario tener un método normalizado para describir y reportar la calidad de los datos procedentes de las mediciones. Esta técnica está basada en dos principios:

Primero: la contribución a la incertidumbre puede ser estimada ya sea por observación del experimento repetido o por otros medios: por ejemplo usando datos tales como la incertidumbre de los materiales de referencias publicados o el juicio profesional.

Segundo: separar la contribución no obstante evaluada, son expresadas en forma de varianzas y cuando es necesario combinadas como tales.

La implementación de estos principios desarrollados en la GEUM real en un modelo cuantitativo del sistema de medición, típicamente acuerpado en una ecuación matemática que influyen todos los factores de entrada relevantes (factores de influencia). La incertidumbre general luego es estimada vía la propagación de la incertidumbre. La ley referida es para usar los principios de propagación del error, usualmente la expresión general es:

$$U[Y_{[x_1, x_2, \dots, x_n]}] = \sqrt{\sum_{i=1, n} \left[\frac{\partial y}{\partial x_i} u(x_i) \right]^2 + \sum_{i, k=1, n-i \neq k} \left[\frac{\partial y}{\partial x_i} \frac{\partial y}{\partial x_k} s(x, ik) \right]^2}$$



donde el resultado $Y(X_{ij}...)$ es una función de n parámetros X_1, X_2, \dots, X_n su incertidumbre estándar, $U(X_i)$ a incertidumbre asociada con X_i $\delta y / \delta x_i$ es la diferencia parcial con respecto a X_i y $s(x, ik)$ es la covarianza entre X_i y X_k . El término de la covarianza no se aplica cuando los efectos son independientes, esto es $s(x, ik) = 0$. Es por consiguiente esencial y eficaz estudiar todos los efectos relevantes individuales sobre los resultados.

IV.21.1 Incertidumbre de medición

Es el parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser razonablemente atribuidos a la magnitud a medir.

IV.21.2 La incertidumbre estándar

Es la incertidumbre del resultado de una medición expresado como una desviación estándar.

IV.21.3 Incertidumbre estándar combinada

Es la incertidumbre estándar del resultado de una medición cuando este es obtenido de una combinación de valores de otras cantidades y es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos; estos términos son las varianzas o las covarianzas de las otras cantidades, ponderadas de acuerdo a la variación del resultado de la medición con el cambio de estas cantidades.

IV.21.4 Incertidumbre expandida

Es la cantidad que define un intervalo para el resultado de una medición, en el cual puede esperarse que se encuentre una fracción grande de la distribución de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al objeto mensurable. Esta se denota por U_e y se obtiene multiplicando la incertidumbre combinada por un factor de cobertura (k) [20].



$$U_e = kU_c$$

El factor de cobertura (k) se escoge con base en el nivel deseado de confianza a ser asociado con el intervalo. En general k estará en el ámbito 2-3 correspondiente al nivel de confianza entre el 99 %.

IV.21.5 Incertidumbre estándar relativa

Se denota por IER y se obtiene dividiendo la media de la incertidumbre combinada con respecto a la media poblacional de los factores multiplicado por cien [20].

$$\% IER = \frac{\bar{U}}{\bar{X}} \times 100$$



V PARTE EXPERIMENTAL

V.1 Equipo y material

- 1- Analizador polarográfico
EG&G Princeton Applied Research Model 264A
Polarographic Analyzer/Stripping Voltammeter
- 2- Electrodo de Gotas de Mercurio
EG&G Princeton Applied Research
Model 303A SMDE.
- 3- Registrador/ABB Goerz/ABB Metrawatt SE 120
ABB/Asea Brown Boveri
- 4- SBS® A-01 Magneto Agitador (Magnetic Stirrer-Agitateur Magnetique)
Vidra Foc, badajoz, 50/t.3093750.3083566, barcelona.5.
- 5- Balanza analítica/MCI, Analitic AC 210S
Sartorius
- 6- Balanza/ AND, Electronic Balance
Fx-4000, max 4100 g, d = 0.01 g
- 7- Micropipetas Eppendorf Research
10 µL-100 µL; 200 µL-1000 µL; 100 µL
- 8- Micropipetas Biohit Proline pipette
10 µL-500 µL; 200µL-1000 µL
- 9- Cilindro i regulador de gas Nitrógeno.
- 10- Digestor artesanal y controlador de temperatura 110 V.
- 11- Equipo de tridestilación.
- 12- Cristaleris de uso común de laboratorio para análisis de trazas.
- 13- Termómetro digital.



V.2 Reactivos

- 1- Estándar certificado de plomo 1000 ppm, Fisher.
- 2- Ácido sulfúrico concentrado para análisis de trazas, solución 1 M Merck
- 3- Ácido perclórico concentrado para análisis de trazas, Solución 1 M Merck.
- 4- Ácido nítrico concentrado para análisis de trazas, solución al 20, 10 %, Merck.
- 5- Permanganato de potasio, solución sobresaturada, Merck.
- 6- Hidróxido de potasio, solución al 12 % Fisher, en etanol 95 %, Merck.
- 7- Hidróxido de litio solución sobresaturada, Merck.
- 8- Hidróxido de calcio solución sobresaturada, Merck.
- 9- Hidróxido de bario solución sobresaturada, Merck.
- 10- Agua tridestilada (libre de plomo).
- 11- Pirogalol, solución al 5 %, Merck.
- 12- Hidróxido de sodio solución al 20 %, Merck.

V.3 Procedimientos

V.3.1 Preparación de soluciones

Solución de plomo 1 ppm.

Se tomaron 100 μL de estándar de plomo de 1000 ± 0.1 ppm y se diluyó exactamente a 100 ml con agua desionizada.

Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1.0 M

En 500 ml de agua tridestilada se añadieron 55.56 ml de ácido sulfúrico concentrado (98 %, densidad 1.80 y 18.0 M), y luego se aforó a 1000 ml con agua tridestilada.

*Ácido perclórico ($HClO_4$) 1.0 M*

En 50 ml de agua libre de plomo se añadieron 8.35 ml de ácido perclórico concentrado (72 %, densidad 1.67, y 11.97 M) y luego se aforó a 100 ml con agua tridestilada.

Ácido Nítrico (HNO_3) 10.0 % y 20 %

En 500 ml de agua libre de plomo se agregaron 153 ml (solución al 10 %) y 306 ml (solución al 20 %) de ácido nítrico concentrado (65.36 %, densidad 1.64 y 17 M) y luego se aforaron a 1000 ml con agua tridestilada.

Permanganato de potasio ($KMnO_4$) 1.0 M

Se pesaron 79 g de permanganato de potasio, se disolvieron con agua libre de plomo, se agregaron a un matraz de 1000 ml y luego se aforó hasta la marca con agua tridestilada.

Hidróxido de potasio (KOH) 12.0 % en alcohol etílico (CH_3CH_2OH) 95 %

Se pesaron 120 g de hidróxido de potasio, se disolvieron con alcohol etílico, se colocaron en un matraz de 1000 ml y luego se aforó hasta la marca con el alcohol etílico comercial.

Hidróxido de litio ($LiOH$), solución sobresaturada

Se pesaron 15 g de hidróxido de litio, se disolvieron con agua libre de plomo, y se agregaron 500 ml de agua tridestilada.

Hidróxido de calcio [$Ca(OH)_2$], solución sobresaturada

Se pesaron 40 g de hidróxido de calcio, se añadieron con agitación 500 ml de agua libre de plomo.

*Hidróxido de bario $[(Ba(OH)_2]$, solución sobresaturada*

Se pesaron 88 g de hidróxido de bario, se añadieron con agitación 500 ml de agua libre de plomo.

Hidróxido de sodio (NaOH), solución al 20 %

Se pesaron 20 g de hidróxido de sodio, se disolvieron con agua desionizada y se aforó a 100 ml.

Pirogalol ($C_6H_6O_3$), solución al 5%

Se pesaron 5 g de pirogalol, se disolvieron con una solución de hidróxido de sodio al 20 % y se aforó a 100 ml con la misma.

V.3.2 Obtención de agua Tridestilada (sin plomo)

Este procedimiento se realizó de la siguiente manera:

Se tomaron 6 litros de agua destilada del laboratorio de química y se destiló en un equipo de bidestilación, agregando permanganato de potasio y ácido sulfúrico 1.0 M en el primer matraz, dicho destilado es recogido en un segundo matraz el cual contiene soluciones saturadas de hidróxido de litio, hidróxido de calcio e hidróxido de bario. El objetivo de la segunda destilación con permanganato de potasio y ácido sulfúrico es de eliminar cualquier materia orgánica que se encuentre presente en el agua destilada inicial, luego se realiza una tercera destilación con $Li(OH)$, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, para provocar la precipitación de los metales pesados que pudieran estar presentes en el agua destilada proveniente de las dos primeras destilaciones (anexo).



V.3.3 Lavado de Cristalería para uso de análisis de trazas

Para el lavado de la cristalería de análisis de trazas se utilizaron las siguientes soluciones: tres baños de ácido nítrico al 20 % calidad analítica y un baño de hidróxido de potasio al 12 % m/v y una plantilla calentadora con temperatura ajustable.

