



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS EXTRACTIVAS

DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS (COBRE,
FIERRO Y PLOMO) POR ESPECTROSCOPIA DE
ABSORCIÓN ATÓMICA EN ALIMENTOS ENLATADOS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO INDUSTRIAL

P R E S E N T A

Emmanuel López Arias.

ASESOR DE TESIS:

M. en C. Sandra Soledad Morales García.



MÉXICO D.F.

Mayo de 2011

Reconocimientos

Al Instituto Politécnico Nacional, en especial a la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, por brindarme la oportunidad de realizar estudios superiores de calidad en una institución de gran prestigio.

Y por las facilidades prestadas para el desarrollo de mi trabajo experimental a:

Dr. Román Cabrera Sierra y M. en C. Jesús Torres Calderón del Laboratorio de Química Analítica Z5-101 de la ESIQIE—IPN.

Dra. Elvia Díaz Valdés del Laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica de la ESFM—IPN.

Agradecimientos

A mis padres, Federico López Cabrera y Marcela C. Arias Salinas, por su apoyo incondicional a lo largo de mi formación académica y por la confianza que depositaron en mí durante tantos años.

A mi asesora de tesis, M. en C. Sandra Soledad Morales García, por su apoyo en el desarrollo de mi tema de tesis y haberme guiado con tanta paciencia.

Índice General

	Página
Reconocimientos	i
Agradecimientos	ii
Índice General	iii
Índice de Figuras	v
Índice de Tablas	vi
Resumen	viii
Objetivos	ix
Introducción	x
CAPÍTULO 1 MARCO TEÓRICO	1
1.1 Alimentos Enlatados	2
1.1.1 Descripción del Alimento Enlatado	3
1.1.2 Envases Metálicos	3
1.1.3 Proceso de Enlatado de los Alimentos	13
1.1.4 Toxicidad de los Alimentos	14
1.2 Absorción Atómica	19
1.2.1 Fundamentos	19
1.2.2 Instrumentación	19
1.2.3 Detectores	26
1.2.4 Manejo de la Muestra	26
1.3 Aseguramiento de la Calidad	27
CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS	29
2.1 Estructuración de Protocolo Propio de Análisis	30
2.2 Protocolo de Semivalidación del Método Analítico	37
2.3 Elementos Necesarios para la Aplicación del Método	43
CAPÍTULO 3 RESULTADOS	45
3.1 Descripción y pretratamiento de la muestra	46
3.2 Preparación de Estándares	50
3.2.1 Semivalidación del Método	53
3.3 Resultados del Análisis por Absorción Atómica	63
3.4 Discusión de Resultados	68

CONCLUSIONES	73
Glosario	77
Bibliografía	79
ANEXOS	83
ANEXO 1. Procedimiento para la Determinación de Metales (Cobre, Fierro y Plomo) en Alimentos Enlatados por Espectroscopia de Absorción Atómica en Base a la NOM-117-SSA1-1994.	84
ANEXO 2. Semivalidación del Método.	92

Índice de Figuras

No.	Nombre	Página
1.1	Tipos comunes de envases de hojalata.	4
1.2	Partes que conforman una lata de tres piezas	6
1.3	Diagrama del proceso de manufactura de una lata	7
1.4	Fabricación del cuerpo de un envase de hojalata.	10
1.5	Cuerpo del envase provisto de pestañas para colocar los fondos por sertido.	10
1.6	Ejemplo de proceso térmico de esterilización.	13
1.7	Instrumentación básica de un equipo de absorción atómica.	19
1.8	Diagrama esquemático de lámpara de cátodo hueco.	22
1.9	Mecanismo de atomización por flama.	24
1.10	Quemador de ranura con nebulizador.	25
3.1	Cenizas resultantes de calcinación en mufla de duraznos en almíbar y verduras mixtas.	47
3.2	Digestión ácida de muestras.	47
3.3	Curva de calibración de cobre.	55
3.4	Curva de calibración de hierro.	58
3.5	Curva de calibración de plomo.	61

Índice de Tablas

No.	Nombre	Página
1.1	Composición de metales en diversos calibres de lámina de acero para hojalata.	12
1.2	Temperaturas de flama y velocidades de quemado de flamas premezcladas comunes.	25
2.1	Formato para la presentación de resultados.	35
2.2	Concentración de metales problema en la solución madre.	39
2.3	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Cobre.	39
2.4	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Hierro.	39
2.5	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Plomo.	39
2.6	Formato de tabla para requisitar datos para calcular la desviación estándar del blanco.	41
2.7	Formato de tabla para registrar los datos para construir una curva de calibración.	42
2.8	Características de los materiales, equipos e instrumentos utilizados.	44
3.1	Descripción de claves asignadas a las muestras analizadas.	48
3.2	Datos experimentales para la determinación de metales en alimentos enlatados por espectroscopia de AA.	49
3.3	Concentración de metales en la solución madre.	50
3.4	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de cobre.	52
3.5	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de hierro.	52

3.6	Volúmenes calculados para la preparación de estándares de plomo.	52
3.7	Datos para construir la curva de calibración de Cobre (Cu).	53
3.8	Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Cobre (Cu).	56
3.9	Datos para construir la curva de calibración de Hierro (Fe).	57
3.10	Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Hierro (Fe).	59
3.11	Datos para construir la curva de calibración de Plomo (Pb).	60
3.12	Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Plomo (Pb).	61
3.13	Concentración de Cobre (Cu) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas.	63
3.14	Concentración de Hierro (Fe) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas.	64
3.15	Concentración de Plomo (Pb) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas	65
3.16	Resultados del análisis para Cobre (Cu).	66
3.17	Resultados del análisis para Hierro (Fe).	66
3.18	Resultados de análisis para Plomo (Pb).	67
3.19	Límites máximos permisibles de Cu, Fe y Pb establecidos en diversas normas a nivel nacional e internacional.	68
3.20	Observaciones sobre el estado del envase de las muestras.	71

Resumen

El presente trabajo de tesis se enfoca al estudio y análisis de la presencia de algunos metales pesados en duraznos y verduras enlatados.

Para establecer la metodología de análisis de metales en alimentos enlatados se consultaron normas y artículos de divulgación científica nacionales e internacionales, con la información recabada se elaboró un protocolo propio de análisis.

Para cumplir con los requisitos mínimos de control de calidad analítica se determinaron los parámetros básicos que se deben tomar en cuenta para la implantación de un método analítico: Límite de Detección (LDM), Límite de Cuantificación (LCM) y Límite de Linealidad (LLM); de igual manera se evaluaron la Desviación Estándar (S), el Coeficiente de Variación (CV), y el Coeficiente de Correlación Lineal (R).

Se realizó el análisis, por espectrofotometría de absorción atómica, de cobre, hierro y plomo por duplicado a ocho muestras de duraznos y ocho muestras de verduras enlatadas, es decir, se analizaron un total de 32 muestras de alimentos enlatados. Se presentan los resultados del análisis de los tres metales pesados (Cu, Fe y Pb) en éstos alimentos, comparándolos con los límites máximos permisibles (LMP) nacionales y extranjeros con lo cual se encontró que los valores obtenidos de hierro y cobre se encuentran dentro de los valores de concentración aceptados, mientras que para plomo sobrepasan dichos valores.

Objetivos

Objetivo General:

Determinar la presencia de metales pesados (cobre, fierro y plomo) por espectroscopia de absorción atómica en productos alimenticios enlatados.

Objetivos específicos:

- ✦ Revisar en la bibliografía nacional e internacional qué metales pesados son los que se deben de controlar en la producción de productos alimenticios enlatados.
- ✦ Seleccionar los metales pesados potencialmente presentes en los productos alimenticios enlatados para ser analizados en laboratorio.
- ✦ Establecer un protocolo de análisis para evaluación de metales pesados en un producto alimenticio enlatado de diferentes marcas comerciales.
- ✦ Analizar los metales pesados, por espectroscopia de absorción atómica técnica de flama, presentes en los productos alimenticios enlatados seleccionados.
- ✦ Interpretar los resultados obtenidos como grado de toxicidad por metales pesados específicos en los productos alimenticios analizados.

Introducción

Existen diversos métodos para la conservación de los alimentos como: congelación, tratamiento térmico, deshidratación. Entre dichos procesos el más utilizado es el tratamiento térmico, utilizado para la elaboración de alimentos en conserva debido a que con éste procedimiento se logra una conservación de los alimentos más prolongada que con cualquier otro sin la necesidad de conservadores.

Los alimentos en conserva dependen del buen estado de su envase para conservar su inocuidad alimenticia, por lo que en el presente trabajo se estudia la contaminación por metales pesados de los alimentos cuando su envase ha sido maltratado de alguna manera.

A continuación se hace una breve descripción del contenido de los capítulos que integran el presente trabajo

En el Capítulo 1 “Generalidades” se presenta a manera de introducción de los fundamentos teóricos en los que se sustenta el presente trabajo de tesis. En primer lugar se presenta una descripción de el proceso de elaboración de una lata y envasado de los alimentos enlatados. Además se revisan las posibles causas de la contaminación por metales pesados de un alimento enlatado, este tipo de contaminación en los alimentos representa un riesgo debido a algunos metales son indispensables para el buen funcionamiento del organismo, pero la presencia en exceso de los mismos metales lo pueden alterar causando enfermedades.

En relación al control sanitario de alimentos para consumo humano existen diversas normas y metodologías para el análisis de la calidad de los mismos, pero la mayoría de ellas están hechas para alimentos frescos o para analizarlos antes de ser envasados. Por lo anterior se ha buscado una metodología de análisis aplicable a los alimentos en conserva una vez que se encuentran envasados listos para su venta.

En el Capítulo 2 “Metodología de Análisis” se describe el protocolo de análisis elaborado aplicable a un producto ya procesado y envasado, en este caso conservas

enlatadas. Para desarrollar el método de análisis aplicado se consultaron tanto normas como artículos de divulgación científica referentes al análisis de los alimentos.

El Capítulo 3 “Resultados” presenta los datos obtenidos de la validación parcial del método aplicado, utilizado como control de calidad para la aplicación del método, y del análisis para metales pesados de las frutas y verduras. Se puede apreciar que mientras más deteriorado se encuentre una lata su contenido presenta mayor migración de metales pesados provenientes de la lata

En el trabajo actual sólo se determina la presencia de tres metales pesados en los alimentos, pero el protocolo de análisis puede hacerse extensivo para la determinación de cualquier metal (que se pueda analizar mediante espectroscopia de absorción atómica, método de atomización por flama) en frutas o verduras enlatados.

CAPÍTULO 1

Marco Teórico

En éste capítulo se presentan los conceptos teóricos bajo los que se sustenta el trabajo de tesis. Se proporciona la información relacionada a la preparación de alimentos enlatados, incluyendo la fabricación del envase de hojalata en que se distribuyen. Además se incluye un segmento en el que se describen los problemas toxicológicos que pueden presentarse debido a la contaminación por metales pesados en alimentos enlatados.

Se presentan de forma breve los fundamentos de la espectroscopia de absorción atómica enfocándose en el método de atomización por flama. Y por último se mencionan las buenas prácticas de laboratorio por ser lineamientos que se deben seguir en todo laboratorio para garantizar que los métodos de análisis se ejecutan de manera adecuada.

1.1 Alimentos Enlatados.

Actualmente debido a las diversas actividades que ocupan a la gente los alimentos enlatados han cobrado gran popularidad debido a que se preparan fácil y rápidamente, además preservan las mismas propiedades vitamínicas y nutricionales que los alimentos frescos.

Aunque el abrelatas ha llegado a ser una herramienta doméstica de primera necesidad el mecanismo de apertura fácil se va imponiendo en las latas de conservas, hoy día son muchas las marcas que lo han incorporado en sus productos. En la mayoría de los hogares hay alimentos enlatados en alguna de sus variedades, pero en muchas ocasiones dichos alimentos son almacenados por mucho tiempo y bajo condiciones inapropiadas por lo que la lata comienza a deteriorarse comprometiendo la calidad de su contenido. Si al momento de comprar el alimento enlatado el envase ya se encontraba deteriorado es más probable que el alimento haya perdido su inocuidad y se vuelve riesgoso consumirlo.

1.1.1 Descripción del Alimento Enlatado

Se puede considerar como conserva enlatada (alimento enlatado) a los alimentos procesados y envasados en recipientes cerrados herméticamente; que fueron sometidos a un tratamiento térmico a presión, temperatura y tiempo (el tiempo varía dependiendo el tipo de alimento) controlados.

Todas las frutas y verduras en su estado natural son susceptibles de deterioro por acción de microorganismos, por esta causa se utilizan diversos procedimientos para preservar los materiales vegetales en buen estado como: el desecado, salado, fermentación, congelación, refrigeración, enlatado o irradiación.

El crecimiento de numerosas especies microbianas se da por condiciones de humedad adecuadas, puesto que contribuyen a la microflora de los vegetales y de ello depende la cantidad de nutrientes que absorberán y entre dichos nutrientes se encuentran los metales pesados contenidos en el suelo donde crecen.¹

1.1.2 Envases Metálicos

El envase puede ser un medio de protección ante la humedad, la oxidación producida por el oxígeno del aire, la luz, etc. El envasado se considera como una técnica de conservación de los alimentos. El envase puede ser un riesgo para quien consume un producto, ya que puede esconder el estado real del alimento que contiene y además encarecer el producto.

Los materiales utilizados para la elaboración de latas para alimentos son: la hojalata, la chapa negra cromada y el aluminio, el material se selecciona de acuerdo al tipo de alimento que va a contener; para contener alimentos sólidos se utilizan en su mayoría envases de hojalata mientras que los de aluminio se utilizan mayormente para el envasado de bebidas.

¹ Arturo Lara Alejo, Ma. Adriana Contreras Martínez, “Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la elaboración de conservas enlatadas no acidificadas”, Secretaría de Salud, p.60.

