

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



**“DETERMINACIÓN DE PLOMO EN LOS RÍOS DE LA ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
CARLOS RENAN FUNES GUADRÓN**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, MARZO DEL 2005

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



**“DETERMINACIÓN DE PLOMO EN LOS RÍOS DE LA ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
CARLOS RENAN FUNES GUADRÓN**

ASESORES:
Dr. NÉSTOR GUILLERMO ORELLANA
Lic. ANA THELMA HERRERA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, MARZO DEL 2005

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN:

**“DETERMINACIÓN DE PLOMO EN LOS RÍOS DE LA ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”**

**PRESENTADO POR:
CARLOS RENAN FUNES GUADRÓN**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ASESORES: Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA
Lic. ANA THELMA HERRERA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, MARZO DEL 2005

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA
Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIA GENERAL
Lic. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA

FISCAL
Lic. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO
Lic. JOSÉ HECTOR ELÍAS DÍAZ

DIRECTORA ESCUELA DE QUÍMICA
Mter. ROSARIO AMANDA RIVAS DE ZEPEDA

AGRADECIMIENTOS

Al Señor Dios Todopoderoso
Por darme la oportunidad, de poder lograr este triunfo académico

A mis Padres
Por apoyarme siempre durante toda mi vida

A mis Hermanas y amigo Francio
Por darme siempre ánimos de seguir luchando

Al asesor
Por ofrecerme siempre toda su capacidad, conocimiento y tiempo para poder desarrollar y culminar este trabajo de investigación

A la Escuela de Química
Por permitirme hacer uso de sus laboratorios, así como también por proveerme del material y equipo necesarios para el desarrollo de este trabajo

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	II
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	6
MARCO TEÓRICO	8
2.1 Sustancias químicas	9
2.2 Exposición	10
2.3 Toxicocinética	10
2.4 Mecanismo de acción	11
2.5 Efectos en la salud	12
2.6 Metodología de validación	17
PARTE EXPERIMENTAL	23
3.1 Descripción del método de análisis	24
3.2 Tratamiento de muestras que contienen plomo	27
3.3 Cuantificación de plomo en muestras	30
3.4 Determinación de las características analíticas del método	30

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	34
4.1 Determinación de la linealidad del método	35
4.2 Determinación de la repetibilidad del método	39
4.3 Determinación de la exactitud del método	43
4.4 Límite de detección y cuantificación del método	45
4.5 Cuantificación de plomo en muestras	47
CONCLUSIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancias y la absorbancia media para la elaboración de la curva de calibrado(1)	35
Tabla 4.2 Resultados de la relación entre absorbancia-concentración para la determinación de la linealidad del método.	37
Tabla 4.3 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancia y absorbancia media para la elaboración de la curva de calibrado(2)	39
Tabla 4.4 Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibrado (1) y (2) para la determinación de plomo en muestras de aguas.	42
Tabla 4.5 Resultados obtenidos de las absorbancias medidas, el porcentaje de recuperación y de error en el análisis del estándar de plomo de 2.5 µg /L.	43
Tabla 4.6 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancia del nivel de concentración inferior del rango del método (2.5 µg /L)	45
Tabla 4.7 Muestra los resultados obtenidos de las concentraciones de plomo en el análisis de las muestras.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4.1 Curva de calibrado (1) para la determinación de plomo en muestras de aguas.	36
Figura 4.2 Muestra la dispersión de cada uno de los puntos respecto del valor medio de la relación.	38
Figura 4.3 Curva de calibrado (2) para la determinación de plomo en muestras de aguas.	40

RESUMEN

En este trabajo de investigación se presentan los análisis realizados en muestras colectadas, de fuentes cercanas a zonas industriales en San Salvador, a las cuales se les determinó su concentración de plomo, utilizando el método espectrofotométrico de la ditizona, el cual fue sometido a un proceso de validación que consistió en la realización de una serie de pruebas que establecieron que las características analíticas estudiadas (linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y límite de cuantificación) eran de la calidad deseada.

Los resultados obtenidos permiten establecer, de acuerdo a la concentración de plomo encontrada en las diferentes muestras de agua, que probablemente no existe contaminación por residuos que generan las industrias ubicadas en las cercanías de los puntos de muestreo o que haya otros factores físico químicos que hagan que el plomo este ubicado en otro tipo de ambientes y no en el agua.

INTRODUCCIÓN

El plomo es un componente natural de la corteza terrestre y se encuentra en una concentración promedio cercana a 16 mg/kg. ⁽⁷⁾, formando parte de diversos minerales como la galena (sulfuro de plomo), la cerusita (carbonato de plomo) y la anglesita (sulfato de plomo).

A pesar que se ha utilizado en numerosos productos, es un metal tóxico y por lo tanto peligroso para la salud de los seres humanos si se inhala o ingiere. Las fuentes más comunes de emisión que contaminan la atmósfera, el suelo y los mantos de agua son aquellas que involucran a los procesos industriales que utilizan plomo o productos que lo contienen. La principal contaminación ambiental es debida a compuestos inorgánicos de plomo. En las áreas contaminadas, aumenta el nivel de residuos en los alimentos y bebidas, así como su contenido en el suelo.

El agua es un elemento fundamental y determinante en la vida humana. La escasez y el uso abusivo del agua dulce plantean una creciente y seria amenaza para el desarrollo sostenible y la protección del medio ambiente. La salud y el bienestar humano, la seguridad alimenticia, el crecimiento industrial y el ecosistema de los que dependen se hallan en peligro.

El agua de consumo puede ser una fuente de intoxicación por plomo, cuando se combinan aguas de carácter ácido con un sistema de conducción por tuberías plomadas; por término medio, se calcula que el plomo en el agua potable contribuye en un 10 a 20 por ciento ⁽¹⁾ a que los niños entren en contacto con este metal, debido a que se incrementa los niveles de concentración por el uso de tuberías de plomo en las instalaciones superiores y/o en los tanques de almacenamiento revestidos de plomo

Se ha calculado que el contenido de plomo natural en el agua de ríos y lagos en todo el mundo es de 1000-10000 $\mu\text{g}/\text{L}$ ⁽⁷⁾ Si bien se han registrado valores más altos en los casos en los que se ha producido una contaminación, a partir de fuentes industriales, dichas situaciones son relativamente raras, puesto que existen mecanismos naturales que controlan los niveles.

En los últimos años, los controles de los gobiernos con relación al plomo en la gasolina, han reducido significativamente que las personas estén expuestas a este metal. El grado de daño que causa depende de la cantidad a la que este expuesto (considerando todas las fuentes).

La ingestión de plomo causa daños severos en el cerebro, riñones, sistema nervioso, glóbulos rojos de la sangre, aún en niveles por debajo de 50 $\mu\text{g}/\text{L}$; todo esto justifica reducir el límite ^(7,18) a 15 $\mu\text{g}/\text{L}$. Según datos de Normas Estadounidenses para Agua Potable, así como la

Agencia de Protección Ambiental del mismo país (EPA) Los efectos conocidos, varían de cambios bioquímicos leves, si el grado de exposición es bajo, a problemas neurológicos graves e intoxicaciones (o incluso la muerte) si el nivel de contacto es extremadamente alto.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de plomo en aguas de ríos de la zona Metropolitana de San Salvador utilizando el método de la ditizona con espectrofotometría visible.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.1) Validar el método de la ditizona para la determinación espectrofotométrica de plomo en aguas de ríos.
- 1.2) Muestrear las zonas de riesgo por contaminación con desechos que contengan plomo proveniente de industrias que puedan utilizarlo en procesos de producción.
- 1.3) Optimizar y aplicar el método de la ditizona para la determinación espectrofotométrica de plomo en aguas de los ríos de la zona Metropolitana de San Salvador.

MARCO TEÓRICO

2.1 SUSTANCIAS QUÍMICAS

Las sustancias químicas que se encuentran en el comercio son empleadas en los procesos productivos de muchas industrias y que además de los beneficios que aportan por sus usos, generando empleos e ingresos, pueden conllevar riesgos para el ambiente, la población y los bienes cuando poseen propiedades que las hacen peligrosas (corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas o inflamables) y cuando son manejadas en forma inadecuada. Tales riesgos pueden variar en las diversas fases del ciclo de las sustancias (producción o importación, almacenamiento, transporte, aplicación y disposición final), por ello son competencia de diversas dependencias de los gobiernos, la regulación basada en sus respectivas legislaciones y normas.

La gestión ambiental de las sustancias químicas peligrosas⁽¹³⁾ tiene como propósito prevenir y reducir los riesgos derivados de su liberación súbita al ambiente como consecuencia de accidentes, así como los que resultan de emisiones al aire, descargas a los cuerpos de agua o la generación de residuos peligrosos en las diferentes actividades, particularmente industriales, agropecuarias y de servicios.

El universo de las sustancias químicas es inmenso, ya que se han identificado más de 12 millones en la tierra, de las cuales alrededor de cien mil se encuentran en el comercio o son empleadas en las actividades de producción en el mundo. Además de los beneficios que han aportado a la sociedad al contribuir a preservar alimentos, combatir plagas, tratar enfermedades y permitir avances tecnológicos en muchas áreas, también se han descubierto que el manejo de un cierto número de ellas puede conllevar riesgos para la salud humana, los ecosistemas y los bienes. Por tal razón, se han constituido bases de datos en las que se describen las propiedades que las hacen peligrosas, las condiciones de exposición en las que pueden ejercer sus efectos adversos y las distintas medidas para prevenir y reducir sus riesgos; a la vez que se publican perfiles toxicológicos y criterios de salud ambiental en los que se ponderan sus riesgos.