Se procedió a lavar el material de laboratorio mediante el procedimiento que sigue a continuación:

Todo el equipo se lavó cuidadosamente con abundante agua y jabón, después se dejó escurrir unos minutos colocados sobre papel toalla, y se observó que no quedaran etiquetas adhesivas ni marcador.

El equipo parcialmente seco se sumergió completamente en una solución de KOH al 12 % en alcohol etílico al 95 %, por un tiempo no menor de 30 min. Ni mayor de 45 min. Se sacó todo el material del baño etanólico, se dejó escurrir sobre papel toalla, se enjuagó con abundante agua de grifo hasta eliminar todo el residuo de KOH/etanólico.

Todo el material se colocó en un baño de ácido nítrico al 20 % (a temperatura ambiente) que se encontraba en un balde plástico, por lo menos durante siete días, este procedimiento se repitió por tres veces consecutivas.

Se colocó el material en un cuarto baño al 20 % e ácido nítrico, contenido en un recipiente de cristal y se calentó durante 12 horas. Las celdas electroquímicas y los matraces aforados de 5.0 ml a utilizar se transfirieron a una solución de EDTA 1.0 M, contenidas en un balde plástico herméticamente tapado.



V.3.4 Condiciones de trabajo del equipo voltamperométrico

V.3.4.1 Condiciones experimentales del analizador polarográfico

Modalidad: ASV - diferencial de impulsos.

Potencial de electrodeposición: $-0.65 \text{ V}/E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$.

Potencial inicial: $-0.20 \text{ V } E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$.

Tiempo de equilibrio: 30 Seg.

Tiempo de purga inicial: 8 min.

Tiempo de purga por cada réplica: 30 Seg.

Tiempo de deposición: 180 Seg.

Velocidad de barrido: 5 mv/Seg.

Corriente 5 μA .

Tiempo de goteo: 1 Seg.

Altura del impulso: 50 mv.

V.3.4.2 Condiciones experimentales del electrodo de mercurio

Modalidad: SMDE.

Tamaño de gota: pequeña.

Tiempo de purga $\frac{1}{2}$ min.

V.3.4.3 Condiciones experimentales del registrador

Selección del voltaje: 10 V.

Velocidad del papel: 2 cm/min.



V.3.5 Optimización del tiempo de digestión de la muestra (orina)

Se tomaron 6 tubos de ensayo y se les colocó 100 μL de muestra de orina, adicionándoles 50 μL de H_2SO_4 concentrado y 200 μL de HClO_4 concentrado ambos para análisis de trazas, digestandando las muestras por un tiempo de 10 min. a una temperatura de 240 $^\circ\text{C}$, esto se realizó por tres veces más pero a los tiempos de digestión de 20, 30 y 40 min., se diluyeron a 5 ml con agua desionizada, se transfirieron a la celda electroquímica y se trazaron los voltamperogramas.

V.3.6 Parámetros de desempeño del método

V.3.6.1 Curva de calibración normal (C.C.N)

Se tomaron 8 tubos de ensayo se les agregaron 100 μL de agua desionizada y se les adicionaron 50 μL de H_2SO_4 concentrado y 200 μL de HClO_4 concentrado de calidad ultrapuro, adicionándoles estándar de plomo de (1000 \pm 0.1 ppm) para obtener: 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48, y 56 ppb del estándar de Pb^{2+} . Se colocaron a 5 cm de altura en el digrestor y se procedió a digestar pos 20 min. Una vez terminada la digestión se les adicionaron 35 μL de H_2SO_4 concentrado y 500 μL de HClO_4 1 M y se diluyeron a 5.0 ml con agua desionizada, se colocaron uno a uno en la celda electroquímica y se trazaron los voltamperogramas.

V.3.6.2 Curva de calibración por adición patrón (C.A.P), agregando estándar antes de digestar la muestra de orina

Se tomaron 6 tubos de ensayo se les agregaron 100 μL de muestra de orina y se les adicionaron 50 μL de H_2SO_4 concentrado y 200 μL de HClO_4 concentrado ambos para análisis de trazas, adicionándoles estándar de plomo de (1000 \pm 0.1 ppm) para obtener: 0, 20, 40, 60, 80, y 100 ppb del estándar de Pb^{2+} . Se colocaron a 5 cm de altura en el digrestor y se procedió a digestar pos 20 min. Una vez terminada la digestión se les adicionaron 35 μL de H_2SO_4 concentrado y 500 μL de HClO_4 1 M y se diluyeron a 5.0 ml con agua



desionizada, se colocaron uno a uno en la celda electroquímica y se trazaron los voltamperogramas.

V.3.6.3 Curva de calibración por adición patrón (C.A.P), agregando estándar después de digerir la muestra de orina

Se tomaron 6 tubos de ensayo se les agregaron 100 μL de muestra de orina y se les adicionaron 50 μL de H_2SO_4 concentrado y 200 μL de HClO_4 concentrado ambos para análisis de trazas, Se colocaron a 5 cm de altura en el digrestor y se procedió a digerir por 20 min. Una vez terminada la digestión se les adicionaron 35 μL de H_2SO_4 concentrado y 500 μL de HClO_4 1 M, adicionándoles estándar de plomo de 100 ppb del estándar de Pb^{2+} respectivamente. y se diluyeron a 5.0 ml con agua desionizada, se colocaron uno a uno en la celda electroquímica y se trazaron los voltamperogramas.

V.3.6.4 Repetibilidad del método

Se tomaron 5 tubos de ensayo se les agregaron 100 μL de muestra de orina y se les adicionaron 50 μL de H_2SO_4 concentrado y 200 μL de HClO_4 concentrado ambos para análisis de trazas, se adicionó un volumen de estándar de plomo (1000 ± 0.1 ppm) para obtener 20 ppb del estándar de plomo, se colocaron a 5 cm de altura en el digrestor y se procedió a digerir por 20 min. Una vez terminada la digestión, se les adicionaron 35 μL de H_2SO_4 concentrado y 500 μL de HClO_4 1 M, y se diluyeron a 5.0 ml con agua desionizada, se colocaron uno a uno en la celda electroquímica y se trazaron los voltamperogramas, esto se realizó por diez días consecutivos.

V.3.6.5 Porcentaje de recuperación y efecto de matriz

Para esto se realizó una curva de calibración con estándares puros (curva de calibración normal) utilizando estándares de plomo con una concentración de 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48, y 56 ppb, y una curva de calibración por adición patrón adicionando estándares de igual concentración (0-56 ppb) a 100 μL de la muestra de orina.



V.3.6.6 Estudio del efecto de la adición del estándar en la muestra

Para esto se realizó una curva de calibración por adición patrón adicionando estándares de plomo antes de digerir, y otra curva de calibración por adición patrón agregando estándares después de digerir, la concentración de los estándares agregados fue de 0, 20, 40, 60, 80, y 100 ppb.



VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1 Optimización del tiempo de digestión de la muestra

Para esto se siguió el procedimiento V.3.4, los resultados obtenidos se muestran en la tabla No 18 del anexo. Al graficar los valores de I_p en μA Vs tiempo de digestión en minutos se obtuvo el siguiente gráfico:

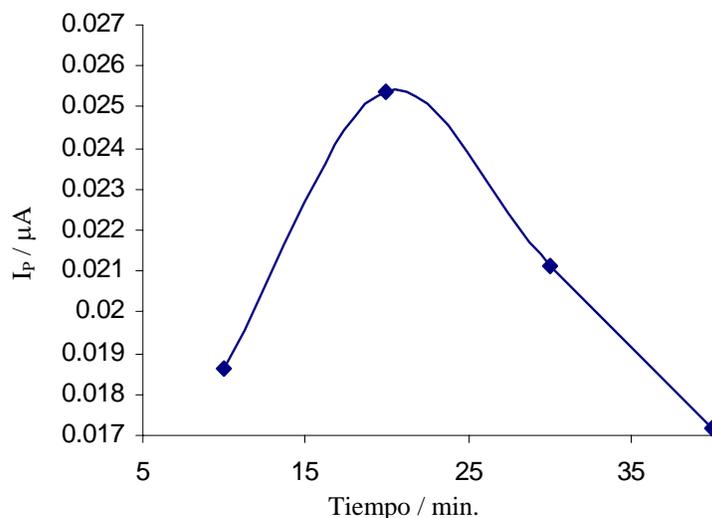


Fig. No 3. Gráfico del tiempo de digestión. Corriente de pico (μA) Vs tiempo de digestión (min.). tabla No 18 del anexo.

En el gráfico se puede observar que a un tiempo de digestión de 20 minutos se obtiene la mayor corriente de pico con un valor de $0.025 \mu A$. Siendo este por lo tanto el tiempo óptimo para la digestión de la muestra de orina para el análisis de plomo.