Uno de los usos más importantes de la hojalata corresponde a la fabricación de latas o envases, en gran parte destinados a la conservación de productos comestibles. Aunque también se elaboran otros componentes que se encuentran en contacto con los alimentos, como son las tapas y cierres. En este tipo de envases la principal característica requerida es hermeticidad completa para evitar el deterioro de los alimentos por acción de los microorganismos del ambiente o por las reacciones de oxidación. El éxito de las conservas y de todos los procesos previos de preparación depende por tanto de cierres que no permitan filtraciones.

Existen básicamente cuatro tipos de envases de hojalata que dependen del número de piezas que lo componen así como de su proceso de manufactura (Figura 1.1). A grandes rasgos se pueden clasificar en dos categorías: el envase de dos piezas (cuerpo y tapa superior) y el envase de tres piezas (cuerpo y tapas superior e inferior) que es el más común para el envasado de conservas alimenticias.

Los tipos de envases manufacturados se ilustran en la siguiente figura:

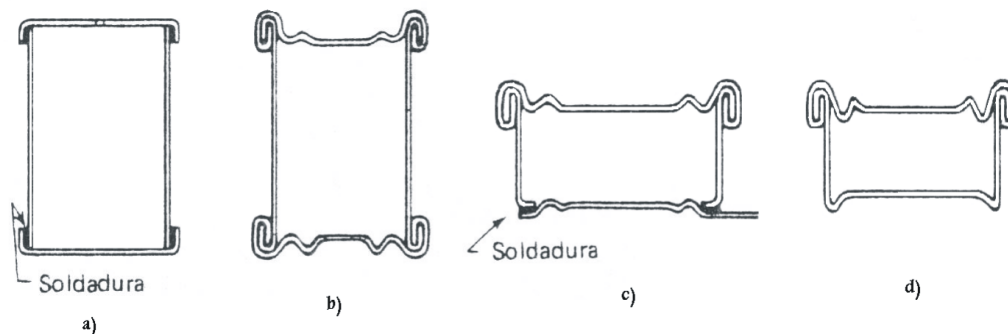


Figura 1.1. Tipos comunes de envases de hojalata.

Tomado de: Cheftel: "Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos"

En la Figura 1.1 se pueden apreciar los envases de 3 piezas (a, b y c) y cómo se conforman los envases de 2 piezas (d). De igual manera se ilustra como las tapas pueden sujetarse al cuerpo de la lata ya sea por soldadura (a y c) o por engatillado (b y d) siendo el cierre más común por engatillado.

Las principales partes que conforman un envase de hojalata son los siguientes:

Costura lateral.

Los envases de tres piezas se fabrican a partir de un trozo de lámina que es enrollado y unido por sus extremos, formándose así la costura lateral que todos llevan; existen actualmente diferentes sistemas para llevar a cabo la unión de la hojalata, como son: soldadura plástica, soldadura eléctrica y agrafado que es también conocido como engatillado.

Doble cierre.

La tapa y el fondo de los envases metálicos, se unen al cuerpo de una forma particular, que recibe el nombre de doble cierre, lo cual se debe a que hay cinco o siete láminas de hojalata dobladas y apretadas firmemente.

Compuestos Sellantes.

Se denominan así a las soluciones o suspensiones de caucho sintético, que se caracteriza por su resistencia a los aceites, a las soluciones ácidas y a los procesos de autoclave. Se aplican en el canal formado por la pestaña o rizo de la tapa, antes de ser engarzadas a los cuerpos de las latas.

Lacas Sanitarias

Los recubrimientos orgánicos aplicados en el interior de las latas, tiene como función evitar la interacción química entre el alimento y el envase, ya que estas reacciones en general afectan desfavorablemente la calidad del alimento envasado. Con algunos productos se usan latas sin recubrimiento interior, es decir, donde el alimento se encuentra en contacto directo con la hojalata. Esto se permite cuando la interacción lata - alimento es despreciable, o cuando se logra mejor calidad del contenido en estas condiciones. Se hablará más a fondo de este tema en la sección 1.1.2.2.

Las partes de una lata que se acaban de describir se pueden apreciar en el esquema de la Figura 1.2, donde se indican las partes que conforman un envase de hoja de lata.

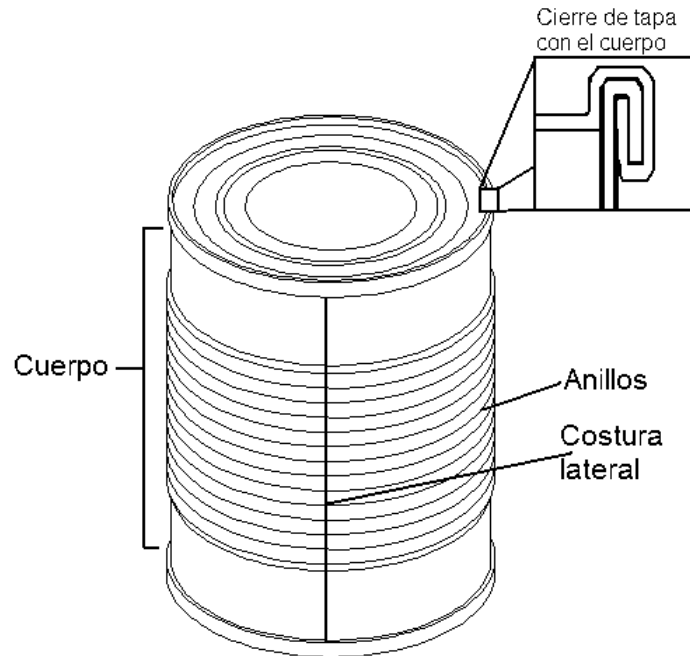


Figura 1.2. Partes que conforman una lata de tres piezas: Elaborada por el autor.

1.1.2.1 Manufactura de Envases Metálicos

El proceso de manufactura de una lata consiste de varias etapas las cuales se indican en el siguiente diagrama:

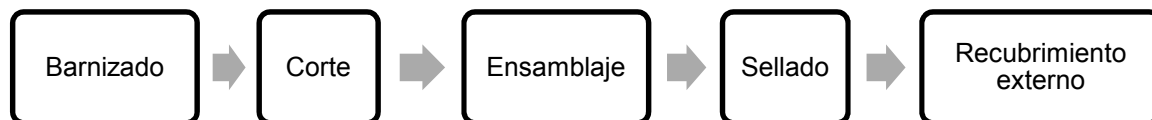


Figura 1.3. Diagrama del proceso de manufactura de una lata.

Estas etapas se describen a continuación considerando al corte y ensamblaje como una sola etapa.

1.1.2.2 Barnizado

Para los envases de hojalata, chapa negra y aluminio se coloca internamente un recubrimiento conocido como barnizado, que sirve como barrera entre el metal que conforma la lata y el contenido de la misma por lo que es importante que dicho recubrimiento sea uniforme sobre la superficie de la lámina.

Para poder efectuar el barnizado es indispensable que la superficie de la lámina se encuentre limpia ya que de no ser así la película aplicada podría desprenderse.

El barnizado se efectúa mediante un rodillo sobre la hoja o banda metálica (barnizado en hoja), o bien se puede aplicar por pulverización.

El barnizado en el interior de los envases por pulverización se hace sobre el metal que se barnizó previamente en hoja, este tipo de barnizado protege tanto al interior como al exterior de la lata.

Las lacas aplicadas sobre el material son principalmente resinas epoxi parcialmente polimerizadas, en solución con un disolvente orgánico. Después de la

aplicación se calientan en un horno con el fin de eliminar el disolvente y completar la polimerización.

Algunos barnices llamados “antiazufre” llevan óxido de zinc o carbonato de zinc y son usados generalmente sobre hojalata para fijar en la película del barniz las pocas cantidades de Hidrógeno que pudiese originar el calentamiento de ciertos alimentos (proteínas, alíáceas), de no ser fijado por el barniz el sulfuro de hidrógeno llegaría al metal produciendo manchas pardo-violáceas de sulfuro estanoso y negras de sulfuro ferroso.

Los barnices aplicados forman una película termofija que evitará el contacto del alimento con la lata. Es importante destacar que el tipo de barniz que se aplique dependerá del alimento que se vaya a enlatar debido a que cada alimento varía en cuanto a sus propiedades físicas y químicas, son las características químicas las que definen principalmente el tipo de recubrimiento a emplear.

Los barnices o lacas que estarán en contacto directo con los alimentos deben presentar las siguientes características:

- ✦ No ser tóxicas.
- ✦ No afectar el olor ni sabor del alimento enlatado.
- ✦ Ser una barrera efectiva entre alimento y envase.
- ✦ Ser de fácil aplicación sobre la hojalata.
- ✦ Ser resistente y no desprenderse durante el proceso de esterilización ni durante el almacenamiento.
- ✦ Presentar resistencia mecánica adecuada para que no se rompan durante los procesos de formación del envase.

Entre las lacas sanitarias más usadas se encuentran las siguientes:

- ‡ **Fenólicas.** Estas resinas son empleadas como recubrimiento interno de envases para mariscos, ciertos productos cárnicos y alimentos ácidos.

- ‡ **Epóxicas.** Se caracterizan por la retención de color durante los procesos de fabricación y por una excelente estabilidad térmica. Presentan muy buena flexibilidad y no comunican olores ni sabores apreciables, aunque en este aspecto se obtienen mejores resultados si se cubren con una capa vinílica. Las resinas epóxicas pueden ser modificadas mediante mezclas con resinas fenólicas para obtener las tipo epoxifenólicas o lacas A. Las lacas epoxifenólicas son recomendadas especialmente para carnes, pescados, quesos salados y frutas de alta acidez.

- ‡ **Vinílicas.** Este recubrimiento es utilizado como una segunda capa en combinación con una laca oleorresinosa o una fenólica. Se emplea para envases que contendrán refrescos, cervezas y alimentos ácidos y corrosivos.²

1.1.2.3 Ensamblaje de la lata.

Tanto el cuerpo como las tapas que conformaran una lata son generalmente cortados a partir de láminas o bandas metálicas mediante *troquelado* ya que este procedimiento permite obtener piezas de tamaño uniforme. Hoy día se cuenta con maquinaria automatizada que permite obtener muchas piezas en poco tiempo con un mínimo de desperdicio de materia prima debido a la precisión con que se realiza el corte.

El cuerpo se obtiene a partir de un rectángulo de hojalata, previamente recubierto de una laca sanitaria, en el cual se hacen incisiones para a continuación

² Tamara Castrillón Rodríguez, "Recubrimientos para envases metálicos", Dpto. de Tecnologías del Envase de ainia.

engatillar (también conocido como agrafado) a lo largo de la costura, después del engatillado el doblez se suelda con una soldadura blanda, que generalmente contiene 2% de estaño y 98% de plomo (Figura 1.4).

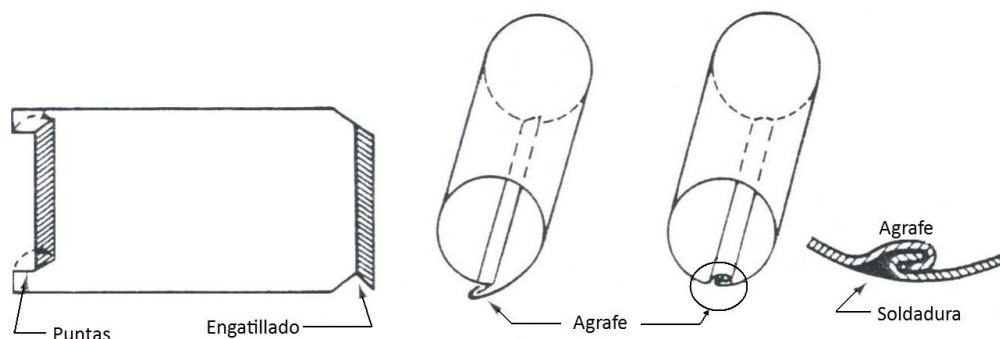


Figura 1.4. Fabricación del cuerpo de un envase de hojalata.
 Tomado de: *Cheftel: "introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos"*

Los fondos se fabrican por separado mediante el corte de una lámina de hojalata; después se le pone un anillo de pegamento líquido que se coloca en todo el contorno del fondo (Figura 1.5). La fijación del fondo al cuerpo del envase se hace por sertido, esta operación consiste en enrollar de forma conjunta las pestañas del cuerpo y el fondo para conseguir finalmente una unión como la ilustrada en la Figura 1.5.

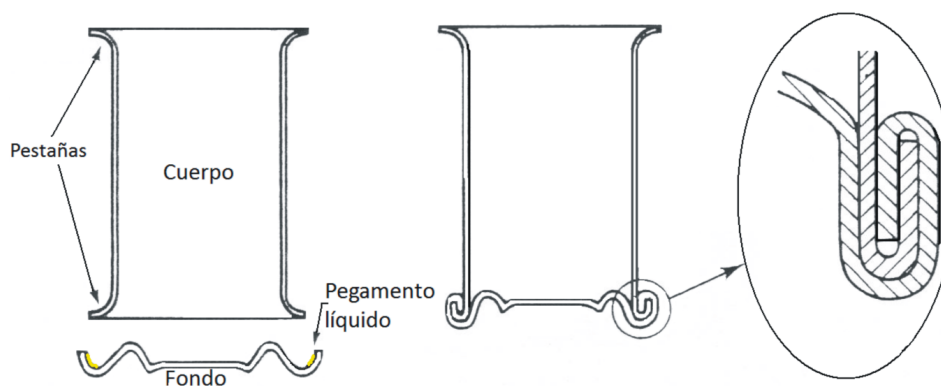


Figura 1.5. Cuerpo del envase provisto de pestañas para colocar los fondos por sertido.
 Tomado de: *Cheftel: "introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos"*

Debido a que en el presente trabajo se busca evaluar la toxicidad por metales en los alimentos enlatados, se debe de conocer cuáles son los posibles metales presentes, es por ello que se debe de profundizar en la composición del envase en el que se guardan los alimentos en conserva. Los aceros para hojalata se clasifican en tres tipos como se detalla a continuación:

Tipo L: Es un acero laminado en frío, procedente de hornos de crisol abierto (Siemens Martin). Tiene un bajo contenido en metaloides y elementos residuales, especialmente limitado en fósforo. Se utiliza cuando se busca una resistencia elevada a productos muy corrosivos.