A continuación se ofrece una visión general de la situación de las sustancias químicas requeridas para el uso industrial; por ejemplo la industria química genera productos exportables como: ácido tereftálico y sus sales, policloruro de vinilo, pigmentos y preparaciones con base de dióxido de titanio, fibras sintéticas de poliéster, y otros. Por otro parte la industria química inorgánica, abarca una gran variedad de compuestos que son empleados como insumos en la fabricación de múltiples productos utilizados no solo en la industria química sino en otras

aplicaciones; entre los que destacan: sulfato de sodio, óxido de magnesio, cloro y los ácidos sulfúrico, clorhídrico, fosfórico, nítrico y crómico. De la misma manera, el plomo, es utilizado como materia prima a partir de la cerusita (carbonato de plomo) y la anglesita (sulfato de plomo) para producir diversos compuestos orgánicos e inorgánicos, usados en numerosas actividades industriales.

Otras industrias que requieren de mayor demanda para el uso del metal en sus procesos productivos son: la metalúrgica, la de alfarería, la de pigmentos para pinturas, la de cables, la de baterías, las petroquímicas y demás.

2.2 EXPOSICIÓN

Las intoxicaciones por plomo han sido una de las enfermedades profesionales más reconocidas⁽⁵⁾ sin embargo ahora es evidente que pueden producirse efectos adversos con niveles de exposición antes considerados aceptables. Este metal es el gran contaminante químico de los lugares de trabajo y por lo tanto, un grave e importante riesgo para la salud de los trabajadores.

Existen una serie de trabajadores expuestos de una u otra forma al contacto con el plomo, entre los que se pueden citar: las personas recuperadoras de plomo de fuentes secundarias (como fundiciones), los fabricantes de baterías de almacenamiento, los de pinturas y pigmento, los soldadores, los que trabajan con municiones, los fabricantes de vidrio, los ceramistas que trabajan con pigmentos y barnices y los pintores^(5,24) además, en la industria de la construcción⁽¹⁷⁾ están expuestos aquellos que realizan tareas de demolición de estructuras de acero pintadas con base de plomo. La contaminación ha alcanzado mayores niveles de exposición en la población debido a la ingestión de alimentos y líquidos, a la inhalación de humos y polvos (vía de absorción importante), y la absorción por vía dérmica (piel indemne) en el caso de los compuestos orgánicos, en los niños la exposición se presenta por inhalación o ingestión involuntaria de partículas de plomo presentes en el polvo, aire y suelos, así como también en pinturas utilizadas para el recubrimiento de inmuebles.

2.3 TOXICOCINÉTICA

La absorción gastrointestinal de sales solubles de plomo en adultos puede ser muy alta mientras se ayuna (40-50%), pero es baja (3-15%) cuando se ingieren con alimentos. ⁽²⁷⁾ Basados en estudios con dietas balanceadas, la absorción gastrointestinal de plomo en niños suele ser alta, en proporciones de hasta un 40-50%. Sin embargo su absorción es fuertemente afectada por las formas nutricionales, siendo altas en niños que son deficientes en hierro. La deficiencia de calcio también puede incrementar la absorción de plomo.

La distribución de plomo se manifiesta a través de rutas de exposición; el plomo es distribuido al plasma sanguíneo, el cual en la sangre es encontrado en los eritrocitos, donde están ligados a la hemoglobina. Por otra parte, es importante mencionar que la acumulación de plomo en hueso constituye aproximadamente un 73% del total en el cuerpo del niño, aumentando hasta un 94% en un adulto⁽²⁷⁾.

2.4 MECANISMO DE ACCIÓN

El plomo puede afectar virtualmente cada órgano o sistema del cuerpo, ya que su mecanismo de acción involucra fundamentalmente procesos bioquímicos, como la habilidad del plomo para inhibir o imitar la acción del calcio al interactuar con las proteínas. En la interacción con las proteínas, se une ventajosamente con cada grupo funcional, incluyendo grupos sulfhidrilos, amina, fosfatos y grupos carboxílicos; presentando gran afinidad con los grupos sulfhidrilos que pudieran interferir con la actividad de las metaloenzimas de zinc, debido a que el zinc se une a los grupos sulfhidrilos en el sitio activo. El plomo igualmente se une a la metalotionina, una proteína rica en grupos sulfhidrilos, pero sin desplazar al cadmio o al zinc. La proteína es inducida por el cadmio, zinc y arsénico, pero aparentemente no por plomo, aunque la metalotionina lo secuestra en la célula.

Además el plomo interfiere con la síntesis de hemoglobina, alterando la actividad de algunas mitocondrias y enzimas. Uno de los más sensibles efectos hematológicos es la inhibición de la enzima citosólica del ácido delta amino levulínico (ALAD) que ocurre con niveles bajos de concentración (30 µg /L); la inhibición de la proteína se produce cuando se ha unido totalmente a los grupos sulfhidrilos vecinos en el sitio activo de esta. Como resultado de la inhibición se produce acumulación de ácido amino levulínico (ALA) en la sangre, la orina y en los tejidos.

El plomo también inhibe la inserción de hierro dentro de la protoporfirina por la enzima mitocondrial ferrochatalasea, probablemente se unan completamente a los grupos sulfhidrilos en el sitio activo o indirectamente por ruptura competa de la estructura mitocondrial. La inhibición de la ferrochatalasea trae como consecuencia un incremento de la protoporfirina de zinc (ZPP) en los eritrocitos, la cual es un indicador sensible de exposición en los niños, que ocurre con concentraciones cercanas a los 250 $\mu\text{g} /\text{L}$. Los efectos en la síntesis de hemoglobina no son limitados a los eritrocitos. Un número de estudios sugiere que los deterioros en la producción pueden ser un factor de la neurotoxicidad del metal⁽²⁷⁾.

2.5 EFECTOS EN LA SALUD

El plomo afecta virtualmente cada órgano y sistema en el cuerpo de humanos y animales. Los efectos producidos resultan ser similares, ya sea si su ingestión ha sido por medio de la inhalación o por la exposición vía oral y son los neurológicos (principalmente en niños), hematológicos y cardiovasculares los principales.

Estudios realizados en los Estados Unidos aportan evidencias para asociar exposiciones prenatales y postnatales con efectos adversos en el neurodesarrollo de recién nacidos y en niños pequeños, estos efectos neurológicos incluyen además, malformaciones congénitas y deficiencias, causados por niveles de exposición de concentración de plomo que oscilan entre los 100 y 200 $\mu\text{g} /\text{L}$ ^(25,26). En adultos retardan la velocidad de conducción de los nervios, con un nivel de exposición de concentración de 300 $\mu\text{g} /\text{L}$; mientras que en infantes la función del nervio periférico se ve afectada a esta concentración.

El plomo interfiere en la síntesis de hemoglobina, que trae como consecuencia: la acumulación de ALA en los tejidos incrementando su excreción en la orina; aumento de la protoporfirina de zinc en los eritrocitos; reducción de la hemoglobina en la sangre y anemias debidos a altos niveles de exposición. Muchos estudios epidemiológicos encontraron incrementos en la presión sanguínea relacionados con aumentos en la concentración de plomo. Datos animales demostraron que exposiciones por ingestión (vía oral) fueron las responsables de que produjera tal efecto. Altos niveles de exposición en los seres humanos producen lesiones

cardíacas y anomalías electrocardiográficas con concentraciones de 400 – 1000 $\mu\text{g/L}$.

Más exposiciones en animales han demostrado que el plomo causa daño en los riñones, presentando histopatología similar en humanos y animales así como en inclusiones intranucleares, además de mitocondrias hinchadas y daños tubulares. Efectos adversos se presentan en pruebas hechas a espermatozoides en hombres expuestos en los sitios laborales, literaturas recientes sugieren que son debidos a concentraciones menores de los 400 $\mu\text{g/L}$ ⁽²⁷⁾.

2.5.1 EFECTOS NEUROLÓGICOS

Numerosos estudios epidemiológicos y casos reportados indican que las exposiciones al plomo causan efectos neurológicos, provocando un retardo en la velocidad de conducción del nervio asociado con niveles de exposición de plomo de 300 $\mu\text{g/L}$ en adultos como en niños, siendo estos últimos los que manifiestan mayor sensibilidad a la neurotoxicidad del metal. Los resultados de estudios realizados en niños no son totalmente consistentes, algunos análisis indican que existe una disminución en el efecto cuando se produce un cambio en la concentración de 100 – 200 $\mu\text{g/L}$. La Agencia de Protección Ambiental (EPA) define los peligros del plomo como la probabilidad de exceder la concentración de 100 $\mu\text{g/L}$ ^(25,26).

2.5.2 EFECTOS RENALES

La neuropatía crónica está asociada con niveles de plomo de 400-1000 $\mu\text{g/L}$ en seres humanos expuestos ocupacionalmente (en los lugares de trabajo) a través de estudios realizados en niños, se pudo comprobar que el principal efecto es el daño renal debido a niveles de concentración de plomo cercanos a 340 $\mu\text{g/L}$ (provocando un aumento en la actividad de la N-acetil-beta-D-glucosamida en la orina, que funciona como un indicador sensible de exposición). El valor de concentración para los niños, sustentado por datos ocupacionales, es de alrededor de los 340 $\mu\text{g/L}$, y se toma como el valor al cual el órgano está expuesto al daño (TTD renal)⁽²⁷⁾.