VI.2 Estudio de la repetibilidad del método de análisis de plomo en orina

Para esto se midió por diez días la corriente de pico de un estándar de plomo de una concentración de 20 ppb, lo datos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla No1. Estándar de plomo de 20 ppb, corriente de pico en μA ($I_p = \mu A$)

Réplicas / 100	Días									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	7.23	7.30	7.28	7.20	7.26	7.25	7.22	7.23	7.23	7.21
2	7.22	7.27	7.23	7.26	7.30	7.22	7.23	7.27	7.22	7.23
3	7.27	7.32	7.17	7.22	7.20	7.23	7.32	7.33	7.27	7.16
4	7.18	7.32	7.27	7.33	7.32	7.25	7.20	7.28	7.23	7.23
5	7.32	7.22	7.25	7.32	7.22	7.32	7.27	7.22	7.17	7.17
Promedio	7.24	7.29	7.24	7.27	7.26	7.25	7.25	7.27	7.22	7.20
Var x 10E+06	2.8	1.8	1.9	3.4	2.6	1.5	2.3	1.9	1.3	1.1

Para evaluar la homogeneidad de las varianzas se realizó el test de Bartlet, obteniéndose un valor del parámetro $M = 1.96$, el valor de Chi – cuadrada (X^2), para 9 grados de libertad y un nivel de confianza de 95 % es de 16.9 por tanto como el valor del parámetro M es menor que el valor de tabla de X^2 se puede concluir que no hay diferencia entre las varianzas es decir las varianzas son homogéneas.

Para comprobar si no hay diferencia entre las medias se realizó el análisis de varianza ANOVA de un factor, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla No 2. Resultados del ANOVA, Comparación de medias.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrática Media
Entre Muestras	2.613E-006	9	2.903E-7
Residual	8.240E-006	40	2.060E-7

Para saber si hay diferencia entre las medias se compara el valor de F calculado ($F_c = 1.41$, éste resulta de dividir el valor de la cuadrática media de las muestras entre el valor de la cuadrática media de la residual), con el valor de F de tabla ($F_{0.95} = 2.12$). se puede observar



que F_c es menor que F de tabla para el 95 % de confianza, por tanto se puede concluir que no hay diferencia significativa entre las medias.

Con los datos que se presentan en la tabla No 1 se realizó una carta de control, la cual se elabora tomando en cuenta la repetibilidad (\bar{S}^2) y la precisión intermedia ($S_{\frac{2}{X}}$) cuyos valores obtención son 2.29E-07 y 5.81E-08 respectivamente, los límites están dados por las siguientes fórmulas:

$$\text{Limite Central (L.C.)} = \frac{\sum \bar{X}_i}{10} = 0.0725$$

$$\text{Limite Superior (L.C.+3S)} = 0.0740$$

$$\text{Limite superior (L.C.+2S)} = 0.0735$$

$$\text{Limite inferior (L.C.-3S)} = 0.0715$$

$$\text{Limite inferior (L.C.-2S)} = 0.0709$$

$$\text{Donde: } S = \sqrt{\bar{S}^2 + S_{\frac{2}{X}}^2}$$

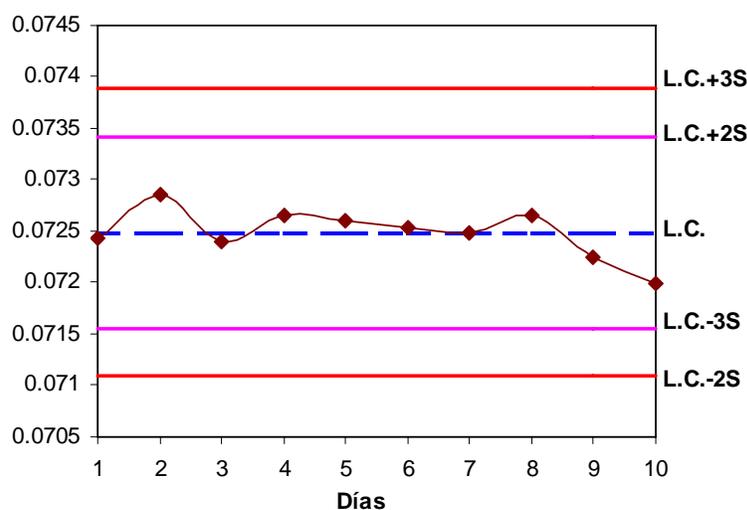


Fig. No 4. Carta de control para el estándar de plomo (20 ppb). Ver tabla No 2. Como se puede observar el estándar cae dentro de la zona aceptable de la carta de control.



VI.3 Estudio de la exactitud del método. Porcentaje de recuperación

Para confirmar la exactitud del método se calculó el porcentaje de recuperación comparando las pendientes de una curva de calibración por adición patrón (A.P.) y la obtenida con estándares puros (C.C.N.). el modelo de regresión lineal simple para la curva de adición patrón es: $Y = 0.031223 + 0.00242X$, y el modelo para la curva de calibración con estándares puros o calibración normal es: $Y = 0.02190 + 0.00243X$, (Tabla No 21 del anexo). Para el calculo del porcentaje de recuperación se utilizó la expresión siguiente:

$$\%R = (b_1 \text{ A.P.}/b_1 \text{ C.C.N.}) \times 100$$

donde:

b_1 A.P: Es la pendiente del modelo de regresión lineal simple de la curva de calibración por adición patrón.

b_1 C.C.N: Es la pendiente del modelo de regresión lineal simple de la curva de calibración con estándares puros (curva de calibración normal).

Los resultados de las curvas de calibración por adición patrón y estándares puros o calibración normal se muestran en la tabla No 18 del anexo.

$$\%R = 100.3 \% \pm 0.6 \%$$

De éste se deduce que no hay efecto depresor o intensificador de la señal analítica o efecto de matriz.

VI.4 efecto de la adición del estándar, antes y después de la digestión, en la curva de calibración

Para realizar este estudio se hicieron dos curvas de calibración por adición patrón, la primera adicionando el estándar antes de digerir la muestra de orina y la segunda adicionando el estándar después de digerir la muestra de orina. Los resultados se muestran en la tabla 20 del anexo, los cuales al graficarlos y superponerlos se obtuvo el gráfico de la figura. No. 5.

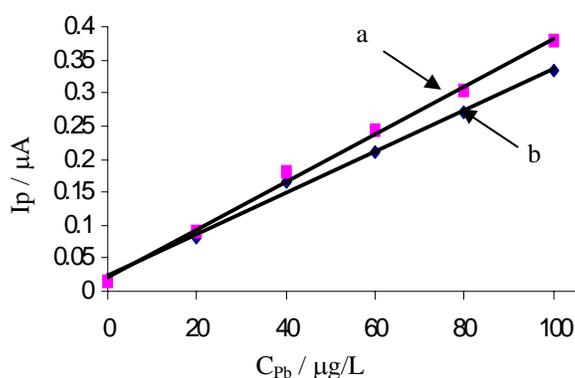


Fig. No. 5: Curva de calibración. (a) adicionando estándar antes de digerir la muestra, (b) adicionando estándar después de digerir la muestra.

Como se puede observar en este gráfico al adicionar el estándar después de digerir la muestra el método es más sensible que al adicionar el estándar antes de digerir la muestra, esto se debe a que hay pérdidas por digestión es decir durante la digestión hay una aparente pérdida por volatilización, sin embargo se prefiere realizar la curva de calibración por adición patrón adicionando el estándar antes de digerir la muestra, ya que de esta manera ambos (estándar y muestra) sufren el mismo tratamiento, proporcionando un valor más real de concentración de plomo en la muestra.



VI.5 Efecto de matriz

Con el propósito de estudiar el efecto de matriz en la determinación de plomo en muestras de orina se realizaron: una curva de calibración normal y una curva de calibración por adición patrón, las cuales se muestran en la figura No. 6.

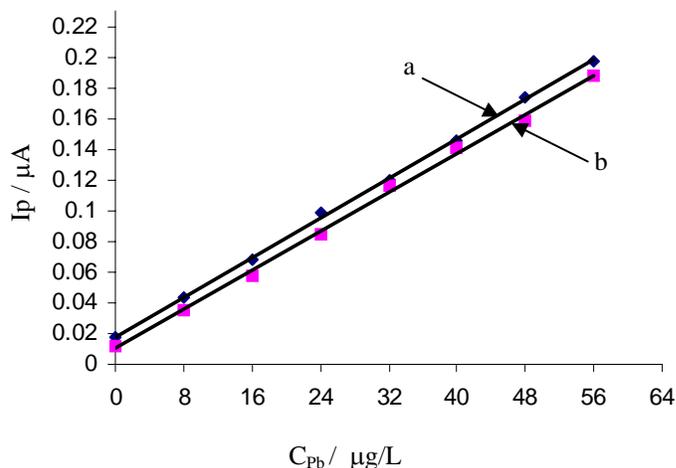


Figura No. 6: Efecto de matriz. (a) curva de calibración por adición patrón, (b) curva de calibración con estándares puros (calibración normal). Tabla No. 19 del anexo.

Del gráfico se puede deducir que el efecto de matriz es nulo, es decir que los componentes de la matriz de orina no provocan ningún efecto intensificador ni depresor en la determinación de plomo por este método, ya que las dos curvas son paralelas entre sí. Los valores de las pendientes y sus desviaciones así como sus intervalos de confianzas se muestran en la tabla No. 3.

Tabla No. 3. Valores de pendientes, desviaciones estándar e intervalos de confianza.

Curva	b	S_b	$b \pm tS_b$
Ad. Patrón	0.00318	0.000517	0.00195-0.00442
Std. Puros	0.00317	0.000479	0.00203-0.00431



VI.6 Linealidad

Para comprobar la linealidad se realizó una curva de calibración normal en un intervalo de concentración entre 0 – 100 $\mu\text{g/L}$ (ppb), los datos se muestran en la tabla No. 4.

Tabla No. 4: Linealidad. Datos de la curva de calibración normal.