Tipo MR: Es el más empleado. Es de la misma procedencia del anterior, laminado en frío y usado en productos medianamente corrosivos.

Tipo MC: Es un acero hecho en convertidor Bessemer u horno Siemens Martin, utilizado cuando la resistencia y el contenido del envase es de baja corrosión.

Cabe señalar que la hojalata es básicamente una lámina de acero recubierta de estaño por ambos lados; el estaño usado en la protección del acero base es de gran pureza, con más del 99.80 % de estaño y menos de 0.04 % de antimonio, arsénico, bismuto cobre y otros metales. El acero se obtiene a partir de mineral de hierro o de chatarra pero el hierro no se encuentra en estado puro en la naturaleza así que siempre se encuentran impurezas en su composición (Tabla 1.1). La composición de cada uno de los tipos de acero para hojalata se definen en la siguiente tabla:

Tabla 1.1. Composición de metales en diversos calibres de lámina de acero para hojalata.

Compuesto	Tipos de acero		
	L	MR	MC
	% compuesto		
Carbono	0.05 - 0.12	0.05 - 0.12	0.05 - 0.12
Manganeso	0.25 - 0.60	0.25 - 0.60	0.25 - 0.60
Azufre	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
Fósforo	≤ 0.015	≤ 0.020	0.07 - 0.11
Silicio	≤ 0.010	≤ 0.010	≤ 0.010
Cobre	≤ 0.06	≤ 0.20	≤ 0.20
Níquel	≤ 0.04	Límites sin especificar.	
Cromo	≤ 0.06	Límites sin especificar.	
Molibdeno	≤ 0.05	Límites sin especificar.	
Arsénico	≤ 0.02	Límites sin especificar.	

Se utiliza el cobre para aumentar la resistencia a la corrosión atmosférica del acero base (L, MR o MC), pero puede reducir la resistencia a la corrosión interna por lo que se debe controlar la cantidad de cobre en las aleaciones para hojalata.

1.1.3 Proceso de Enlatado de los Alimentos.

El proceso de envasado varía para cada tipo de alimento dependiendo de su composición y naturaleza para así poder preservar sus nutrientes casi en su totalidad. A continuación se describe el proceso de enlatados para frutas y verduras.

El alimento previamente seleccionado llega a la planta empacadora, todos los alimentos que se enlatan necesariamente pasan un control de calidad físico-químico y sensorial antes de ingresar a proceso. Dichos alimentos son sometidos a una etapa de lavado (el lavado se realiza con el fin de eliminar: tierra, arena, bacterias provenientes del suelo, tallos, hojas, etcétera) y posteriormente se pelan, se cortan y se rebanan. Inmediatamente después se cuecen el tiempo justo para neutralizar las enzimas que podrían descomponer los alimentos y para conservar su sabor y su color. Posteriormente se introducen los alimentos en las latas (envasado) y se sellan para someterlas al proceso térmico de esterilización comercial (Figura 1.6). La temperatura y los tiempos de proceso, dependen del alimento y están en función de las variables del pH propio de cada producto. Finalmente las latas son etiquetadas y almacenadas para ser distribuidas.

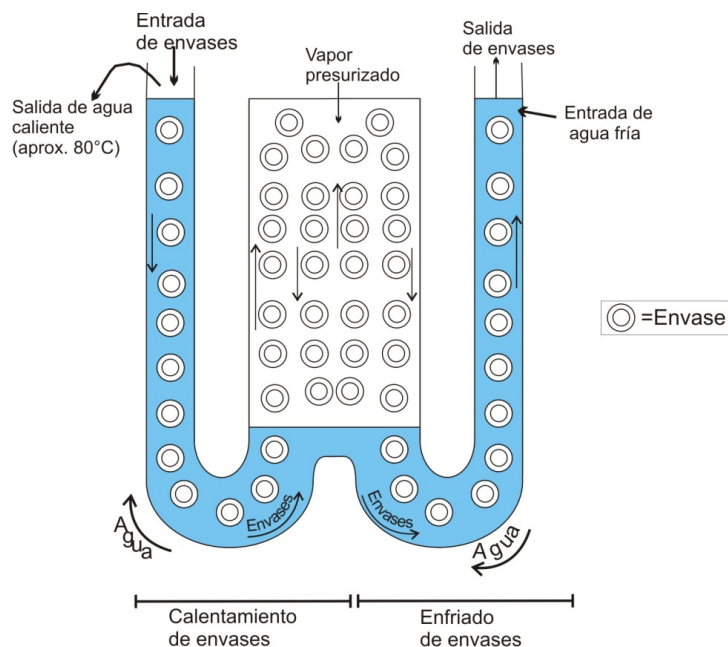


Figura 1.6. Ejemplo de proceso térmico de esterilización: Elaborado por el autor.

1.1.4 Toxicidad de los Alimentos.

Cuando se habla de *contaminación* en un alimento se trata de la presencia accidental o difícil de evitar de una sustancia indeseable, esto sin importar de qué sustancia se trate, sea tóxica o no.

La toxicidad de cualquier sustancia se refiere a que puede producir graves alteraciones en el funcionamiento del organismo, ésta se considera en relación a la dosis ingerida, por tanto las sustancias tienen un grado de toxicidad distinto unas de otras. Es así que los productos alimenticios comunes como por ejemplo el cloruro de sodio (sal de mesa) y la leche son nocivos por encima de una dosis diaria determinada. De igual manera nuestro organismo depende de la presencia de ciertos metales en el organismo para su buen funcionamiento, sin embargo estos mismos metales en cantidades excesivas se vuelven nocivos a la salud ya que el organismo no puede metabolizarlos adecuadamente.

Los problemas de carácter toxicológico que se presentan en los productos alimenticios se pueden clasificar de acuerdo a la naturaleza del contaminante:

- ↳ Sustancias presentes de forma natural en los vegetales o animales.
- ↳ Contaminación de naturaleza química.
- ↳ Aditivos.

La contaminación de un alimento puede producirse durante su recolección, transporte, manipulación, envasado o cocción de los alimentos, incluso se puede producir a través del contacto con las herramientas y utensilios con que se manipulan ya que los metales pueden migrar fácilmente al alimento sólo por contacto.

En la conservación de los productos alimenticios se utilizan envases de metal que muchas veces al estar almacenados mucho tiempo, como consecuencia de un estañado o barnizado mal aplicado, o debido a condiciones inadecuadas de almacenaje y/o transportación se origina una descomposición de la lata que por consiguiente ocasionará la contaminación del alimento en su interior. Del mismo modo se puede presentar corrosión externa en la lata; la corrosión externa se

manifiesta por la aparición sobre la hojalata de puntos de herrumbre, manchas grises o negras, etc. Este tipo de corrosión se debe evitar ya que puede ocasionar la perforación de la lata. En ambos casos la inocuidad del alimento en su interior se vería afectada de manera desfavorable para su consumo.

Todos los metales son nocivos para la salud si se presentan en exceso, a pesar de que muchos de ellos son esenciales para nuestro organismo e incluso la falta de ellos puede provocar problemas de salud. Dentro de los metales existen los conocidos como metales pesados que no cumplen con función fisiológica alguna conocida. El término “metal pesado” refiere a metales cuya densidad es superior a 4.5 g/cm^3 entre los que se encuentran el cobre (8.96 g/cm^3), el hierro (7.86 g/cm^3), el mercurio, el plomo (11.4 g/cm^3), el cadmio, el aluminio, el oro, el platino, el manganeso, el cromo, etc.

Los alimentos se encuentran expuestos de manera casi inevitable al contacto con los metales ya sea de manera natural o al ser manipulados.

Los alimentos enlatados son consumidos por cualquier tipo de persona (niños, jóvenes, adultos y ancianos). Dadas sus características, por lo general el consumidor únicamente calienta el alimento sin ser éste un tratamiento térmico suficiente para desactivar o eliminar los posibles microorganismos presentes, y sin tener precaución del estado del envase que contenía el alimento. Durante el transporte y distribución, la integridad del envase puede verse afectada, al perder el envase su hermeticidad será seguramente contaminado por microorganismos y como consecuencia contaminado por migración de los metales que componen la lata. Es conveniente que el consumidor revise el envase del producto que va a comprar, esto le dará un mayor margen de seguridad sobre el alimento que va a consumir. Esta característica de calidad final del producto enlatado la debe proporcionar quien produce y envasa el alimento.

Por lo anterior es importante mantener la higiene en la fabricación de alimentos y en su cuidado desde la recolección hasta el envasado del producto final. Si el alimento se contamina en alguna parte del proceso de elaboración los microorganismos quedarían impregnados en el producto enlatado lo que no representaría un riesgo si el proceso térmico logra eliminarlos, pero en ocasiones la lata no se calienta de manera uniforme lo que tiene como consecuencia que los microorganismos sobrevivan en ciertas zonas al interior de la lata. Ciertas esporas bacterianas resistentes al calor producen ácidos que germinan en los alimentos y de suceder esto se origina un deterioro de la capa de barniz que debiera servir como barrera entre el alimento y el metal que conforma a la lata.

Si lo anterior sucede se pueden presentar microfugas y abombamientos en la lata, las microfugas son mínimos puntos o perforaciones que puede presentar el envase, y generalmente se dan por las siguientes circunstancias:

- ✦ Fallas en el cierre de las costuras del envase (cierre defectuoso desde la manufactura del envase).
- ✦ Fallas en la costura lateral del envase (defecto de la soldadura de unión del envase desde la fábrica de los envases).
- ✦ Golpes en el cuerpo de los envases (si el golpe es lo suficientemente severo puede crear un pliegue en la lámina y la consiguiente fuga).

La intoxicación con plomo, proveniente de la soldadura del envase, constituye aparentemente un peligro del pasado: primero porque la industria alimentaria está utilizando técnicas que eliminan este tipo de soldadura a base de estaño-plomo. Segundo porque la posible intoxicación por plomo, se presentaría sólo en productos muy ácidos que favorecen la disolución del mismo y para ello se requeriría que los alimentos envasados hayan permanecido almacenados durante un tiempo demasiado prolongado. Pero actualmente existen otras problemáticas, una de ellas es que los gases de combustión de gasolina emitidos por los automóviles tienen alto contenido de plomo que se deposita en los suelos y posteriormente las plantas absorben. Es por ello que el presente trabajo se enfoca en evaluar si las medidas

sanitarias que se han venido modificando con el tiempo son suficientes para evitar la migración de metales presentes en la lata hacia el alimento contenido en su interior.

1.1.4.1 Riesgos Toxicológicos en Alimentos Enlatados

Los elementos como por ejemplo: el calcio, potasio, sodio, hierro, zinc, selenio, cobre, cromo, sílice, níquel y estaño son indispensables para el organismo en pequeñas cantidades, y son llamados oligoelementos; sin embargo los metales como el plomo y mercurio son tóxicos en el organismo y de efecto acumulativo, se consideran tóxicos sistémicos ya que afectan a más de un órgano, al ser ingeridos se distribuyen a los diferentes órganos del cuerpo por medio de la sangre.

A continuación se mencionan los efectos toxicológicos de los elementos que son objeto de estudio:

Cobre (Cu)

El cobre es esencial para los humanos, se encuentra asociado con enzimas y proteínas. Aunque en concentraciones de entre 25 a 100 mg/kg puede ser nocivo.

El cobre se acumula en el hígado, cerebro y pelo, por lo que se vuelve tóxico aunque no venenoso. Entre los efectos nocivos se incluyen úlceras gastrointestinales, dolor abdominal, diarrea, necrosis hepática y daño renal. De manera contraria si el organismo tiene insuficiencia de cobre se puede producir anemia asociada a problemas de absorción de hierro, desequilibrios mentales o nerviosos, problemas óseos y del sistema cardiovascular.

El cobre se puede encontrar en los alimentos debido a que éste se encuentra como componente del acero utilizado para la hojalata, además de estar presente en proteínas y enzimas de las plantas.

Hierro (Fe)

El hierro se acumula en tejido muscular e hígado entre otros, la dosis tóxica es 20-60 mg/kg de Fe elemental. Los efectos del hierro en el organismo se manifiestan mayormente en el tracto gastrointestinal provocando vómito, diarrea, y hematemesis (que es vómito de sangre).

Los síntomas que se presentan son: fatiga, náuseas, vómito, dolor de cabeza, pérdida de peso, dificultad respiratoria y coloración grisácea de la piel.

Plomo (Pb)

El plomo se acumula en el organismo, cuando se usan soldaduras estaño-plomo es importante tomar en cuenta que si quedan residuos de la soldadura en el interior de la lata dichos residuos podrían contaminar el producto.

Entre los daños provocados por el plomo al organismo se encuentran esterilidad tanto en hombres como mujeres, trastornos renales, trastornos neurológicos, aumento de la presión arterial, problemas digestivos, y dolor muscular y articular entre otros. El nivel de plomo aceptable en la sangre es de 10µg/dL.³

³ CDC. 1991. Preventing lead poisoning in your children. Una declaración por parte de “centre of disease control. U.S. Department of Health and Human Services”, Atlanta, GA.

1.2 Absorción Atómica

1.2.1 Fundamentos

Cuando a un átomo se le aplica energía de una magnitud apropiada, ésta será absorbida por él induciendo a que su electrón exterior sea promovido a un orbital menos estable (estado excitado). El átomo espontáneamente regresará a su forma elemental y es entonces cuando se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda, esta luz absorbida es utilizada para obtener información cualitativa y cuantitativa de la muestra.

1.2.2 Instrumentación

El espectrofotómetro de Absorción atómica debe contar con cinco componentes básicos (Figura 1.7):

- ↳ Fuente radiante.
- ↳ Celda de muestreo (Flama).
- ↳ Monocromador.
- ↳ Detector.
- ↳ Sistema de lectura.

