

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

E.A.P. DE QUÍMICA

**Tratamiento estadístico a los datos obtenidos en la
determinación de Plomo en alimentos Liofilizados, por la
técnica de Absorción Atómica, vía Horno de Grafito**

TESIS

para optar el Título Profesional de Químico

AUTOR

Percy Yaque López Mariluz

ASESOR

Dolores Rivera Castilla

Lima – Perú

2006

**Dedico la presente tesis a mi familia:
Heráclides, Angélica y Evelyn**

AGRADECIMIENTO

A la Unidad de Servicios de Análisis Químicos (USAQ), por su invaluable apoyo en el desarrollo de la presente tesis; de igual forma al Dr. Juan Arroyo Cuyubamaba, al profesor Quím. Raúl Curihuaman, a la señora Quím. Carmen López Castro, a la señorita Quím. Angélica Rodríguez Best y a la señorita Raquel Rodríguez Sanca

MIEMBROS DEL JURADO

- **Mg. Héctor Luis Gómez Ramirez (Presidente).**
- **Qco. Rosa Laura Lengua Calle (Miembro).**
- **Qco. Dolores Rivera Castilla (Asesor).**

Fecha de sustentación: 20 de Diciembre del 2006

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	12
2. FUNDAMENTO TEÓRICO.	
2.1. Marco teórico sobre el elemento plomo (Pb).	
2.1.1).- El plomo (Pb), antecedentes históricos.	14
2.1.2).- Toxicología del plomo.	15
2.1.3).- Efectos en la salud.	16
2.1.4).- Efectos ambientales del plomo.	16
2.2. Marco teórico sobre la liofilización.	
2.2.1).- Proceso de liofilización.	18
2.2.2).- Liofilización.	18
2.2.3).- Mecanismo.	19
2.2.4).- Aplicaciones.	20
2.2.5).- Ventajas y desventajas.	21
2.3. Marco teórico de la instrumentación.	
2.3.1).- Técnicas instrumentales para la determinación de plomo.	22
2.3.2).- Selección del método analítico.	24
2.3.3).- Instrumentos para el análisis.	25
2.4. Espectrofotómetro de absorción atómica.	
2.4.1).- El efecto de la temperatura sobre los elementos.	27
2.4.2).- Determinación de la concentración por absorción atómica.	28
2.4.3).- Esquema óptico para absorción atómica.	29

2.4.4).- Lámparas de cátodo hueco.	30
2.4.5).- Dispositivo térmico para obtener gas térmico.	31
2.4.6).- Atomización electrotérmica.	32
2.4.7).- Atomización por llama.	32
2.4.8).- Corrección de absorciones parásitas.	35
2.4.9).- Corrección con lámpara de deuterio.	35
2.4.10).- Corrección por aplicación del efecto Zeeman.	35
2.4.11).- Corrección del ruido de fondo con lámpara de cátodo hueco de pulsos.	36
2.4.12).- Interferencias físicas y químicas.	37
2.4.13).- Interferencias espectrales.	37
2.4.14).- Interacciones químicas.	37
2.4.15).- Sensibilidad y límites de detección en AAS.	38
2.5. Marco teórico del tratamiento estadístico de los datos obtenidos	
2.5.1).- Poblaciones y muestras.	40
2.5.2).- Definición de algunos parámetros estadísticos, media de la población.	40
2.5.3).- Desviación estándar de la población (σ) y varianza de la población (σ^2).	41
2.5.4).- Media de la muestra (\bar{x}).	42
2.5.5).- Desviación estándar de la muestra (s) y varianza de la muestra (s^2).	42
2.5.6).- Desviación estándar relativa (RSD) y coeficiente de variación (CV).	43
2.5.7).- Comparación de una Media experimental con un valor conocido.	44
2.5.8).- El contraste F para la comparación de desviación estándar.	45

3. MATERIALES, REACTIVOS E INSTRUMENTO.	
3.1. Reactivos.	47
3.2. Materiales.	47
3.3. Partes del equipo.	48
3.3.1).- Accesorios.	48
3.4. Puesta en operación del equipo.	
3.4.1).- Precauciones de manejo.	48
3.4.2).- Encendido del equipo.	49
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.	
4.1. Preparación del material volumétrico.	52
4.2. Preparación del estándar.	52
4.3. Preparación del material de referencia.	53
4.4. Preparación de las muestras.	54
4.5. Determinación de plomo mediante el método “OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC 999.11”.	54
4.6. Procedimiento de lecturas de concentración de plomo.	55
5. EVALUACIÓN DE RESULTADOS.	
5.1. Evaluación estadística del comportamiento de los datos de un método analítico.	
5.1.1).- Objetivo.	69
5.1.2).- Metodología.	69
5.1.2.1).- Verificación de la normalidad de residuales.	71

5.1.2.2).- Variabilidad entre analistas.	72
5.1.2.3).- Porcentaje de recuperación.	73
5.2. Evaluación de la linealidad.	
5.2.1).- Objetivo.	74
5.2.2).- Metodología.	74
5.2.2.1).- Análisis de la regresión, determinación del coeficiente de correlación.	77
5.2.2.2).- Verificación de la normalidad de residuales.	78
5.2.2.3).- Variabilidad entre analistas: (homogeneidad de varianzas).	79
5.2.2.4).- Aplicación del t de student.	80
5.3. Precisión del método.	
5.3.1).- Objetivo.	81
5.3.2).- Metodología.	81
5.3.2.1).- Evaluación de la consistencia de datos.	83
5.3.2.1.1).- Variabilidad entre analistas.	83
5.3.2.1.2).- Variabilidad de cada analista.	83
5.3.2.1.3).- Prueba de Cochran (ISO 5725-2/7.3.3.2).	84
5.3.2.1.4).- Prueba de Grubbs (ISO 5725-2/7.3.4.1).	84
5.3.2.2).- Evaluación de la distribución normal de los residuales.	84
5.3.2.3).- Evaluación de la homogeneidad de varianzas.	86
5.3.2.4).- Coeficiente de variación.	87
5.4. Determinación de la veracidad del método.	
5.4.1).- Objetivo.	89
5.4.2).- Metodología.	89

5.4.2.1).- Evaluación de la distribución normal de los residuales.	91
5.4.2.2).- Evaluación de la homogeneidad de varianzas.	92
5.4.2.3).- Porcentaje de recuperación en cada nivel.	93
5.4.2.4).- Veracidad con el estadístico t de student.	94
5.5. Determinación de la sensibilidad del método.	
5.5.1).- Objetivo.	95
5.5.2).- Metodología.	95
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	97
7. CONCLUSIONES.	100
8. RECOMENDACIONES.	101
9. BIBLIOGRAFÍA.	102
10. ANEXOS.	109
10.1. Certificado de análisis del material de referencia.	110
10.2. Valores críticos para el test t-student.	112
10.3. Valores estadísticos para la prueba de Cochran.	113
10.4. Valores críticos para la prueba de Grubbs.	114
10.5. Indicadores estadísticos “h” y “k” de Mandel (1%).	115
10.6. Indicadores estadísticos “h” y “k” de Mandel (5%).	116
10.7. Método referencial AOAC 999.11	117

RESUMEN.

En la presente tesis, se desarrolla una metodología alternativa, para la determinación de plomo (Pb) en alimentos liofilizados, mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, vía homo de grafito.

Se tomó como referencia un método estandarizado de la: “OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC 999.11”. Se utilizó como MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO: “*Simulated diet F*” (Reference material, LIVSMEDELS VERKET, NATIONAL FOOD ADMINISTRATION), para evaluar la trazabilidad de los resultados y optimizar así la metodología desarrollada.

El desarrollo del mencionado método se realizó en las instalaciones de la UNIDAD DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS (USAQ), laboratorio que pertenece a la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS.

Las muestras, así como el material de referencia certificado (cuya concentración de plomo es conocida), son liofilizados de verduras; las cuales fueron tratadas mediante una digestión ácida, para su posterior lectura en el equipo de absorción atómica.

Se realizó una evaluación estadística de los resultados, considerando que las propiedades más importantes de un método analítico es que debe en lo posible, estar libre de errores sistemáticos, eso significa que el valor dado para la cantidad de analito debería ser el valor verdadero, por ello el método sugerido en la presente tesis se contrastó con una muestra de referencia (material certificado).

El método propuesto no generó errores sistemáticos significativos, así como también los errores aleatorios después de su respectiva evaluación dieron resultados de igual índole,

todo esto, como producto de la evaluación estadística de los datos obtenidos, los cuales se sometieron a una **PRE-EVALUACIÓN**. Con ayuda del programa **MINITAB**, se evaluó la **Distribución Normal**, obteniendo como resultado de la evaluación de probabilidad: **0.077**, verificando el comportamiento normal de los residuales. La probabilidad en la **Igualdad de Varianzas** de los resultados obtenidos para la muestra de referencia fueron de **0.248**, de esta forma se verifica que no existe variabilidad significativa entre analistas. A continuación se evaluó la **linealidad**, obteniendo como resultado la ecuación de la curva de calibración: **$Y = 0.0263X - 0.0028$** , y como coeficiente de correlación: **0.9994**.

La **precisión** obtenida es de **0.10%**, siendo muy aceptable para la metodología propuesta. La **veracidad** fue evaluada en función de la **t de student**, obteniendo como resultado **t: 2.06**, concluyendo que no existen diferencias significativas y que la veracidad es apropiada. También se hallaron los **límites de detección y cuantificación** del método, siendo **0.1437 ug/Kg** y **0.4791 ug/Kg** respectivamente.

Finalmente podemos afirmar que el método cumple con los criterios establecidos como son la linealidad, precisión, veracidad, además del establecimiento del límite de detección y cuantificación a un nivel de confianza del 95%.

1).- INTRODUCCIÓN.

La determinación de plomo (Pb) en alimentos liofilizados es importante, debido a que la concentración debe verificar el nivel de ultratrazas, siendo de vital importancia el establecer una metodología analítica apropiada para dicho propósito. A nivel nacional e internacional existen normas técnicas de análisis que resultan muy generales, debido a esta razón, se tuvo la necesidad de desarrollar una metodología específica para la matriz en cuestión; nos referimos a los alimentos liofilizados. Si bien es sabido, la técnica de liofilización es un proceso de costo elevado, a la vez, es la más adecuada para la conservación de las propiedades naturales de los alimentos, por consiguiente se convierte en el medio más óptimo e importante para la exportación de alimentos como frutas y verduras.

Las propiedades alimenticias y organolépticas de los alimentos producidos en nuestro territorio en muchos casos superan a las producidas en otros ámbitos del mundo, razón por la cual es importante ofrecer un producto de calidad, no solo alimenticio, sino, libre de agentes contaminantes como metales pesados o pesticidas. La mejor herramienta para realizar un análisis con exactitud y precisión, consta de un análisis instrumental, basado en la espectrofotometría de absorción atómica. La información obtenida, resulta básica para la resolución de problemas de tipo técnico, científico, ambiental y sanitario, como es el propósito de la presente tesis. Igualmente, puede constituir un soporte imprescindible para los organismos públicos responsables de la protección del medio ambiente y de la salud de las personas. En otras ocasiones, será el soporte de relaciones comerciales basadas en la confianza mutua entre suministrador y comprador.

Basta, por ejemplo, pensar en las numerosas determinaciones analíticas que diariamente se realizan en el mundo para el control de los niveles de los contaminantes en muestras ambientales, para el control de residuos de pesticidas o de medicamentos de uso veterinario en alimentos o para comprobar que un producto industrial cumple unas determinadas especificaciones.

Para que todo ello sea posible, resulta imprescindible que la información suministrada por la química analítica instrumental, sea adecuada a la utilización prevista. Es lo que en inglés se denomina **fitness for purpose** (la adaptabilidad para el propósito).⁽⁰¹⁾

Justamente es por esta razón, y, con la finalidad de asegurar la calidad de los resultados, es que hacemos uso de la quimiometría. Esta herramienta estadística, ayudó a la sustentación de parámetros establecidos para las mediciones analíticas que se desarrollan en la presente tesis.

2).-FUNDAMENTO TEÓRICO.

2.1).- MARCO TEÓRICO SOBRE EL ELEMENTO PLOMO (Pb).

2.1.1).- EL PLOMO (Pb), ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

El plomo (Pb) fue uno de los primeros metales que utilizó el hombre para trabajar. Existen evidencias de su uso en el este del Asia Menor desde el año 4 mil AC. Lo emplearon tanto los egipcios como los babilonios y los fenicios explotaron minas de plomo en España desde el año 2 mil AC. Los romanos usaron el plomo para la fabricación de ductos y utensilios diversos y, especialmente, para el almacenamiento del vino. Durante la Edad Media fue muy usado para techar edificios públicos y catedrales.

Nicandro (200 AC) asoció el cólico, la constipación, la palidez y algunas alteraciones oculares con la exposición a plomo y Plinio, en el primer siglo de nuestra era, aseveró que la intoxicación por plomo se relacionaba con la construcción de embarcaciones.

En el siglo XVI, Paracelso describió el cuadro clínico que denominó “enfermedad del minero”. Ramazzini detectó temblor y parálisis de los miembros superiores en los alfareros que manejaban plomo. Fue hasta el siglo XIX cuando Andral y Gavarret, así como Malaseey describieron signos y síntomas importantes de la intoxicación por plomo.

La intoxicación de niños con pintura a base de plomo fue descrita, por primera vez, en Brisbane, Australia 1897. Se creía que, después de una intoxicación aguda con plomo, la recuperación era completa; sin embargo, Byers y Lord refutaron esto en 1943, cuando encontraron problema de retraso mental después de una intoxicación aguda.

A raíz de la Segunda Guerra Mundial, el uso de sales orgánicas de plomo aumentó de manera considerable en el mundo, en particular, por su uso como antidetonantes en las gasolinas. No fue sino hasta 1970 que en algunos países se empezaron a fabricar automóviles con convertidores catalíticos para usar gasolinas sin plomo.

Como consecuencia del número creciente de estudios más sofisticados, han demostrado que hay daño a niveles sanguíneos de concentración de Pb cada vez más bajos, día a día se restringe más, el uso del plomo en la mayoría de los países.⁽⁰²⁾

2.1.2).- TOXICOLOGÍA DEL PLOMO

Los metales pesados son hoy en día una amenaza de vida en la población que se encuentra expuesta constantemente a las emanaciones de gases, partículas y desechos provenientes del sistema industrial, petrolero y minero en el país.

El Plomo es un metal blando que ha sido conocido a través de los años por muchas aplicaciones. Este ha sido usado ampliamente desde el 5000 antes de Cristo para aplicaciones en productos metálicos, cables y tuberías, pero también en pinturas y pesticidas. El plomo es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%).

Las comidas como fruta, vegetales, carnes, granos, mariscos, refrescos y vino pueden contener cantidades significantes de Plomo. El humo de los cigarrillos también contiene pequeñas cantidades de plomo.

El Plomo puede entrar en el agua potable a través de la corrosión de las tuberías de algunas instalaciones caseras. Esto es más común que ocurra cuando el agua es ligeramente ácida. Esta es la razón por la que ahora los sistemas de tratamiento de aguas públicas requieren llevar a cabo un ajuste de pH en estas. Que nosotros sepamos, el Plomo no cumple ninguna función esencial en el cuerpo humano, este puede principalmente hacer daño después de ser tomado en la comida, aire o agua.⁽⁰²⁾

2.1.3).- EFECTOS EN LA SALUD

El Plomo puede causar varios efectos no deseados, como son:

- Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia.
- Incremento de la presión sanguínea.
- Daño a los riñones.
- Abortos y abortos sutiles.
- Perturbación del sistema nervioso.
- Daño al cerebro.
- Disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el esperma.
- Disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños.
- Perturbación en el comportamiento de los niños, como es agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad.

El Plomo puede entrar en el feto a través de la placenta de la madre. Debido a esto puede causar serios daños al sistema nervioso y al cerebro de los niños por nacer. ⁽⁰²⁾

2.1.4).- EFECTOS AMBIENTALES DEL PLOMO

El Plomo ocurre de forma natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones que son encontradas en el ambiente son el resultado de las actividades humanas.

Debido a la aplicación del plomo en gasolinas, se presenta un ciclo no natural del Plomo. En los motores de los coches, el Plomo es quemado, eso genera sales de Plomo (cloruros, bromuros, óxidos).

Estas sales de Plomo entran en el ambiente a través de los tubos de escape de los coches. Las partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la atmósfera. Parte de este Plomo caerá de nuevo sobre la tierra cuando llueva. Este ciclo del

Plomo causado por la producción humana está mucho más extendido que el ciclo natural del plomo. Este, ha causado contaminación por Plomo haciéndolo un tema mundial, no sólo la gasolina con Plomo causa concentración de Plomo en el ambiente. Otras actividades humanas, como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos, también contribuyen.