Concentración de estándar ppb	I_p en μA
0	0.0153
20	0.0892
40	0.1581
60	0.2308
80	0.3025
100	0.3775

El valor del coeficiente de determinación (r^2) obtenido fue: 0.99988825, una linealidad ideal indica un valor de coeficiente de determinación igual a 100 % ($r^2 = 1$), como el valor de r^2 obtenido experimentalmente es cercano a la unidad se puede decir que existe una buena linealidad. La gráfica se muestra en la figura No. 7.

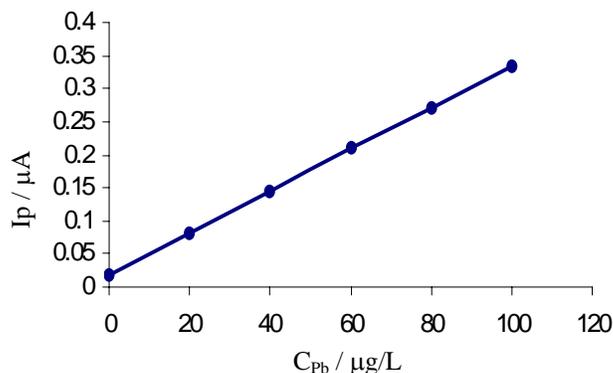


Figura No. 7. Linealidad. Gráfico de concentración (ppb) Vs Corriente de pico (μA)

Para verificar la validez del modelo lineal, se aplicó el análisis de varianza ANOVA, obteniéndose los siguientes resultados:

*Tabla No. 5 Resultados del ANOVA, control de calidad del modelo lineal.*

Variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrática media
Modelo	0.09097	1	0.09097
Regresión	9.893E-06	4	2.473E-06

Obteniéndose un valor de $F_c = 36781.20$, el cual resulta de dividir el valor de la cuadrática media del modelo entre el valor de la cuadrática media de la regresión, como este es mayor que el valor de F de tabla (7.71), se puede concluir que el modelo se ajusta a una línea recta, y que las variaciones son debidas al modelo y no a la residual.

VI.7 Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección y el límite de cuantificación se determinaron a partir de una curva de calibración normal para la cual se prepararon soluciones estándares diluidas, cercanas al blanco. Los datos se muestran en la tabla No. 21 del anexo. Se realizó un análisis de regresión obteniéndose un valor de la pendiente de: $b_1 = 0.0030$, el valor de la desviación estándar del intercepto es $S_{b_0} = 0.000602$.

De acuerdo a las normas ISO y IUPAC la señal de detección se define como $S.D. = 3.29 * S_{b_0}$. Utilizando la pendiente del modelo de regresión se obtiene el límite de detección:

$$L.D. = (3.29 * S_{b_0}) / b_1$$

Y el límite de cuantificación está dado por:

$$L.Q. = (10 * S_{b_0}) / b_1$$

Sustituyendo los valores de S_{b_0} , y b_1 en las ecuaciones anteriores se obtuvo el valor de $0.066 \mu\text{g}$ de plomo / L de orina, para el límite de detección y $2.007 \mu\text{g}$ de plomo / L de orina, para el límite de cuantificación.



VI.8 Control de calidad de la curva de calibración normal y de adición patrón

Para observar la repetibilidad en las curvas de calibración normal y de adición patrón se realizaron dos cartas de control donde se presentan los límites de tolerancia de los parámetros de regresión (intercepto y pendiente) de dichas curvas las cuales se elaboraron por tres días consecutivos. Estos datos se muestran en las tablas No. 22 y 23 del anexo.

Tabla No. 6. Parámetros de regresión de las curvas de calibración normal realizadas por tres días consecutivos.

Parámetros de Regresión	Días		
	1	2	3
b_0	0.0104	0.0126	0.0121
b_1	0.0032	0.0030	0.0030
$b_0 \pm 2Sb_0$	6.00E-03 – 1.48E-02	6.00E-03 – 1.92E-02	6.50E-03 – 1.77E-02
$b_0 \pm 3Sb_0$	0.0038 – 0.017	0.0027 – 0.0225	0.0037 – 0.0205
$b_1 \pm 2Sb_1$	3.07E-03 – 3.33E-03	2.80E-03 – 3.20E-03	2.83E-03 – 3.17E-03
$b_1 \pm 3Sb_1$	3.00E-03 – 3.40E-03	2.70E-03 – 3.30E-03	2.75E-03 – 3.25E-03

Tabla No. 7. Parámetros de regresión de las curvas de calibración por adición patrón realizadas por tres días consecutivos.

Parámetros de Regresión	Días		
	1	2	3
b_0	0.01819	0.01131	0.01778
b_1	0.00322	0.00308	0.00306
$b_0 \pm 2Sb_0$	1.60E-02 – 2.04E-02	5.11E-03 – 1.75E-02	1.06E-02 – 2.50E-02
$b_0 \pm 3Sb_0$	0.01489 – 0.02149	0.00201 – 0.02061	0.00698 – 0.02858
$b_1 \pm 2Sb_1$	3.15E-03 – 3.29E-03	2.89E-03 – 3.27E-03	2.84E-03 – 3.28E-03
$b_1 \pm 3Sb_1$	3.12E-03 – 3.32E-03	2.80E-03 – 3.36E-03	2.73E-03 – 3.39E-03

Si tomamos en cuenta que los parámetros b_0 y b_1 están correlacionados, el modelo de correlación es una elipse [17]. Las figuras No. 8 y 9 muestran la forma de las cartas de control. Los valores de b_0 y b_1 de las diferentes curvas de calibración deben caer dentro de la elipse. Los valores experimentales (b_0 y b_1) obtenidos durante tres días consecutivos cayeron dentro de la elipse, por lo que se puede afirmar que la linealidad es repetible tanto para la curva de calibración normal como para la curva de adición patrón.

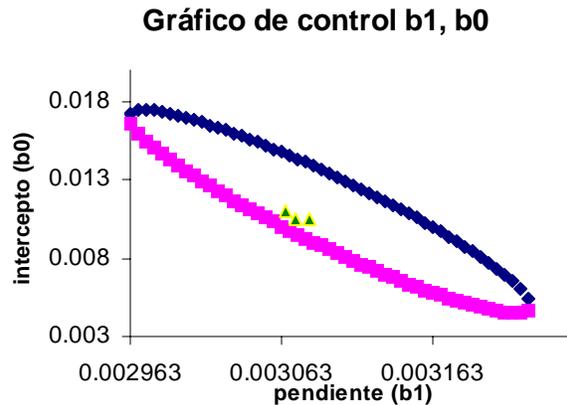


Figura No. 8. Control de calidad de las curvas de calibración normal.

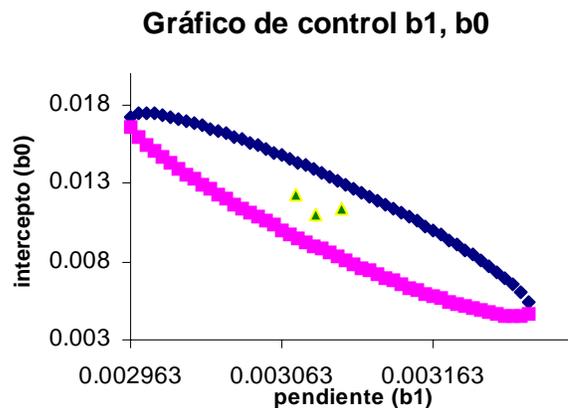


Figura No. 9. Control de calidad de las curvas de adición patrón.



VI.9 Evaluación de la incertidumbre en la determinación de plomo en orina

VI.9.1 Evaluación de la incertidumbre en el cálculo de la concentración a partir de una curva de adición patrón

(Ver en anexo el flujograma del proceso de análisis, Página 70)

Modelo de regresión: $i_x = b_0 + b_1 C_x$; Si hacemos $i_x = 0$,

$$C_x = \left| \frac{b_0}{b_1} \right| \quad (1)$$

Tomando en cuenta los efectos de dilución se obtiene: $C_A = C_x \frac{v_2}{v_1}$ (2)

Aplicando la ley de propagación del error a la ecuación (2) se obtiene la siguiente expresión (ver anexo en página No. 68):

$$U_{CA} = \sqrt{\frac{U_{b_0}^2 + C_x^2 U_{b_1}^2 - 2C_x U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)}}{b_1^2} + \left(\frac{U_{v_1}}{v_1}\right)^2 + \left(\frac{U_{v_2}}{v_2}\right)^2} \quad (3)$$

Donde:

b_0 = intercepto (del modelo de regresión lineal simple para cada análisis).

b_1 = pendiente (del modelo de regresión lineal simple para cada análisis).

V_1 = volumen de la muestra (100 μ L).

V_2 = volumen de dilución.

U_A = incertidumbre de la concentración de plomo en ppb.

U_{b_0} = incertidumbre del intercepto (S_{b_0} , del modelo de regresión lineal simple para cada análisis).



U_{b1} = incertidumbre de la pendiente (S_{b1} , del modelo de regresión lineal simple para cada análisis).

U_{V1} = incertidumbre de la micro pipeta de 100 μL .

U_{V2} = incertidumbre del balón de 5 ml.