2.5.3 EFECTOS CARDIOVASCULARES

Cuando los niveles de exposición han sido altos, el plomo produce lesiones cardíacas anormales en los seres humanos. Algunos estudios epidemiológicos reportan que existe una relación entre el incremento de la presión sanguínea y el incremento en la concentración de plomo. La contribución comparada con otros factores, es relativamente pequeña, estudios realizados con animales demuestran que las exposiciones por vía oral incrementan la presión sanguínea. La correlación entre plomo y presión sanguínea aparenta ser relativamente baja, con niveles que se extienden hasta $100 \mu\text{g} / \text{L}^{(27)}$, entonces este valor es adoptado como la TTD cardio (valor al cual el órgano es expuesto al daño).

2.5.4 EFECTOS HEMATOLÓGICOS

La consecuencia de altos niveles de exposiciones produce anemias normocítica e hipocrónica. El más sensible indicador del efecto de la síntesis de hemoglobina es la inhibición del ácido delta amino levulínico (ALAD).

La actividad de la ALAD es inversamente proporcional a la concentración de plomo en todos los niveles bajos que pudieran presentarse en la población general. Sin embargo, en ausencia de los efectos detectados en los niveles de hemoglobina, es importante hacer notar que los efectos causados en la síntesis pueden tener un impacto de largo alcance, particularmente en los niños. En conformidad con lo anterior descrito, la concentración concerniente al valor de $100 \mu\text{g} / \text{L}$, es seleccionada como la TTD hemato⁽²⁷⁾ (valor al cual el órgano es expuesto al daño).

2.5.5 EFECTOS TESTICULARES

Efectos adversos son reportados en exámenes de esperma debido a exposiciones ocupacionales donde la concentración de plomo varia de $400 - 500 \mu\text{g} / \text{L}$; en otros estudios, se manifiestan efectos adversos persistentes con altos niveles de exposiciones (concentraciones de $660 \mu\text{g} / \text{L}$).

El punto de partida para el incremento del riesgo por debajo del esperma normal y el esperma total considerado es de 400 µg /L. El valor es seleccionado como la TTD testicular⁽²⁷⁾ (valor al cual el órgano es expuesto a un daño muy grave).

2.5.6 ACUMULACIÓN DE PLOMO EN HUESOS

Recientemente se han documentado efectos tóxicos crónicos en los sistemas cardiovascular y nervioso⁽²⁰⁾ El sitio primario de almacenamiento de plomo en el organismo es el hueso, pero solo hasta fechas recientes se ha clarificado la significancia toxicológica de este hecho.

En algunas investigaciones se han destacado los peligros potenciales que representan las fuentes endógenas de plomo (depósitos óseos), el plomo tiene efectos tóxicos en muchos órganos, sistemas y procesos fisiológicos, incluyendo el desarrollo de la línea roja hemática, los riñones, el sistema cardiovascular, el aparato reproductor y, probablemente el aspecto de mayor gravedad, el desarrollo del sistema nervioso central.

La naturaleza de las manifestaciones de toxicidad depende no solo de la magnitud de la exposición sino también de las características de la persona expuesta; la neurotoxicidad del plomo es más crítica para el feto en desarrollo y el niño en crecimiento que para los adultos.

Diversos investigadores han estudiado los efectos por la contaminación por plomo sobre los niveles sanguíneos de la población. Si bien durante los últimos años se han establecidos medidas destinadas a disminuir las concentraciones ambientales de este metal apenas ha comenzado ha llevarse a cabo la medición de las fuentes endógenas potenciales de contaminación (por la liberación de plomo almacenado en el tejido óseo), especialmente en las mujeres, así como de sus consecuencias funcionales.

Las acciones tóxicas del plomo se atribuyen por su afinidad a los sitios de acción molecular del calcio; el metal actúa como sustituto del calcio en varios eventos regulatorios intracelulares.

La deposición de plomo en hueso está influenciada prácticamente por todos los procesos

que afectan el depósito o la movilización del calcio en el mismo. Aunque se aclara que, como toda analogía, ésta también tiene sus limitaciones ya que, por ejemplo, la distribución de ambos iones en el tejido sanguíneo es muy diferente.

Cada día se reconoce más el significado toxicológico del plomo acumulado en hueso, si bien muchos de los mecanismos que ocasionan el daño aun no están claramente caracterizados, se mencionarán tres aspectos de interés tanto clínico como de salud pública respecto a la acumulación de plomo en el hueso:

- a) En el hueso se realiza la medición más significativa de exposición acumulada al plomo.
- b) Opera como reservorio de plomo, el cual puede ser movilizado en estados fisiológicos y patológicos en los que aumenta la resorción ósea (embarazo, lactancia, menopausia, inmovilidad, tirotoxicosis, etc. Causa efectos adversos en otros tejidos ya que puede atravesar la barrera placentaria con graves consecuencias para el feto.

Se ha reconocido que el esqueleto es un importante blanco de la toxicidad causada por el plomo, cuyos efectos incluyen perturbación del desarrollo óseo y de la formación y resorción óseas.

2.5.7 PLOMO EN HUESO COMO FUENTE DE EXPOSICIÓN ENDÓGENA

Aunque desde hace muchos años se ha reconocido que el plomo se acumula en el hueso⁽²⁰⁾, se tenía la idea que se trataba de un secuestro, de un depósito con una sola vía, en la cual se iba acumulando el plomo removido de la circulación y de los tejidos blandos. Se trata de un concepto totalmente incorrecto, ya que el depósito y la remoción del plomo en hueso siguen exactamente la actividad fisiología del calcio que está sometida a los efectos de factores generales, tales como la nutrición y el ejercicio, y de factores específicos como las influencias hormonales y metabólicas.

Entre los elementos que modifican la fisiología del plomo están los factores de crecimiento, las proteínas derivadas del hueso, los estrógenos, la hormona paratiroidea, la calcitonina, la hormona del crecimiento, la prolactina, la tirotropina y nutrimentos como el calcio, el zinc y el fósforo. La fisiología del hueso, como ya se mencionó, es compleja y por ello

diferentes tipos tienen diferentes tasas de crecimiento y mineralización, como densidad final. Es de hacer notar que se conoce que la vida media del plomo no parece ser igual en los huesos corticales (con tejido óseo cortical, más denso y mineralizado) que en los trabeculares (de tejido óseo del tipo esponjoso, menos denso). Algunos trabajos experimentales sugieren que hay mayor movilidad del plomo en el hueso trabecular que en el cortical.

El embarazo implica una mayor demanda de calcio, tanto de la dieta como de los almacenamientos fisiológicos en tejido óseo. Estas demandas surgen de los requerimientos fetales para osificación y crecimiento, los cuales aparecen durante el tercer trimestre del embarazo.

El hueso materno funge como fuente de calcio en esa etapa. Se observan cambios en la tasa de formación y de resorción, especialmente en mujeres embarazadas con dietas deficientes en calcio. Esta movilización ósea estimula en gran medida la liberación de plomo, el cual atraviesa libremente la barrera placentaria, de tal forma que el plomo de hueso se convierte no sólo en fuente endógena para la madre sino también para el feto en desarrollo.

Al estudiar el plomo en hueso como fuente de exposición endógena, es muy importante considerar los factores que pueden agravar la remoción ósea en los estados fisiopatológicos. Para las mujeres embarazadas, estas condiciones incluyen: dieta, estado general de salud, edad y paridad, entre otras.

2.6 METODOLOGÍA DE VALIDACIÓN

Se realizará la validación del método de la ditizona que posibilitará la determinación por espectrofotometría visible de plomo en muestra de aguas colectadas. La validación de un método, es aquel proceso por el cual se establece mediante estudios de laboratorio, que sus características analíticas satisfacen los requisitos para sus aplicaciones deseadas^(3,9,10); esta capacidad se expresa en términos de parámetros de análisis, donde se consideran: la linealidad, precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, estabilidad y rango.

Para el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, la validación es un requisito imprescindible que está establecido por agencias reguladoras y por comisiones en los países donde existen centros estatales de normalización.

Para efectos de comprensión en este trabajo definiremos los términos más utilizados^(3,23):

Calibración:

Conjunto de operaciones que permiten establecer, en condiciones específicas, la relación existente entre los valores indicados por un instrumento de medida.

Curva de calibración:

Conjunto de concentraciones que describen el intervalo de trabajo en el cual se cuantificará el analito a determinar.

Rango:

Intervalo de un método analítico definido por las concentraciones comprendidas entre el nivel superior e inferior del compuesto

Intervalo de trabajo:

Intervalo de concentraciones en el cual el método ha demostrado ser preciso, exacto y lineal para el compuesto a analizar.

Blanco de reactivo:

Es la solución que contiene todos los reactivos usados en los mismos volúmenes y concentraciones en el procedimiento de la muestra. Este blanco debe seguir los pasos de digestión y preparación de la muestra.

Método de adición estándar:

Indica la preparación de estándares en la matriz de la muestra, añadiendo cantidades conocidas de un estándar a una o más alícuotas de la muestra y que compensan los efectos de exaltación o depresión de la señal del analito.