El Plomo se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos y organismos del suelo. Estos experimentarán efectos en su salud por envenenamiento por Plomo. Los efectos sobre la salud de los crustáceos pueden tener lugar incluso cuando sólo hay pequeñas concentraciones de Plomo presente.

Las funciones en el fitoplancton pueden ser perturbadas cuando interfiere con el Plomo. El fitoplancton es una fuente importante de producción de oxígeno en mares y muchos grandes animales marinos lo comen. Este es el porqué nosotros ahora empezamos a preguntarnos si la contaminación por Plomo puede influir en los balances globales. Las funciones del suelo son perturbadas por la intervención del Plomo, especialmente cerca de las autopistas y tierras de cultivos, donde concentraciones extremas pueden estar presentes. Los organismos del suelo también sufren envenenamiento por Plomo.

El Plomo es un elemento químico particularmente peligroso, y se puede acumular en organismos individuales, pero también entrar en las cadenas alimenticias.⁽⁰²⁾

2.2).- MARCO TEÓRICO SOBRE LA LIOFILIZACIÓN.

2.2.1).- PROCESO DE LIOFILIZACIÓN.

El proceso de liofilización (en inglés “freeze-drying”), consiste básicamente en introducir el producto a tratar en una cámara, y realizarse vacío rápidamente. Debido a la disminución de presión, el agua contenida en el material se congela; a continuación se comienza a calentar, manteniendo el vacío, para aumentar la velocidad de sublimación del hielo. Los niveles de vacío y de temperatura de calentamiento varían según el producto a tratar. ⁽⁰³⁾

En las instalaciones industriales existentes, el vacío se logra mediante la combinación de bombas de vacío y “trampas frías” que operan a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ó $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, para congelar el agua que se extrae del producto, y reducir la presión de la cámara de liofilización. ^{(04) (05)}

La utilización de bombas de vacío mecánicas y grandes equipos de frío, requiere el aporte de mano de obra especializada para su operación y mantenimiento, con los consiguientes costos asociados. ⁽⁰⁶⁾

2.2.2).- LIOFILIZACIÓN.

La liofilización es la preservación de materiales biológicos sin dañarlos, congelando su contenido de agua y luego removiendo el hielo por sublimación (pasaje de hielo a vapor sin pasar por agua líquida). Por ello uno puede esperar que se combinen las ventajas del congelamiento y el desecado para obtener una forma propicia de preservación. Algunos procesos de secado se escogen a fin de conservar el tamaño y la forma del alimento original. La liofilización de piezas grandes de alimentos es uno de ellos. En la cual solo se pierde peso del alimento permitiendo así ahorros en el costo de transporte, más no en el tamaño de los envases. ⁽⁰⁷⁾

El principio en que se basa la liofilización es que, en ciertas condiciones de baja presión, el agua se evapora del hielo, sin que ésta se derrita.

La liofilización es un proceso que se aplica en tres grandes categorías de productos biológicos:

1. Materiales no vivientes tales como plasma sanguíneo, suero, soluciones de hormonas, productos farmacéuticos y alimentos.
2. Transplantes quirúrgicos de especies tales como arterias, piel y huesos.
3. Células vivas destinadas a permanecer en ese estado por largos períodos de tiempo. Ejemplos que incluyen bacterias, virus levaduras (pero no células de mamíferos).

La liofilización es de suma importancia para la conservación de productos alimenticios porque detiene el crecimiento de microorganismos (hongos, mohos, etc.), inhibe el deterioro por reacción química (cambio de color y sabor, ranciedad, pérdida de propiedades fisiológicas, etc.), y facilita la distribución y el almacenamiento (no es necesario mantener una cadena de frío), además el producto tratado no cambia de forma y es fácilmente rehidratable. ⁽⁰⁸⁾

2.2.3).- MECANISMO.

Este método de secado requiere la congelación del producto seguida de la sublimación del hielo para obtener un producto seco. La sublimación se consigue manteniendo un gradiente de presión de vapor de agua entre el entorno y el hielo contenido en el producto. Se puede decir, que el secado completo tiene lugar en tres fases. Al principio, por congelación, se separa agua de los componentes hidratados del alimento mediante la formación de cristales de hielo o mezclas eutécticas. Por subsiguiente sublimación de estos cristales se separa agua de la masa del producto. Cuando todo el hielo ha sido separado el

sólido que queda contendrá todavía pequeñas cantidades de agua absorbida en la estructura de sus componentes, que se podrá separar por evaporación en aparatos de secado por congelación, normalmente por elevación de la temperatura del producto o, en otros casos, el “acabado” del producto se puede hacer en otra clase de secadero, por ejemplo, en un secadero de tolva.

La separación de la mayor parte del agua por sublimación produce una sustancia con estructura ligeramente porosa, pero que retiene la forma y tamaño del producto original. De esta forma se evitan o minimizan muchas de las desventajas asociadas con otros métodos de secado. La contracción es prácticamente despreciable, el movimiento de sólidos solubles es limitado y se minimiza la deterioración por el calor. Las características de reconstitución del producto son buenas, tanto en velocidad como en cantidad de reconstitución.⁽⁰³⁾

La estructura porosa de las células resultantes en el producto final permite reabsorber rápidamente el agua. El proceso de liofilización conserva al máximo el sabor, las vitaminas, los minerales y aromas que poseen los productos originales. La liofilización proporciona un producto completamente natural que está libre de aditivos y conservadores.

2.2.4).- APLICACIONES.

La liofilización puede emplearse para deshidratar alimentos líquidos sensibles y costosos, como el café y los jugos, pero más comúnmente se usa para secar alimentos sólidos costosos, como fresas, camarones enteros, cubitos de pollo, champiñones rebanados y en ocasiones piezas grandes de bistec y chuletas.

Estos alimentos, además de colores y sabores delicados, tienen atributos de textura y apariencia que no pueden conservarse mediante ningún otro método actual de secado.

Una fresa entera, por ejemplo, es blanda, frágil y está compuesta casi completamente por agua, cualquiera de los métodos tradicionales de secado que emplean calor, causaría en las fresas un alto grado de encogimiento, deformación y pérdida de la textura natural.

Al reconstituirse estas fresas no tendrían ya su color, sabor y turgencia naturales y se parecerán más a una mermelada de fresa. Esto se puede prevenir en gran parte deshidratando la fruta en estado congelado de manera que no pueda encogerse o deformarse mientras está perdiendo su humedad. ⁽⁰⁹⁾

2.2.5).- VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

- La liofilización presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas de secado, en particular la estructura original del alimento se mantiene mejor y la retención de aroma y nutrientes es excelente. La textura es aceptable especialmente con vegetales.
- Los productos liofilizados presentan una mayor calidad que los mismos productos deshidratados.
- Los alimentos liofilizados pueden ser almacenados a temperatura ambiente durante largos períodos y su rehidratación es sencilla.
- Los costos de liofilización son esencialmente prohibitivos para aplicaciones ordinarias.
- La liofilización es un proceso caro, tanto en términos de inversión como en costo de operación y también en tiempo de proceso. ^{(10) (11)}

2.3).- MARCO TEÓRICO DE LA INSTRUMENTACIÓN.

2.3.1).- TÉCNICAS INSTRUMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE PLOMO

Para este estudio, es conveniente describir propiedades físicas que pueden utilizarse como señales analíticas en el análisis cualitativo o cuantitativo. Para este propósito se adjunta la tabla N° 01, en donde se enumera la mayoría de las señales analíticas que se suelen utilizar en el análisis instrumental.

Se observa que las seis primeras están relacionadas con la radiación electromagnética. En la primera, el analito origina la señal radiante; las cinco restantes implican cambios en el haz de radiación producidos a su paso por la muestra. Las cuatro siguientes son eléctricas.

Por último, cuatro señales diversas se agrupan conjuntamente. Estas son la razón masa a carga, la velocidad de reacción, las señales térmicas y la radiactividad.

La segunda columna de la tabla N° 01 indica los nombres de los métodos instrumentales basados en las distintas señales analíticas. Debería entenderse que excepto en la cronología, pocas peculiaridades distinguen a los métodos instrumentales de sus equivalentes clásicos. Algunas técnicas instrumentales son más sensibles que las técnicas clásicas, pero otras no.

Un método instrumental puede ser más selectivo para ciertas clases de compuestos o elementos; para otros, un planteamiento gravimétrico o volumétrico puede suponer una menor interferencia.

Igualmente difíciles de establecer son las generalizaciones basadas en la exactitud, la conveniencia o el tiempo empleados. Tampoco es necesariamente cierto que los procedimientos instrumentales utilicen aparatos más sofisticados o más costosos; en realidad, la moderna balanza analítica electrónica que se emplea en las determinaciones

gravimétricas supone un instrumento más complejo y refinado que muchos de los usados en los otros métodos mencionados en la tabla N° 01. ⁽¹²⁾

TABLA N° 01

SEÑAL	MÉTODOS INSTRUMENTALES
Emisión de radiación	Espectroscopia de emisión (rayos X, UV, visible, de electrones, Auger); fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia (rayos X, UV y visible)
Absorción de radiación	Espectrofotometría y fotometría (rayos X, UV, visible, IR); espectroscopia fotoacústica; resonancia magnética nuclear y espectroscopia de resonancia de spín electrónico
Dispersión de la radiación	Turbidimetría; nefelometría; espectroscopia Raman
Refracción de la radiación	Refractometría; interferometria.
Difracción de la radiación	Métodos de difracción de rayos X y de electrones
Rotación de la radiación	Polarimetría; dispersión rotatoria óptica; dicroísmo circular
Potencial eléctrico	Potenciometría; cronopotenciometría
Carga eléctrica	Coulombimetría
Corriente eléctrica	Polarografía; amperometría
Resistencia eléctrica	Conductimetría
Razón masa a carga	Espectrometría de masas
Velocidad de reacción	Métodos cinéticos
Propiedades térmicas	Conductividad térmica y métodos de entalpía
Radiactividad	Métodos de activación y de dilución isotópica

Como ya es sabido, además de los numerosos métodos indicados en la tabla N° 01 existe un grupo de procedimientos instrumentales que se utilizan para separar y resolver compuestos estrechamente relacionados. La mayoría de estos procedimientos se basan en la cromatografía. Para completar el análisis tras las separaciones cromatográficas se suele usar algunas de las señales de la tabla N° 01. Con esta finalidad se han utilizado la conductividad térmica, la absorción infrarroja y ultravioleta, el índice de refracción y la conductancia eléctrica.⁽¹²⁾

2.3.2).- SELECCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

La selección del método analítico va estar basado en la definición de la naturaleza del problema analítico. Estas definiciones o planteamientos son:

- Establecer la exactitud y precisión.
- Muestra disponible para el análisis.
- Intervalo de concentración del analito
- Componentes de la muestra que interferirán.
- Propiedades físicas y químicas de la matriz de la muestra.
- Número de muestras a analizar.

Establecer la exactitud y precisión es de vital importancia ya que determina cuanto tiempo y esmero se precisará para el análisis. La muestra disponible y el intervalo de concentración del analito determinan cuan sensible debe ser el método y a que intervalo de concentraciones debe adaptarse. La interferencia de compuestos será tratada por la selectividad del método a utilizar. El punto de las propiedades físicas y químicas se orienta al hecho de si son disoluciones, normalmente acuosas; si son gases o se presentan en

estado sólido; también que composición química acompaña al analito para su eventual y satisfactorio tratamiento en caso de que lo requiera.

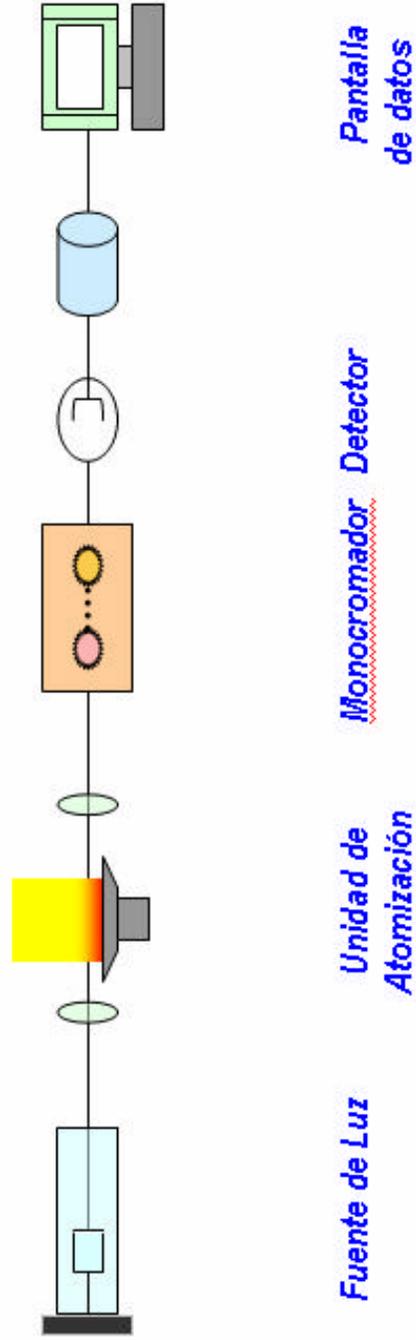
El último punto está orientado a los costos, una consideración importante es el número de muestras que se tienen que analizar. Si este número es elevado, se puede invertir una cantidad considerable de tiempo y dinero en la instrumentación, en el desarrollo del método y en la calibración. Además si el número fuera muy elevado, debería elegirse del método que precisará del mínimo tiempo de operador por muestra. Por otro lado, si solo se tienen que analizar unas pocas muestras, la elección prudente suele ser la de un método más sencillo aunque sea más largo pero que requiera poco o ningún trabajo preliminar.

2.3.3).- INSTRUMENTOS PARA EL ANÁLISIS.

En un sentido muy amplio, un instrumento para el análisis químico convierte una señal analítica que no suele ser detectable ni comprensible directamente por un ser humano en una forma que sí lo es. Así un instrumento analítico puede considerarse como un dispositivo de comunicación entre el sistema en estudio y el científico.

Un instrumento para el análisis químico suele estar constituido como máximo por cuatro componentes fundamentales. Estos componentes son un generador de señales, un transductor de entrada (denominado detector), un procesador de la señal y un transductor de salida o dispositivo de lectura (ver figura N° 01, pag. 26). Para esta metodología utilizaremos un espectrofotómetro de Absorción Atómica (ver figura N° 07, pag. 51).⁽¹²⁾

FIGURA N° 01
COMPONENTES FUNDAMENTALES DE UN EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA



2.4).- ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

2.4.1).- EL EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS ELEMENTOS.

El principio de los métodos de medida por absorción atómica y emisión atómica de llama se conoce desde hace más de un siglo debido a la experiencia Kirchhoff, que demostró que los gases incandescentes absorben a las mismas longitudes de onda que son capaces de emitir.

Cuando se dispersa la luz emitida por un arco eléctrico (inicialmente una fuente de luz blanca) con un prisma se obtiene un espectro continuo. Si se sustituye la fuente anterior por un mechero Bunsen en el que se proyecta un poco de cloruro de sodio, se obtiene el espectro de emisión de este elemento formado por rayas (imágenes de la rendija de entrada) cuyo doblete amarillo es bien conocido y se sitúa a 589 nm. Esta parte de la experiencia ilustra la emisión atómica de llama.

Finalmente, si se asocian las dos fuentes procedentes colocando en el trayecto óptico el arco eléctrico y después la llama del mechero Bunsen, se obtiene sobre la pantalla un espectro continuo con rayas oscuras en lugar de rayas de emisión de sodio. Esta “reversión” de rayas resulta de la presencia en la llama de una gran proporción de átomos de sodio que quedan en estado fundamental y que absorben a las mismas frecuencias que pueden emitir los átomos excitados de este elemento. Esto es una manifestación de la absorción atómica.

Esta experiencia traduce la existencia de estados de energía potencial perfectamente definidos para cada átomo y que dependen de su configuración electrónica. Cuando un átomo en estado libre se lleva a una temperatura elevada, o se irradia con una fuente luminosa en la región del UV-VIS cercano, se favorece la transición de uno de sus electrones externos, del estado fundamental en que se encuentran normalmente, a un estado excitado. Esta transferencia corresponde a una absorción de energía. Inversamente, cuando

el átomo regresa espontáneamente a su estado fundamental, puede reemitir este excedente de energía bajo la forma de uno o varios fotones. En las experiencias precedentes, la llama provoca las transiciones más probables del átomo de sodio.