La cual corresponde a la incertidumbre de la concentración de plomo en la muestra de orina. Dado a que esta se calcula a partir de una curva de adición patrón, tendremos una incertidumbre debida al modelo de regresión lineal la cual se calcula con la expresión siguiente:

$$U_M = S_x = \frac{S_{y/x}}{b_1} \left\{ \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y})^2}{b_1^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} \quad (4)$$

Por tanto la incertidumbre real de la concentración de plomo en orina será:

$$U_{C_{pb}} = \sqrt{U_{CA}^2 + U_M^2} \quad (5)$$

VI.9.2 Evaluación de la incertidumbre en el cálculo de la concentración utilizando para el análisis una sola adición estándar (análisis de rutina)

VI.9.2.1 Cálculo de la incertidumbre en la medición de corriente de pico (i_p)

Para evaluar la incertidumbre en la determinación de plomo en orina por el método de análisis de rutina fue necesario, evaluar en primer lugar la incertidumbre de la corriente de pico tomando en cuenta la conversión de cm a μA en el registrador, según la ecuación (6).

$$i_{\mu\text{A}} = i_{cm} x \frac{V_R}{d_R} x \frac{S_P}{V_P} \quad (6)$$



Donde:

V_R = potencial del registrador.

S_P = Sensibilidad del polarógrafo.

V_P = Potencial de salida del Polarógrafo.

d_R = Amplitud del papel en el registrador.

Para calcular la incertidumbre en la medición de la corriente de pico (i_p en μA), se la ley de propagación del error a la ecuación (6), obteniéndose la siguiente expresión:

$$U_{i\mu} = i_{\mu A} \sqrt{\left(\frac{U_{icm}}{i_{cm}}\right)^2 + \underbrace{\left(\frac{U_{v_R}}{v_R}\right)^2 + \left(\frac{U_{S_P}}{S_P}\right)^2 + \left(\frac{U_{v_P}}{v_P}\right)^2}_{\text{Cte} = A = 0.00001476}} \quad (7)$$

VI.9.2.2 Cálculo de la incertidumbre de la concentración de plomo en la muestra de orina en el análisis de rutina

La concentración de plomo en orina en análisis de rutina, utilizando una sola adición de estándar a la muestra se calcula de la siguiente manera:

$$C_M = \frac{i_m}{i_{m+Std} - i_m} \times \frac{v_2 v_3 v_5}{v_1 v_4 v_6} \times C_{SM} \quad (8)$$

Si aplicamos la ley de propagación del error a la ecuación (8) se obtiene la siguiente expresión:

$$\left(\frac{U_{C_M}}{C_M}\right)^2 = \left(\frac{U_{i_m}}{i_m}\right)^2 + \frac{U_{i_{m+Std}}^2 + U_{i_m}^2}{(i_{m+Std} - i_m)^2} + \left(\frac{U_{V_1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_2}}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_4}}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_5}}{V_5}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_6}}{V_6}\right)^2 + \left(\frac{U_{C_{SM}}}{C_{SM}}\right)^2 \quad (9)$$

Por lo tanto la incertidumbre para el análisis de rutina está dada por la siguiente expresión:



$$U_{CM} = C_M \sqrt{\left(\frac{U_{i_m}}{i_m}\right)^2 + \frac{U_{i_{m+Std}}^2 + U_{i_m}^2}{(i_{m+Std} - i_m)} + \underbrace{\left(\frac{U_{V_1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_2}}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_4}}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_5}}{V_5}\right)^2 + \left(\frac{U_{V_6}}{V_6}\right)^2}_{Cte = B = 7.62 \times 10^{-06}} + \left(\frac{U_{C_{SM}}}{C_{SM}}\right)^2} \quad (10)$$

Donde:

U_{CM} = incertidumbre de la concentración de la muestra en ppb.

U_{i_m} = incertidumbre de la corriente de pico en μA , de la muestra.

$U_{i_{m+Std}}$ = incertidumbre de la corriente de pico en μA , de la muestra más el estándar agregado.

U_{V_1} = incertidumbre de la micro pipeta de 100 μL .

U_{V_2} = incertidumbre del balón de 100 ml.

U_{V_3} = incertidumbre de la micro pipeta de 100 μL .

U_{V_4} = incertidumbre del balón de 100 ml.

U_{V_5} = incertidumbre de la micro pipeta de 100 μL .

U_{V_6} = incertidumbre del balón de 5 ml.

$U_{C_{SM}}$ = incertidumbre de la concentración del estándar de plomo en ppm, solución madre.

i_m = corriente de pico en μA , de la muestra.

i_{m+Std} = corriente de pico en μA , de la muestra más el estándar agregado.

V_1 = volumen tomado de la muestra (100 μL).

V_2 = volumen de dilución de la muestra (5 ml).

V_3 = alícuota tomada del estándar de plomo, solución madre (100 μL).

V_4 = Volumen de dilución de V_3 (100 ml).

V_5 = Alícuota tomada de V_4 (100 ml).

V_6 = Volumen de dilución de V_5 (5 ml).

C_M = Concentración de la muestra en ppb.

C_{SM} = Concentración del estándar de plomo, solución madre (1001 ppm).

VI.10 Comparación entre los resultados obtenidos por la curva de calibración por adición patrón y los obtenidos con una sola adición patrón (Análisis de rutina)

VI.10.1 Curva de calibración por adición patrón

Se procedió como en el procedimiento V.3.5.2 pero únicamente se realizó con dos adiciones estándar de 20 y 40 ppb, los voltamperogramas obtenidos se pueden observar en la figura No 10, donde se puede ver la proporcionalidad de la corriente en función de la concentración.

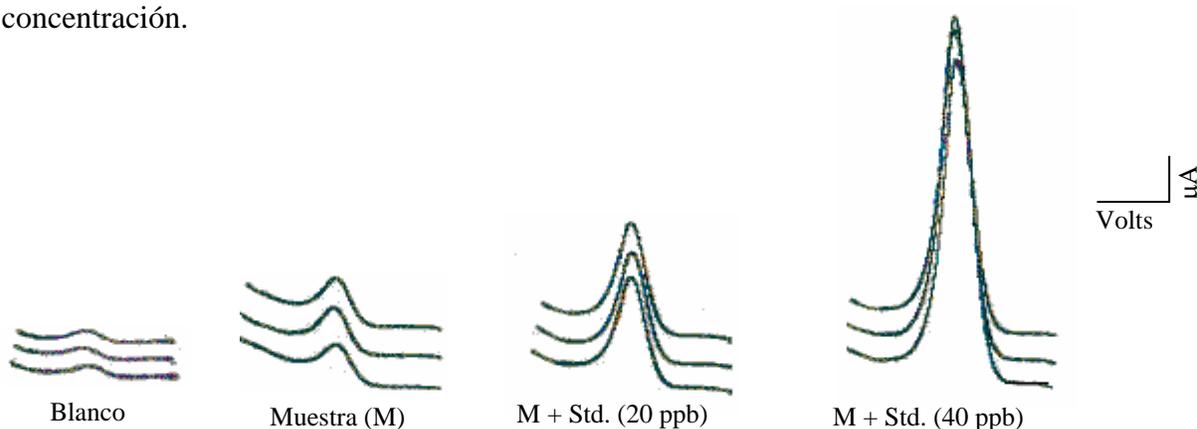


Figura No. 10. voltamperogramas obtenidos en la curva de calibración por adición patrón.

Los resultados de las mediciones se reflejan en la tabla No. 8, donde se presentan las diferentes respuestas de la muestra y la concentración del estándar agregadas a la misma.

Tabla No 8. Respuestas de la muestra analizada

	Réplicas de i_p (μA)			I_p promedio (μA)
Muestra (M)	0.00083	0.00250	0.00167	0.00167
M + 20 ppb	0.05833	0.06000	0.06167	0.06000
M + 40 ppb	0.11833	0.11833	0.11750	0.11806

En la tabla No. 9 se presentan los resultados del análisis de regresión lineal para los datos de la tabla No. 8.



Tabla No. 9. Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de adición patrón.

b_0	1.71×10^{-03}
b_1	2.91×10^{-03}
Sb_0	1.04×10^{-04}
Sb_1	4.01×10^{-06}
$r(b_0, b_1)$	-7.75×10^{-01}
$S^2_{x/y}$	1.29×10^{-08}

A partir de la ecuación (2) se obtiene la concentración de plomo (C_{Pb}) en una muestra de orina. Las incertidumbres involucradas en el proceso analítico (ecuaciones 3, 4, y 5) se presentan en la tabla No. 10.

Tabla No. 10. Concentración de plomo en la muestra de orina y sus incertidumbres (curva de adición patrón).

C_{Pb}	U_A	U_M	U_{CPb}
29.4	0.0718	4.1×10^{-06}	0.0718

Obsérvese que el valor $U_A \gg U_M$, y la U_{CPb} es prácticamente igual a U_A . El intervalo de confianza de la concentración de plomo en la muestra de orina $C_{Pb} \pm 2 U_{CPb}$ es la siguiente: **“29.4 \pm 0.1 μ g de plomo / L de orina”.**

VI.10.2 Análisis de rutina (adición de un solo estándar a la muestra)

Se procedió como en el procedimiento V.3.5.2 pero únicamente se realizó con una adición estándar de 20, los voltamperogramas obtenidos se pueden observar en la figura No. 11. Donde se puede ver la proporcionalidad de la corriente en función de la concentración.