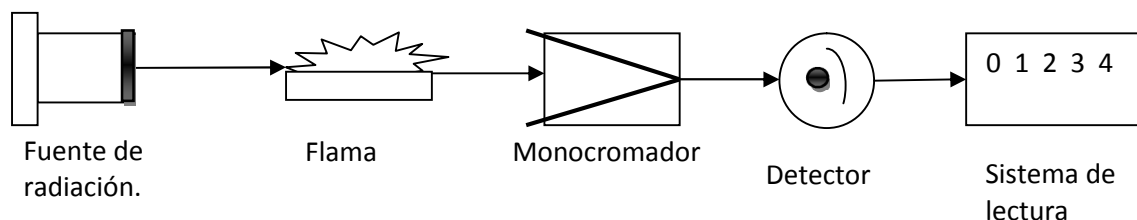


Figura 1.7. Instrumentación básica de un equipo de Absorción Atómica: Elaborada por el autor.

En absorción atómica se tiene la ventaja de que se pueden manejar varios tipos de celdas de muestreo que no son más que accesorios para el equipo. Entre las diferentes celdas de muestreo se tienen:

- ✦ Flama.- Que se compone principalmente por un atomizador o nebulizador y un quemador.
- ✦ Generador de Hidruros. Consta de un recipiente para la muestra y otro para una sustancia reductora, además se usa una celda con ventanas de cuarzo.
- ✦ Horno de grafito.- Es un pequeño tubo de grafito donde se deposita la muestra.
- ✦ Vapor frío de Mercurio.- Consiste en un contenedor para la muestra, una bomba, un tubo desecador y una celda tubular con ventanas de cuarzo.

Con ayuda de la Figura 1.7 se puede comprender mejor el funcionamiento de un espectrómetro de absorción atómica, su mecanismo de funcionamiento se describe a continuación:

Se hace pasar por la flama la radiación que emite la(s) línea(s) espectral(es) correspondiente(s) a la energía necesaria para una transición electrónica del estado normal a un estado excitado, dicha radiación es proporcionada de manera continua por una lámpara de cátodo hueco (para este caso). La flama se considera como un medio que contiene átomos libres y no excitados, capaces de absorber radiación de una fuente externa, cuando dicha radiación corresponde exactamente a la energía requerida para una transición del elemento investigado de un estado basal a un estado de excitación. La radiación no absorbida pasa entonces a través del monocromador, que aísla la línea espectral excitante de la fuente de luz y se envía hacia el detector. La absorción de radiación de la fuente de luz depende de la población de átomos en estado basal, la cual es proporcional a la concentración de la solución rociada en la flama. La absorción se mide por medio de la diferencia entre las señales transmitidas en presencia y en ausencia del elemento analizado.

Para la experimentación se utilizará una celda del tipo flama por lo que en este trabajo sólo se mencionan los diferentes tipos de celdas existentes y se describe únicamente el funcionamiento de la celda de tipo flama.

1.2.2.1 Fuentes de radiación para absorción atómica

Las líneas espectrales de resonancia deben ser angostas comparadas con el ancho de la línea de absorción que se vaya a medir. La radiación de un elemento específico no debe sufrir interferencia de otras líneas espectrales no resueltas por el espectrómetro tales como: las líneas que se originan de impurezas, materiales de los electrodos, de gases portadores, o incluso la radiación generada por los componentes electrónicos del equipo. La salida de la luz debe ser constante por lo que las lámparas deben encenderse previamente a la toma de datos.

Las fuentes de radiación utilizadas para absorción atómica son: la lámpara de cátodo hueco (la más utilizada), la lámpara de descarga sin electrodos y la lámpara de descarga de vapor.

Lámpara de cátodo hueco. La lámpara de cátodo hueco consta de un ánodo y un cátodo cilíndrico colocados dentro de una cámara llena de gas inerte. El tubo se evacúa y se llena de un gas portador monoatómico ultrapuro, comúnmente argón o neón y puede variar de 1 a 5 bar. Al aplicar un potencial elevado a través de los electrodos se crea una descarga de baja presión. La parte interna del cátodo se llena con una atmósfera eléctrica negativa. Se forman iones positivos por medio de la ionización de los átomos del gas portador por el impacto de los electrones. Estos iones recién formados se aceleran por medio del alto gradiente eléctrico hacia el cátodo, al chocar contra el metal en la cavidad del cátodo hacen que el metal se proyecte en forma de chispas hacia la región de descarga. Los átomos del metal se excitan hasta un estado de emisión por colisiones con los iones gaseosos. Cuando el gas contenido dentro de la lámpara se ha terminado las lámparas dejan de cumplir su propósito por lo que deben de cambiarse, otra razón por la que dejan de ser funcionales este tipo de lámparas es que pequeñas cantidades del metal se

depositan en las paredes de la lámpara opacando la intensidad del haz de luz que se produce dentro. En la Figura 1.8 se ilustran las partes que conforman una lámpara de cátodo hueco.

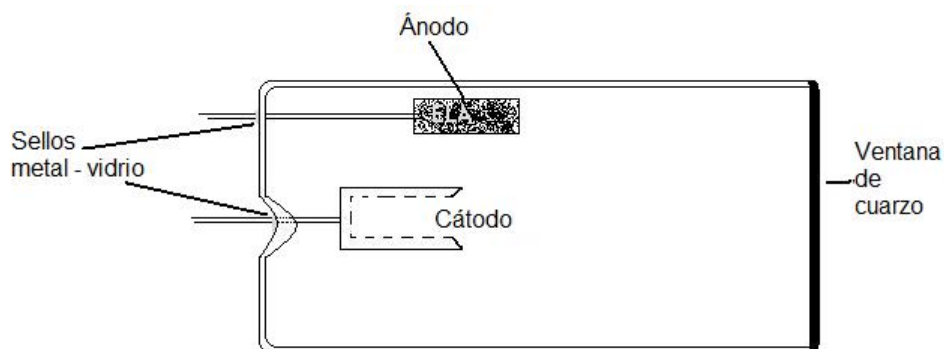


Figura 1.8 Diagrama esquemático de lámpara de cátodo hueco: Elaborada por el autor.

Lámpara de descarga sin electrodos. Esta lámpara funciona por medio de microondas. Se coloca una pequeña cantidad del metal o su halogenuro dentro de un tubo delgado de cuarzo con una ligera presión de un gas inerte, este tubo se coloca en una cavidad dentro del campo de microondas para provocar la excitación y la radiación deseadas.

Lámpara de descarga de vapor. Se utiliza para elementos de bajo punto de fusión. La presión de vapor del elemento se produce por una descarga eléctrica de bajo voltaje. Se liberan electrones primarios de un cátodo recubierto de óxido, las colisiones entre estos electrones primarios y el gas portador generan electrones secundarios que no tienen la energía necesaria para ionizar aún más los átomos del gas portador por lo que excitan a los átomos metálicos.

1.2.2.2 Sistema nebulizador-quemador

El objetivo de la nebulización es proporcionar un flujo uniforme y constante de muestra en forma de aerosol hacia una flama que produce la atomización.

Requisitos del sistema nebulizador-quemador:

- ↳ El contenido de una muestra anterior no debe afectar el resultado del análisis de la muestra analizada.
- ↳ Facilidad de limpieza
- ↳ Resistencia a la corrosión
- ↳ Facilidad de ajuste

La región óptima de atomización de la flama varía dependiendo de los elementos utilizados para la misma, es por ello que el quemador debe ser ajustable permitiendo asegurar la máxima señal de absorción.

Quemador de flujo laminar o de premezclado: La solución de la muestra es convertida primero en un fino aerosol, dentro de la cámara de mezclado donde se separan las gotas finas de las gruesas (en este punto los metales aún se encuentran en solución en las pequeñas gotas del aerosol), que posteriormente es llevado a la flama que proporciona la energía suficiente para primero evaporar el solvente (desolvatación) dejando pequeñas partículas sólidas del material de la muestra. Al aplicarse más calor el metal se funde sin que se derritan las demás materias con que se encuentra combinado (licuefacción), separando así el metal del resto de la materia. En este punto el metal se encuentra aún ligado a un anión formando una molécula. Finalmente mediante la aplicación de más energía calorífica esta molécula se descompondrá en los átomos individuales (Figura 1.9). Si la flama proporciona más energía calorífica de la requerida la muestra se ionizara lo que tendrá como consecuencia que no suceda el fenómeno de absorción atómica que se busca.

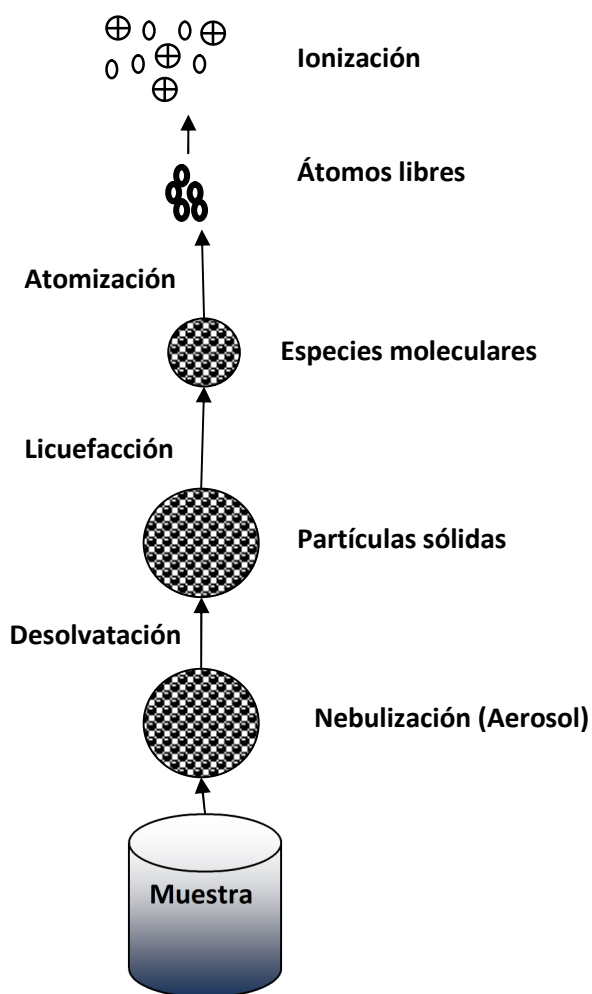


Figura 1.9. Mecanismo de atomización por flama: Elaborada por el autor.

La cabeza del quemador consiste de una ranura horizontal en donde se produce la flama.

Para evitar una reversión hacia el quemador y una explosión en la cámara de mezclado, la velocidad de la corriente de la mezcla de combustible y oxidante a través del quemador debe ser por lo menos igual a la velocidad de quemado, pero para mantener un margen de seguridad, la velocidad de la corriente debe ser varias veces mayor que la velocidad de quemado. La velocidad de quemado de una mezcla combustible–oxidante es función de su composición y ésta alcanza su valor máximo cerca de su proporción estequiométrica. En la *Figura 1.10* se ilustra un sistema nebulizador–quemador con las partes que lo conforman.

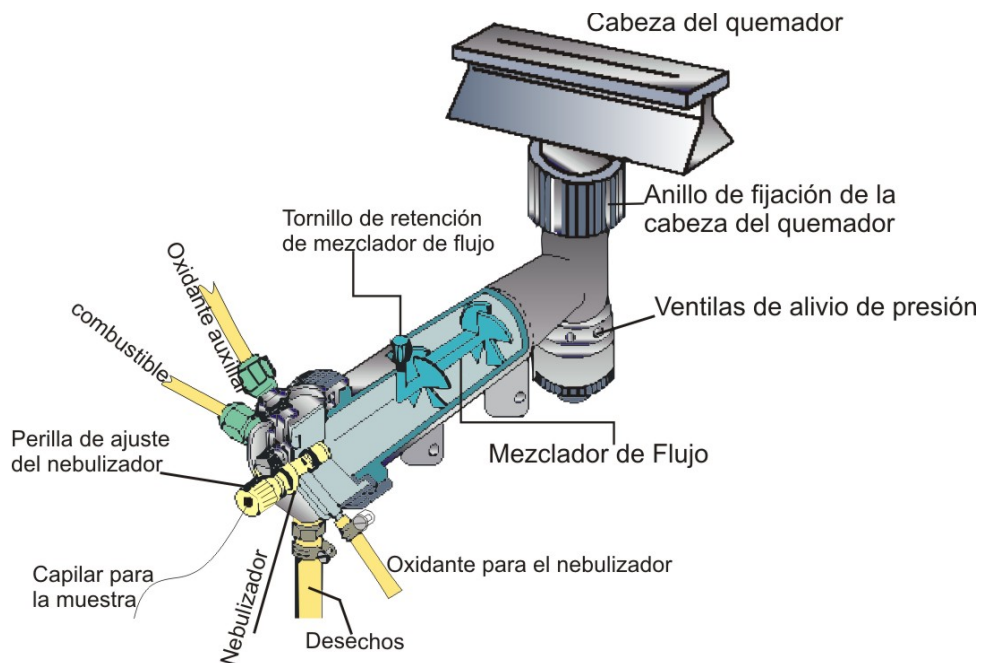


Figura 1.10. Quemador de ranura con nebulizador: Elaborada por el autor.

Tabla 1.2. Temperaturas de flama y velocidades de quemado de flamas premezcladas comunes.

Combustible	Oxidante	Temperatura (°C)	Velocidad de quemado (cm/seg)
Gas Natural	Aire	1700-1900	55
Propano	Aire	1925	-
Propano	Oxígeno	2800	-
Hidrógeno	Aire	2000-2050	320-440
Acetileno	Aire	2120-2400	160
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	915
Acetileno	Oxido nitroso	2600-2800	460
Acetileno	Oxígeno	3050-3130	1100

Tomado de: Hobart H. Willard, Lynne L. Merrit, John A. Dean, *Métodos instrumentales de análisis*, (compañía editorial continental S.A., México, cuarta impresión) pp. 383.