La ley de distribución de Maxwell-Boltzmann permite calcular el efecto de la temperatura sobre cada transición. Designado por N_0 al número de átomos en estado fundamental y por N_e al del estado excitado, se tiene:

$$\frac{N_e}{N_0} = g \cdot \exp\left[-\frac{\Delta E}{kT}\right]$$

donde

T: temperatura absoluta en grados Kelvin;

g : número entero pequeño (g depende de los números cuánticos del elemento considerado)

ΔE : dispersión de energía (julios) entre dos poblaciones (o) y (e);

k : Constante de Boltzman ($k = R/N = 1,38 * 10^{-23}$ J/K). ⁽¹²⁾

2.4.2).- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN POR ABSORCIÓN ATÓMICA.

La determinación de elementos es posible siempre que se pueda relacionar su concentración con la intensidad de la absorción o de la emisión luminosa correspondiente. La absorbancia del elemento depende del número de átomos N_0 que quedan en el estado fundamental en el trayecto óptico. Se procede a realizar medidas comparativas con disoluciones patrón.

$$A = k I * c$$

Siendo A , la absorbancia; c , la concentración del elemento; k , un coeficiente característico de cada elemento para la longitud de onda seleccionada.

La comparación se establece así con la relación de Lambert-Beer (aunque aquí no se calcula el coeficiente de absorptividad, \hat{a}). El equipo registra la absorbancia mediante la relación de las intensidades transmitidas en ausencia y presencia de la muestra. La linealidad solo es efectiva para bajas concentraciones. Los métodos siguen protocolos clásicos con el establecimiento de una recta de calibrado a partir de disoluciones sintéticas de concentraciones crecientes de analito para los medios en los que el efecto matriz es despreciable (Fig. N° 02). Si la matriz es compleja, será necesario reconstruir, para toda la gama de patrones, lo esencial del medio o también utilizar el método de adición de patrón, garantizando en este último caso la linealidad de la respuesta en absorbancia. ⁽¹³⁾

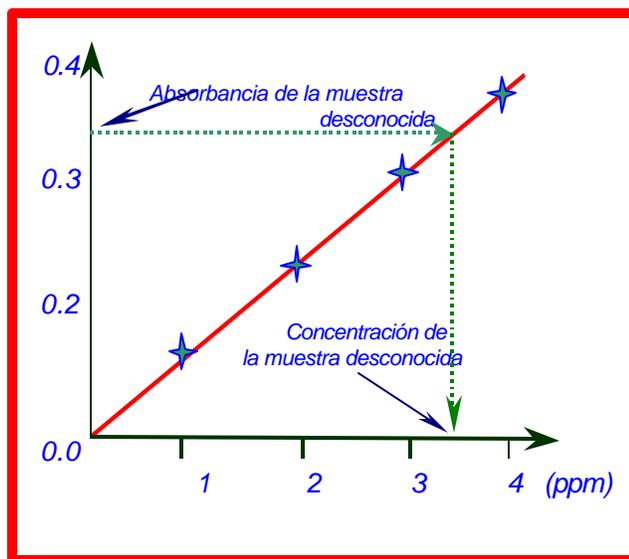


FIG. N° 02 CURVA DE CALIBRACIÓN. ⁽¹⁴⁾

2.4.3).- ESQUEMA ÓPTICO PARA ABSORCIÓN ATÓMICA.

El esquema óptico de un equipo de absorción atómica, ilustrado aquí mediante un modelo básico de haz simple (Fig. N° 03), incorpora cuatro partes fundamentales: el haz

luminoso procedente de la fuente (1) atraviesa la llama (2) en la que el elemento es llevado a estado atómico, antes de ser enfocado sobre la rendija de entrada de un monocromador (3) que selecciona un intervalo muy estrecho de longitudes de onda. El trayecto óptico termina en la ventana de entrada del detector (4).

En ausencia del elemento buscado en el recorrido óptico, el detector recibe toda la intensidad luminosa emitida por la fuente en el intervalo de longitudes de onda seleccionado por la rendija de entrada del sistema dispersivo.

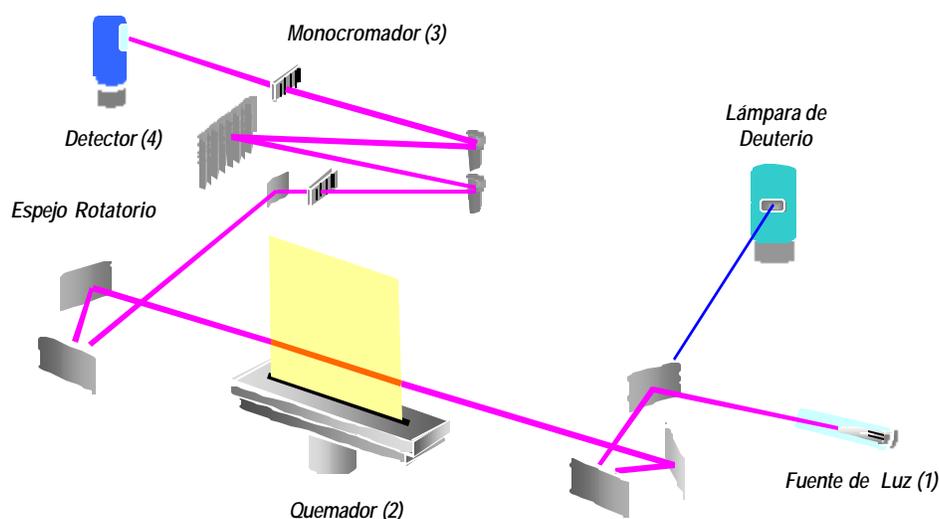


FIG. N° 03 ESQUEMA ÓPTICO DE HAZ SIMPLE

2.4.4).- LÁMPARAS DE CÁTODO HUECO.

Los equipos de absorción atómica utilizan lámparas de descarga en presencia de argón o de neón, utilizados como gas de llenado a presión de algunos cientos de pascales. El espectro de emisión de estas fuentes incluye rayas intensas que dependen del elemento constituyente del cátodo. Así para analizar un elemento como el plomo, el cátodo deberá contener plomo. Por eso existen lámparas diferentes con cátodos huecos constituidos por elementos puros y también por aleaciones o polvos fritados para las lámparas

multielementales (Fig. 04). El ánodo es de zirconio o de wolframio y la ventana de la lámpara es de vidrio Pirex o de sílice, según las longitudes de onda emitidas por el cátodo.

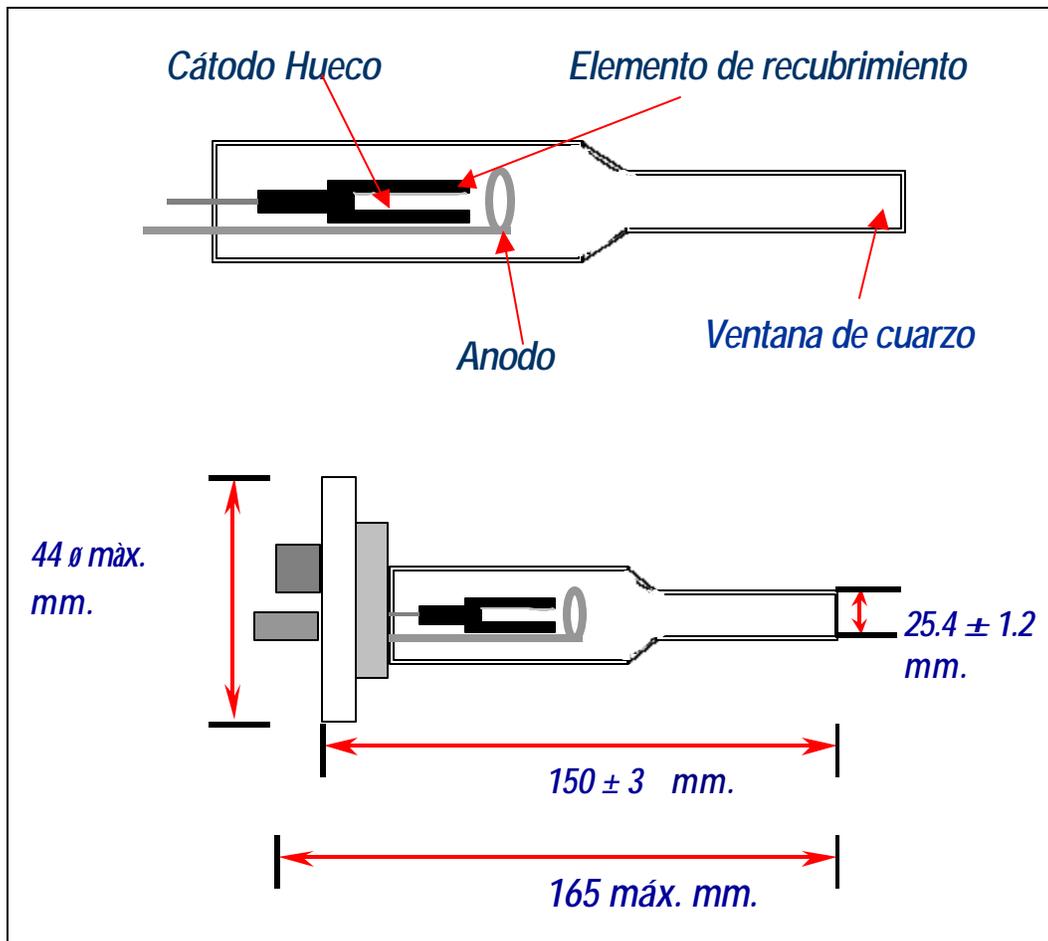


FIG. N° 04 LÁMPARA DE CÁTODO HUECO

2.4.5).- DISPOSITIVO TÉRMICO PARA OBTENER GAS TÉRMICO.

Existen 3 formas para poder obtener el gas térmico: atomización por llama, vaporización química y atomización electrotérmica; siendo esta última la utilizada en la determinación de plomo. ⁽¹³⁾

2.4.6).- ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA.

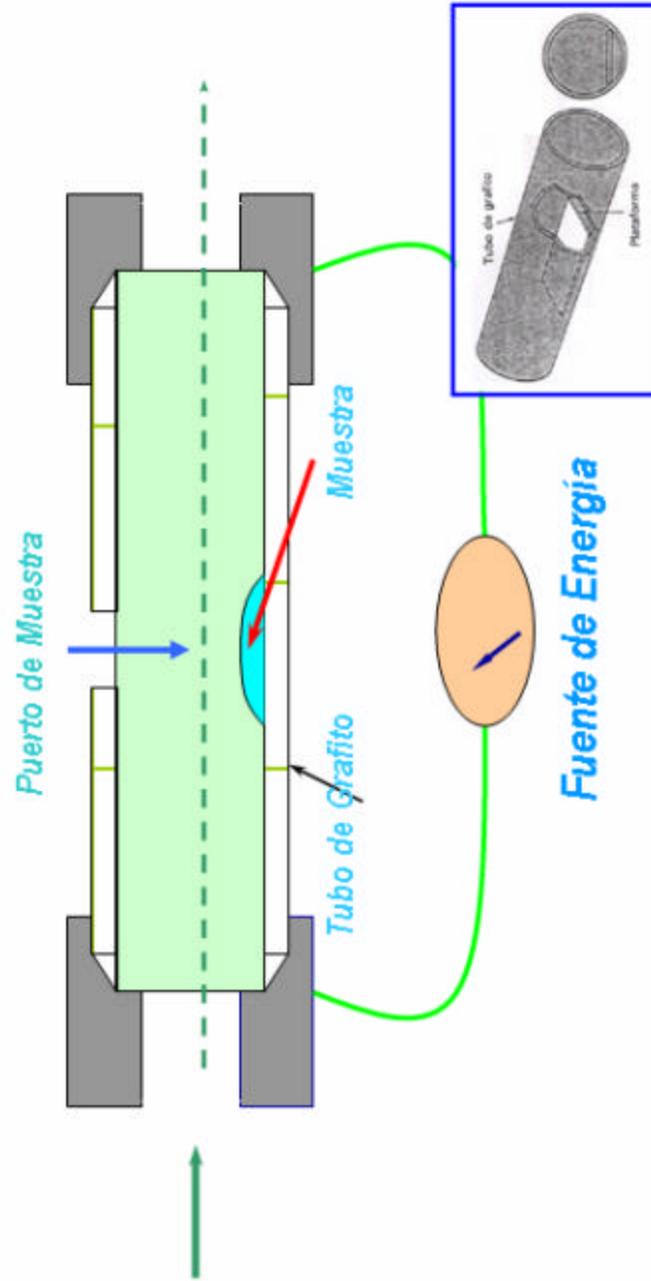
El dispositivo sin llama y sin nebulizador denominado Horno de Grafito, está constituido por un tubo de carbono de grafito equipado de una barquilla destinada a recibir una cantidad muy precisa de muestra (algunos mg o uL depositados con la ayuda de un pasador automático). Este tubo, cuyo eje central se superpone al eje óptico del espectrofotómetro, se lleva por acción del efecto Joule, a una temperatura que puede alcanzar 3000 K. El horno está rodeado de una doble pared destinada a hacer circular un gas inerte (de argón) que protege los elementos de oxidación, y de agua para refrigerar el conjunto. El ciclo de calentamiento implica generalmente varias etapas como son el secado o desolvatación, la calcinación, la atomización y la pirolisis o limpieza del tubo de grafito. Para evitar cualquier pérdida por proyecciones, la temperatura crece gradualmente, para primero secar, después descomponer y finalmente atomizar la muestra. En los equipos actuales la velocidad de calentamiento puede alcanzar 2000 °C/s. La potencia térmica disponible permite llevar, en 3 o 4 segundos, la muestra al estado de gas atómico. La duración de la atomización es pues particularmente corta. (Fig. N° 05).⁽¹³⁾

2.4.7).- ATOMIZACIÓN POR LLAMA.

Un quemador, conjunto mecánico robusto para resistir a posibles explosiones de gas, se alimenta por una mezcla combustible/comburente. Se obtiene una llama cuya base se inscribe en rectángulo de 10 cm. de longitud y 1 mm de anchura, alineado en su mayor dimensión con el eje óptico del equipo. La muestra en disolución acuosa se aspira en la mezcla gaseosa alimentando la llama. Esta se caracteriza por su reactividad química, por una temperatura máxima y por su espectro. Se utiliza frecuentemente la llama aire/acetileno. Para temperaturas más elevadas el aire se reemplaza por óxido nitroso N_2O . La llama constituye un medio complejo en equilibrio dinámico. Los radicales libres

presentes son el origen de un espectro de emisión y de un espectro de absorción en el dominio del UV próximo que pueden perturbar la observación de ciertos elementos. No importa que tipo de llama sea adecuada para cada elemento. Finalmente la llama no homogénea conlleva el ajuste de la posición del trayecto óptico.⁽¹³⁾

FIGURA N° 05
ESQUEMA INTERNO Y EXTERNO DE UN TUBO DE GRAFITO



2.4.8).- CORRECCIÓN DE ABSORCIONES PARÁSITAS.

Como en espectrometría visible o infrarroja, en absorción atómica es necesario hacer una corrección de fondo de absorción, tanto para neutralizar las fluctuaciones de intensidad de la lámpara como para eliminar las absorciones parásitas. Con los equipos de quemador, el ruido de fondo es en general poco importante ya que se nebulizan disoluciones acuosas diluidas. Sin embargo, con los dispositivos de horno de grafito, la atomización incompleta de las muestras sólidas en estado bruto puede producir una absorción parásita debido a la matriz. Para corregir este efecto los fabricantes proponen tres soluciones:

2.4.9).- CORRECCIÓN CON LÁMPARA DE DEUTERIO.

Además de la configuración óptica de doble haz que permite eliminar variaciones de intensidad luminosa de la fuente, se utiliza una segunda fuente policromática continua para determinar la absorción debida a la matriz y no al elemento medido. A la longitud de onda establecida para la determinación, la muestra nebulizada en el seno de la llama es alternativamente atravesada por la luz, procedente tanto de la lámpara de cátodo hueco como de una lámpara de deuterio que constituye una fuente continua. Para ello se utiliza un espejo giratorio. Cuando se selecciona la lámpara de deuterio, prácticamente se evalúa solo el fondo de absorción, con un paso de banda una centena de veces más ancha que la raya de absorción seleccionada. Cuando se selecciona la lámpara de cátodo hueco, se mide la absorción total (fondo de absorción y absorción de la raya del elemento). Siendo aditivas la absorbancia, el equipo muestra el valor de absorción debida al elemento.

2.4.10).- CORRECCIÓN POR APLICACIÓN DEL EFECTO ZEEMAN.