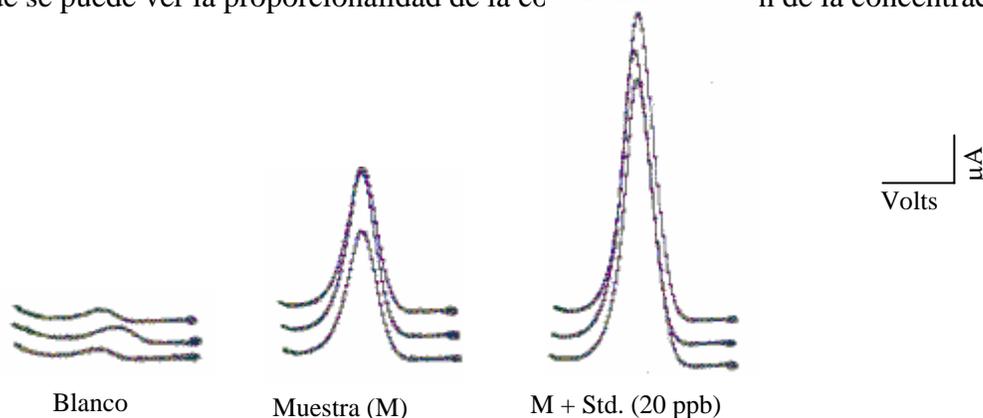


Figura No. 11. Voltamperogramas obtenidos por la aplicación de un solo estándar a la muestra.

Los valores de corriente de pico (en cm y μA) obtenidos directamente a partir del registrador se resumen en la tabla No. 11, se muestran las réplicas y el promedio para la muestra y para la muestra más el estándar añadido cuya concentración final fue de 20 ppb.

Tabla No. 11. Corrientes de pico en cm y en μA .

	Réplicas de la corriente de pico (i_p) en cm y μA			i_p promedio
Muestra (M)	0.05 cm (0.00082 μA)	0.15 cm (0.00250 μA)	0.1 cm (0.00167 μA)	0.1 cm (0.00167 μA)
M + 20 ppb	3.50 cm (0.02833 μA)	3.60 cm (0.06000 μA)	3.70 cm (0.06167 μA)	3.6 cm (0.06000 μA)

Para calcular las incertidumbres de la medición de la corriente de pico a partir de la ecuación (7) se evaluaron las incertidumbres estándares de cada parámetro de esta ecuación, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla No. 12. Corrientes de pico y su incertidumbre relativa ($U_{i\mu A}$ / en μA)

	Ip promedio/cm(μA)	$U_{i\mu A}$	Incertidumbre
Muestra (M)	0.1 (0.00167)	0.0003401	0.041474
M + 20 ppb	3.6 (0.06000)	0.0004108	0.000047

La tabla No. 13. Refleja los parámetros, el instrumento de medición, las incertidumbres absolutas, las incertidumbres estándares y relativas.

Tabla No. 13. Incertidumbres absolutas, estándares y relativas de instrumentos y de la solución estándar de plomo.

Parámetros (P)	Instrumento	Incertidumbre absoluta (a)	Incertidumbre estándar (U_e)	Incertidumbre relativa (U_e/P) ²
I_M (0.1 cm)	Regla	0.05	0.0204 ($a / \text{Raíz de } 6$)	0.041616
$I_{M+Std.}$ (3.6 cm)	Regla	0.05	0.0204 ($a / \text{Raíz de } 6$)	3.2 x 10-05
V_R (10 V)	Potenciómetro (Registrador)	0.04	0.0200 ($a / 1.96$)	0.000004
S_P (0.5 μA)	Sensibilidad (Polarógrafo)	0.0025	0.0013 ($a / 1.96$)	6.76 x 10-06
V_P (12 V)	Potenciostato (Polarógrafo)	0.048	0.0240 ($a / 1.96$)	0.000004
C_{SM} (1001 ppm)	Concentración del estándar, solución madre	2	1.1547 ($a / \text{Raíz de } 3$)	1.33 x 10-06

La concentración de plomo en la muestra de orina se calcula a partir de la ecuación (8) y su incertidumbre por la ecuación (10). El intervalo de confianza de la concentración de plomo en la muestra de orina $C_{Pb} \pm 2U_{CPb}$ es la siguiente: **“28.6 \pm 11.7 μg de plomo / L de orina”**. La tabla No. 14 muestra los diferentes parámetros para calcular la incertidumbre de la concentración de plomo.



Tabla No. 14. Parámetros, Incertidumbre absolutas, estándares y relativas.

Parámetros (P)	Volumétricos	Incertidumbre absoluta (a)	Incertidumbre estándar (U_e)	Incertidumbre relativa (U_e/P) ²
$V_1 = 100 \mu\text{L}$	Micropipeta finnippetete de $100 \mu\text{L}$	0.09	$0.0519 (a / \text{Raíz de } 3)$	2.69×10^{-7}
$V_2 = 5 \text{ ml}$	Balón de 5 ml, Clase A	0.02	$0.0082 (a / \text{Raíz de } 6)$	2.69×10^{-6}
$V_3 = 100 \mu\text{L}$	Micropipeta finnippetete de $100 \mu\text{L}$	0.09	$0.0519 (a / \text{Raíz de } 3)$	2.69×10^{-7}
$V_4 = 100 \text{ ml}$	Balón de 100 ml, Clase A	0.08	$0.0327 (a / \text{Raíz de } 6)$	1.07×10^{-7}
$V_5 = 100 \mu\text{L}$	Micropipeta finnippetete de $100 \mu\text{L}$	0.09	$0.0519 (a / \text{Raíz de } 3)$	2.69×10^{-7}
$V_6 = 5 \text{ ml}$	Balón de 5 ml, Clase A	0.02	$0.0082 (a / \text{Raíz de } 6)$	2.69×10^{-6}

(La incertidumbre absoluta (a) de un volumétrico, tales como balones, buretas, pipetas, etc., es especificada por el fabricante. Para el caso de un balón de 5 ml de clase A, por ejemplo, la incertidumbre especificada es 0.02 ml. Esta incertidumbre tiene una distribución triangular y la incertidumbre estándar se calcula dividiendo a entre la raíz de 6, para el caso de una micropipeta, esta sigue una distribución rectangular por lo tanto su incertidumbre estándar se calcula dividiendo a entre la raíz de 3).

Como se puede observar en la tabla No. 12, los valores de incertidumbres relativas correspondientes a la corriente de pico de la muestra y la corriente de pico de la muestra más el estándar agregado, son sumamente grandes en comparación con las incertidumbres relativas correspondientes al resto de los parámetros de la ecuación (10) (Tabla No. 14), el parámetro que tiene mayor incertidumbre relativa es el que tendrá mayor peso para el cálculo de la incertidumbre de la concentración de plomo, por lo tanto podemos deducir que si disminuimos las incertidumbres de las corrientes de pico de la muestra y de la muestra más el estándar agregado, podemos disminuir la incertidumbre en el cálculo de la concentración de plomo en la muestra de orina. Si variamos el parámetro V_R de 10 Volts a 2 Volts en la ecuación (6), aumenta la sensibilidad del registrador aumentando el tamaño de



los picos y disminuyendo la incertidumbre como se muestra a continuación con el siguiente experimento:

Se tomó la misma muestra de orina (usada anteriormente) y se analizó de igual manera variándose únicamente la sensibilidad del registrador lo cual no altera el resultado del cálculo de la concentración de plomo en la muestra, esto equivale a hacer un “zoom” de los picos observados en el registrador, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla No. 15. Resultados del análisis de rutina aumentando la sensibilidad del registrador, corrientes de pico en cm y μA .

Muestra (M)	Réplicas de la i_p / cm (μA)			i_p promedio, cm (μA)
	0.25 (0.00083)	0.75 (0.00250)	0.50 (0.00167)	
M + 20 ppb	17.5 (0.05833)	18.0 (0.06000)	18.5 (0.06167)	18.0 (0.06000)

Para calcular las incertidumbres de la medición de las corrientes de pico a partir de la ecuación (7) se evaluaron las incertidumbres estándares de cada parámetro de esta ecuación, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla No. 16. Resultados del análisis de rutina aumentando la sensibilidad del registrador, corrientes de pico y su incertidumbre ($U_{i_{\mu\text{A}}}$ / en μA).

	i_p promedio, cm (μA)	U_{i_p}	Incertidumbre
Muestra (M)	0.5 (0.00167)	6.8×10^{-5}	0.001679
M + 20 ppb	18.0 (0.06000)	2.4×10^{-4}	0.000016

La concentración de plomo en la muestra de orina se calcula a partir de la ecuación (8) y su incertidumbre por la ecuación (10). El intervalo de confianza de la concentración de plomo en la muestra de orina $C_{Pb} \pm 2U_{CPb}$ es la siguiente: “**28.6 \pm 2.4 μg de plomo / L de orina**”.



Tabla No. 17. Concentraciones de plomo en muestras de orina obtenidos por el método de rutina y por el método de la curva de adición patrón con sus respectivas incertidumbres.