Los parámetros analíticos necesarios para realizar el estudio de validación, son los que a continuación se describen:

2.6.1 LINEALIDAD

Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido⁽³⁾ para métodos de prueba este estudio es desarrollado por la preparación de soluciones estándares en cuatro niveles de concentración, durante tres o cuatro días⁽¹⁰⁾.

La cantidad experimental medida (y) se representa frente a “x” para obtener una curva de calibrado, que normalmente se aproxima a una línea recta. El método estadístico empleado para la elaboración de esta línea está referido al análisis de regresión⁽²¹⁾, el cual está limitado al estudio del procedimiento de regresión más sencillo denominado método de mínimos cuadrados. La curva de calibrado se ajusta por este método, mientras que los estimadores de regresión como: el coeficiente de correlación, el coeficiente de regresión o pendiente, y el intercepto se calculan median expresiones matemáticas o programas estadísticos contenidos en las computadoras. Definiendo a continuación la ecuación matemática para la línea de regresión de “y” sobre “x” de la curva de calibrado:

$$Y = a_0 + a_1X \quad (1)$$

Muchos autores plantean que el coeficiente de correlación obtenido debe ser mayor a 0.999 para que el método se considere lineal⁽³⁾.

Un ejemplo más apropiado del criterio de linealidad⁽¹⁰⁾ para un método probado es que el coeficiente de correlación para cada tres curvas (cada cinco niveles de concentración) será de 0.99 para el rango de concentraciones, y para un método impuro se obtendrá un coeficiente de correlación de 0.98 bajo las mismas condiciones.

2.6.2 PRECISIÓN

Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra homogénea son semejantes entre sí.

La Norma Británica⁽³⁾ externa que la precisión es la expresión del grado de repetibilidad y reproducibilidad.

Repetibilidad:

Es establecida utilizando un mínimo de 9 determinaciones cubriendo la especificidad del rango para el proceso (3 replicas por cada 3 concentraciones). Se desarrolla bajo las mismas condiciones experimentales, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos durante una misma sesión de trabajo en un período corto^(9,11).

La precisión es expresada como la varianza, la desviación estándar o el coeficiente de variación de una serie de medidas.

2.6.3 EXACTITUD

Indica la capacidad del método analítico para obtener resultados lo más próximo posible al valor verdadero⁽³⁾, reflejando el error sistemático o la tendencia a él cuando se trata de métodos analíticos muy laboriosos con varias etapas, como extracciones, purificaciones, y otras (desviación por defecto en los resultados).

Una de las formas de medir la exactitud es midiendo el porcentaje de recuperación, que consiste en añadir una solución estándar a la muestra y comparar la diferencia entre los resultados que se obtienen de la muestra sin adicionar y la muestra adicionada. Con el valor teórico de la adición que se toma como valor de referencia, la cual puede también ser usada para la recuperación del analito.

Un ejemplo del criterio de exactitud⁽¹⁰⁾ para un método de prueba es que el medio de recuperación será de 100 + 2% en cada concentración, mientras que para un método impuro el medio de recuperación deberá estar dentro del 0.1% de la concentración teórica absoluta o el 10% relativo para impurezas en el rango de 0.1-2.5 del % en peso.

En este sentido la exactitud del método⁽¹⁶⁾ se expresa como porcentaje de recuperación y como porcentaje de error:

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración original}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ de error} = \frac{(\text{concentración original} - \text{concentración calculada})}{\text{concentración original}} \times 100 \quad (3)$$

2.6.4 LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección de un método^(16,23) es la concentración más baja del analito que produce una respuesta detectable sobre el nivel del ruido del sistema, típicamente tres veces el nivel de ruido o tres veces superior a la señal del blanco.

El límite de detección se obtiene^(11,16) multiplicando por tres la desviación estándar de las lecturas de absorbancia de un blanco o del nivel de concentración inferior del rango del método. De esta manera el límite de detección se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$LD = 3S/a_1 \quad (4)$$

Del cual S es el valor obtenido de la desviación estándar de las lecturas de absorbancias del nivel de concentración inferior del rango del método y a_1 es la pendiente de la ecuación general de la curva de calibrado(1).

2.6.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación es la concentración más baja de analito en una muestra que produce una señal suficientemente mayor que el blanco, que puede detectarse con cierto nivel de

exactitud y precisión.

Es la concentración típica que produce una señal 10 veces superior a la señal del blanco, el cual se obtiene multiplicando^(11,16) por 10 la desviación estándar antes utilizada. Generalmente es el punto más bajo de la curva de calibrado del método, excluyendo el cero.

$$LQ = 10S/a_1 \quad (5)$$

Los términos utilizados en la ecuación resultan ser los mismos con los que se calcula el límite de detección.

PARTE EXPERIMENTAL

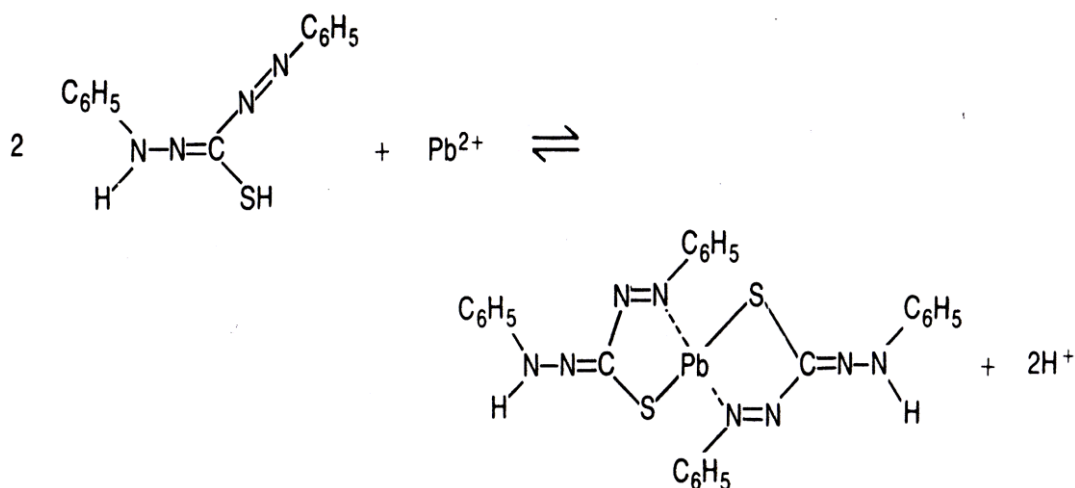
Se describirán, de aquí en adelante, los aspectos relacionados con la metodología utilizada para la determinación de plomo en agua, así como el equipo, los materiales y reactivos empleados para tales fines. También se describen los procedimientos seguidos en la determinación de las características analíticas del método.

3.1 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS

El método de la ditizona^(2,4,19) se basa en la formación de un complejo rojo, el cual se forma haciendo reaccionar la ditizona (difencilcarbazona) que es un reactivo cromóforo con el analito no absorbente (plomo) presente en la muestra, en medio ácido, para favorecer la ruptura del enlace S-H de la ditizona liberando iones hidrónios y formando el complejo con el analito.

El plomo es extraído en forma de ditizonato cuya coloración es susceptible de una determinación colorimétrica. Las medidas deben ser realizadas a una longitud de onda de 510 nm con celdas de 1 cm. Las determinaciones se deben efectuar con luz difusa, para evitar la oxidación de la ditizona y los ditizonatos.

Se debe tener en consideración que los metales como: hierro, cobre, zinc, además del bismuto y trazas de humedad interfieren en la determinación de plomo.



Reacción. Complejo formado entre el plomo y la difencilcarbazona

3.1.1 EQUIPO UTILIZADO EN EL LABORATORIO

Las medidas espectrofotométricas se realizaron en un Espectrofotometro ultravioleta-visible, de marca JENWAY, modelo 6105. El equipo esta equipado con un solo haz, el cual es controlado por un microprocesador y opera en un rango de longitudes de onda de 190 a 920 nm con un ancho de banda de 5 nm.

Las medidas de peso se realizaron en una balanza analítica digital marca Sartorius, modelo BP160P. El equipo posee un diseño de estructuras de polirango, con una capacidad máxima de peso de 160 g y una precisión de 0.1 mg en el rango de trabajo de 0 a 30 g, según el fabricante.

3.1.2 MATERIAL UTILIZADO

El material de vidrio utilizado es de marca Pirex y Kimax, el cual debe ser lavado con ácido nítrico diluido (1 en 100) seguidamente enjuagado con agua bidestilada, de esta manera se evitan interferencias con otros metales.

El material se detalla a continuación:

- Balones volumétricos de 100 y de 500 mL
- Vasos de precipitado de 600, 250, 100 y 50 mL
- Probetas de 100 y 25 mL
- Embudos de separación de 125 mL
- Pipetas volumétricas de 1,2,3,4,5 y 25 mL
- Pipetas graduadas de 1,2,3,4,5 y 10 mL
- Agitadores de vidrios
- Vidrio de reloj
- Un embudo

3.1.3 REACTIVOS

Agua bidestilada

Ácido clorhídrico

Ácido sulfúrico

Ácido nítrico

Amoníaco

Cloroformo

Sulfito de sodio

Cianuro de potasio

Hidroxilamina

Ditizona

Nitrato de plomo

3.1.4 DISOLUCIONES

Solución de ácido nítrico al 1%:

Se toma 1 mL de ácido nítrico ($d = 1,40$) el cual es llevado a marca de 100 mL con agua bidestilada.