1.2.3 Detectores

Los dispositivos de detección para equipos espectroscópicos son generalmente *transductores* que convierten la energía radiante en una señal eléctrica. Al medirse energía radiante se necesita generalmente de una amplificación para que la señal eléctrica producida pueda ser interpretada con mayor facilidad. Las características que debe reunir un detector son: Alta sensibilidad, respuesta constante, amplio intervalo de detección y mínimo tiempo de respuesta.

En lo que respecta a los espectrómetros de absorción atómica los detectores mayormente utilizados son los tubos fotomultiplicadores, ya que ofrecen la ventaja de poder detectar potencias radiantes de poca intensidad.

1.2.4 Manejo de la muestra

Una característica de absorción atómica, para casi cualquier tipo de celda que se utilice en el análisis, es que el analito se encuentre en solución para poder efectuar el análisis. Lo anterior aplica al análisis por flama ya que la muestra es nebulizada previamente a su atomización.

Por lo anterior se debe hacer una digestión de la muestra para eliminar los sólidos y los componentes orgánicos que puedan interferir con el análisis cuidando que los reactivos utilizados no generen problemas de interferencia. Una vez que el analito se encuentra en solución se procede a realizar el análisis. La digestión se puede realizar generalmente con una mezcla de ácidos sulfúrico y nítrico calientes.

Cabe mencionar que en el horno de grafito se pueden analizar muestras sólidas o sin diluir ya que el horno alcanza temperaturas tan altas que éste logra calcinar la muestra lográndose la atomización de la misma sin necesidad de un tratamiento previo de la muestra.

1.3 Aseguramiento de la Calidad

El aseguramiento de la calidad se refiere al cumplimiento de requisitos que proporcionan la certeza de que se cumple con estándares de calidad predefinidos que garantizan un nivel de confianza de los resultados. Los requisitos establecidos para el aseguramiento de la calidad contemplan todos los aspectos de la actividad del laboratorio, desde el muestreo, métodos de prueba, operación y mantenimiento de los equipos e instrumentos, generación de resultados, procedimientos de acciones correctivas, hasta la emisión de informes. De este modo se asegura la competencia de un laboratorio para realizar los análisis de manera adecuada y por lo tanto la confiabilidad de los resultados que reporten.

Al aplicar un método de análisis se debe evaluar que tan confiables son los resultados obtenidos de la implantación de dicho método en el laboratorio donde se aplique, es para ello que se aplican ciertos parámetros de calidad que dependen del origen del método a utilizar.

Los métodos de análisis químico se pueden elaborar: por el mismo laboratorio en base a libros o artículos de divulgación científica o en base a métodos normalizados (proveniente de una norma validada). En el primero de los casos al ser un método nuevo se necesita una validación completa del método analítico; para el segundo caso únicamente se requiere evaluar parámetros básicos que aseguren la confiabilidad de los resultados ya que el análisis se efectúa en base a métodos ya validados.

Cuando se trata de una evaluación completa del método se deben evaluar los siguientes parámetros: Recuperación, sensibilidad, selectividad, repetibilidad, reproducibilidad, robustez, sesgo, incertidumbre, intervalo de trabajo, límite de detección, de cuantificación y de linealidad del método. En caso de una validación parcial del método, también llamada semivalidación, sólo se evalúan ciertos parámetros que garanticen la confiabilidad de los resultados obtenidos: Recuperación, Límite de Detección del Método (LDM), Límite de Cuantificación del

Método (LCM) y Límite de Linealidad del Método (LLM), reproducibilidad, repetibilidad, sesgo e incertidumbre.

En el caso particular de este trabajo, como criterio de aseguramiento de calidad se aplicó un protocolo de semivalidación del método, en dicho protocolo se evalúan los criterios mínimos indispensables de calidad mismos que se describen a continuación:

Límite de Cuantificación del Método (LCM). Es la menor concentración de un analito en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

Límite de Detección del Método (LDM). Es la mínima concentración de un analito en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

Límite de Linealidad del Método (LLM). Es la concentración máxima de un analito a la que el método ha sido probado y a la cual una muestra puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables a las condiciones a las que se lleva a cabo el método.

Coefficiente de Variación (CV). Mide el grado de lejanía de los datos respecto a la media aritmética.

Coefficiente de Correlación lineal (R). Mide el grado de relación entre dos variables, es decir, el grado en que las variaciones de una de las variables repercuten en la otra

Con los límites de cuantificación, de detección y de linealidad se obtiene el intervalo de trabajo en el cual los resultados obtenidos son confiables.

CAPÍTULO 2

Metodología de Análisis

En este capítulo se presenta la metodología de análisis diseñada para el análisis de metales pesados (cobre, fierro y plomo) en duraznos y verduras enlatadas por espectroscopia de absorción atómica, denominado protocolo de análisis en el presente trabajo. Con la finalidad de asegurar la confiabilidad de los resultados obtenidos con esta metodología se estableció también un protocolo de semivalidación que incluye la determinación de los parámetros básicos de evaluación del método.

A continuación se describen los protocolos de análisis y de semivalidación diseñados.

2.1 Estructuración de Protocolo Propio de Análisis

Para la elaboración del protocolo de análisis se revisaron normas nacionales e internacionales relativas a los alimentos, además de consultaron métodos de análisis de alimentos de diversos artículos de divulgación científica existentes a la fecha con el fin de recopilar la información necesaria para sustentar el problema planteado. Una vez que se revisó la información de normas y artículos científicos se seleccionaron únicamente aquellos que contenían información referente al análisis de metales para ser utilizados como guía en la elaboración del protocolo propio de análisis. Finalmente se desarrolló en protocolo de análisis considerando que el procedimiento final debía ser lo más seguro posible y de fácil aplicación.

Para la elaboración del protocolo de análisis se utilizó como referencia la norma oficial mexicana “NOM-117-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica”. Dicha norma plantea un procedimiento para análisis de alimentos sólidos y semisólidos.

Al tomarse como base para la elaboración del protocolo de análisis una *Norma Oficial Mexicana* (NOM) el método ya está validado y por lo tanto se sabe que se

obtienen resultados confiables con él, sin embargo el método de análisis debe adecuarse a las condiciones propias del laboratorio donde se efectuará el análisis por lo que se elabora un protocolo propio de análisis, a esto se le conoce como *Implantación del método* que es partir de un método general y adaptarlo a las condiciones propias del laboratorio en que se aplicará.

El protocolo de análisis elaborado se presenta con el formato final de autorización y en su forma completa como anexo en este trabajo (Anexo 1), para hacer referencia a él se identifica con el siguiente nombre y código de identificación:

DMAAF-01 “Determinación de metales (cobre, fierro y plomo) en alimentos enlatados por espectroscopia de absorción atómica en base a la NOM-117-SSA1-1994”.

A continuación se describe el protocolo de análisis utilizado para el análisis de duraznos y verduras enlatadas:

Materiales Utilizados.

- ↳ Crisoles de porcelana.
- ↳ Mortero de porcelana.
- ↳ Matraces de aforados de 100 ml y 500 ml.
- ↳ Embudo de filtración.
- ↳ Papel Whatman No.4.
- ↳ Pipetas volumétricas de 2 y 5 ml.
- ↳ Pipetas graduadas de diferentes capacidades.
- ↳ Propipeta.
- ↳ Probetas de 50 ml.
- ↳ Mechero de Bunsen.
- ↳ Manguera de látex.
- ↳ Pinzas para crisol.
- ↳ Coladera de plástico.

- ✦ Abrelatas.
- ✦ Triángulos de porcelana.
- ✦ Vidrio de reloj.
- ✦ Tripie.

Equipos.

- ✦ Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.
- ✦ Parrilla de calentamiento.
- ✦ Espectrofotómetro de absorción atómica con atomizador de flama. Marca Perkin Elmer, Modelo AAnalyst 300.
- ✦ Mufla que alcance 550 °C.
- ✦ Lámparas de cátodo hueco para los elementos a determinar.

Reactivos.

- ✦ Soluciones estándar de referencia certificadas de cada uno de los metales.
- ✦ Ácido nítrico concentrado.
- ✦ Ácido clorhídrico concentrado.
- ✦ Aire comprimido seco y limpio.
- ✦ Agua deionizada.
- ✦ Acetileno grado absorción atómica.

Preparación de Soluciones.

Ácido nítrico al 50%.

Medir 50 ml de agua deionizada con una probeta y verter en un matraz aforado de 100 ml.

Medir 50 ml de HNO₃ concentrado con una probeta y verter, lentamente y cuidando que el ácido escurra por la pared interna, en el matraz aforado que contiene los 50 ml de agua deionizada.

Ácido clorhídrico 1N.

Medir 48 ml de agua deionizada con una probeta de 500 ml y verter en un matraz aforado de 500ml.

Medir 42 ml de HCl con una pipeta y verter, lentamente y cuidando que el HCl escurra por las paredes en un matraz aforado de 500 ml y agregar cuidadosamente agua deionizada hasta la marca del matraz.

ESTÁNDARES DE CALIBRACIÓN

Los estándares de calibración se prepararon diluyendo la solución patrón del metal, de la siguiente manera:

Las soluciones de calibración se prepararon usando el mismo tipo de ácidos y a la misma concentración en que se encuentra en la muestra después de su digestión.

Para todos los metales a analizar se prepararán estándares con las siguientes concentraciones en ppm (mg/L): 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.6, 3.2 y 6. Con el mismo porcentaje de acidez con el que las muestras sean preparadas.

Tratamiento de la Muestra.

- ↳ Lavar la parte superior de la lata para evitar contaminación del producto.
- ↳ Homogenizar la muestra por agitación e inversión repetida de la lata.
- ↳ Abrir la lata teniendo cuidado de no tocar los bodes filosos.
- ↳ Transferir el contenido de la lata a un vaso de precipitados e identificar el vaso de precipitados con la clave asignada al producto.
- ↳ Dejar escurrir la muestra en una coladera de plástico recuperando el líquido en el mismo vaso de precipitados al que se transfirió al extraerlo de la lata.
- ↳ Macerar aproximadamente 50 g de la muestra inicial.
- ↳ Pesar 10 g de la muestra macerada y transferir a un crisol de porcelana.
- ↳ Carbonizar las muestras en flama hasta la ausencia de humo.
- ↳ Colocar el crisol en la mufla y elevar la temperatura a 500 °C, posteriormente elevar la temperatura gradualmente hasta 550°C. Mantener la temperatura 16 horas o toda la noche.
- ↳ Apagar la mufla y dejar enfriar.
- ↳ Eliminar residuos de carbón: Lavar las paredes del crisol con 2 ml de ácido nítrico al 50%.
- ↳ Disolver las cenizas completamente en 5ml de ácido clorhídrico 1N, transferir la muestra a un vaso de precipitados, enjuagar el crisol con 2 alícuotas de 5 ml de ácido clorhídrico 1N y transferir al mismo vaso de precipitados. Mezclar y tapar el vaso con un vidrio de reloj.
- ↳ Colocar el vaso de precipitados en una parrilla de calentamiento y dejar hasta que la solución sea totalmente transparente.
- ↳ Dejar enfriar la muestra.
- ↳ Lavar los vidrios de reloj con agua deionizada recolectando los lavados dentro de cada vaso.
- ↳ Filtrar en papel Whatman No.4 y recolectando en un matraz aforado de 100 ml, antes de la determinación.
- ↳ Aforar el matraz con agua deionizada.
- ↳ Correr un blanco de reactivos y de digestión.

- ✦ Proceder a leer en espectrofotómetro de absorción atómica.

Operación del Equipo.

Para consultar lo referente a la calibración y operación del equipo consultar el Anexo 1 del presente trabajo en la página 10 de 14 del protocolo de análisis.

Las muestras son analizadas en el equipo de absorción atómica realizando tres réplicas tomando los valores obtenidos de cada una para obtener una concentración promedio y se presentan de acuerdo a la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Formato para la presentación de resultados.

Muestra	Concentración (mg/l)			Concentración promedio (mg/L)
	1	2	3	
Muestra1				
Muestra2				
⋮

Resultados.

Los resultados se expresan en mg/kg.

Los datos obtenidos del espectrofotómetro se obtienen en mg/L por lo que se para cambiar de unidades se emplea la siguiente fórmula:

$$mg/kg = \frac{C \times V}{P}$$

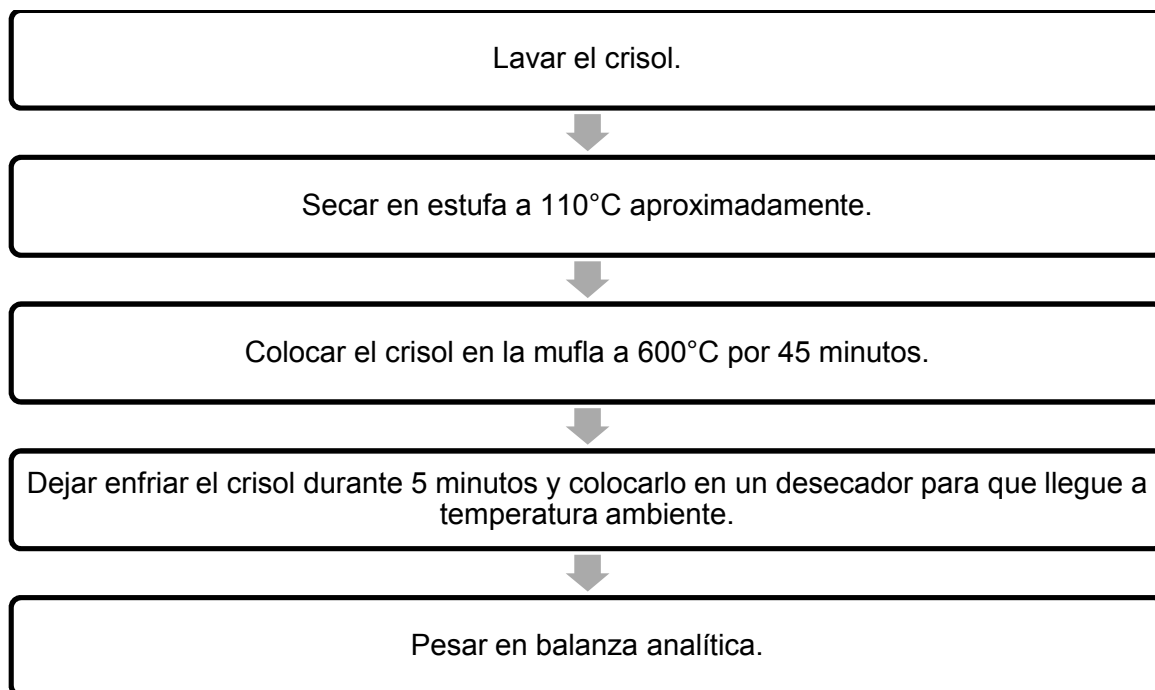
Donde:

C = Concentración del elemento encontrado en la muestra (mg/L).