La acción de un campo magnético sobre un átomo provoca una perturbación de los estados de energía de sus electrones. Este fenómeno denominado efecto Zeeman, tiene por

objeto modificar el espectro de emisión o de absorción del elemento correspondiente. No todos los elementos se comportan de la misma manera, pero en el caso más frecuente, cada raya de absorción conduce a la aparición de tres absorciones polarizadas, de las cuales una, denominada componente δ , conserva la posición inicial mientras que las otras dos, denominadas componentes σ son desfasadas simétricamente respecto a la componente δ (algunos picómetros para un campo de 1 Tesla). Las dos direcciones de polarización de las rayas δ y σ son perpendiculares. Sólo la componente δ , observada con un polarizador orientado paralelamente a la dirección del campo, absorbe la luz de la fuente. La aplicación del efecto Zeeman requiere la colocación de un electroimán a nivel del horno de grafito (o de la llama).

2.4.11).- CORRECCIÓN DEL RUIDO DE FONDO CON LÁMPARA DE CÁTODO HUECO DE PULSOS.

Cuando se aumenta bruscamente la intensidad de una lámpara de cátodo hueco por disminución de la resistencia del circuito de alimentación, el perfil de la raya de emisión cambia. La parte central del cátodo se vuelve muy caliente, la raya se ensancha por una parte y por otra se estrecha en su medio. Esta última propiedad procede del hecho de que el vapor de átomos, producido por el cátodo, reabsorbe una fracción de la luz emitida, en el mismo seno de la lámpara, en la parte más fría, a la misma longitud. Esta autoabsorción se utiliza aquí como método de corrección del fondo de absorción. La corrección por medio de una lámpara de pulsos consiste, pues en comparar dos medidas. En régimen normal (10 mA), y con la muestra en la llama se accede a una medida global del fondo de absorción y de la absorción del elemento, mientras que en régimen forzado (500 mA) sólo interviene el fondo de absorción. La diferencia entre las dos medidas de absorbancia permite calcular la absorción debida al único analito.

2.4.12).- INTERFERENCIAS FÍSICAS Y QUÍMICAS.

Para determinar un elemento se selecciona, si es posible, la raya de emisión más intensa de la lámpara correspondiente; esta corresponde generalmente a la raya de resonancia. Así distintos factores aportados por la matriz pueden afectar la determinación y conducir a resultados erróneos.

2.4.13).- INTERFERENCIAS ESPECTRALES.

Se refieren a las que se producen por superposición en la medida de la radiación: la seleccionada para la determinación y una raya secundaria perteneciente a otro elemento.

2.4.14).- INTERACCIONES QUÍMICAS.

La absorción atómica es muy sensible a efectos perturbadores. Cuando se investigan elementos a niveles trazas, es importante considerar la matriz en que se encuentran. Es necesario seguir protocolos bien establecidos si se quiere obtener resultados reproducibles. Para corregir, se introducen en las disoluciones a nebulizar sales minerales o reactivos orgánicos. Estos modificadores de matriz pueden servir, por ejemplo, como “agentes liberadores” **R**, cuya acción se resume del siguiente modo:



El elemento **M** será más fácilmente liberado cuando más estable sea el compuesto **R-X**. Así, cuando se quiere determinar el calcio en una matriz rica en iones fosfato o en combinaciones refractarias que contienen aluminio, se añade cloruro de estroncio o de lantano. El efecto buscado aquí es liberar el calcio y aumentar la volatilidad de la matriz para garantizar su eliminación más eficazmente en el transcurso de la etapa de

descomposición. Para los equipos de horno de grafito, se puede, con este fin, añadir ácido etiléndiamino tetraacético (EDTA), que forma complejos 1:1 con los iones bivalentes, o nitrato de amonio cuando se está en presencia de una matriz que contiene mucho sodio. La finalidad del EDTA es aumentar la volatilidad de ciertos elementos interferentes; el complejo se presenta en la figura N° 06. ⁽¹²⁾

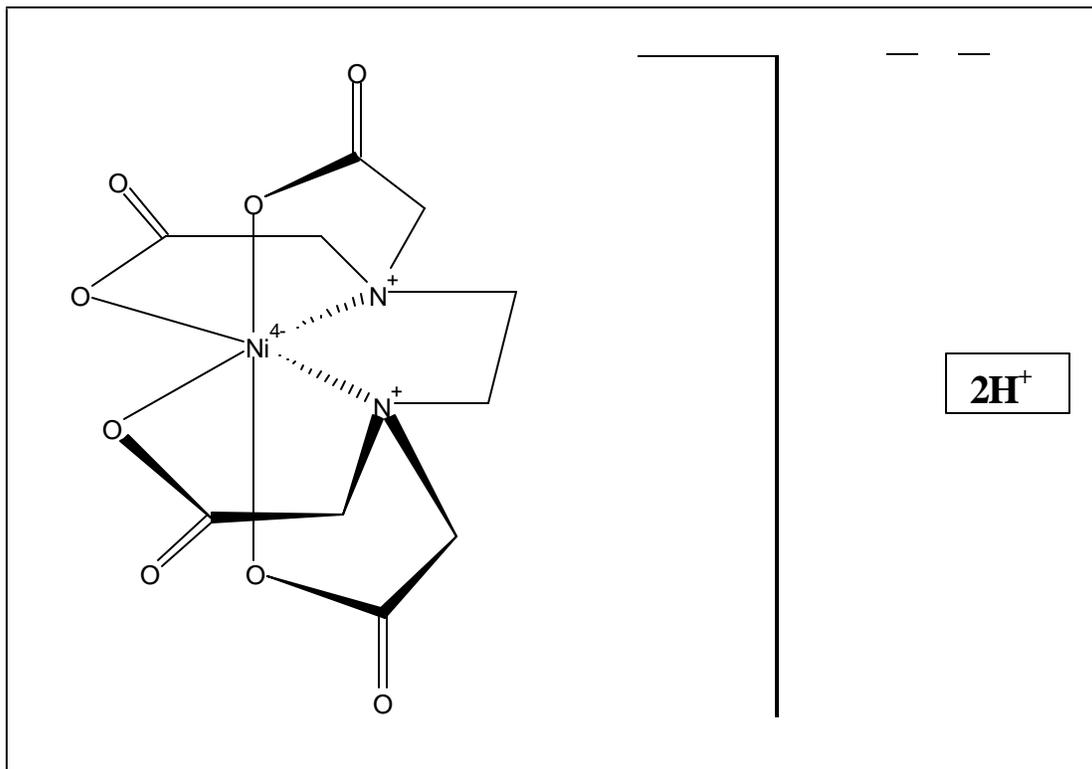


FIG. N° 06 Complejo volátil de tipo 1:1 entre una molécula de EDTA y un ión de Ni^{2+}

2.4.15).- SENSIBILIDAD Y LÍMITE DE DETECCIÓN EN AAS (Espectrometría de Absorción Atómica).

La sensibilidad se define a partir del elemento seleccionado, como la concentración expresada en $\mu\text{g}/\text{mL}$ que, en disolución acuosa, conduce a una disminución del 1% de la luz transmitida ($A = 0,0044$). Cuando es posible, se establecen las curvas de calibrado con

concentraciones del orden de 20 a 200 veces este límite. El límite de detección corresponde a la concentración del elemento que da una señal cuya intensidad iguala a dos veces la desviación típica de una serie de al menos diez medidas hechas para el blanco analítico o sobre una disolución muy diluida (nivel de confianza del 95 %). Concretamente las concentraciones deben ser al menos diez veces superiores para tener medidas fiables. ⁽¹²⁾

(13)

2.5).- MARCO TEÓRICO DEL TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.

2.5.1).- POBLACIONES Y MUESTRAS

En el tratamiento estadístico de los datos se supone que el puñado de resultados experimentales repetidos que se obtienen en el laboratorio es una mínima fracción del número infinito de resultados que se podrían obtener, en principio, si se dispusiera de un tiempo y una cantidad de muestras infinitos. A este puñado de datos, los estadísticos lo denominan una muestra, la cual se ve como un subconjunto de una población infinita, o universo, de datos que en principio existen.

Las leyes de la estadística solo se aplican estrictamente a las poblaciones; cuando se aplican a las muestras de datos de los laboratorios, hay que suponer que dicha muestra es verdaderamente representativa de la población. Como no hay seguridad en que dicha suposición sea válida, las afirmaciones acerca de los errores aleatorios son a la fuerza inciertas y deben expresarse en términos de probabilidades. ⁽⁰⁹⁾

2.5.2).- DEFINICIÓN DE ALGUNOS PARÁMETROS ESTADÍSTICOS, MEDIA DE LA POBLACIÓN (μ)

La media de la población o media límite, de un conjunto de repeticiones se define por la ecuación:

$$\mu = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

en la que X_i representa el valor de la i -ésima medida. Tal como indica esta ecuación, la media de un conjunto de medidas se aproxima a la media de la población cuando N , el número de mediciones, se aproxima a infinito. Es importante añadir que en ausencia de error, μ es el valor verdadero de la cantidad medida.⁽¹⁸⁾

2.5.3).- DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA POBLACIÓN (σ) Y VARIANZA DE LA POBLACIÓN (σ^2)

La desviación estándar de la población y la varianza de la población proporcionan medidas estadísticamente significativas de la precisión de una población de datos. Así pues,

$$\sigma = \sqrt{\lim_{N \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}}$$

en la que X_i de nuevo es el valor de la n -ésima medición. Obsérvese que la desviación estándar de la población es la raíz cuadrática media de las desviaciones individuales respecto a la media de la población.

Los estadísticos prefieren expresar la precisión de los datos en términos de la varianza, que es tan solo el cuadrado de la desviación estándar (σ^2), porque las varianzas se combinan de forma aditiva. Esto es, si n causas independientes de error aleatorio están presentes en un sistema, la varianza total σ^2_i viene dada por la relación:

$$\sigma_t^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \dots + \sigma_n^2$$

en la que $\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_n^2$ son las varianzas individuales.

En general los químicos prefieren describir la precisión de las medidas en términos de desviación estándar más que de varianza porque la primera presenta las mismas unidades que la propia medida.

2.5.4).- MEDIA DE LA MUESTRA (\bar{x})

La media de la muestra es la media, o promedio de un conjunto finito de datos. Ya que en este caso N es un número finito, \bar{x} suele diferir algo de la media de la población μ y, por tanto del valor verdadero de la cantidad medida. La utilización, en este caso, de un símbolo diferente quiere enfatizar esta importante distinción.

2.5.5).- DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA MUESTRA (s) Y VARIANZA DE LA MUESTRA (s^2)

La desviación estándar (s) de una muestra de datos de tamaño limitado viene dada por la ecuación:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1} (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

Obsérvese que la desviación estándar de la muestra difiere de la desviación estándar de la población definida de la definida en la ecuación n° 01, en tres aspectos. En primer lugar, s reemplaza a σ para así enfatizar la diferencia entre ambos parámetros. En segundo lugar, \bar{x} , la media de la muestra, reemplaza a μ , la media verdadera. Por último $N-1$, que se define como el número de grados de libertad, aparece en el denominador en lugar de N .⁽¹¹⁾

2.5.6).- DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA (RSD) Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN (CV)

Las desviaciones estándar relativas suelen aportar más información que las desviaciones estándar absolutas. La desviación estándar relativa de una muestra de datos viene dada por:

$$RSD = (s / \bar{x}) * 10^z$$

Cuando $z = 2$, la desviación estándar relativa se expresa como tanto por ciento; cuando es 3, en tanto por mil. En el primer caso, la desviación estándar relativa también se denomina coeficiente de variación (CV) de los datos. O sea:

$$CV = (s / \bar{x}) * 100\%$$

Cuando se trata de una población de datos, la simbología σ y μ se usan en lugar de s y \bar{x} .⁽¹⁹⁾

2.5.7).- COMPARACIÓN DE UNA MEDIA EXPERIMENTAL CON UN VALOR CONOCIDO

Al hacer un contraste de significación se prueba la veracidad de una hipótesis denominada **hipótesis nula**, denotada por H_0 . Adoptamos como hipótesis nula aquella mediante la cual un método analítico no está sujeto a errores sistemáticos. El término **nulo** se emplea para indicar que no hay otra diferencia entre el valor observado y el conocido que la atribuible a la variación aleatoria. Suponiendo que esta hipótesis nula es verdadera, la teoría estadística se puede emplear para calcular la probabilidad de que la diferencia observada (o una superior a ella) entre la media muestral, \bar{x} , y el verdadero valor, se deba solamente a errores aleatorias. Cuanto más pequeña sea la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar, menos probable será que la hipótesis nula sea verdadera. Normalmente la hipótesis nula se rechaza cuando la probabilidad de que la dicha diferencia observada ocurra por azar es menor que 1 en 20 veces (es decir, 0.05 ó 5%). En este caso se dice que la diferencia **es significativa al nivel 0.05 (ó 5%)**. Utilizando este nivel de significación se rechaza, en promedio, la hipótesis nula, aunque sea de hecho verdadera, 1 de cada 20 veces. Para estar más seguros de que se toma la decisión adecuada, se puede manejar un nivel de significación más pequeño, normalmente 0.01 ó 0.001 (1% ó 0.1%). El nivel de significación se indica escribiendo, por ejemplo P (es decir, la probabilidad) = 0.05, y proporciona la probabilidad de rechazar una hipótesis nula cuando ésta es verdadera. Es importante tener en cuenta que si se acepta la hipótesis nula no significa que se halla probado que sea verdadera, solo que no se ha demostrado que sea falsa.

Para decidir si la diferencia entre \bar{x} y μ es significativa, es decir para contrastar H_0 : la media de la población = μ , se calcula el estadístico t :

$$t = ((\bar{x} - \mu) \sqrt{n})/s$$

Donde \bar{x} = media muestral, s = desviación estándar muestral y n = tamaño muestral.

Si $|t|$ (es decir, el valor calculado de t sin tener en cuenta el signo) es mayor que un cierto valor crítico entonces se rechaza la hipótesis nula. El valor crítico de t para un nivel de significación concreto se encuentra en las tablas adjuntas en la discusión de resultados.

El uso de valores críticos de tablas estadísticas en contrastes de significación fue adoptado debido a que antiguamente era demasiado tedioso calcular la probabilidad de que t superaría el valor experimental.

Las computadoras han alterado tal situación, y normalmente los programas estadísticos proporcionan los resultados de los contrastes de significación en término de una probabilidad. ⁽²⁰⁾

2.5.8).- EL CONTRASTE F PARA LA COMPARACIÓN DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR

Existen contrastes para las comparaciones de sus medias los cuales detectan errores sistemáticos, en muchos casos es también importante comparar la desviación estándar, es decir, los errores aleatorios de dos conjuntos de datos. Esta comparación como en el caso de los contrastes de medias, puede tomar dos formas. Se puede pretender probar si el Método A es más preciso que el Método B (es decir, un contraste de una cola) o si los Métodos A y B difieren en su precisión (es decir un contraste de dos colas).

El contraste F considera la razón de las dos varianzas muestrales, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar, s_1^2/s_2^2 .

Para probar si es significativa la diferencia entre las dos varianzas muestrales, esto es, para probar $H_0 : s_1^2 = s_2^2$, se calcula el estadístico F :

$$F = s_1^2/s_2^2$$

Donde 1 y 2 se disponen en la ecuación de modo que F sea siempre ≥ 1 .

El número de grados de libertad del numerador y denominador son $n_1 - 1$ y $n_2 - 2$, respectivamente.

El contraste supone que las poblaciones de donde se extraen las muestras son normales.

Si la hipótesis nula es verdadera entonces la relación de varianzas debería ser próxima a 1.

Las diferencias respecto de 1 deben a variaciones aleatorias, pero si la diferencia es demasiado grande no se podrá achacar a esta causa. Si el valor calculado de F supera un cierto valor crítico (obtenido de las tablas) entonces se rechaza la hipótesis nula. Este valor crítico de F depende del tamaño de las dos muestras, del nivel de significación y del tipo de contraste realizado. Los valores para $P = 0.05$ vienen adjunta en la discusión de resultados.

Hay que tener cuidado en la elección de la tabla correcta dependiendo si es un contraste de una o dos colas: para un $\alpha\%$ de nivel de significación, se utilizan los $2\alpha\%$ puntos de la distribución F para un contraste de una cola, mientras que para un contraste de dos colas se utilizan los puntos $\alpha\%$. ⁽²¹⁾ ⁽²²⁾

3).- MATERIALES, REACTIVOS E INSTRUMENTO.

PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PLOMO.