Solución de sulfito neutro de sodio al 1%:

Se disuelve 1 gramo de sulfito de sodio en agua destilada, alcalinizarlo ligeramente con amoníaco hasta un pH de 9, posteriormente se lleva a marca de 100 mL con agua bidestilada.

Solución de cianuro potásico al 2%:

Se disuelven 2 gramos de cianuro de potasio en agua bidestilada, luego se lleva a marca de 100 mL con agua bidestilada.

Solución amoniacal cianurada y sulfitada:

Amoníaco ($d = 0,945$) 5 volúmenes

Solución de sulfito de sodio al 1% 1 volumen

Solución de cianuro potásico al 2% 1 volumen

Solución de clorhidrato de hidroxilamina al 20%:

Se disuelven 20 gramos de clorhidrato de hidroxilamina en agua bidestilada, luego se completar a 100 mL con agua bidestilada.

Solución clorofórmica de ditizona de 60 mg /L:

Se disuelven 0.006 gramos de ditizona en cloroformo puro, luego se lleva a marca de 100 mL con cloroformo.

Solución clorofórmica de ditizona de 20 mg /L:

Por solución, se obtiene la cantidad necesaria de volumen de ditizona de 60 mg /L que fue de 33.33 mL la cual se llevo a marca de 100 mL con cloroformo.

Solución patrón de plomo de 0.5 g /L:

Se disuelven 0.79923 gramos de nitrato de plomo en agua bidestilada y se llevan posteriormente a marca de 100 mL con agua bidestilada.

Solución hija patrón de plomo de 0.005 g /L:

Por dilución del patrón de 0.5 g /L, se toma 1 mL de esta y afora hasta marca de 100 mL con agua bidestilada.

3.2 TRATAMIENTO DE MUESTRAS QUE CONTIENEN PLOMO

Las muestras colectadas procedentes de ríos cercanos a zonas industriales necesitan que se les realice un tratamiento previo a la determinación del contenido de plomo y así favorecer la formación del complejo coloreado. El procedimiento^(2,4) es el que se describe a continuación:

1. En un matraz de vidrio borosilicatado se agrega sucesivamente:

Agua a analizar

Ácido sulfúrico

Ácido nítrico

2. Se añaden 10 mL de agua destilada, y se llevan a ebullición. Repetirlo 3 veces para eliminar los productos nitrosos.

3. Se trata con 10 mL de solución de acetato amónico, para llevar a ebullición y enfriar.

4. Se vierte la solución en un matraz aforado de 100 mL para luego lavarse con 30 mL de amoníaco.

NOTA: el pH deberá de ser ajustado a 9 y continuar con las adiciones de amoníaco, para completar a 100 mL con agua destilada.

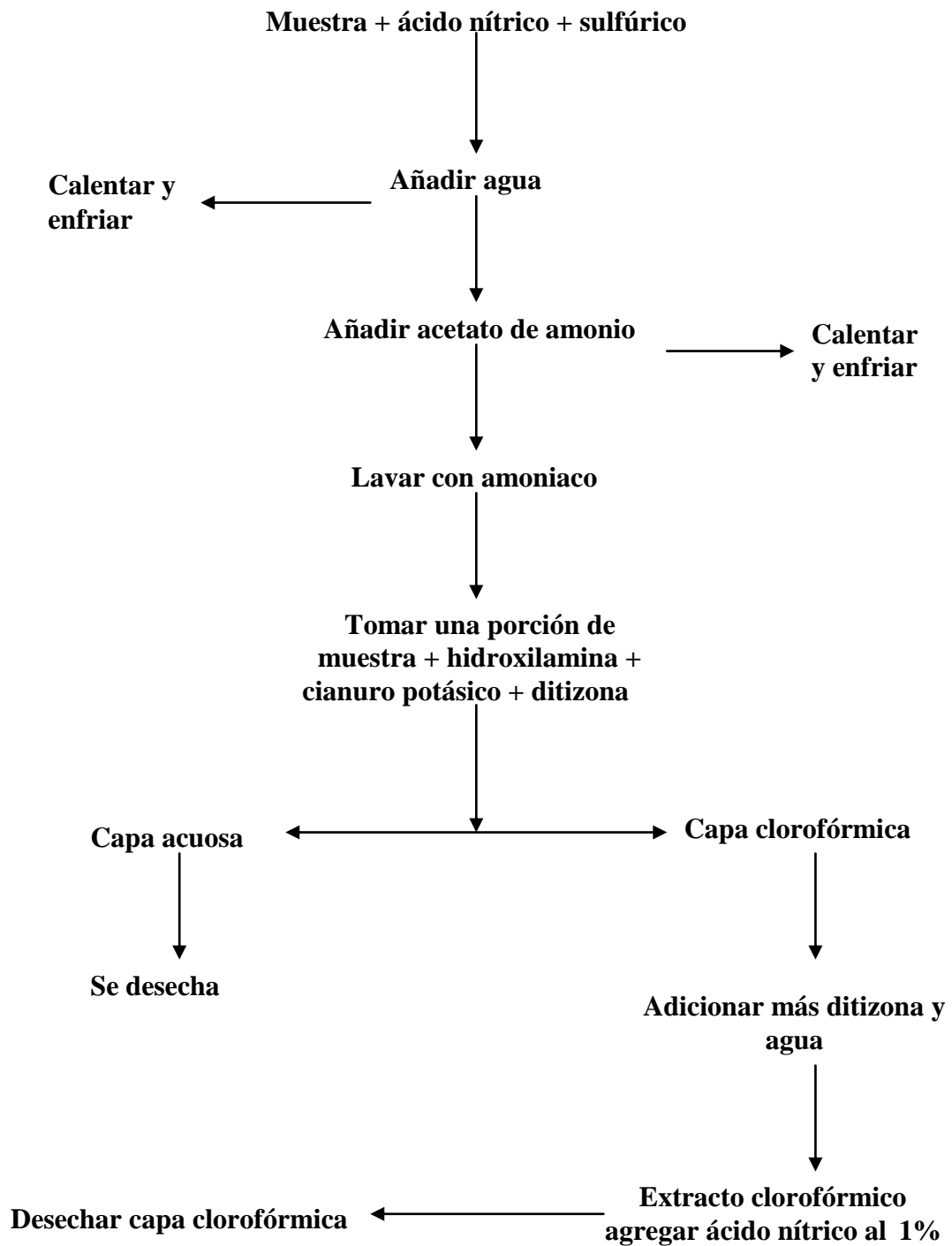
5. Se vierte en un embudo de separación de 150 mL una cantidad de plomo comprendida entre 2 y 15 $\mu\text{g/L}$ y añadirle: 5 gotas de solución de clorhidrato de hidroxilamina, 8 mL de solución de cianuro potásico y 5 mL de solución de ditizona para luego agitar por 1 minuto.

6. Se vierte la capa clorofórmica en otro embudo y adicionan 2 mL de ditizona para continuar con las extracciones hasta que el color verde del cloroformo persista.

7. En otro embudo reunir las capas clorofórmicas y se añaden 10 mL de agua destilada para eliminar el amoniaco agitar y dejar reposar 10 minutos.

8. Se decanta la fase orgánica en otro embudo y se agitan los 10 mL de agua de lavado con 3 mL de cloroformo.

9. Se colecta el disolvente con el extracto clorofórmico y se añaden 10 mL de solución de ácido nítrico al 1%, agitar durante 1 minuto para desechar la capa clorofórmica.

ESQUEMA PARA EL TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.3 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN MUESTRAS

A continuación se detalla el procedimiento a seguir después de finalizado el tratamiento de la muestra:

1. Se toman 10 mL de muestra previamente tratada y se transfieren a un embudo de separación de 125 mL.
2. Se agrega al embudo 30 mL de una solución amoniacal cianurada y sulfitada y 10 mL de solución de ditizona de 20 mg /L, se agita por 1 minuto y se deja reposar por 1 hora.
3. finalmente se procede a tomar las lecturas de las absorbancias de las muestras a una longitud de onda de 510 nm; El blanco de referencia utilizado es agua bidestilada, tratado de igual forma que la muestra.

3.4 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL MÉTODO

El siguiente apartado muestra los procedimientos experimentales utilizados en el proceso de validación de las características analíticas del método espectrofotométrico para la determinación de plomo en muestras de aguas. Las características analíticas que se someterán al proceso de validación son las siguientes: linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación.

3.4.1 LINEALIDAD

Esta característica analítica se determinó, preparando 4 soluciones estándares de concentración conocida de plomo de 2.5, 5.0, 7.5, y 10.0 $\mu\text{g/L}$.

El tratamiento estadístico empleado consistió en el análisis de regresión, por medio del

método de mínimos cuadrados, el cual permitió elaborar la curva de calibrado (o línea de regresión) ajustada para minimizar los desplazamientos verticales o residuales de esta línea.

Para la determinación de los estimadores de regresión, como el coeficiente de correlación, el coeficiente de regresión o pendiente, el intercepto, al igual que la desviación estándar de la regresión en este análisis, se utilizaron las lecturas de absorbancias medias obtenidas y los valores de concentración de las soluciones estándares preparadas.