V = Volumen final al que se llevo la muestra (L).

P = Peso inicial de la muestra (kg).

Previo a utilizarse los crisoles fueron llevados a peso constante, para ello se siguió el siguiente procedimiento:



El proceso se repite al menos otra ocasión hasta que la diferencia entre pesadas no sea mayor a 5 diezmilésimas (0.0005).

La razón de haber llevado a peso constante los crisoles antes de tratar cada muestra fue para asegurarse que el crisol se encontrara libre de impurezas que pudieran afectar los resultados finales del análisis, ya que al lavar el crisol y calentarlo en la mufla los residuos orgánicos de muestras anteriores se calcinan y se eliminan con facilidad. Prueba de esto es que al recibirse los crisoles con que se trabajó estos presentaban manchas de algún análisis anterior incluso después del lavado, posterior a que se pusieron en la mufla a aproximadamente 600°C dichas manchas se pudieron eliminar con un segundo lavado.

2.2. Protocolo de Semivalidación del Método Analítico

En la sección 1.3 del Capítulo 1 del presente trabajo ya se habló de en qué consiste una validación y una semivalidación de un método analítico. La validación de un método de análisis tiene como fin examinar las características de desempeño del mismo para identificar y establecer cualquier limitación que se pueda esperar del mismo. Además se establecen los alcances del método teniendo en cuenta la variedad de matrices a que puede aplicarse, mientras que la semivalidación, o validación parcial de un método, se efectúa con el propósito de establecer los parámetros óptimos de operación del método de análisis en el laboratorio donde será ejecutado. Se determina el rango de valores en que son confiables los resultados obtenidos con dicho método.

El protocolo para la semivalidación del método de análisis se encuentra como anexo al trabajo (Anexo 2) ya que se presenta con el formato de autorización, en adelante para referirse a éste se identifica con el siguiente nombre y código de identificación:

SVM-01. “Semivalidación del Método”.

A continuación se presenta el procedimiento utilizado para la semivalidación del método de análisis utilizado:

Materiales.

- ↳ Vasos de precipitados de diferentes capacidades.
- ↳ Pipetas graduadas de diferentes capacidades.
- ↳ Pipetas volumétricas de diferentes capacidades.
- ↳ Matraces aforados de 50, 100, y 250 mL.

Equipos.

- ↳ Espectrofotómetro de absorción atómica con atomizador de flama.
- ↳ Lámparas de cátodo hueco para los elementos a determinar.

Reactivos.

- ↳ Soluciones estándares de referencia certificadas de cada uno de los metales.
- ↳ Ácido clorhídrico concentrado.
- ↳ Ácido nítrico concentrado.
- ↳ Agua deionizada.

Soluciones.

- ↳ Ácido nítrico 50% v/v.
- ↳ Ácido clorhídrico 1N.

Preparación de Soluciones.

Ácido nítrico al 50%.

Medir 50 mL de agua deionizada con una probeta y verter en un matraz aforado de 100 mL.

Medir 50 mL de HNO₃ concentrado con una probeta y verter, lentamente y cuidando que el ácido escurra por la pared interna, en el matraz aforado que contiene los 50 mL de agua deionizada.

Ácido clorhídrico 1N.

Se trabajó con ácido clorhídrico con una pureza del 37.3%, en base a lo cual se hicieron los cálculos para la preparación de la solución.

Medir 50 mL de agua deionizada con una probeta de 500 mL y verter en un matraz aforado de 500 mL.

Medir 42 mL de HCl con una pipeta y verter, lentamente y cuidando que el HCl escurra por las paredes en un matraz aforado de 500 mL y agregar cuidadosamente agua deionizada hasta la marca del matraz.

Soluciones Estándar.

A partir de la solución madre cuya concentración de los metales problema es:

Tabla 2.2. Concentración de metales problema en la solución madre.

Metal	Concentración (µg/mL)	Metal	Concentración (µg/mL)	Metal	Concentración (µg/mL)
Cu	200	Fe	200	Pb	200

Se preparó una solución secundaria de concentración 10 µg/mL para cada metal. Para ello se tomaron 5 mL de la solución madre y aforaron a 100 mL con agua deionizada.

Tabla 2.3. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Cobre.

Estándar No.	Concentración requerida (µg/mL)	Volumen de estándar requerido (mL)
1	0.0	0
2	0.2	2
3	0.4	4
4	0.6	6
5	0.8	8
6	1.0	10

Tabla 2.4. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Hierro.

Estándar No.	Concentración requerida (µg/mL)	Volumen de estándar requerido (mL)
1	0.0	0
2	0.2	2
3	0.4	4
4	0.6	6
5	0.8	8
6	1.0	10

Tabla 2.5. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Plomo.

Estándar No.	Concentración requerida (µg/mL)	Volumen de estándar requerido (mL)
1	0	0
2	0.2	2
3	0.4	4
4	0.6	6
5	0.8	8
6	1	10

Preparación de Estándares

Los estándares se prepararon de igual manera que se prepararon las muestras, con el mismo porcentaje de acidez. Para ello se tomó el volumen calculado de la solución secundaria de concentración 10 ppm, se agregaron 2 mL de HNO₃ 50% v/v y 15 mL de HCl 1N y posteriormente se aforó a 100 mL con agua deionizada.

PROCEDIMIENTO.

Determinación del Intervalo de Trabajo.

1. Se preparó una curva de calibración de 5 puntos para cada metal.
2. Se obtuvieron los valores de absorbancia $Y_{i,n}$ de los puntos de la curva de calibración, el número de réplicas (n) fue de 5.

De cada serie de datos se obtuvo la desviación estándar (S_i) y el promedio de la absorbancia (\bar{Y}_i), con éstos dos últimos se calculó el coeficiente de variación (CV_i).

3. Se efectuó una comprobación visual de la linealidad entre la absorbancia promedio (\bar{Y}_i) y la concentración graficando \bar{Y}_i vs X_i .
4. Se determinó el coeficiente de correlación lineal.

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Como criterio de aceptación se tomó: Si $r \geq 0,995$ se acepta, sino rechazar y regresar al punto 2.

5. Una vez que se cumplieron las condiciones (3) y (4), se calculó la pendiente (m) y el punto de intersección (b) de la recta en el eje Y, por medio del método de los mínimos cuadrados: $y = m x + b$
6. Se Calcularon las desviaciones $S_{\bar{Y}/\hat{Y}}$ entre los valores calculados por medio de la ecuación de la línea recta (\hat{Y}_i) y los valores experimentales (\bar{Y}_i).

Por definición $S_{\bar{Y}/\hat{Y}}$ es igual a la desviación estándar del blanco (S_B) y el término independiente de la línea recta (b) es igual a la absorbancia del blanco (Y_B).

7. Con los valores obtenidos se calcularon Y_{LDM} y Y_{LCM} . Sustituyendo estos valores en la ecuación de la línea recta se calcularon las concentraciones correspondientes: X_{LDM} y X_{LCM} . Con el valor X_{LCM} se obtuvo el primer punto confiable de la línea recta.
8. Con lo anterior se calcularon el Límite de Detección del Método (LDM) y el Límite de Cuantificación del Método (LCM).

$$Y_{LDM} = Y_B + 3S_B$$

$$Y_{LCM} = Y_B + 10S_B$$

9. Finalmente se obtuvo el Límite de Linealidad del método (LLM) para esta serie de puntos. Se comparó el coeficiente de variación (CV_i) obtenido para cada punto, aceptándolo si cumple con el criterio $CV_i \leq 4\%$. Si los puntos de concentraciones más altas de la recta cumplían con este criterio se aceptaban y con ello se obtuvo el Límite de Linealidad de la curva.

Con el LCM y el LLM se obtuvo el intervalo lineal confiable de trabajo para cada serie de datos.

El cálculo de la desviación estándar para el blanco se presenta con el siguiente formato de tabla en el capítulo 3:

Tabla 2.6. Formato de tabla para requisitar datos para calcular la desviación estándar del blanco.

Punto de la curva	Concentración (x)	Absorbancia experimental	Absorbancia calculada	$(\bar{Y} - \hat{Y})$	$(\bar{Y} - \hat{Y})^2$
n	mg/L	\bar{Y}	\hat{Y}		
0				---	---
1					
⋮	⋮
				$\Sigma =$	χ

Calculando la desviación estándar del blanco con la fórmula:

$$S_{Y/C} = \sqrt{\frac{\sum(\bar{Y} - \hat{Y})^2}{n - 2}}$$

RESULTADOS.

Para las curvas de calibración el equipo se programó para hacer cinco réplicas de la lectura y se tomó el dato de la absorbancia de cada una de ellas para presentarlos como se ejemplifica en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7. Formato de tabla para registrar los datos para construir una curva de calibración.

Punto de la curva	Concentración (mg/l)	Absorbancia					Promedio \bar{Y}	Desviación estándar S	Coeficiente de variación CV
		1	2	3	4	5			
1									
2									
3									

Los resultados completos para la semivalidación del método se presentan en el Capítulo 3.

2.3. Elementos Necesarios para la Aplicación del Método

Para garantizar la calidad de un análisis se necesita que el laboratorio donde se llevará a cabo cuente con lo necesario para la correcta aplicación del método, esto es, que cuente con las instalaciones adecuadas; que haya el material, reactivos, y equipo necesarios para la aplicación del método y que en todo momento el analista tenga a su alcance el(los) protocolo(s) donde se describe el método de análisis a aplicar.

Los protocolos de análisis se siguieron al pie de la letra como fueron elaborados, ya que todas las etapas de los protocolos son insustituibles y se tuvo el cuidado de reportar cualquier desviación de dichos procedimientos.

Durante la experimentación se tuvo la precaución de utilizar la campana de extracción de gases para la etapa de carbonización en flama para evitar que los gases de combustión se dispersaran en el interior del laboratorio.

En cuanto a los reactivos utilizados, se utilizó agua grado reactivo (agua deionizada) tanto para la preparación de las soluciones utilizadas como para la preparación de las muestras y el lavado del material utilizado. Para la preparación de las soluciones estándar para las curvas de calibración se utilizaron estándares de referencia certificados. Para el análisis espectroscópico se utilizó acetileno grado absorción atómica y aire seco y limpio.

Antes de utilizar cualquier material o equipo del laboratorio realizó una limpieza de ellos para evitar que los resultados del análisis se vieran afectados por la presencia de sustancias ajenas a las muestras.

En lo referente al uso de los equipos (balanza analítica, parrilla de calentamiento, espectrofotómetro de absorción atómica, mufla, lámparas) se verificó que estos estuvieran en buenas condiciones para utilizarlos, en el caso particular de la balanza analítica utilizada se tuvo la precaución de nivelarla correctamente sobre la mesa de trabajo antes de utilizarla y de utilizar siempre la misma balanza analítica para la toma de datos. El espectrofotómetro fue ajustado cada vez antes de ser

utilizado con una solución de cobre para optimizar la exactitud de los datos obtenidos.

En la Tabla 2.8 se enlistan los equipos e instrumentos utilizados y las características necesarias para ser utilizados.

Tabla 2.8. Características de los materiales, equipos e instrumentos utilizados.

Equipos/Materiales	Características
Agitador magnético.	Velocidad variable, temperatura variable.
Balanza analítica	Precisión 0.1 mg.
Espectrómetro	Sistema de registro. Sistema nebulizador-quemador para aire-acetileno. Aire/acetileno grado absorción atómica. Intervalo de trabajo 200 nm – 900 nm Posibilidad de varios tipos y capacidades de celdas.
Mufla	Que alcance temperaturas superiores a 450 °C.
Material de vidrio	Debe ser material de vidrio clase A o certificado.

CAPÍTULO 3

Resultados

Las muestras utilizadas para la experimentación fueron adquiridas en diferentes centros comerciales, una de las características por las cuales se eligieron fue que la lata se encontrara deteriorada de alguna manera (golpeada o con ligera oxidación en el cuerpo).

3.1 Descripción y Pretratamiento (digestión) de la Muestra

La porción de muestra a analizar se tomó homogenizando el contenido y tomando muestra de la parte superior, media e inferior de cada lata para obtener una muestra lo más representativa posible. Para ello se tomó aproximadamente la mitad de un durazno de la parte superior al igual que de uno de la parte media e inferior de la lata. Lo mismo se hizo para las verduras mixtas (todas las muestras contenían papa, chícharo, zanahoria y ejotes a demás de la salmuera) cuidando que la porción de muestra contuviera todas las verduras que integraban a la muestra completa.

Después de la calcinación en mufla, los duraznos en almíbar presentaron cenizas de color ligeramente gris, por otro lado las cenizas obtenidas al calcinar las verduras resultaron totalmente negras (Figura 3.1).

La experimentación se realizó de acuerdo al protocolo "DMAAF-01". La única desviación del procedimiento fue que posterior a la digestión de los duraznos en almíbar no se necesito filtrar debido a que las cenizas se disolvieron en su totalidad con la digestión ácida.