3.1).- REACTIVOS

- Estándar certificado de plomo de 1000 mg/L.
- Ácido nítrico, HNO_3 , concentrado ultrapuro, con contenido de 0.001 ug/L de plomo para la preparación de estándares.
- Ácido nítrico, HNO_3 , concentrado para el análisis de trazas, con contenido de 0.01 ug/L de plomo para la digestión de las muestras.
- Diluyente, HNO_3 al 0.2%: Medir 2 mL de ácido nítrico concentrado ultrapuro y llevar a una fiola de un litro, enrasar a la marca con agua ultrapura.
- Ácido perclórico, HClO_4 , para análisis de trazas con contenido de 0.01 ug/L de plomo.

3.2).- MATERIALES

- Fiolas de 10, 50 y 100 mL, clase A.
- Pipetas de 1, 2, 3, 5, 10 y 20 mL, clase A.
- Probetas de 100 mL, clase A
- Vasos de precipitado 50,100 y 250 mL
- Lunas de reloj.
- Balón de Acetileno (Especial para A.A.S.).
- Balón de Argón, (UHP).
- Lámparas de Cátodo hueco de Pb.
- Lámpara de Deuterio.

- Matraces de 200 mL.

3.3).- PARTES DEL EQUIPO

Equipo de Absorción Atómica:

Marca : SHIMADZU

Modelo : AA-6800

Nº de serie : A10463780019

3.3.1).- Accesorios:

- Horno de Grafito marca Shimadzu, modelo GFA-EX7, N serie: A3050370039.
- Automuestreador marca Shimadzu, modelo ASC-6100, N serie: A30303700566.
- Regenerador de agua (Refrigerante) Marca EVELA. Modelo CA-110.
- Tubo de grafito de alta densidad, pirolítico.
- Compresor de aire, tipo silencioso.
- Regulador para gases (3) (C₂H₂, N₂O).
- Lámparas de cátodo hueco.
- Computadora estándar (CPU, monitor SVGA, teclado)
- Software WizAArd.

3.4).- PUESTA EN OPERACIÓN DEL EQUIPO

3.4.1).- Precauciones de Manejo

- Antes de encender el equipo, asegúrese de entender el procedimiento correctamente.
- No manipule la llave de los gases combustibles (Acetileno) u Oxidantes (Oxido Nitroso), sin tener conocimiento de ello.

- El espectrofotómetro de Absorción Atómica es un instrumento de precisión y alta sensibilidad. Evite los golpes al chasis del mismo y fuertes vibraciones sobre la mesa en la cual reposa el sistema.
- No obstruya la salida de los gases del cabezal.
- No utilice el cabezal del quemador para calentar o quemar material alguno. Las cenizas de ellos pueden depositarse sobre los lentes del sistema óptico y dispersar la luz.
- Evite los accidentes, no juegue ni manipule la flama del cabezal sin autorización o conocimiento.

3.4.2).- Encendido del Equipo

- Antes de encender el instrumento por favor verifique los siguientes puntos:
- La llave principal que permite el paso de gas acetileno se encuentre abierta y que el manómetro de salida marque 0.35 Mpa o su equiva lente en unidades de presión.
- La fuente de provisión de Aire se encuentre abierta (el compresor debe de estar encendido y con carga de aire).
- Si ha de trabajar con el generador de Hidruros o si ha de trabajar con el atomizador Horno de Grafito, verifique que el manómetro de Argón se encuentre abierto y a 0.35 Mpa de salida.
- Si ha de trabajar con Oxido Nitroso abra la llave principal del sistema.
- Verifique que la provisión del Agua del Reservorio (Tanque de Agua) del sistema tenga la suficiente cantidad para realizar el enjuague.
- Verifique que la trampa de agua contenga la cantidad suficiente y que el nivel sea el apropiado.

- Si va a trabajar con el equipo Atomizador Horno de Grafito, verifique que el sistema recirculador de agua cuente con 8 litros de agua ultrapura para realizar el trabajo de enfriamiento.
- Verifique que la torreta de lámparas no se encuentre obstruida por objeto alguno y que pueda girar libremente.

Después de revisar todos estos puntos, proceda a encender el sistema de la siguiente forma:

- Encienda el sistema Automuestrador ASC-6100 (si es que cuenta con él). Para ello, presione el botón que se encuentra al costado izquierdo del sistema.
- Encienda el espectrofotómetro AA-6800, presionando el switch de encendido que se encuentra al lado izquierdo del instrumento.
- Espere a que el espectrofotómetro envíe una señal audible (3 pitidos cortos). Este proceso no debe de demorar más de 10 minutos. Durante este tiempo de espera, el instrumento no puede conectarse a la PC ya que el espectrofotómetro estará realizando un chequeo interno.
- Luego de escuchar la señal audible, el usuario puede encender la PC y hacer doble click sobre el ícono del espectrofotómetro (Doble click en AA WizAArd).



FIG. N° 07
ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA. ⁽¹⁷⁾

4).- DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Para la determinación de plomo en primer lugar se hizo el tratamiento del material de referencia para determinar el análisis de **Varianza** de las respectivas mediciones, luego de igual forma se procedió con las muestras y por último la preparación de estándares para la determinación de la absorbancia y concentraciones respectivas mediante el espectrofotómetro de Absorción Atómica. Con estos datos obtenidos se evaluó la linealidad, precisión, veracidad y sensibilidad del **método sugerido**.

4.1).- PREPARACIÓN DEL MATERIAL VOLUMÉTRICO

Todo el material de vidrio debe ser previamente tratado, lavando con detergente neutro y enjuagando con una considerable cantidad de agua de grifo. Luego se sumerge dicho material de vidrio en una solución de HNO_3 al 5% (HNO_3 para análisis de trazas, 0.01 $\mu\text{g/L}$ de plomo) para remover los posibles aniones depositados en el instrumental, por 5 días como mínimo. Luego hacer el lavado con agua ultra pura para su posterior secado. ⁽¹⁴⁾

4.2).- PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR

Se procede a preparar los estándares a partir del estándar certificado de 1000 mg/L.

- Estándar patrón de plomo, 100 mg/L : Medir 10 mL del estándar certificado de 1000 mg/L y llevar a una fiola de 100 mL, enrasar con agua ultra pura. Tiene una duración de 6 meses.

- Estándar de plomo, 10 mg/L : Medir 10 mL del estándar patrón y llevar a una fiola de 100 mL, enrasar con diluyente. Tiene una duración de 3 meses.
- Estándar de plomo, 1 mg/L : Medir 10 mL del estándar de 10 mg/L y llevar a una fiola de 100 mL, enrasar con diluyente. Tiene una duración de 1 semana.
- Estándar de plomo, 30 ug/L : Medir 3 mL del estándar 1mg/L y llevar a una fiola de 100 mL, enrasar con diluyente. Preparar diariamente.
- Los estándares de calibración son de 2, 6, 12 y 18 ug/L. El equipo prepara automáticamente estos estándares a partir del estándar de 30 ug/L.
- Preparar un blanco de calibración. ⁽¹⁵⁾

4.3).- PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE REFERENCIA

Se pesó 0.1 g con aproximación a la cuarta cifra decimal en un vaso de precipitado (previamente tratado, # 1) de 100 mL de capacidad. Luego, se trasladó a un ambiente provisto de una campana extractora de gases para a continuación adicionar 5 mL de HNO₃ (especial para análisis de trazas, 0.01 ug/L de plomo) y se procedió a la digestión ácida con la ayuda de una plancha de calentamiento, colocándose en la parte superior una luna de reloj.

Se observó la pérdida de vapores nitrosos, luego se concentró hasta mínimo volumen y se retiraron los vasos para su enfriamiento. A continuación se adicionó 2 mL de HClO₄ (especial para análisis de trazas, 0.01 ug/L de plomo), calentando nuevamente hasta llevar a sequedad, obteniendo sales solubles en agua ultra pura.

Las sales obtenidas se solubilizaron con solución diluyente para su posterior enrase en fiolas de 10 mL de capacidad. El desarrollo de la preparación de dicho material estuvo a mi cargo y la de un analista bajo mi supervisión.

4.4).- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se procedió de igual forma que para el material de referencia, y estuvo a cargo de 2 analistas los que procedieron a realizar la experiencia.

4.5).- DETERMINACIÓN DE PLOMO MEDIANTE EL MÉTODO “OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC 999.11”

Para el conocimiento de dicha norma, se adjunta una copia en la sección anexos.

4.6).- PROCEDIMIENTO DE LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO

Las lecturas fueron realizadas inmediatamente después de finalizada la preparación tanto de las muestras como de los estándares. El desarrollo del análisis de dicho material estuvo a mi cargo y la de un analista bajo mi supervisión, identificados con los números 1 y 2. (Ver tabla N° 03, 04, 05).

A continuación se detalla la leyenda de la tabla de resultados:

- **ACCIÓN:** Procedimiento de lectura que realiza el equipo de absorción atómica.
 - STD:** Estándar.
 - STD-AV:** Promedio de estándar.
 - UNK:** Muestra.
 - UNK-AV:** Promedio de muestra.
- **MUESTRA ID:** Codificación que se le asigna a cada medición.
 - STD:** Estándar.
 - DIET F:** Muestra de referencia certificada.
- **VALOR VERDAD. (ppb):** Concentración obtenida de la dilución del estándar certificado de 1000 ppm de Plomo (Pb).
- **CONCENT. (ppb):** Concentración obtenida de la alícuota de la muestra.
- **ABSORBANCIA:** Intensidad de la señal de medición que produce el analito, sea de los estándares o de las muestras.
- **VOL. TOTAL (uL):** Volumen añadido por el capilar del equipo para la posterior medición.
- **CONC. ACTUAL (ppb):** Concentración obtenida del cálculo de:

$$Act.conc. = \frac{Conc. * Fact.Vol. * Fact.Dil. * Fact.Corr.}{Fact.Peso}$$

Donde:

Act.conc.: Concentración total de plomo en la muestra expresada en ppb.

Conc.: Concentración de plomo de la alícuota de la muestra expresada en ppb.

Fact.Vol.: Volumen final de la preparación de la muestra expresada en mililitros.

Fact.Dil.: Dilución efectuada por el automuestreador del equipo a la solución de la muestra.

Fact.Corr.: Cifra numérica que modifica el resultado final en función al valor requerido.

Fact.Peso: Peso de muestra expresada en gramos.

TABLA N° 03 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DE LOS STANDARES

ACCIÓN	MUESTRA ID	VALOR VERD. (ppb)	ABSORBANCIA	VOL. TOTAL (uL)
STD	STD 1	0.0000	0.0043	25
STD	STD 1	0.0000	0.0009	25
STD-AV	STD 1	0.0000	0.0013	25
STD	STD 2	2.0000	0.0505	25
STD	STD 2	2.0000	0.0403	25
STD-AV	STD 2	2.0000	0.0509	25
STD	STD 3	6.0000	0.1596	25
STD	STD 3	6.0000	0.1501	25
STD-AV	STD 3	6.0000	0.1574	25

TABLA N° 03 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DE LOS STANDARES

ACCIÓN	MUESTRA ID	VALOR VERD. (ppb)	ABSORBANCIA	VOL. TOTAL (uL)
STD	STD 4	12.0000	0.3074	25
STD	STD 4	12.0000	0.2964	25
STD	STD 4	12.0000	0.3059	25
STD	STD 5	18.0000	0.4798	25
STD	STD 5	18.0000	0.4689	25
STD	STD 5	18.0000	0.4817	25

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 1)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 1	4.1454	0.1062	25	437.5142
UNK	DIET F 1	4.3564	0.1117	25	420.5888
UNK-AV	DIET F 1	4.2519	0.1090	25	429.0515
UNK	DIET F 2	4.4763	0.1149	25	422.5841
UNK	DIET F 2	4.6323	0.1190	25	440.3325
UNK-AV	DIET F 2	4.5562	0.1170	25	431.4583
UNK	DIET F 3	4.9252	0.1267	25	432.7484
UNK	DIET F 3	4.2100	0.1080	25	429.8768
UNK-AV	DIET F 3	4.5676	0.1173	25	431.3126

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 1)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 4	4.6741	0.1201	25	412.6989
UNK	DIET F 4	4.6817	0.1203	25	446.4195
UNK-AV	DIET F 4	4.6779	0.1202	25	429.5592
UNK	DIET F 5	4.1340	0.1059	25	429.1656
UNK	DIET F 5	4.1872	0.1073	25	431.3514
UNK-AV	DIET F 5	4.1606	0.1066	25	430.2585
UNK	DIET F 6	4.8947	0.1259	25	431.2584
UNK	DIET F 6	4.8415	0.1245	25	434.1816
UNK-AV	DIET F 6	4.8681	0.1252	25	432.7200

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 1)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 7	4.4611	0.1145	25	448.2657
UNK	DIET F 7	4.7578	0.1223	25	416.5373
UNK-AV	DIET F 7	4.6094	0.1184	25	432.4015
UNK	DIET F 8	4.7996	0.1234	25	422.5825
UNK	DIET F 8	4.6627	0.1198	25	441.5637
UNK-AV	DIET F 8	4.7312	0.1216	25	432.0731
UNK	DIET F 9	4.5562	0.1170	25	436.9587
UNK	DIET F 9	4.5942	0.1180	25	425.4731
UNK-AV	DIET F 9	4.5752	0.1175	25	431.2159

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 2)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 1	4.1454	0.1062	25	445.2656
UNK	DIET F 1	4.3564	0.1117	25	417.2376
UNK-AV	DIET F 1	4.2519	0.1090	25	431.2516
UNK	DIET F 2	4.4763	0.1149	25	435.2668
UNK	DIET F 2	4.6323	0.1190	25	428.9760
UNK-AV	DIET F 2	4.5562	0.1170	25	432.1214
UNK	DIET F 3	4.9252	0.1267	25	438.2654
UNK	DIET F 3	4.2100	0.1080	25	419.9842
UNK-AV	DIET F 3	4.5676	0.1173	25	429.1248

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 2)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 4	4.6741	0.1201	25	412.5898
UNK	DIET F 4	4.6817	0.1203	25	442.4420
UNK-AV	DIET F 4	4.6779	0.1202	25	428.5159
UNK	DIET F 5	4.1340	0.1059	25	446.2518
UNK	DIET F 5	4.1872	0.1073	25	418.8796
UNK-AV	DIET F 5	4.1606	0.1066	25	432.5657
UNK	DIET F 6	4.8947	0.1259	25	439.5457
UNK	DIET F 6	4.8415	0.1245	25	427.4857
UNK-AV	DIET F 6	4.8681	0.1252	25	433.5157

**TABLA N° 04 LECTURAS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL
MATERIAL DE REFERENCIA
(MÉTODO SUGERIDO ANALISTA 2)**

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	CONC. ACTUAL (ppb)
UNK	DIET F 7	4.4611	0.1145	25	441.2127
UNK	DIET F 7	4.7578	0.1223	25	423.2901
UNK-AV	DIET F 7	4.6094	0.1184	25	432.2514
UNK	DIET F 8	4.7996	0.1234	25	417.2659
UNK	DIET F 8	4.6627	0.1198	25	448.7031
UNK-AV	DIET F 8	4.7312	0.1216	25	432.9845
UNK	DIET F 9	4.5562	0.1170	25	432.5859
UNK	DIET F 9	4.5942	0.1180	25	434.5857
UNK-AV	DIET F 9	4.5752	0.1175	25	433.5858

A continuación se detalla los parámetros instrumentales para la posterior lectura:

- Longitud de onda: **283.3 nm**
- Slit: **0.5 nm**
- Modo de Lámpara: **BGC-D2 (lámpara de cátodo hueco con corrección de fondo con lámpara de deuterio).**
- Corriente de lámpara: **10 mA**
- Rampa de temperatura del horno de grafito: **(ver tabla N° 06)**
- Uso de automuestreador.

TABLA N° 06
RAMPA DE TEMPERATURA DEL HORNO DE GRAFITO

ACCIÓN	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (s)
Desolvatación	120	20
	250	10
Calcinación	800	10
	800	10
	800	3
Atomización	2400	2
Limpieza	2500	2

5).- EVALUACIÓN DE RESULTADOS.

Una vez obtenido los resultados de las mediciones se evaluó el método analítico propuesto; de acuerdo con los requerimientos normativos (ISO 17025, ISO 5725-2) se consideraron la **exactitud**, la **precisión** y el **límite de detección**, por ser estos parámetros primarios de la calidad de una metodología. Cabe resaltar que la evaluación enfoca parte de los parámetros requeridos de una **validación interna**, siendo estos a su vez, fundamentales para la culminación de dicha práctica.

5.1).- EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DEL COMPORTAMIENTO DE LOS DATOS DE UN MÉTODO ANALÍTICO.

5.1.1).- OBJETIVO.-

Determinar el comportamiento de los datos obtenidos por dos analistas del material de referencia para determinar plomo en alimentos liofilizados mediante la técnica de Absorción Atómica vía horno de grafito.