Un segundo criterio utilizado para conocer el grado de relación lineal existente entre las mismas variables involucradas, es el de graficar el logaritmo de la concentración contra la relación entre absorbancia-concentración, con el criterio que cada uno de los resultados obtenidos de la relación no deben dispersarse en más o menos un 0.05 del valor medio de la relación para que el método cumpla el criterio de linealidad.

A continuación se detalla el procedimiento experimental utilizado para la preparación de las soluciones estándares:

1. En una serie de embudos de separación de 125 mL se introducen sucesivamente:

Número de los embudos	T	I	II	III	IV
Sol. de ácido nítrico al 1% (mL)	10	10	10	10	10
Sol. hija patrón de 0.005 g/L (mL)	0	0.5	1	1.5	2
Sol. amoniacal sulfitada y cianurada (mL)	30	30	30	30	30
Sol. de ditizona de 20 mg/L (mL)	10	10	10	10	10
Correspondiente en μg /L de Plomo	0	2.5	5	7.5	10

2. Se agita durante 1 minuto y dejar que repose una hora.

3. Se toman las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 510 nm.

4. Finalmente se construye la curva de calibrado.

3.4.2 REPETIBILIDAD

La repetibilidad del método se mide elaborando curvas de calibrado, por un mismo analista, durante un periodo corto de tiempo, bajo las mismas condiciones experimentales con las que se realizó el estudio de linealidad.

El tratamiento estadístico a emplearse en el estudio de esta característica analítica es el análisis de varianza, mediante una prueba estadística F partiendo de la hipótesis nula de no-existencia de diferencias significativas entre las varianzas de las curvas de calibrado elaboradas por el mismo analista, con un nivel de significación de un 5%.

3.4.3 EXACTITUD DEL MÉTODO

Para la determinación de la exactitud del método se prepararon cinco muestras a las que se les adicionó una cantidad conocida de solución estándar (técnica del porcentaje de recuperación); en nuestro caso se agregó 0.5 mL de nitrato de plomo suficiente para obtener una concentración de 2.5 $\mu\text{g/L}$ en cada una de las muestras (el punto de concentración más bajo del rango de trabajo del método); posteriormente se procedió a tomar las lecturas de absorbancias de las muestras previamente tratadas como se ha descrito en las secciones anteriores.

La exactitud del método se expresó como porcentaje de recuperación y como porcentaje de error.

3.4.4 LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN

El límite de detección se determinó obteniendo 10 lecturas de absorbancias del nivel de concentración inferior del rango de trabajo del método (el correspondiente a 2.5 $\mu\text{g/L}$ de plomo). Se Trabajó a una longitud de onda de 510 nanómetros, durante una sesión de laboratorio en el mismo día de trabajo obteniéndose cinco lecturas cada cuatro horas. El límite de detección se calculó mediante la ecuación (4).

El límite de cuantificación del método se calculó utilizando las mismas lecturas de absorbancias con las que se determinó el límite de detección y mediante el empleo de la ecuación (5).

El valor de la pendiente utilizada para el cálculo del límite de detección y de cuantificación es el obtenido en la curva de calibrado (1).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 DETERMINACIÓN DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO

La linealidad del método para la determinación de plomo se efectuó preparando cuatro soluciones estándares de concentración conocida de plomo de 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0 $\mu\text{g/L}$, que comprenden el rango de concentración del método, por medio de las cuales se obtuvieron las lecturas de absorbancias por triplicado en respuesta a la capacidad del método analítico en brindar resultados directamente proporcionales a las concentraciones preparadas.

En la tabla se muestran las lecturas de absorbancias obtenidas de las concentraciones de las soluciones estándares de plomo.

Tabla 4.1 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancias y la absorbancia media para la elaboración de la curva de calibrado(1)

C($\mu\text{g/L}$)	A₁	A₂	A₃	A_m
2.5	0.104	0.108	0.140	0.117
5.0	0.216	0.252	0.269	0.245
7.5	0.346	0.377	0.405	0.376
10.0	0.470	0.495	0.530	0.498

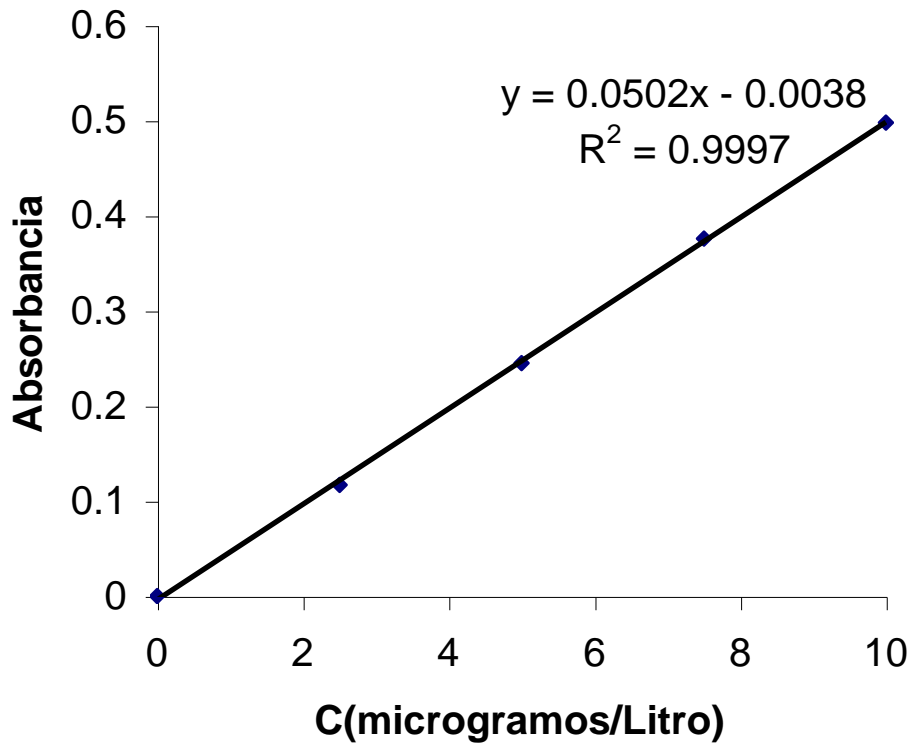


Figura 4.1 Curva de calibrado (1) para la determinación de plomo en muestras de aguas.

El cálculo de los estimadores de regresión como: el coeficiente de correlación, el coeficiente de regresión o pendiente y el intercepto al igual que la desviación estándar de la regresión se realizó a partir de las absorbancias medias y las concentraciones de las soluciones estándares de la tabla 4.1.

A continuación se presentan los resultados obtenidos:

Intercepto: $a = -0.004$

Pendiente: $b = 0.051$

Coefficiente de correlación: $r = 0.9998$

Desviación estándar de la regresión: $S_r = 0.01$

El coeficiente de correlación de la curva de calibrado ajustada por el método de mínimos cuadrados permite establecer que existe una relación lineal entre la concentración de analito (x) y la magnitud de la variable medida (absorbancia en y) en el rango de trabajo del método en estudio, obteniéndose un valor correspondiente de 0.9998.

Un segundo criterio para determinar el grado de relación (linealidad) entre las mismas magnitudes involucradas en el estudio anterior, consiste en calcular el logaritmo de la concentración y la relación entre absorbancia/concentración. Para ello se recurrieron a la utilización de las absorbancias medias y las concentraciones de las soluciones estándares del rango de trabajo del método de la tabla 4.1.

Tabla 4.2 Resultados de la relación entre absorbancia-concentración para la determinación de la linealidad del método.

Log. concentración	Absorbancia / concentración
0.397	0.0468
0.698	0.0490
0.875	0.0501
1.000	0.0498

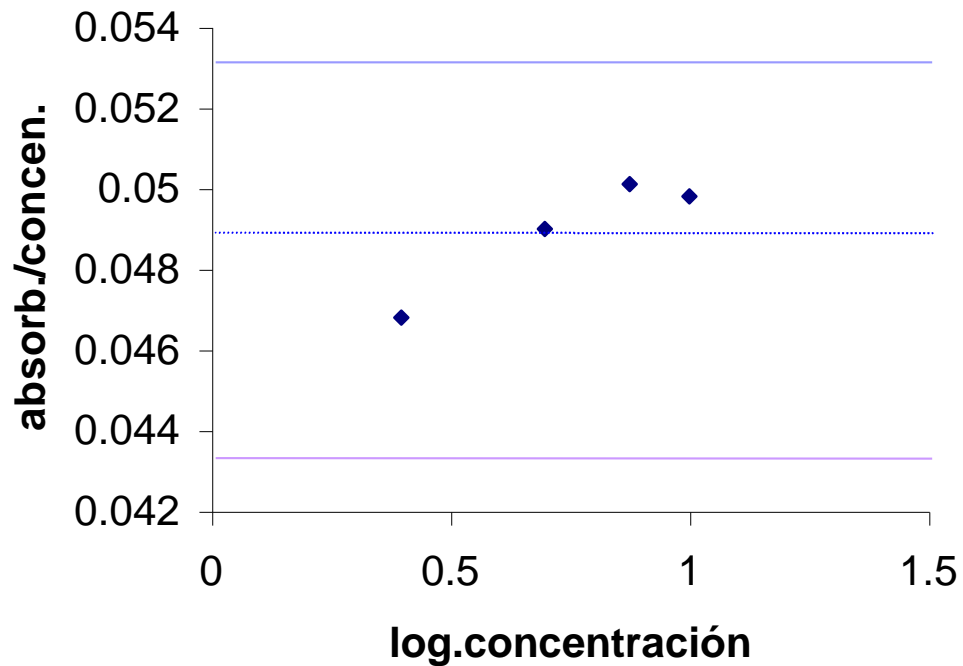


Figura 4.2 Muestra la dispersión de cada uno de los puntos respecto del valor medio de la relación.