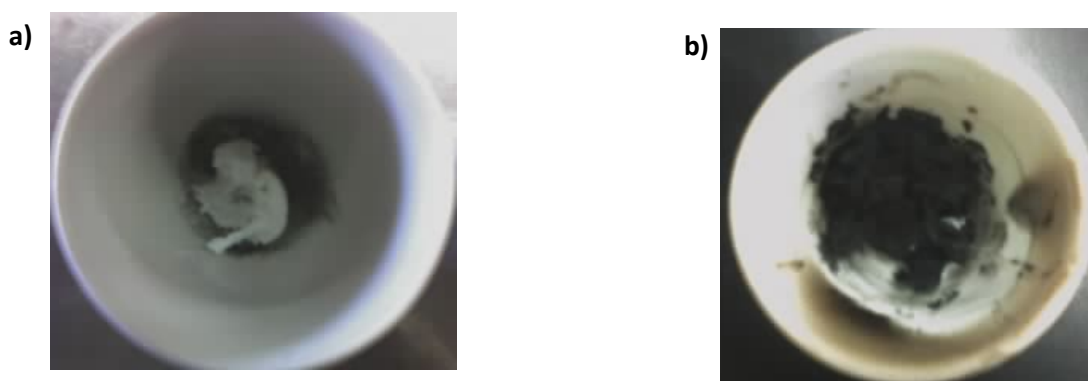


Figura 3.1. Cenizas resultantes de calcinación en mufla de duraznos en almíbar y verduras mixtas.
 a) Cenizas resultantes de calcinación de duraznos en almíbar.
 b) Cenizas resultantes de calcinación de verduras mixtas.

Al realizar la digestión ácida, las cenizas de los duraznos en almíbar se diluyeron en su totalidad obteniéndose una solución transparente y evitando la necesidad de filtrar. No así para las cenizas obtenidas de la calcinación de las verduras mixtas, las cuales después de la digestión ácida aún presentaban partículas suspendidas (ver Figura 3.2), por lo cual se debió filtrar la solución resultante.

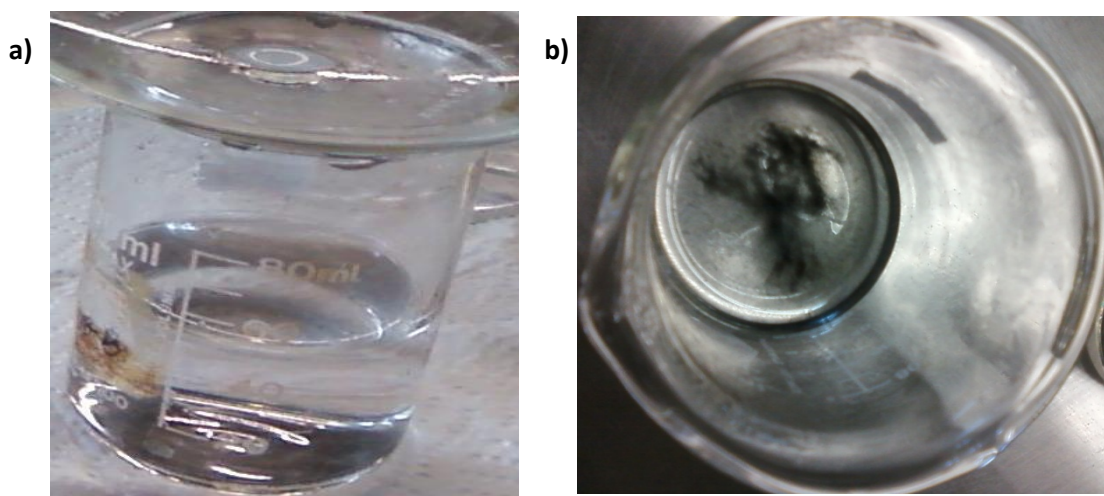


Figura 3.2. Digestión ácida de muestras.
 a) Muestra de duraznos en almíbar, totalmente transparente.
 b) Muestra de verduras mixtas, con cenizas que no se diluyeron.

A cada muestra se le asignó una clave con la que se identifica: si la muestra es de duraznos o verduras enlatadas, el nombre de la marca que fabricó el producto enlatado y finalmente el lugar donde se compro. A continuación en la *Tabla 3.1* se describe la clave asignada a cada muestra:

Tabla 3.1. Descripción de claves asignadas a las muestras analizadas.

Clave	Marca	País de origen
Duraznos en almíbar.		
DSG-W1	Sunshine Garden	China
DSG-W2	Sunshine Garden	
DR-W1	Regimel	Chile
DR-W2	Regimel	
DGV-A1	Great Value	China
DGV-A2	Great Value	
DMP-A1	Mission Pride	Estados Unidos de América
DMP-A2	Mission Pride	
Verduras mixtas		
VH-S1	Herdez	México
VH-S2	Herdez	
V-S1	Soriana	México
V-S2	Soriana	
VDM-A1	Del monte	México
VDM-A2	Del monte	
VLC-S1	La Costeña	México
VLC-S2	La Costeña	

Los datos de experimentación se muestran en la *Tabla 3.2* (siguiente página).

Tabla 3.2. Datos experimentales para la determinación de metales en alimentos enlatados por espectroscopia de absorción atómica.

No. Muestra	Clave	Eliminación de líquido. Ecurrimiento	Macerar	Tamaño muestra	Carbonizar en flama	Mufla 550°C	HNO ₃ 50%	HCl 1N	Digestión en parrilla	Agua deionizada	Volumen final
		(min)	(min)	(g)	(min)	(h)	(mL)	(mL)	(min)	(mL)	(mL)
1	DSG-W1	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
2	DSG-W2	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
3	DGV-A1	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
4	DGV-A2	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
5	DMP-A3	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
6	DMP-A4	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
7	DR-W3	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
8	DR-W4	30	50	10	20	16	2	15	30	83	100
9	V-H-S1	30	40	10	35	16	2	15	30	83	100
10	V-H-S2	30	40	10	35	16	2	15	30	83	100
11	V-DM-A1	30	40	10	40	16	2	15	30	83	100
12	V-DM-A2	30	40	10	40	16	2	15	30	83	100
13	V-LC-S1	30	40	10	35	16	2	15	30	83	100
14	V-LC-S2	30	40	10	35	16	2	15	30	83	100
15	V-S1	30	40	10	40	16	2	15	30	83	100
16	V-S2	30	40	10	40	16	2	15	30	83	100

3.2 Preparación de Estándares

Los estándares utilizados para construir las curvas de calibración se prepararon a partir de una solución multicomponente identificada como “High purity standards. Cat #CCV-1 Continuing check verification. Standard 1 (solution A) $\mu\text{g/mL}$ in 14% HNO_3 + TrHF”, compuesta como se indica a continuación:

Tabla 3.3. Concentración de metales en la solución madre.

Metal	$\mu\text{g/mL}$	Metal	$\mu\text{g/mL}$	Metal	$\mu\text{g/mL}$	Metal	$\mu\text{g/mL}$
Al	200	As	200	Ba	100	Be	100
Bi	200	B	200	Cd	100	Ca	200
Cr	50	Co	100	Cu	200	Fe	200
Pb	200	Li	200	Mg	200	Mn	100
Mo	200	Ni	200	P	500	K	500
Se	200	Sr	200	Tl	200	V	100
Zn	100						

Cálculos.

Los cálculos para preparar las soluciones de los tres metales son idénticas por lo que solo se hacen cálculos demostrativos tomando como ejemplo el cobre.

Se prepararon soluciones secundarias, 100 mL de solución con una concentración de 10 ppm de cada metal (Cu, Fe y Pb).

$$\text{Utilizando: } C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Por lo tanto:

$$(200 \text{ ppm})(V_1) = (10 \text{ ppm})(100 \text{ ml})$$

$$V_1 = \frac{(10 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(200 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Por lo tanto tomaron 5 mL de la solución madre (que contiene 200 ppm de Cu) y aforar a 100 mL.

Se esperaba que la concentración de los metales no fuera muy alta por lo que la curva de calibración se construyó con concentraciones de: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ppm.

0.2 ppm

Se prepararon 100 mL de una solución con 2 µg/mL de Cu, a partir de una solución de Cu de 10 µg/mL.

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{(0.2 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(10 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

0.4 ppm

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{(0.4 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(10 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

0.6 ppm

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{(0.6 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(10 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 6 \text{ ml}$$

0.8 ppm

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{(0.8 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(10 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

1 ppm

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{(1 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{(10 \text{ ppm})}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Tabla 3.4. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Cobre.

Estándar No.	Concentración requerida (ppm)	Volumen de estándar que se necesita (mL)
1	0.2	2
2	0.4	4
3	0.6	6
4	0.8	8
5	1	10

Tabla 3.5. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Hierro.

Estándar No.	Concentración requerida (ppm)	Volumen de estándar que se necesita (mL)
1	0.2	2
2	0.4	4
3	0.6	6
4	0.8	8
5	1	10

Tabla 3.6. Volúmenes calculados para la preparación de estándares de Plomo.

Estándar No.	Concentración requerida (ppm)	Volumen de estándar que se necesita (mL)
1	0.2	2
2	0.4	4
3	0.6	6
4	0.8	8
5	1	10

Preparación de Estándares

Los estándares se prepararon de igual manera que se prepararon las muestras, con el mismo porcentaje de acidez. Por lo tanto se tomó el volumen calculado de la solución secundaria de concentración 10 ppm, se agregaron 2 mL de HNO₃ 50% v/v y 15 mL de HCl 1N, posteriormente se aforó a 100 mL.

Una vez que se tuvieron listos tanto los estándares para las curvas de calibración como las muestras a analizar, se procedió a utilizar el espectrofotómetro de absorción atómica; una vez hecho esto se procedió al análisis de los datos obtenidos iniciando con la semivalidación parcial del método para saber si se podían utilizar los datos obtenidos o se debía hacer una segunda toma de datos.

3.2.1 Semivalidación del Método.

Los cálculos que se elaboran son similares para los tres elementos analizados por lo que se presentan de manera demostrativa únicamente los cálculos para cobre, para el resto de los elementos sólo se presentan los resultados.

Curvas de Calibración.

Cobre (Cu):

Tabla 3.7. Datos para construir la curva de calibración de Cobre (Cu).

Punto de la curva	Concentración (x) (mg/l)	Absorbancia					Absorbancia promedio (\bar{Y})	Desviación estándar S	Coeficiente de variación CV
		1	2	3	4	5			
0	0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000000	---	
1	0.2	0.012	0.011	0.012	0.011	0.012	0.000707	5.9	
2	0.4	0.022	0.022	0.022	0.021	0.022	0.000500	2.3	
3	0.6	0.031	0.031	0.031	0.030	0.031	0.000500	1.6	
4	0.8	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.000000	0.0	
5	1.0	0.050	0.050	0.049	0.049	0.050	0.000707	1.4	

Cálculo de Desviaciones Estándar y Coeficientes de Variación.

Utilizando:

Desviación estándar.

Coeficiente de variación.

$$S = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{Y}} (100)$$

Para 0.2 ppm

$$S = \sqrt{\frac{(0.012 - 0.012)^2 + (0.011 - 0.012)^2 + (0.012 - 0.012)^2 + (0.011 - 0.012)^2 + (0.012 - 0.012)^2}{5 - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{2 \times 10^{-6}}{4}} = 0.000707$$

$$CV = \frac{0.000707}{0.012} (100) = 5.892$$

Para 0.4 ppm

$$S = \sqrt{\frac{(0)^2 + (0)^2 + (0)^2 + (0.021 - 0.022)^2 + (0)^2}{5 - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{1 \times 10^{-6}}{4}} = 0.0005$$

$$CV = \frac{0.0005}{0.022} (100) = 2.273$$

Para 0.6 ppm

$$S = \sqrt{\frac{(0)^2 + (0)^2 + (0)^2 + (0.030 - 0.031)^2 + (0)^2}{5 - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{1 \times 10^{-6}}{4}} = 0.0005$$

$$CV = \frac{0.0005}{0.031} (100) = 1.613$$

Para 0.8 ppm

$$S = \sqrt{\frac{(0)^2 + (0)^2 + (0.049 - 0.050)^2 + (0.049 - 0.050)^2 + (0)^2}{5 - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{2 \times 10^{-6}}{4}} = 0.00707$$

$$CV = \frac{0.000707}{0.050} (100) = 1.414$$

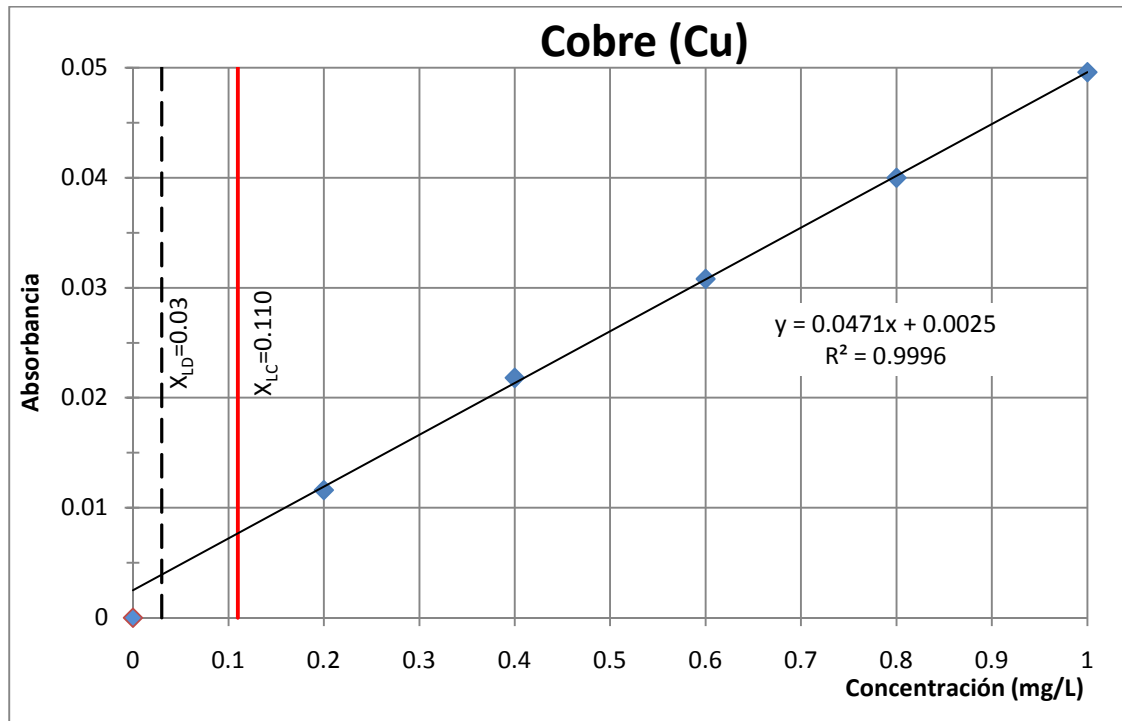


Figura 3.3. Curva de calibración de cobre.