5.1.2).- METODOLOGÍA.-

Con el uso del programa estadístico MINITAB se analizó los datos de las tablas para la determinación de plomo teniendo en cuenta un nivel de confianza del 95%.

Hallar:

5.1.2.1).- Si el comportamiento de los residuales obedece a una distribución normal.

5.1.2.2).- Si existe variabilidad entre analistas.

5.1.2.3).- El porcentaje de recuperación (exactitud).

Los datos para la evaluación se presentan en la tabla N° 07

TABLA N° 07
DATOS DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO DEL MATERIAL DE REFERENCIA
OBTENIDOS POR DOS ANALISTAS

Medición	<i>Analista 1</i> <i>Concentración final de plomo</i> <i>(ug/Kg)</i>	<i>Analista 2</i> <i>Concentración final de plomo</i> <i>(ug/Kg)</i>
1	429.0515	431.2516
2	431.4583	432.1214
3	431.3126	429.1248
4	429.5592	428.5159
5	430.2585	432.5657
6	432.7200	433.5157
7	432.4015	432.2514
8	432.0731	432.9845
9	431.2159	433.5858
10	430.7304	433.2658
Promedio	431.0781	431.9183
Desv. Stand	1.20	1.79

5.1.2.1).- Verificación de la normalidad de residuales:

Se evalúa mediante el Test de Anderson.

Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

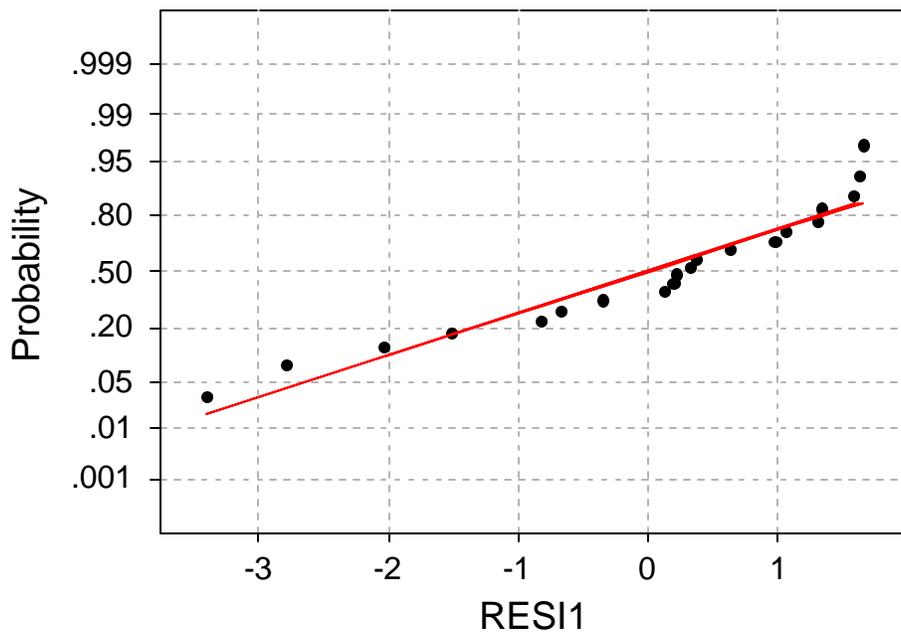
Resultado: $P_{value} : 0.077$

$0.077 > 0.05$

Por lo tanto se verifica la normalidad de residuales. Ver gráfico N° 01

GRÁFICO N° 01
NORMALIDAD DE RESIDUALES DE LAS MEDICIONES DEL MATERIAL DE REFERENCIA

Normal Probability Plot



Average: -0.0000000
StDev: 1.47868
N: 20

Anderson-Darling Normality Test
A-Squared: 0.648
P-Value: 0.077

5.1.2.2).- Variabilidad entre analistas:

Se evalúa el estadístico de Fisher.

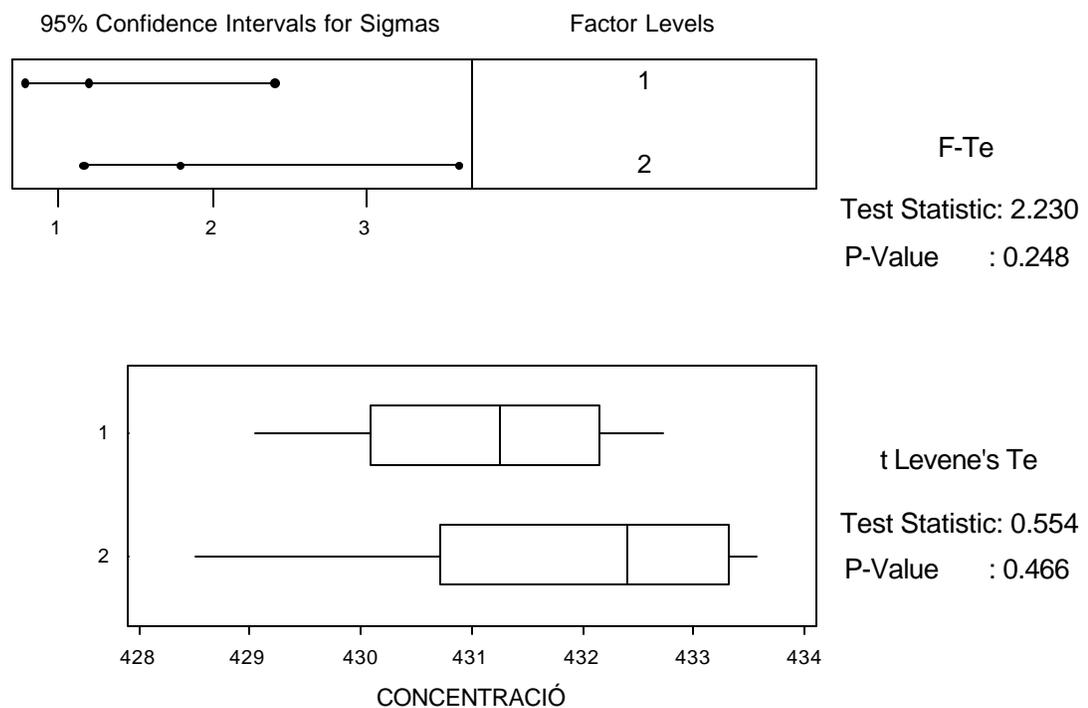
Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

Resultado: $P_{value} : 0.248$

0.248 > 0.05

Por lo tanto se verifica que la variabilidad no es significativa. Ver gráfico N° 02

GRÁFICO N° 02 HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LAS MEDICIONES DEL MATERIAL DE REFERENCIA Homogeneity of Variance Test for CONCENTRACIÓ



5.1.2.3).- Porcentaje de recuperación:

$$\% \text{ RECUPERACIÓN} = \frac{\text{CONCENTRACIÓN}_{\text{CALCULADA}}}{\text{CONCENTRACIÓN}_{\text{TEÓRICA}}} * 100$$

De los datos de la tabla N° 07 se tiene:

Promedio de mediciones de concentración de plomo: **432 ug/Kg**

Concentración de plomo del material de referencia certificado: **439 ug/Kg**

Por lo tanto el resultado es: **98.2 %**.

5.2).- EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD.

5.2.1).- OBJETIVO.-

Evaluar la linealidad del sistema para el método de análisis para cuantificar plomo en alimentos liofilizados vía Absorción Atómica.

5.2.2).- METODOLOGÍA.-

Después de la caracterización del método para determinar plomo, se obtuvo la siguiente data:

Diseño de linealidad: Ver tabla N° 08

Tabla de resultados (concentración vs respuesta: área). Ver tabla N° 09

Hallar:

5.2.2.1).- Analizar la regresión hallando el coeficiente de correlación.

5.2.2.2).- Evaluar la distribución normal de los residuales.

5.2.2.3).- Evaluar la homogeneidad de varianzas.

5.2.2.4).- Aplicar el estadístico t de student.

TABLA N° 08
DISEÑO DE LINEALIDAD

Conc. de plomo (ug/Kg)	Repeticiones
0.0000	n = 3
2.0000	n = 3
6.0000	n = 3
12.0000	n = 3
18.0000	n = 3

TABLA N° 09
RESULTADOS, ABSORBANCIA vs. CONCENTRACIÓN

Conc. (ug/Kg)	0.0000	2.0000	6.0000	12.0000	18.0000
Absorbancia 1	0.0043	0.0505	0.1596	0.3074	0.4798
Absorbancia 2	0.0009	0.0403	0.1501	0.2964	0.4689
Absorbancia 3	0.0013	0.0509	0.1574	0.3059	0.4817

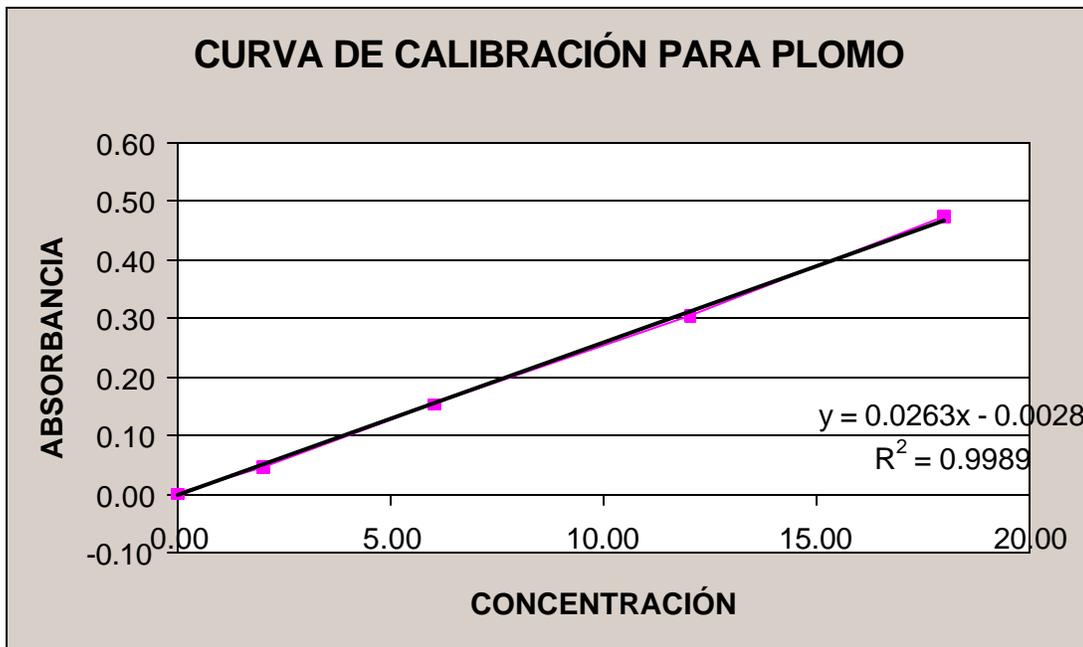
Resultados:**5.2.2.1).- Análisis de la regresión, determinación del coeficiente de correlación:**

r = coeficiente de correlación

r: 0.9994

Ver gráfico N° 03

GRÁFICO N° 03
CURVA DE CALIBRACIÓN, DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE
CORRELACIÓN



5.2.2.2).- Verificación de la normalidad de residuales:

Se evalúa mediante el Test de Anderson.

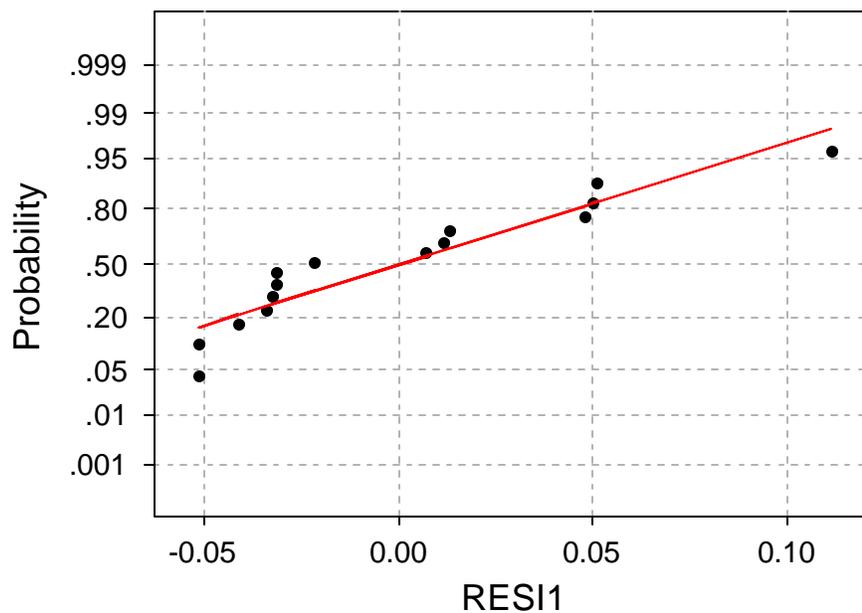
Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

Resultado: $P_{value} : 0.056$

$0.056 > 0.05$

Por lo tanto se verifica la normalidad de residuales. Ver gráfico N° 04

GRÁFICO N° 04
NORMALIDAD DE RESIDUALES DE LAS MEDICIONES DE ESTÁNDARES
(LINEALIDAD)

Normal Probability Plot

Average: 0.0000000
StDev: 0.0476238
N: 15

Anderson-Darling Normality Test
A-Squared: 0.692
P-Value: 0.056

5.2.2.3).- Variabilidad entre analistas: (homogeneidad de varianzas)

Se evalúa el Test de Bartlett's.

Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

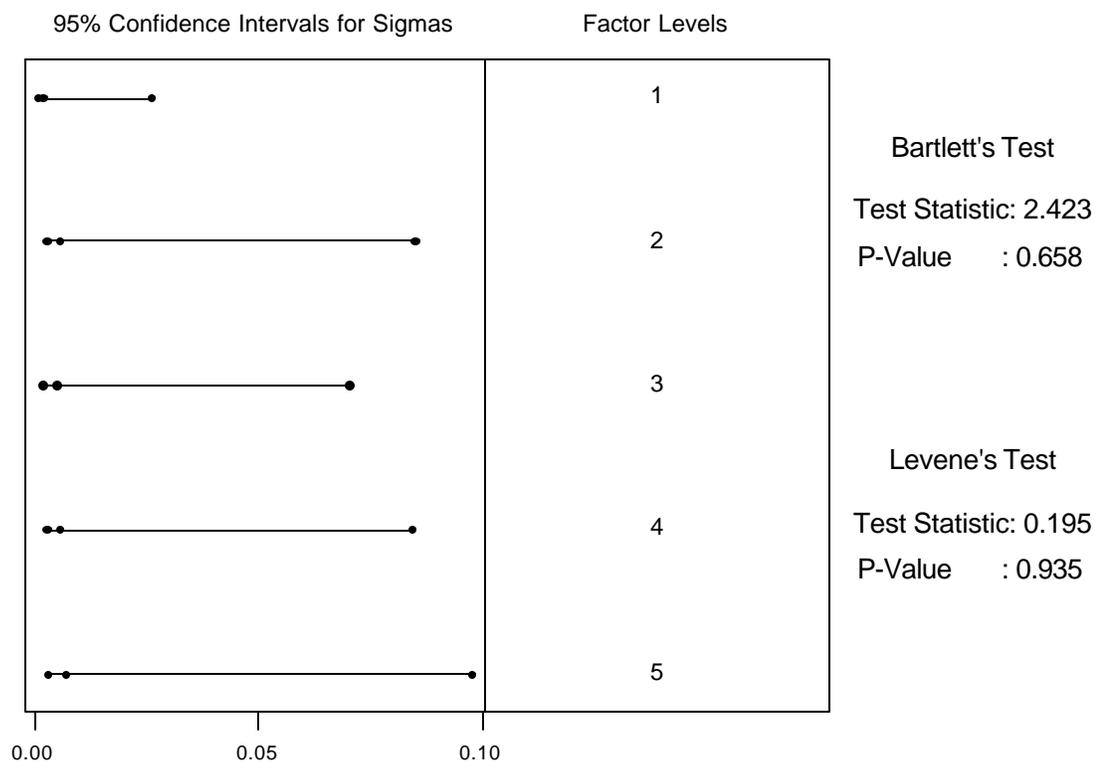
Resultado: $P_{value} : 0.658$

$0.658 > 0.05$

Por lo tanto se verifica que la variabilidad no es significativa. Ver gráfico N° 05

GRÁFICO N° 05
HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LAS MEDICIONES DE ESTÁNDARES
(LINEALIDAD)

Homogeneity of Variance Test for ABSORBANCIA



5.2.2.4).- Aplicación del t de student.