Método de análisis	Concentración de Pb	Incertidumbre	Unidades
Curva de adición patrón	29.4	± 0.1	μg de plomo / L de orina.
Rutina, con una sensibilidad del registrador de 10 Volts.	28.6	± 11.7	μg de plomo / L de orina.
Rutina, utilizando una sensibilidad del registrador de 2 Volts.	28.6	± 2.4	μg de plomo / L de orina.

Tal y como se explico antes, aquí se puede observar que entre los resultados de concentración obtenidos por medio de la curva de calibración normal y por el método de rutina a 10 Volts y 2 Volts no existe diferencia significativa, sin embargo en el método de rutina a 10 volts se obtienen incertidumbres muy grandes en comparación con el método de la curva de calibración normal de tal manera que es necesario trabajar con sensibilidades en el registrador más bajas que 10 volts para disminuir su incertidumbre asociada con el análisis de rutina, para demostrar ésto se realizó el análisis de rutina a una sensibilidad de 2 volts en el registrador y como se puede observar su incertidumbre disminuye considerablemente desde 11.7 hasta 2.4, por lo que se recomienda trabajar a sensibilidades en el registrador menores de 2 volts para el análisis de rutina. Además estas concentraciones obtenidas están por debajo de los **niveles normales de plomo en orina humana establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS)**.



VII CONCLUSIONES

El método de voltamperometría de redisolución anódica se puede aplicar para la determinación de plomo en muestras de orina ya que demostró buena exactitud y buena linealidad en un buen rango de aplicación.

Además este método presenta un límite de detección por debajo de los niveles normales de plomo en orina humana por tanto es sensible para determinar este metal en dicha muestra.

Existe buena repetibilidad, esto se demostró a través de las cartas de control tanto para el estándar como para las curvas de calibración (normal y adición patrón).

No existe efecto de matriz en la determinación de plomo en muestras de orina.

En la determinación de plomo en muestras de orina utilizando la curva de calibración por adición patrón se obtienen concentraciones con incertidumbres pequeñas en comparación con el análisis de rutina pero esto se puede solucionar aumentando la sensibilidad del registrador, de tal manera que tanto el análisis por el método de la curva de adición patrón como el método de rutina pueden aplicarse para el análisis de plomo en orina.



VIII RECOMENDACIONES

- I. Realizar el estudio de robustez este método voltamperométrico.
- II. Realizar el análisis de plomo en orina através de una curva de calibración normal y compararlo con el resultado obtenido a través de la curva de adición patrón.
- III. Aplicar el método a un número mayor de muestras de orina.
- IV. Utilizar este método para realizar un monitoreo de personas que trabajen en un medio ambiente contaminado por plomo.



IX BIBLIOGRAFÍA

1. Protocolos de vigilancia sanitaria específica, plomo., comisión de salud pública, consejo internacional del sistema nacional de salud, 1999.
2. Chavarría Ivón, “Validación del método voltamperométrico para la determinación de plomo en sangre”, Monografía, 1999.
3. Jorge Vidal., “Química Inorgánica”. Stella, Novena Edición, Viamonte 1984.
4. Lan Zuzmendaritza / Dirección del trabajo del gobierno Vasco. Higiene eta segurantz lanean / Seguridad e higiene en el trabajo. Servicio central de publicaciones. Monografía, 1986.
5. Lauwerys RR. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Ed Masson. Paris, 1982.
6. Alessio L, Apostoli P, proposta di protocollo per il monitoraggio e la sorveglianza sanitaria del laboratori esposti a plombo inorganico. Med lav, 1988.
7. Ellenhorn MJ, Barceloux DG. Medical Toxicology Diagnosis and treatment of human poisoning. Elsevier science publishing company, New York, 1988.
8. Alessio L, Foa V. Human biological monitoring of industrial chemicals series, lead, comission european communities, 1983.
9. OIT/ILO Encyclopedia Occ. Health and safety, Geneve, 1983.
10. Anttila A, Heikkila P, Pukkala E, Excess lung cancer among workers exposed to lead. Scand J work environ health, 1995.
11. Kerkby H, Gyntelberg F. Blood pressure and other cardiovascular risk factors of long-term exposure to lead, scand J work environ health, 1985.
12. Pocock SJ, shaper AG, Ashby D. The relationship between blood lead, blood pressure, stroke, and heart attacks in middle ege british men. Environ health persp, 1988.
13. Sanz P. Nogues, corbella J. Alteración hepatológica en una intoxicación crónica por plomo, An Med int, 1987.
14. Diario oficial de lñas comunidades europeas, 1997.



15. Jorge Chacón, “Curso teórico práctico en aspectos técnicos del control de calidad interno del laboratorio de análisis”, CIRA/UNAN-Managua, 1999.
16. Gustavo Delgado, “Principios de estadística y técnicas de validación”, UNAN-León, 1999.
17. Fernando Burriel Marti., Lucena Conde Felipe., Arribas Jiménez Siro., “Química analítica cuantitativa”., Décima edición, Preninfo S.A. de C.V., Magallanes, 1979.
18. Clifford., A.A., “Multivariate error Análisis”, Applied science Publishers L.T.D., London, 1973.
19. Analytica Chimia Acta 335 / 196 / 201-207.
20. Fernando Burriel Marti, Lucena Conde, “Aspecto técnico del control de calidad interno de laboratorio de análisis químico”.,1999.



X ANEXOS

X.1 Tablas de datos de algunos parámetros de validación

Tabla No. 18. Datos para la optimización del tiempo de digestión.

Tiempo (min.)	Réplicas (μA)						Promedio
10	0.0175	0.0175	0.0283	0.0183	0.0200	0.0200	0.0186
20	0.0258	0.0267	0.0258	0.0242	0.0242	0.0258	0.0254
30	0.0200	0.0217	0.0225	0.0208	0.0217	0.0200	0.0211
40	0.0158	0.0167	0.0175	0.0183	0.0167	0.0183	0.0172

Tabla No. 19. Porcentaje de recuperación y efecto de matriz. Curva de calibración normal y adición patrón.

Estándar ($\mu\text{g/L}$)	I_p en μA Adición Patrón	I_p en μA Calibración Normal
0	0.018	0.012
8	0.044	0.035
16	0.068	0.058
24	0.098	0.084
32	0.120	0.116
40	0.145	0.141
48	0.174	0.158
56	0.197	0.188
b_0	0.03123	0.02190
b_1	0.00242	0.00243



Tabla No. 20. Curvas de adición patrón adicionando el estándar antes y después de digerir la muestra.

Concentración del estándar ($\mu\text{g/L}$)	C.A.P. std. Adicionado antes de digerir (I_p en μA)	C.A.P. std. Adicionado después de digerir (I_p en μA)
0	0.018	0.015
20	0.082	0.089
40	0.164	0.180
60	0.210	0.244
80	0.271	0.303
100	0.335	0.378

Tabla No. 21. Curva de calibración normal, límites de detección y límites de cuantificación.

Concentración del estándar ($\mu\text{g/L}$)	Corriente de pico en μA
0	0.011
2	0.018
4	0.025
6	0.032
8	0.037
10	0.043
12	0.047
14	0.055
16	0.060
18	0.066
b_0	0.0124
b_1	0.0030
Sb_0	0.000602
Sb_1	0.000056

*Tabla No. 22. Curvas de calibración normal, realizadas por tres días consecutivos.*

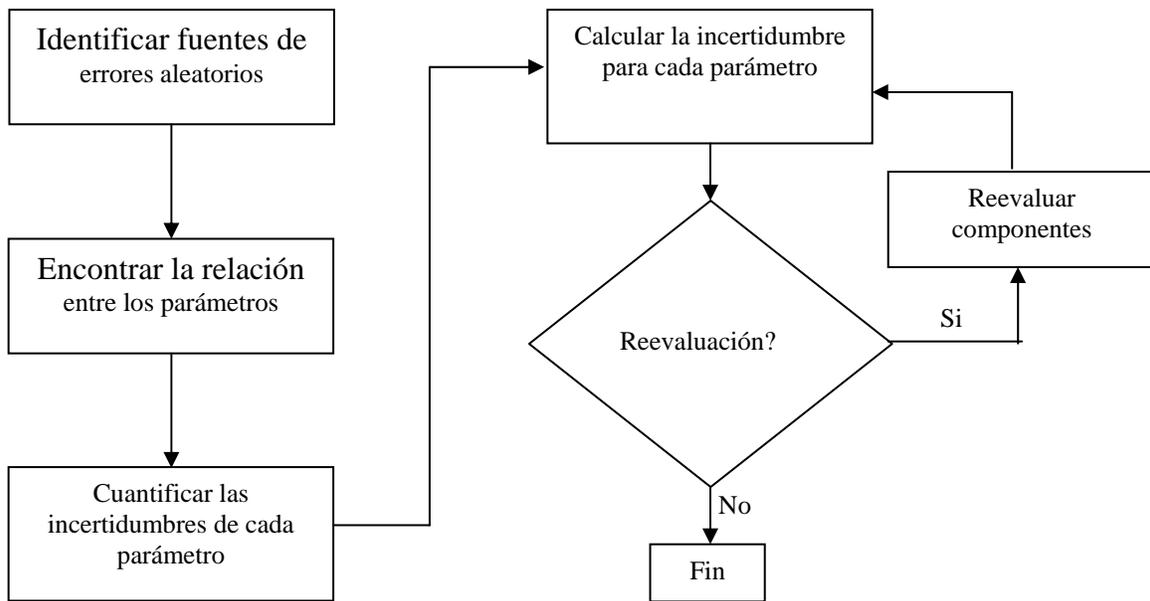
Conc. Estd. ($\mu\text{g/L}$)	Días		
	1	2	3
0	0.012	0.010	0.009
8	0.035	0.032	0.035
16	0.059	0.064	0.061
24	0.084	0.087	0.088
32	0.116	0.116	0.115
40	0.141	0.139	0.132
48	0.158	0.157	0.149
56	0.188	0.177	0.184

Tabla No. 23. Curvas de calibración por adición patrón, realizadas por tres días consecutivos.