La media resultante obtenida de la relación entre absorbancia/concentración fue de 0.0489, utilizada para comprobar que cada uno de los puntos de la relación se distribuyó dentro del margen permitido, por tanto ninguno excedió el criterio de alejamiento en más o en menos el 5% del valor medio de la relación, lo que permite afirmar que el método cumple con el criterio de linealidad para las variables en estudio.

4.2 DETERMINACIÓN DE LA REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Para la determinación de la repetibilidad fue necesario elaborar dos curvas de calibrado en un periodo corto (una semana) por un mismo analista, bajo las mismas condiciones experimentales en las que se determinó la linealidad.

A continuación se presentan los resultados de las lecturas de absorbancia obtenidos por medio de las concentraciones de las soluciones estándares utilizados en el análisis de linealidad, para la elaboración de una segunda curva de calibrado.

Tabla 4.3 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancia y absorbancia media para la elaboración de la curva de calibrado(2)

C($\mu\text{g} / \text{L}$)	A₁	A₂	A₃	A_m
2.5	0.118	0.112	0.122	0.117
5.0	0.243	0.251	0.246	0.247
7.5	0.390	0.391	0.349	0.377
10.0	0.518	0.514	0.470	0.500

a = -0.0045
b = 0.0512
r = 0.9998
Sr = 9.97 X 10⁻³

La absorbancia media, al igual que la concentración de las soluciones estándares de la tabla 4.3 fue utilizada para el cálculo de los estimadores de regresión, y la desviación estándar de la regresión utilizando las mismas ecuaciones que sirvieron para realizar el análisis de mínimos cuadrados de igual manera como se procedió en la linealidad.

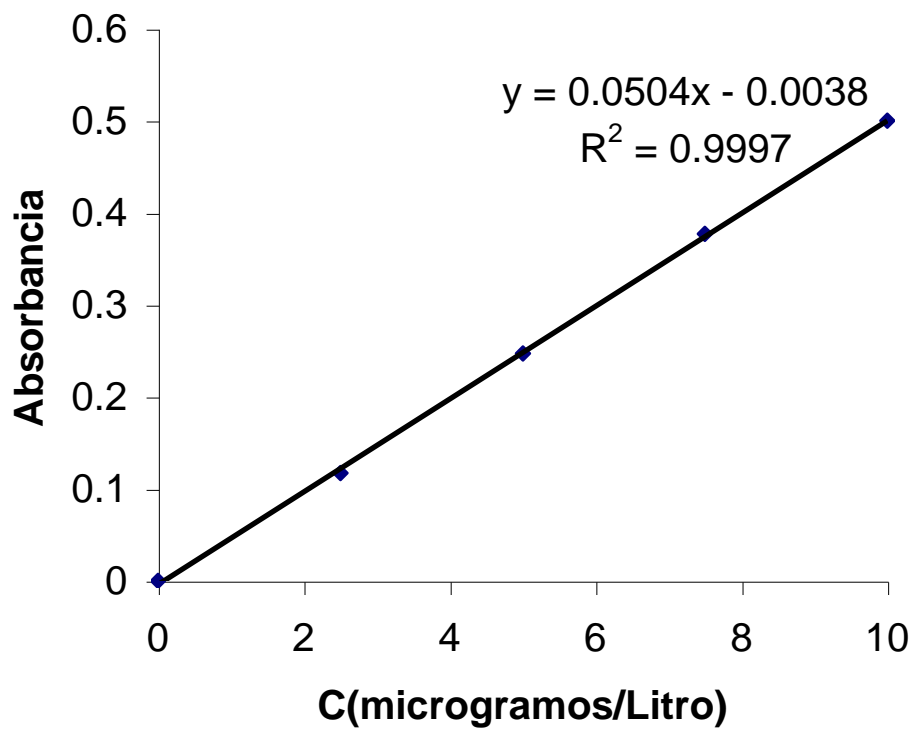


Figura 4.3 Curva de calibrado (2) para la determinación de plomo en muestras de aguas.

El tratamiento estadístico a emplearse es el análisis de varianza para establecer la existencia o no de diferencias entre las varianzas de las curvas de calibrado elaboradas por el mismo analista en un periodo corto de tiempo. De no existir diferencias mediante la prueba F con un nivel de significación del 5% se demuestra que el método es repetible en el rango de concentraciones y bajo las condiciones en que se desarrolló el trabajo.

Por lo cual es necesario determina un valor de F experimental calculado de la forma siguiente:

$$F_{\text{Exp}} = \frac{(S_{r1})^2}{(S_{r2})^2}$$

Donde S_{r1} y S_{r2} son las desviaciones estándares de la regresión de las curvas de calibrado que se comparan; es necesario que el numerador sea mayor que el denominador, o sea $(S_{r1})^2 > (S_{r2})^2$.

El valor experimental obtenido se compara con el valor de tabla de una distribución F con $n-2$ grados de libertad y un nivel de significación del 5%. Obtenidos los valores experimentales y el de tabla se procede a la aceptación o rechazo de la hipótesis planteada:

- 1) Si $F_{\text{Exp}} < F_{\text{Tab}}$ se acepta la hipótesis nula al nivel de significación del 5% y se comprueba que no existen diferencias significativas entre las varianzas de las curvas de calibrado comparadas y el método es repetible en el rango de concentraciones del método.
- 2) Si $F_{\text{Exp}} > F_{\text{Tab}}$ entonces se rechaza la hipótesis nula al nivel de significación del 5%, por lo tanto se confirma que existen diferencias significativas entre las varianzas de las curvas de calibrado comparadas y el método no es repetible en el rango de concentraciones del método.

Tabla 4.4 Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibrado (1) y (2) para la determinación de plomo en muestras de aguas.

Curva	Sr	Datos(n)	F_{Exp}	F_{Tab}
1	0.01	4	1.003	19.0
2	9.97×10^{-3}	4		

En la tabla 4.4 se exponen los resultados obtenidos del análisis de varianza realizado a las curvas de calibrado (1) y (2) tales resultados permiten concluir que $F_{Exp} < F_{Tab}$ por tanto entre ambas curvas no existe diferencia dejando demostrado que el método cumple con el criterio de repetibilidad para el rango de concentraciones establecido.

4.3 DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD DEL MÉTODO

Tal como se describió en el apartado 3.4.4 la exactitud se determinó por preparación de cinco muestras por duplicado, a las que se les adicionó la cantidad de 0.5 mililitros de nitrato de plomo, obteniendo el primer punto del rango de concentraciones del método (2.5 $\mu\text{g/L}$), con el que se obtuvo los valores de las lecturas de absorbancias medidas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm.

Tabla 4.5 Resultados obtenidos de las absorbancias medidas, el porcentaje de recuperación y de error en el análisis del estándar de plomo de 2.5 $\mu\text{g/L}$.

Muestra	A₁	A₂	A_m	C_($\mu\text{g/L}$)	% recobro	% error
Mag₁	0.131	0.130	0.130	2.57	102.80	2.8
Mag₂	0.137	0.134	0.135	2.67	107.06	6.8
Mag₃	0.113	0.115	0.114	2.25	90.20	10.0
Mag₄	0.130	0.127	0.128	2.53	101.20	1.2
Mag₅	0.144	0.140	0.142	2.80	112.16	12.0

El cálculo de la concentración del estándar de plomo en la muestra se realizó utilizando la ecuación de la línea de regresión de “y” sobre “x” de la curva de calibrado (1) en la cual se sustituyó el valor de cada las lecturas de las absorbancias medias por la variable “y”.

El porcentaje de error obtenido para cada muestra, tal como se presenta en la tabla, se calculó por medio de la ecuación (3), el valor promedio del porcentaje de error en el análisis de la exactitud en cinco muestras dio como resultado un error del 6.56 %, por tanto se obtuvo una exactitud del 93.44%, resultado de restar 100 menos el porcentaje de error, el cual es aceptable tomando en cuenta que se trata de un método laborioso con muchas etapas.

Además se calculó el porcentaje de recuperación para cada una mediante la ecuación (2) dando como resultado un promedio para las cinco muestras de 102.68%.

4.4 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

Se determinaron obteniendo diez lecturas de absorbancia del nivel de concentración inferior (punto correspondiente a 2.5 $\mu\text{g/L}$) del rango de trabajo del método, conteniendo antes de la medida de cada lectura: 0.5 ml de solución hija patrón de plomo, 30 mL de solución amoniacal cianurada y sulfitada, 10 mL de solución de ácido nítrico al 1%, y 10 mL de solución de ditizona . Las absorbancias correspondientes fueron medidas a la longitud de onda de 510 nm en la región visible del espectrofotómetro tal como lo indica el método.