Se plantea las hipótesis:

H_0 : no existe correlación entre X-Y

H_1 : existe correlación entre X-Y

La ecuación: $Y = aX + b$ donde;

a: 0.0263

b: 0.0028

r: 0.9994

Cálculo con método t de student:

n: 15, grados de libertad: 14, t_{tabla} : 2.145 r: 0.9994

$$t_r = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

t_r : 108.65

Por lo tanto $t_r > t_{\text{tabla}}$ entonces se rechaza H_0 , existe correlación lineal.

5.3).- PRECISIÓN DEL MÉTODO.

5.3.1).- OBJETIVO.-

Determinar el coeficiente de variación del método (repetibilidad y reproducibilidad). Dominio del programa estadístico para calcular precisión en base a la norma ISO 5725-2.

5.3.2).- METODOLOGÍA.-

El diseño para determinar la precisión fue el siguiente:

Ver tabla N° 10, N° 11

5.3.2.1).- Con el uso de la ISO 5725-2 evaluar la consistencia de los datos.

5.3.2.2).- Evaluar la distribución normal de los residuales.

5.3.2.3).- Homogeneidad de varianzas (igualdad de analistas).

5.3.2.4).- El coeficiente de variación.

TABLA N° 10, N° 11
DISEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRECISIÓN

ANALISTA	A1	A2
REPETICIONES	n = 10	n = 10

Medición	<i>Analista 1</i> Concentración final de plomo (ug/Kg)	<i>Analista 2</i> Concentración final de plomo (ug/Kg)
1	429.0515	431.2516
2	431.4583	432.1214
3	431.3126	429.1248
4	429.5592	428.5159
5	430.2585	432.5657
6	432.7200	433.5157
7	432.4015	432.2514
8	432.0731	432.9845
9	431.2159	433.5858
10	430.7304	433.2658

Resultados:**5.3.2.1).- Evaluación de la consistencia de datos:**

Media general: **431.50 ug/Kg**

Promedio general de desviación estándar: **0.59 ug/Kg**

Desviación estándar general: **1.49 ug/Kg**

Suma de cuadrados de las desviaciones: **4.62 ug/Kg**

Desviación estándar máxima: **1.79 ug/Kg**

Cálculo de la estadística de la consistencia entre analistas y de cada analista h_j y k_{ij} dentro del laboratorio (ISO 5725-2/7.3.1.1) (cálculo de la estadística de Mandell).

5.3.2.1.1).- Variabilidad entre analistas:

$$h_{11} = -0.71$$

$$h_{12} = 0.71$$

Datos teóricos:

$$h_{ij} (1\%) = \pm 1.15$$

$$h_{ij} (5\%) = \pm 1.15$$

Se concluye que la variabilidad entre analistas no es significativa.

5.3.2.1.2).- Variabilidad de cada analista:

$$k_{11} = 0.82$$

$$k_{12} = 1.22$$

Datos teóricos:

$$k_{ij} (1\%) = \pm 1.39$$

$$k_{ij} (5\%) = \pm 1.29$$

Se concluye que la variabilidad de cada analista no es significativa, estos valores se consideran sospechosos.

5.3.2.1.3).- Prueba de Cochran (ISO 5725-2/7.3.3.2)**C: 0.41**

Datos teóricos:

1% = 0.67**5% = 0.59****5.3.2.1.4).- Prueba de Grubbs (ISO 5725-2/7.3.4.1)** **$G_p = 0.72$** **$G_1 = 1.14$**

Datos teóricos:

 $G_p = 1.15$ **$G_1 = 1.15$**

El resultado de la prueba de Cochran y Grubbs demuestran que no hay variabilidad entre el conjunto de desviaciones estándar y promedios de la data generada del análisis, ya que no sobrepasan los valores críticos, por lo tanto, los valores sospechosos quedan dentro del grupo para el análisis de precisión.

5.3.2.2).- Evaluación de la distribución normal de los residuales:

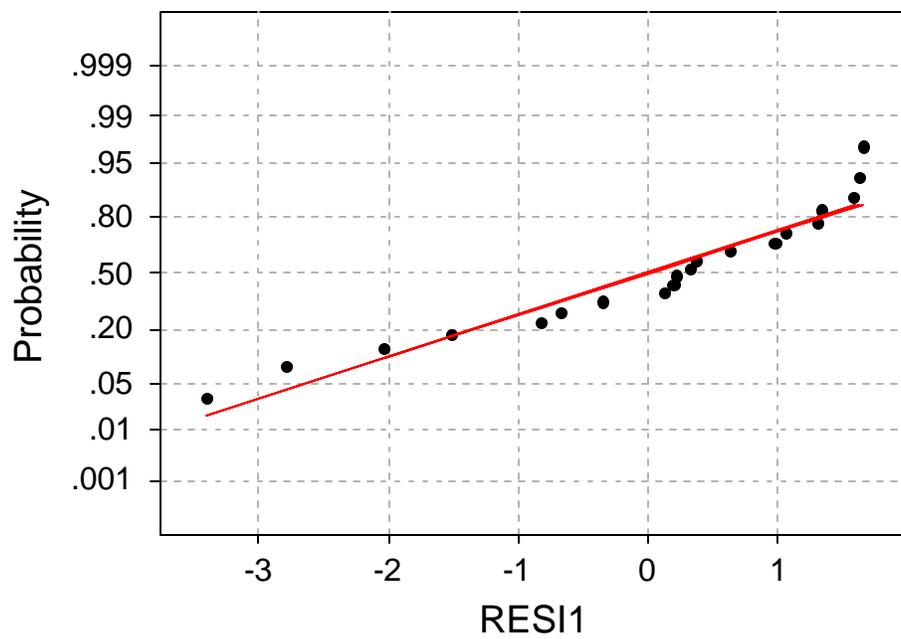
Se evalúa mediante el Test de Anderson.

Criterio: **$P_{value} > 0.05$** (nivel de confianza del 95%)Resultado: **$P_{value} : 0.077$** **$0.077 > 0.05$**

Por lo tanto se verifica la normalidad de residuales. Ver gráfico N° 06

GRÁFICO N° 06
NORMALIDAD DE RESIDUALES DE LAS MEDICIONES DE LAS MUESTRAS
(PRECISIÓN)

Normal Probability Plot



Average: -0.0000000
StDev: 1.47868
N: 20

Anderson-Darling Normality Test
A-Squared: 0.648
P-Value: 0.077

5.3.2.3).- Evaluación de la homogeneidad de varianzas:

Se evalúa el Test de Bartlett's.

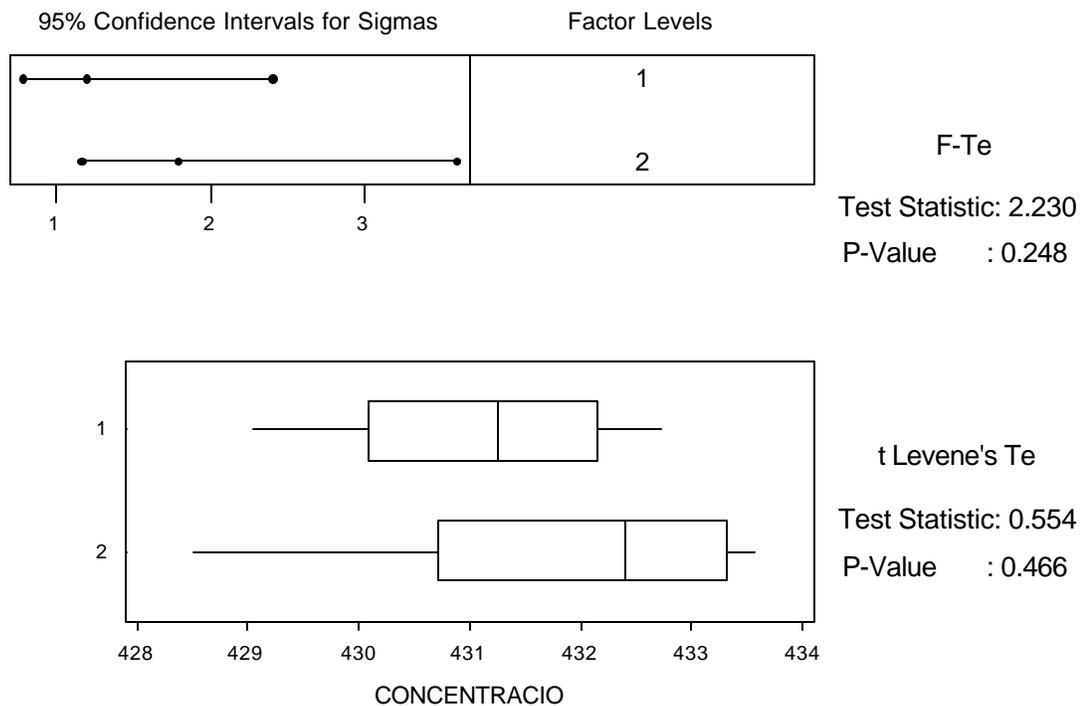
Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

Resultado: $P_{value} : 0.248$

0.248 > 0.05

Por lo tanto se verifica que la variabilidad no es significativa. Ver gráfico N° 07

GRÁFICO N° 07 HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LAS MEDICIONES DE LAS MUESTRAS (PRECISIÓN) Homogeneity of Variance Test for CONCENTRACIO



5.3.2.4).- Coeficiente de variación:

Se calcula:

$$\text{RSD} = \frac{s * 100}{\bar{x}}$$

Donde:

RSD: Coeficiente de variación.

s: Desviación estándar.

\bar{x} : Media.

El resultado del coeficiente de variación es 0.10%.

El coeficiente de variación máximo permitido para metodologías AOAC en función a concentraciones por debajo del valor de 1.0 mg/Kg es de 11.00% (Dato obtenido de AOAC Peer Verified method Program, Manual on Polices and Procedures, Arglington, Virginia, USA, Nov, 1993), por lo tanto cumple el criterio de aceptación. Ver tabla N° 12

TABLA N° 12
ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Grupos						
Columna 1	10	3590.8158	359.08158	52.4075926		
Columna 2	10	3647.9055	364.79055	34.3078924		
Columna 3	10	3638.7837	363.87837	39.9987127		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	188.1120171	2	94.05600853	2.22680671	0.127308811	3.354131195
Dentro de los grupos	1140.42778	27	42.23806591			
Total	1328.539797	29				

5.4).- DETERMINACIÓN DE LA VERACIDAD DEL MÉTODO.

5.4.1).- OBJETIVO.-

Determinar el porcentaje de recuperación del método para la cuantificación.

5.4.2).-METODOLOGÍA.-

Se midieron 3 niveles de concentración (estándares), y se obtuvieron los siguientes resultados.

Ver tabla N° 13

5.4.2.1).- Evaluar la distribución normal de los residuales.

5.4.2.2).- Homogeneidad de varianzas (igualdad de analistas).

5.4.2.3).- Calcular el porcentaje de recuperación en cada nivel.

5.4.2.4).- Evaluar la veracidad con el estadístico t de student.

TABLA N° 13
MEDIDAS DE CONCENTRACIÓN DE ESTÁNDARES EN 3 NIVELES

Concentración	Repetición	Plomo (concentración)
10 ppb	1	9.35
	2	9.12
	3	10.85
	4	9.34
	5	9.78
	6	8.23
Promedio		9.45
s		0.86
RSD		9.09
20 ppb	1	21.03
	2	19.33
	3	19.74
	4	20.13
	5	19.64
	6	18.26
Promedio		19.69
s		0.91
RSD		4.64
30 ppb	1	29.13
	2	31.50
	3	29.27
	4	29.65
	5	29.47
	6	29.11
Promedio		29.69
s		0.91
RSD		3.07

Resultados.**5.4.2.1).- Evaluación de la distribución normal de los residuales:**

Se evalúa mediante el Test de Anderson.

Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

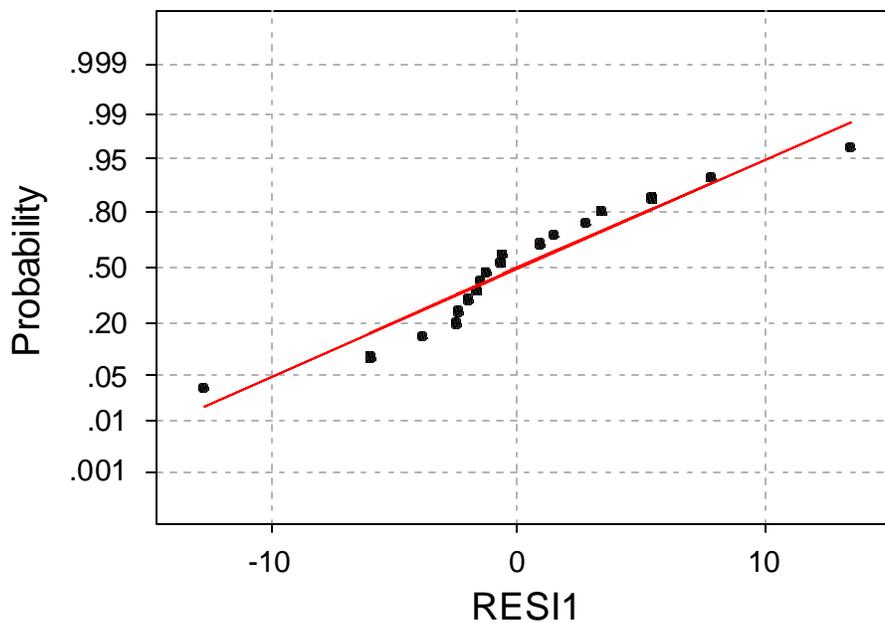
Resultado: $P_{value} : 0.125$

$0.125 > 0.05$

Por lo tanto se verifica la normalidad de residuales. Ver gráfico N° 08

GRÁFICO N° 08
NORMALIDAD DE RESIDUALES DE LAS CONCENTRACIONES
(VERACIDAD)

Normal Probability Plot



Average: -0.0000000
StDev: 5.59014
N: 18

Anderson-Darling Normality Test
A-Squared: 0.562
P-Value: 0.125

5.4.2.2).- Evaluación de la homogeneidad de varianzas:

Se evalúa el Test de Bartlett's.

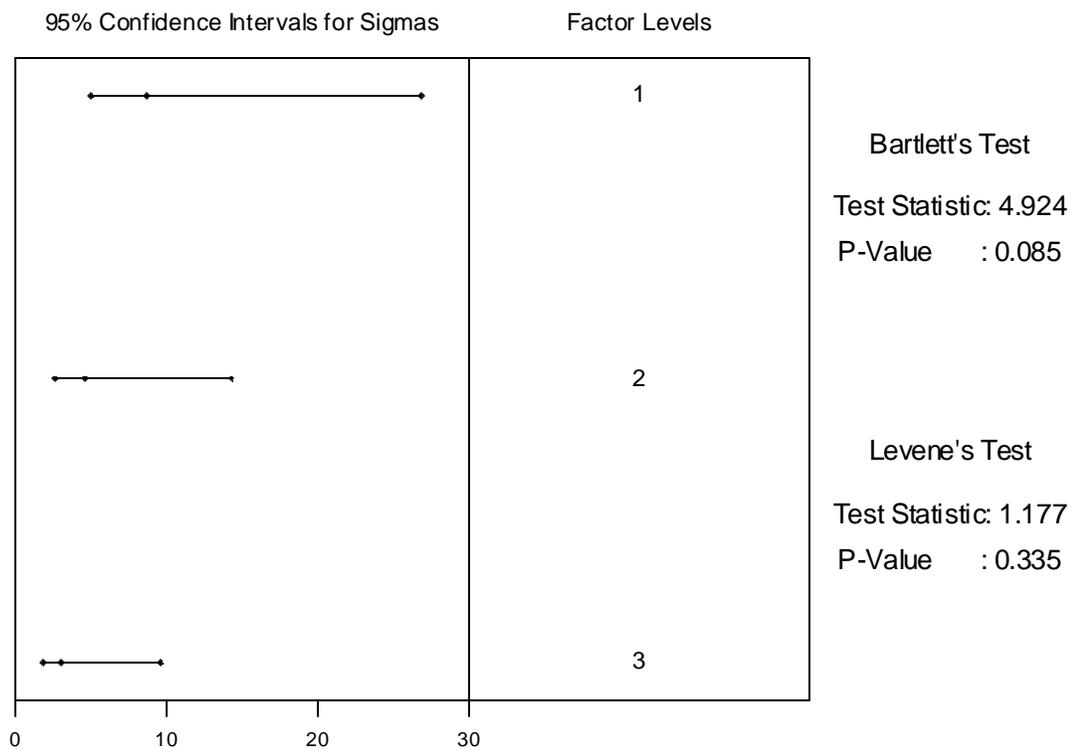
Criterio: $P_{value} > 0.05$ (nivel de confianza del 95%)

Resultado: $P_{value} : 0.085$

0.085 > 0.05

Por lo tanto se verifica que la variabilidad no es significativa. Ver gráfico N° 09

GRÁFICO N° 09 HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LAS CONCENTRACIONES (VERACIDAD) Homogeneity of Variance Test for %RECUPERACIO



5.4.2.3).- Porcentaje de recuperación en cada nivel:

TABLA N° 14
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE ESTÁNDARES EN 3 NIVELES

Concentración	Repetición	Plomo (% recuperado)
10 ppb	1	93.50
	2	91.20
	3	108.50
	4	93.40
	5	97.80
	6	82.30
Promedio S RSD		94.45
		8.59
20 ppb		9.09
	1	105.15
	2	96.65
	3	98.70
	4	100.65
	5	98.20
	6	91.30
Promedio S RSD		98.44
		4.57
30 ppb		4.64
	1	97.10
	2	105.00
	3	97.57
	4	98.83
	5	98.23
	6	97.03
Promedio S RSD		98.96
		3.04
		3.07

5.4.2.4).- Veracidad con el estadístico t de student:

Datos:

n: 18

R: 97.28 %

s: 5.40

RSD: 5.60

Se calcula:

$$t_{ob} = \frac{|100 - R|\sqrt{n}}{RSD}$$

Donde:

t_{ob} = t de student obtenida experimentalmente.