Conc. Estd. ($\mu\text{g/L}$)	Días		
	1	2	3
0	0.018	0.014	0.018
8	0.044	0.037	0.040
16	0.068	0.052	0.065
24	0.098	0.086	0.087
32	0.119	0.114	0.127
40	0.145	0.134	0.144
48	0.174	0.165	0.162
56	0.197	0.179	0.185

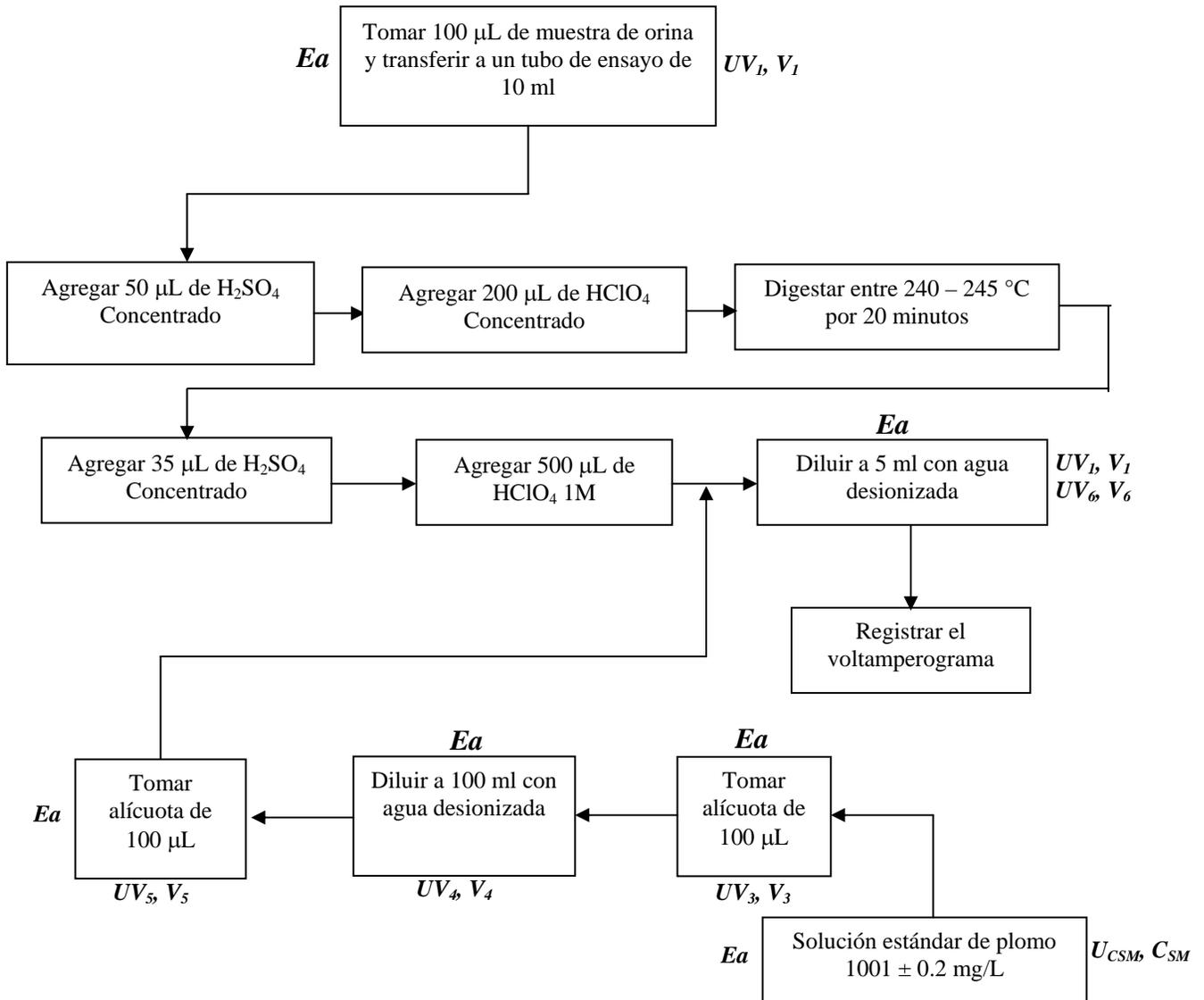


X.2 Proceso de estimación de la incertidumbre





X.3 Flujoγράma de la determinación de plomo en muestras de orina por voltamperometría de redisolución anódica





X.4 Deducción de la ecuación para la incertidumbre en el cálculo de la concentración a partir de la curva de adición patrón

Modelo de regresión: $i_x = b_0 + b_1 C_x$ si hacemos $i_x = 0$

$$C_x = \left| \frac{b_0}{b_1} \right| \quad (1)$$

Dado que el contenido de plomo en orina se obtiene a partir de C_x y de los efectos de dilución entonces:

$$C_A = C_x \frac{V_2}{V_1} \quad (2)$$

Si introducimos aquí la ecuación (1) obtenemos:

$$C_A = \frac{b_0 V_2}{b_1 V_1}$$

de (1) tenemos que: $\Delta C_x = \Delta \left(\frac{b_0}{b_1} \right)$

$$\Delta C_x = \frac{\Delta b_0}{b_1} - \frac{b_0 \Delta b_1}{b_1^2}$$

$$(\Delta C_x)^2 = \left[\frac{\Delta b_0}{b_1} - \frac{b_0 \Delta b_1}{b_1^2} \right]^2$$

$$(\Delta C_x)^2 = \left(\frac{\Delta b_0}{b_1} \right)^2 - 2 \left(\frac{\Delta b_0}{b_1} \right) \left(\frac{b_0}{b_1^2} \right) \Delta b_1 + \left(\frac{b_0 \Delta b_1}{b_1^2} \right)^2$$

$$(\Delta C_x)^2 = \left(\frac{\Delta b_0}{b_1} \right)^2 - 2 \frac{\Delta b_0 \Delta b_1}{b_1^2} \left(\frac{b_0}{b_1^2} \right) + \left(\frac{b_0 \Delta b_1}{b_1^2} \right)^2$$



$$\sum \frac{\Delta C_x^2}{n-1} = \text{Var}\langle C_x \rangle = U_{C_x}^2 = \left(\frac{U_{b_0}}{b_1} \right)^2 + \left(\frac{b_0}{b_1^2} U_{b_1} \right)^2 - \underbrace{\frac{2U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)}}{b_1^2}}_{\text{Covarianza}} \left(\frac{b_0}{b_1^2} \right) \quad (3)$$

Como $\frac{b_0}{b_1} = C_x$; sustituyendo en (3) tenemos:

$$U_{C_x}^2 = \left(\frac{U_{b_0}}{b_1} \right)^2 + \left(\frac{U_{b_1} C_{pb}}{b_1} \right)^2 - \frac{2U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)} C_{pb}}{b_1^2}$$

$$U_{C_x}^2 = \frac{U_{b_0}^2 + C_x^2 U_{b_1}^2 - 2C_x U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)}}{b_1^2} \quad (4)$$

Aplicando la ley de propagación del error a la ecuación (2) tenemos que:

$$U_{C_A}^2 = U_{C_x}^2 + \left(\frac{U_{V_1}}{V_1} \right)^2 + \left(\frac{U_{V_2}}{V_2} \right)^2$$

$$U_{C_A}^2 = \frac{U_{b_0}^2 + C_x^2 U_{b_1}^2 - 2C_x U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)}}{b_1^2} + \left(\frac{U_{V_1}}{V_1} \right)^2 + \left(\frac{U_{V_2}}{V_2} \right)^2$$

Por tanto la incertidumbre será:

$$U_{C_A} = \sqrt{\frac{U_{b_0}^2 + C_x^2 U_{b_1}^2 - 2C_x U_{b_0} U_{b_1} r_{(b_0, b_1)}}{b_1^2} + \left(\frac{U_{V_1}}{V_1} \right)^2 + \left(\frac{U_{V_2}}{V_2} \right)^2} \quad (5)$$

la cual corresponde a la incertidumbre de la concentración de plomo en la muestra de orina. Dado a que esta se calcula a partir de una curva de adición patrón tendremos también una incertidumbre debida al modelo de regresión lineal la cual se calcula con la ecuación siguiente:



$$U_M = S_x = \frac{S_{x/y}}{b_1} \left\{ \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y})^2}{b_1^2 \sum (x_1 - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} \quad (6)$$

Por tanto la incertidumbre total de la concentración de plomo en la muestra de orina será:

$$C_{Pb} = \sqrt{U_{C_A}^2 + U_M^2} \quad (7)$$

X.5 Esquema del proceso de obtención de agua tridestilada libre de plomo