Tabla 4.6 Resultados obtenidos de las lecturas de absorbancia del nivel de concentración inferior del rango del método (2.5 $\mu\text{g/L}$)

Lectura	1	2	3	4	5
Absorbancia	0.127	0.128	0.124	0.132	0.128

Lectura	6	7	8	9	10
Absorbancia	0.128	0.127	0.127	0.13	0.129

Absorbancia media = 0.128
 Límite de detección = 0.123
 Límite de cuantificación = 0.411

En la tabla 4.6 se reportan además de las lecturas de absorbancias, los valores de los límites de detección y cuantificación calculados mediante las ecuaciones (4) y (5), el valor de la absorbancia media de las 10 lecturas y el de la desviación estándar correspondiente a estas lecturas. La desviación estándar que se utilizó en el cálculo de los límites de detección y cuantificación es el reportado en la tabla 4.6, y el valor de la pendiente (b) es el correspondiente a la curva de calibrado (1).

El límite de detección obtenido es de $1.23 \times 10^{-1} \mu\text{g /L}$. Mientras que el límite de cuantificación calculado fue de $4.11 \times 10^{-1} \mu\text{g /L}$ e indica la cantidad de plomo que puede ser cuantificada en una muestra con cierto nivel de exactitud y precisión por el método en estudio.

4.5 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN MUESTRAS

La cuantificación de plomo en muestra de aguas, se realizó por análisis de seis de ellas las cuales fueron colectadas en diferentes puntos de ríos cercanos a zonas industrializadas en San Salvador. Cada muestra se analizó por duplicado, obteniendo un total de 14 lecturas de absorbancia medidas en la región visible del espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm. La determinación de la concentración (“x”) en cada una se realizó utilizando la ecuación de línea de regresión en la cual se sustituyó el valor de la lectura de absorbancia medido por la variable “y” teniendo:

$$C_{Pb} = \frac{A + a_0}{a_1}$$

donde: A = absorbancia medida a 510 nm

a_0 = intercepto de la curva de calibrado (1)

a_1 = pendiente de la curva de calibrado (1)

Tabla 4.7 Muestra los resultados obtenidos de las concentraciones de plomo en el análisis de las muestras.

Muestra	Absorbancia	Volumen	C(µg/L)
2010 ₁	0.054	50 mL	20
2010 ₂	0.054	50 mL	22
1002 ₁	0.068	50mL	27
1002 ₂	0.063	50mL	25
404 ₁	0.020	50mL	8
404 ₂	0.022	50mL	9

Continuación de la Tabla 4.7

Muestra	Absorbancia	Volumen	C($\mu\text{g/L}$)
1507 ₁	0.038	50 mL	15
1507 ₂	0.042	50 mL	17
1310 ₁	0.070	50 mL	28
1310 ₂	0.068	50 mL	27
1302 ₁	0.024	50 mL	10
1302 ₂	0.030	50 mL	12

En la tabla 4.7 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de la concentración de plomo en muestras de aguas colectadas en diferentes ríos cercanos a zonas industriales de San Salvador. Nótese como la concentración varía de un valor de 8 a 28 microgramos /litro de plomo en las muestras, datos de Normas para Aguas Potables de los Estados Unidos, permiten niveles de concentración de este metal por debajo de 50 $\mu\text{g/L}$ en aguas potables, las concentraciones de plomo encontradas no exceden el nivel permitido.

Los valores obtenidos reflejan; que en el análisis de las diferentes muestras se encontró concentraciones bajas en plomo, lo que pueda deberse a que las fábricas ubicadas en las zonas de procedencia de las muestras, utilizan poco plomo como materia prima.

También puede influir, considerablemente, el hecho que las muestras hallan sido tomadas en tiempo de la estación lluviosa, por tanto es probable que la concentración de plomo se halla

diluido; por último, como se trata de un metal pesado puede sedimentarse y acumularse en el fondo de los ríos, o precipitar en forma de otro compuesto por lo cual sea necesario realizar un estudio más profundo y examinar las causas que generan este comportamiento.

CONCLUSIONES

La parte experimental del presente trabajo de investigación fue desarrollada en dos etapas constituidas: primero por la determinación de las características analíticas del método de la ditizona para la determinación de plomo en aguas (proceso de validación); y segundo la aplicación del método ya validado a diferentes muestras de aguas para conocer la concentración de plomo presente. Ahora bien los resultados experimentales obtenidos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- 1.) El método de la ditizona para la determinación de plomo en aguas cumple satisfactoriamente el criterio de linealidad en el rango de concentraciones de 2.5 a 10.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ de plomo, evaluado por dos criterios estadísticos que sustentan lo dicho.
- 2.) En la determinación de la precisión del método solo se estableció el criterio de repetibilidad, el cual establece, que el método es lo suficientemente preciso cuando es aplicado por un analista bajo las mismas condiciones experimentales de trabajo de laboratorio.
- 3.) En la determinación de la exactitud del método, se estableció que el porcentaje de error es de 6.56% con una exactitud de 93.44% y un porcentaje de recuperación de 102.68%, demostrando que el método a pesar de ser laborioso obtiene una muy buena exactitud.
- 4.) Los límites de detección y cuantificación, demuestran que el método de la ditizona puede detectar concentraciones de plomo por encima de $1.23 \times 10^{-1} \mu\text{g}/\text{L}$. Además realizar determinaciones cuantitativas del metal en un nivel de concentraciones mayor a $4.11 \times 10^{-1} \mu\text{g}/\text{L}$ con una buena exactitud y precisión.

5.) En el análisis de las diferentes muestras se encontró que el contenido de plomo es muy bajo, que posiblemente indica que las industrias ubicadas en las zonas utilizan muy poco plomo como materia prima en sus procesos, y que la baja concentración sea debida a otros factores por los cuales no se puede afirmar si hubo contaminación por fuentes industriales.

6.) El contenido de plomo presente en las muestras indica que pudo tener influencia la estación lluviosa, debido a que fueron tomadas en esta época del año, es posible que se presentara variación en la concentración de plomo debido a la mayor cantidad de agua presente en el río, provocando una dilución de tal forma que halla sido arrastrado hacia partes más alejadas del punto de muestreo.

7.) Existe la posibilidad que el plomo halla formado sedimentos, depositándose en el fondo del río de tal manera que la muestra recolectada a cierta profundidad contiene poca cantidad del analito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services
2. Bieffeld L. P. , Patrick T. M. Extraction of metals from aqueous solutions with ditizone. Lead. Ind. Eng. Analytical Chemistry Edit 1942
3. Castillo A Beatriz, G. H. Rolando. , Protocolo de Validación de Métodos Analíticos Para la Cuantificación de Fármacos, Rev Cubana Farm 1997
4. Clifford, P. A. Wichmann H. J. Ditizone Methods for the Determination of Lead. J. Assoc. Official Agr. Chemistry, 1936
5. Danza, Franco. Contaminación por Plomo Elaborado por la Comisión de Salud Ocupacional del Sindicato Médico del Uruguay, 2000
6. Domínguez Xorge A., Bibliografía Química y Escritura de Tesis, E2a. Editorial Limusa, México 1984
7. EPA Ground Water & Drinking Water. Plomo en el agua potable: lo que usted puede hacer para reducir el plomo en el agua potable, mayo del 2000
8. Fulginiti Susana. Niveles de plomo en sangre en niños de la ciudad de Córdoba, Departamento de Farmacología, Universidad Nacional de Córdoba, febrero de 1999
9. G-CSQ-02 Rev. 1, Abril 1994, Guía Para la Laboratorios que Realizan Validaciones Para Análisis Químico
10. Green J. Mark., A Practical Guide to Analytical Method Validation, Mayo de 1996
11. ICH Topic Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology noviembre de 1996

12. Korrick S, Hunter DJ, Rotnitzki A, Hu H, an Speizer FE.,Lead and Hypertension in a Sample of Middle-Aged Women Am J of Public Health 1999
13. Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994, Método de Prueba Para la Determinación de Cadmio, Arsénico, Plomo, Estaño, Cobre, Hierro, Zinc y Mercurio en Alimentos, Agua Potable y Purificada
14. Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1998, Que Establece las Pruebas y Procedimientos Para Demostrar que un Medicamento es Intercambiable
15. Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-003-SSA1-1998 Medicamentos Genéricos Intercambiables
16. Osorio L. Alex Adonai. , tesis de licenciatura, Universidad de El Salvador
17. Plomo en la construcción. División of Occupational Safety, Department of Labor and Workforce Development, Commonwealth of Massachusetts
18. Revista Española de Salud Pública. Estudio de los Niveles de Plomo, Cadmio, Zinc y Arsénico en Aguas de la Provincia de Salamanca
19. Sandell E. B., Colorimetric Determination of traces of metals. New York 1944, 279 et Interscience Publishers, New York, 2nd Edit., 1950
20. Sanín L H, Gonzalez Cossío T, Romieu I, Hernández-Ávila M., Acumulación de Plomo en Huesos y sus Efectos en la Salud, México 1998
21. Skoog-West. , Química Analítica, Cuarta Edición, Editorial Mc Graw-Hill, México 1993.
22. Spiegel Murray R., Estadística 875 Problemas Resueltos, Editorial Mc Graw-Hill

23. Validation of Analytical Procedures: Definitions and terminology noviembre de 1994
24. Unidad de Sustancias Químicas y Evaluación Ambiental, Instituto Nacional de Ecología, Anuario Estadístico de la Industria Química Mexicana, México 1996
25. http://www.city.toronto.on.ca/health/hphe/pdf/lead_section1_b
26. <http://www.meridianeg.com/lead>
27. http://www.Ini.wa.gov/Safety/Research/files/lead_protect