R = recuperación porcentual.

n = número de medidas.

RSD = coeficiente de variación.

Correspondiendo a:

t: 2.06

De tablas:

t: 2.11

Se concluye que $t_{ob} < t_{tablas}$, por lo tanto no existe diferencia significativa con el 100% de recuperación y la veracidad es apropiada.

5.5).- DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DEL MÉTODO.

5.5.1).- OBJETIVO.-

Determinar la sensibilidad del método de análisis, en base al límite de detección y límite de cuantificación, con el método propuesto por la IUPAC para la determinación de plomo.

5.5.2).- METODOLOGÍA.-

Proceder a realizar la comparación del blanco con soluciones patrón a diferentes niveles de concentración.

Resultados:

Las mediciones del blanco utilizado se presentan en tablas. Ver tabla N° 15

Se calcula:

$$C_{ld} = \frac{K * s}{m}$$

Donde:

C_{ld} = Concentración más baja detectable confiablemente que un instrumento analítico puede determinar a un nivel de confianza dado.

$K = 3$, para el límite de detección a nivel de confianza del 99.86 %.

$K = 10$, para el límite de cuantificación a nivel de confianza del 99.99 %

s = Desviación estándar de las lecturas del blanco de reactivos.

m = Pendiente calculada con el rango de la regresión lineal del método.

Teniendo que:

$$s = 0.0013$$

$$m = 0.0263$$

Tenemos que para el método propuesto el **límite de detección es 0.1437 ug/Kg**, y el **límite de cuantificación es 0.4791 ug/Kg**

TABLA N° 15
MEDICIONES DEL BLANCO DEL MÉTODO SUGERIDO (SENSIBILIDAD)

ACCIÓN	MUESTRA ID	CONCENT. (ppb)	ABSORB.	VOL. TOTAL (uL)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
UNK 1	BLANK	0.6801	0.0151	25	
UNK 2	BLANK	0.6192	0.0135	25	
UNK 3	BLANK	0.5013	0.0104	25	
UNK 4	BLANK	0.5622	0.0120	25	
UNK 5	BLANK	0.5850	0.0126	25	
UNK 6	BLANK	0.6269	0.0137	25	
UNK 7	BLANK	0.5964	0.0129	25	
UNK 8	BLANK	0.6230	0.0136	25	
UNK 9	BLANK	0.5736	0.0123	25	
UNK 10	BLANK	0.5698	0.0122	25	
UNK-AV		0.5926	0.0128	25	0.0013

6).-DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Para el análisis del elemento plomo, se procedió a evaluar en forma repetida el procesamiento de la matriz, con la metodología propuesta. Se observó que la matriz fue sencilla de tratar con una digestión ácida directa; de esta forma se pudo obviar el paso de calcinación que se menciona en el método de referencia. Después de la digestión, se llevó a sequedad, obteniendo sales solubles que luego fueron debidamente aforadas en fioles para que a continuación sean sometidas a lectura en el equipo de absorción atómica.

Para que la metodología verifique los principales parámetros de validación, los datos se sometieron a un análisis estadístico de acuerdo a los requerimientos normativos ISO 17025, ISO 5725-2.

- ✓ Un primer nivel de evaluación, estuvo dirigido a los datos obtenidos de concentración de plomo por dos analistas, en donde se determinó y verificó que el comportamiento de los residuales de las mediciones, obedece a una distribución normal, es decir cumple un comportamiento Gaussiano. También se verificó, que no existe variabilidad significativa en las mediciones de los analistas. Todo esto, se evaluó con el programa estadístico MINITAB; finalmente se obtuvo el porcentaje de recuperación para el material de referencia que fue de **98.2%**, siendo este un resultado óptimo, puesto que dentro de los criterios de aceptación, según normas ISO 17025, debe estar entre 80 y 100%.
- ✓ En un segundo nivel, se evaluó la linealidad, con resultados óptimos en el desarrollo del programa estadístico MINITAB, para los datos obtenidos de la medición de los estándares para confeccionar la curva de calibración. El análisis hecho a la curva de calibración, por regresión, originó como resultados una

pendiente **a** : **0.0263**, un intercepto **b** : **0.0028**, y un coeficiente de correlación **r** : **0.9994**. Se aplicó el estadístico **t de student** para la evaluación de la correlación lineal, obteniendo como resultado **108.65**; siendo esta cantidad mayor al valor de las tablas para este concepto, verificando así la correlación lineal existente.

- ✓ En un tercer nivel, se evaluó la precisión del método en donde se verificó la repetibilidad y reproducibilidad del método con los datos obtenidos al medir la cantidad de plomo contenido en el material de referencia. Los resultados son: media general: **431.5 ug/Kg**, desviación estándar general: **1.49 ug/Kg**. Se realizó el cálculo de la estadística de Mandell, y se comprobó que la variabilidad entre analistas no es significativo, resultando valores de **-0.71** y **0.71**, siendo los valores de tablas **-1.15** y **1.15**. De esta forma los valores obtenidos se encuentran dentro del rango, y por lo tanto verifica que la variabilidad no es significativa. Del mismo modo se compararon los valores para verificar la variabilidad de cada analista, dando como resultado la no existencia de una variabilidad significativa. La prueba de Cochran y Grubbs, dieron como resultado: **C : 0.41**, **G_p : 0.72**, **G : 1.14** (**G_p** : valor mínimo, **G_i** : valor máximo); siendo valores menores a los obtenidos de las tablas correspondientes; así, se demuestra la no variabilidad significativa entre **las desviaciones estándar y promedios de la data generada**. El coeficiente de variación, se obtuvo en base a la desviación estándar de los datos generados, siendo este: **0.10%**. Por haber utilizado como referencia un método normado AOAC, se comparó el cual asigna como valor máximo un coeficiente de variación de **11.00%**.
- ✓ En un cuarto nivel, se evaluó la veracidad del método. Se determinó el porcentaje de recuperación siendo este de **97.28%** (Porcentaje de recuperación según normas ISO 17025: **80-100%**); luego, sometiendo estos resultados al estadístico **t de student**, se obtuvo: **2.06** como resultado, siendo menor al obtenido en tablas (**2.11**),

verificándose así que la veracidad y el porcentaje de recuperación es el apropiado. La evaluación de la normalidad de residuales resultó **0.125**, y la homogeneidad de varianzas fue **0.085**; ambos resultados mayores que **0.05**, verificando de esta manera que los resultados son aceptables para una confianza del **95%**.

- ✓ En un quinto nivel, se obtuvo la sensibilidad del método, siendo estas el límite de detección: **0.1437 ug/Kg**, y el límite de cuantificación: **0.4791 ug/Kg**.

7).- CONCLUSIONES.

1. Los valores de concentración de plomo establecidos en el certificado de la muestra referencial son de **0.439 ± 0.026 mg/Kg** y los valores establecidos en la práctica son de **0.432 ± 0.001 mg/Kg** teniendo como porcentaje de error **1.8 %**, a la vez, el valor obtenido en la práctica se encuentra dentro del rango de incertidumbre de la muestra de referencia, y la incertidumbre propiamente dicha es más pequeña que la de la referencia debido a que se utilizó un equipo espectrofotométrico de absorción atómica de mayor sensibilidad en comparación al referido en el método AOAC 999.11.
2. El método sugerido, cumple en sus diferentes niveles de estudio, con las pruebas de normalidad de residuales y la verificación de la diferencia no significativa de sus varianzas, los cuales fueron evaluados con el programa estadístico MINITAB, confirmando así, su factibilidad para una posterior validación interna, meta que correspondería al laboratorio involucrado.
3. La evaluación de datos resultó satisfactoria, es consecuencia de que el método sugerido es apropiado para la evaluación y/o determinación de plomo en verduras liofilizadas.
4. El estudio realizado, puede ser extensivo a otros elementos metálicos como Cadmio y Cobre, en verduras liofilizadas y otros alimentos; tan solo bastaría seguir la metódica expuesta, y la posterior evaluación de datos resultantes.

8).-RECOMENDACIONES.

- Manipular y lavar cuidadosamente el material de vidrio a utilizar; los parámetros de preparación de dicho material, están especificados en la sección N° 4.
- Verificar las especificaciones técnicas de los reactivos involucrados en el desarrollo de la metodología propuesta, ya que influirá en los resultados a obtener. Las debidas especificaciones técnicas se encuentran en la sección N° 3.
- Tener la precaución debida en la preparación de los estándares; verificar fecha de caducidad y medio ácido involucrado.
- La digestión de las muestras deben ser con calentamiento suave (baja temperatura), para así, evitar la proyección y quema de la muestra, cuando esté involucrado el ácido nítrico.
- La digestión con ácido perclórico, requiere de un calentamiento ligeramente rápido (temperatura media).
- Proceder a la correcta manipulación del espectrofotómetro de Absorción Atómica.
- Verificar la correcta salida de presión del gas Argón.
- Estabilizar la lámpara de cátodo hueco después de su encendido, así como la lámpara de deuterio.
- Verificar los parámetros ópticos y físicos, como: longitud de onda, tamaño de Slit, rampa de temperatura de atomización, volumen de inyección de muestra, tipo de tubo de grafito.
- Verificar el correcto funcionamiento del sistema de refrigeración del equipo.

9).- BIBLIOGRAFÍA.

- (01) Ramón Compañó, Ángel Ríos;
GARANTÍA DE LA CALIDAD EN LOS LABORATORIOS ANALÍTICOS;
Editorial Síntesis S.A.
1999, 212-215.
- (02) Albert, Lilia A.;
INTRODUCCIÓN A LA TOXICOLOGÍA AMBIENTAL;
Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, División de Salud
Ambiental
Editora México 1997, 177-196.
- (03) Charley, Helen;
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS;
Editorial LIMUSA S.A.
México 1995, 675-718.
- (04) Brennân J.G., Butters J.R., Cowell N.D., V. Lilly A.E.;
LAS OPERACIONES DE LA INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS;
1970, 268-270.
- (05) Kirk, Ronald S.; Sawyer, Ronald; Egan, Harold;
COMPOSICIÓN Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS;
Compañía Editorial Continental, S.A.
Segunda Edición, México 1996, 47-58.
- (06) Clair Batty, J.; Folkman, Steven L.;
FUNDAMENTOS DE LA INGENIERÍA DE ALIMENTOS;

Compañía Editorial Continental, S.A.

México 1983, 258-276.

(07) www.manaxx.com/liofili.html

LIOFILIZACIÓN;

2006.

(08) www.invap.net/indus/liofilizacion/index.html;

INVAP-ALIMENTOS LIOFILIZADOS;

2006.

(09) www.wikipedia.org/wiki/liofilizacion;

PROCEDIMIENTO DE LIOFILIZACIÓN;

2006.

(10) www.mitosyfraudes.8k.com/Bio/liofilizar.html;

INDUSTRIA DE LA LIOFILIZACIÓN;

2006.

(11) www.luzem.bitacorras.com/archivos/2005/12/22/liofilizacion;

CONCEPTOS BÁSICOS DE LIOFILIZACION;

2006.

(12) Rouessac, Francis y Rouessac, Annick;

ANÁLISIS QUÍMICO, MÉTODOS Y TÉCNICAS INSTRUMENTALES
MODERNAS;

McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U.

2003, 229-247.

(13) Skoog, Douglas A. y Leary, James J.;

ANÁLISIS INSTRUMENTAL;

McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.

1994, 227-271.

(14) www.gbcsoci.com;

ABSORPTION ATOMIC SPECTROPHOTOMETRY;

2006.

(15) www.scimedia.com/chem-ed/;

ABSORPTION ATOMIC SPECTROPHOTOMETRY;

2006.

(16) www.varianinc.com;

ABSORPTION ATOMIC SPECTROPHOTOMETRY;

2006.

(17) www.shimadzu.com;

ABSORPTION ATOMIC SPECTROPHOTOMETRY;

2006.

(18) Miller, N. J. y Miller, J. C.;

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA;

PEARSON EDUCACIÓN, S. A.,

Madrid 2002, 1-20.

(19) Miller, N. J. y Miller, J. C.;

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA;

PEARSON EDUCACIÓN, S. A.,

Madrid 2002, 21-42.

(20) Miller, N. J. y Miller, J. C.;

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA;

PEARSON EDUCACIÓN, S. A.,

Madrid 2002, 43-71.

- (21) Miller, N. J. y Miller, J. C.;
- ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA;
- PEARSON EDUCACIÓN, S. A.,
- Madrid 2002, 77-106.
- (22) Miller, N. J. y Miller, J. C.;
- ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA;
- PEARSON EDUCACIÓN, S. A.,
- Madrid 2002, 111-151.
- (23) Chung Tong, Betty;
- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE AGUA;
- Laboratorio de Referencia y Control SUNASS.
- 1998, Capítulo 12, Revisión de material de vidrio, Técnica de Absorción Atómica vía horno de grafito.
- (24) Chung Tong, Betty;
- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE AGUA;
- Laboratorio de Referencia y Control SUNASS.
- 1998, Capítulo 12, Análisis de plomo, Técnica de Absorción Atómica vía horno de grafito.
- (25) ISO 5725-1;
- EXACTITUD DE LOS RESULTADOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN;
- Parte 1, Principios generales y definiciones.
- 2005.
- (26) ISO 5725-2;
- EXACTITUD DE LOS RESULTADOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN;

Parte 2, Método básico para la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad de un método de medición normalizado.

2005.

(27) ISO 5725-3;

EXACTITUD DE LOS RESULTADOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN;

Parte 3, Mediciones intermedias de la precisión de un método de medición normalizado.

2005.

(28) ISO 5725-4;

EXACTITUD DE LOS RESULTADOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN;

Parte 4, Métodos básicos para la determinación de la justeza de un método de medición normalizado.

2005.

(29) ISO 5725-6;

EXACTITUD DE LOS RESULTADOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN;

Parte 6, Utilización en la práctica de valores de exactitud.

2005.

(30) ISO 9000;

SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD;

Fundamentos y vocabulario.

2005.

(31) ISO 9001:2000;

SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD;

Requisitos.

- (32) Guía ISO 30;
TÉRMINOS Y DEFINICIONES UTILIZADOS EN RELACIÓN CON LOS
MATERIALES DE REFERENCIA.
2005.
- (33) Guía ISO 31;
MATERIALES DE REFERENCIA;
Contenido de los certificados y etiquetas.
2005.
- (34) Guía ISO 32;
CALIBRACIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA Y UTILIZACIÓN DE
MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS;
2005.
- (35) Guía ISO 33;
UTILIZACIÓN DE MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS;
2005.
- (36) Guía ISO 34;
REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS
PRODUCTOS DE MATERIALES DE REFERENCIA;
2005.
- (37) Guía ISO 35;
CERTIFICACIÓN DE MATERIALES DE REFERENCIA;
Principios generales y estadística.
2005.
- (39) Guía ISO/IEC 43-1;
ENSAYOS DE APTITUD POR COMPARACIONES INTERLABORATORIO;

Parte 1: Desarrollo y funcionamiento de programas de ensayo de aptitud.

2005.

(40) Guía ISO/IEC 43-2;

ENSAYOS DE APTITUD POR COMPARACIONES INTERLABORATORIO;

Parte 2: Selección y utilización de programas de ensayos de aptitud por organismos de acreditación de laboratorios.

2005.

(41) www.17025.homestead.com/iso.html;

ABSORPTION ATOMIC SPECTROPHOTOMETRY;

2006.