Datos obtenidos:

$$R=0.9996$$

$$b=0.0025$$

$$m=0.0471$$

Cálculo de los Límites de Detección y de Cuantificación para Cu:

Tabla 3.8. Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Cobre (Cu).

Punto de la curva n	Concentración (x) mg/l	Absorbancia experimental \bar{Y}	Absorbancia calculada \hat{Y}	$(\bar{Y} - \hat{Y})$	$(\bar{Y} - \hat{Y})^2$
0	0.0	0.000	0.0000	---	---
1	0.2	0.012	0.0119	0.0001	1.0×10^{-8}
2	0.4	0.022	0.0213	0.0007	4.9×10^{-7}
3	0.6	0.031	0.0308	0.0002	4.0×10^{-8}
4	0.8	0.040	0.0402	-0.0002	4.0×10^{-8}
5	1.0	0.050	0.0496	0.0004	1.6×10^{-7}
					$\Sigma = 7.4 \times 10^{-7}$

Cálculo de Absorbancia:

$$\hat{Y} = 0.0471x + 0.0025$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (0.0) + 0.0025 = 0.0000$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (0.2) + 0.0025 = 0.0119$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (0.4) + 0.0025 = 0.0213$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (0.6) + 0.0025 = 0.0308$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (0.8) + 0.0025 = 0.0402$$

$$\hat{Y} = 0.0471 (1.0) + 0.0025 = 0.0496$$

Debido a que se calcula un error asociado con una regresión lineal se utiliza:

$$S_{\bar{Y}/\hat{Y}} = \sqrt{\frac{\Sigma(\bar{Y}-\hat{Y})^2}{n-2}} \quad \therefore \quad S_{\bar{Y}/\hat{Y}} = \sqrt{\frac{7.4 \times 10^{-7}}{3}} = .000497$$

Se considera que el error ($S_{\bar{Y}/\hat{Y}}$) extrapolado a la concentración cero equivale a la desviación estándar del blanco (S_B) y que la ordenada al origen (b) de la ecuación de la recta corresponde a la señal del blanco (Y_B).

Límite de Detección de Cobre (Cu)

Cálculo de la señal del límite de detección:

$$Y_{LDM} = 0.0025 + 3(0.000497) = 0.0040$$

Cálculo de la concentración del límite de detección:

$$X_{LDM} = \frac{0.0040 - 0.0025}{0.0471} = 0.03$$

Límite de Cuantificación de Cobre (Cu)

Cálculo de la señal del límite de cuantificación:

$$Y_{LCM} = 0.0025 + 10(0.000497) = 0.0075$$

Cálculo de la concentración del límite de cuantificación:

$$X_{LCM} = \frac{0.0075 - 0.0025}{0.0471} = 0.11$$

Límite de Linealidad para Cobre (Cu)

$$Y_{LL} = 0.049$$

$$X_{LL} = 1.0$$

HIERRO (Fe):

Tabla 3.9. Datos para construir la curva de calibración de Hierro (Fe).

Punto de la curva	Concentración (x) (mg/l)	Absorbancia					Absorbancia promedio	Desviación estándar	Coficiente de variación
		1	2	3	4	5	(\bar{Y})	S	CV
0	0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000000	---
1	0.2	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.000000	0.0
2	0.4	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.000000	0.0
3	0.6	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.000000	0.0
4	0.8	0.033	0.033	0.032	0.034	0.033	0.033	0.000707	2.1
5	1.0	0.040	0.040	0.039	0.040	0.040	0.040	0.000500	1.3

Cálculo de Desviaciones Estándar y Coeficientes de Variación.

Para 0.8 ppm

$$S = 0.000707$$

$$CV = \frac{7.07 \times 10^{-4}}{0.033} \times 100 = 2.142$$

Para 1.0 ppm

$$S = 0.0005$$

$$CV = \frac{5.0 \times 10^{-4}}{0.040} \times 100 = 1.250$$

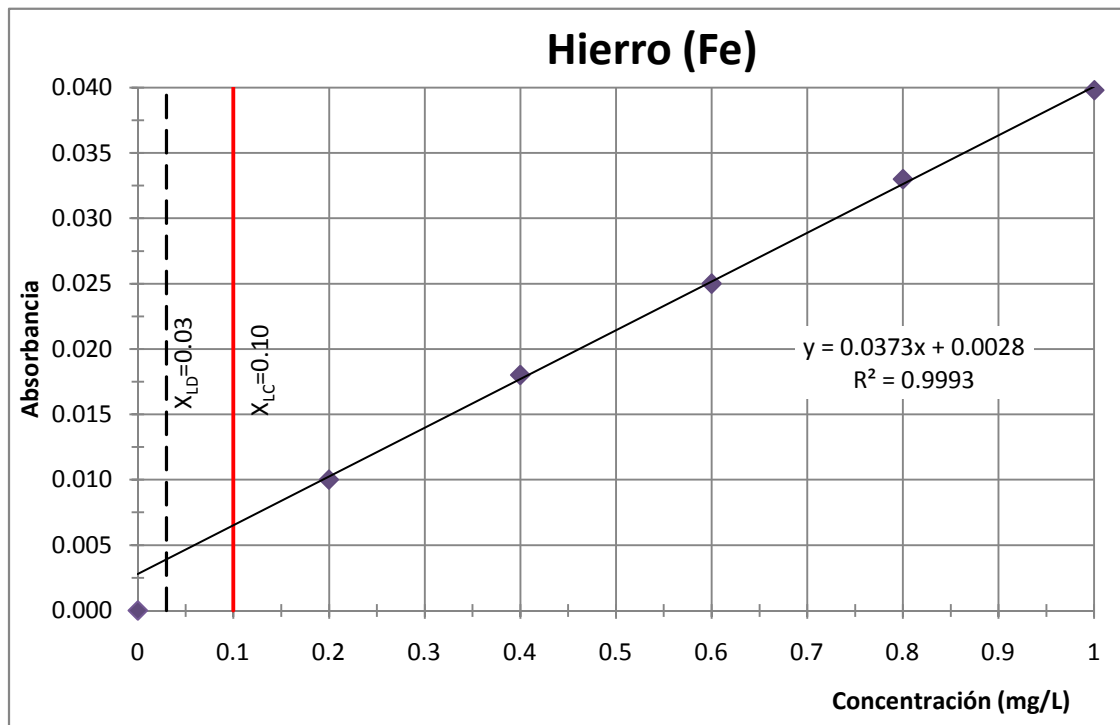


Figura 3.4. Curva de calibración de hierro.

Datos obtenidos:

$$R=0.9993$$

$$b= 0.0028$$

$$m=0.0373$$

Cálculo de los Límites de Detección y de Cuantificación para Fe:

Tabla 3.10. Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Hierro (Fe).

Punto de la curva n	Concentración (x) mg/l	Absorbancia experimental \bar{Y}	Absorbancia calculada \hat{Y}	$(\bar{Y} - \hat{Y})$	$(\bar{Y} - \hat{Y})^2$
0	0.0	0.000	0.000	---	---
1	0.2	0.010	0.0103	-0.0003	9.0×10^{-8}
2	0.4	0.018	0.0177	0.0003	9.0×10^{-8}
3	0.6	0.025	0.0252	-0.0002	4.0×10^{-8}
4	0.8	0.033	0.0326	0.0004	1.6×10^{-7}
5	1.0	0.040	0.0401	-0.0001	1.0×10^{-8}
					$\Sigma = 3.9 \times 10^{-7}$

$$S_{Y/C} = \sqrt{\frac{3.9 \times 10^{-7}}{3}} = 0.000361$$

Límite de Detección de Hierro (Fe)

Cálculo de la señal del límite de detección:

$$Y_{LDI} = 0.0028 + 3(0.000361) = 0.0039$$

Cálculo de la concentración del límite de detección:

$$C_{LDI} = \frac{0.0039 - 0.0028}{0.0373} = 0.03$$

Límite de Cuantificación de Hierro (Fe)

Cálculo de la señal del límite de cuantificación:

$$Y_{LCI} = 0.0028 + 10(0.000361) = 0.0064$$

Cálculo de la concentración del límite de cuantificación:

$$C_{LCI} = \frac{0.0064 - 0.0028}{0.0373} = 0.10$$

Límite de Linealidad para Hierro (Fe)

$$Y_{LL} = 0.049$$

$$X_{LL} = 1.0$$

PLOMO (Pb):

Tabla 3.11. Datos para construir la curva de calibración de Plomo (Pb).

Punto de la curva n	Concentración (x) (mg/l)	Absorbancia					Absorbancia promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación
		1	2	3	4	5	(\bar{Y})	S	CV
0	0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000	0.000000	---
1	0.2	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.0020	0.000000	0.0
2	0.4	0.003	0.004	0.003	0.004	0.004	0.0036	0.000548	15.2
3	0.6	0.005	0.005	0.006	0.005	0.005	0.0052	0.000447	8.6
4	0.8	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.0070	0.000000	0.0
5	1.0	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.0090	0.000000	0.0

Cálculo de Desviaciones Estándar y Coeficientes de Variación.

Para 0.4 ppm

$$S = \sqrt{\frac{1.2 \times 10^{-6}}{4}} = 0.000548$$

$$CV = \frac{5.48 \times 10^{-4}}{0.0036} \times 100 = 15.2$$

Para 0.6 ppm

$$S = \sqrt{\frac{8 \times 10^{-7}}{4}} = 0.000447$$

$$CV = \frac{4.47 \times 10^{-4}}{0.0052} \times 100 = 8.6$$

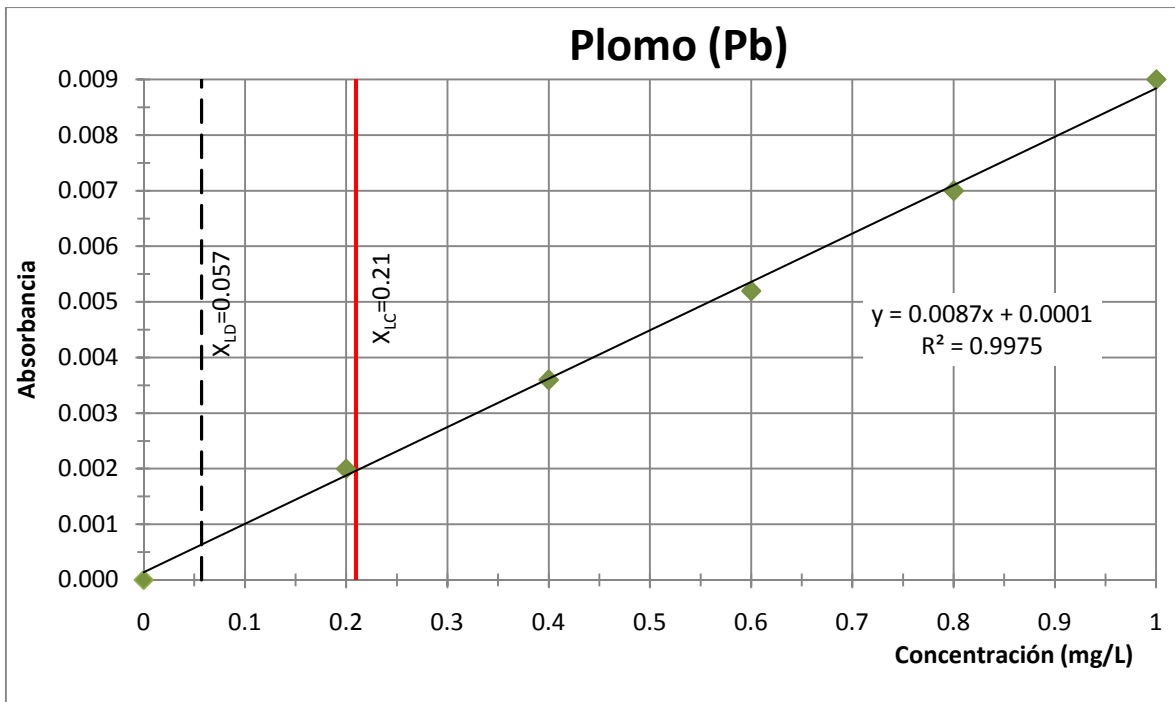


Figura 3.5. Curva de calibración de plomo.

Datos obtenidos:

$R=0.9975$

$b= 0.0001$

$m=0.0087$

Cálculo de los Límites de Detección y de Cuantificación para Pb:

Tabla 3.12. Datos para calcular el error entre la absorbancia calculada y la absorbancia experimental del Plomo (Pb).

Punto de la curva n	Concentración (x) mg/l	Absorbancia experimental \bar{Y}	Absorbancia calculada \hat{Y}	$(\bar{Y} - \hat{Y})$	$(\bar{Y} - \hat{Y})^2$
0	0.0	0.0000	0.0000	---	---
1	0.2	0.0020	0.0018	0.0002	4.0×10^{-8}
2	0.4	0.0036	0.0036	0.0000	0.0000
3	0.6	0.0052	0.0053	-0.0001	1.0×10^{-8}
4	0.8	0.0070	0.0071	-0.0001	1.0×10^{-8}
5	1.0	0.0090	0.0088	0.0002	4.0×10^{-8}
					$\Sigma = 1.0 \times 10^{-7}$

$$S_{Y/C} = \sqrt{\frac{(1.0 \times 10^{-7})}{3}} = 0.000183$$

Límite de Detección de Plomo (Pb)

Cálculo de la señal del límite de detección:

$$Y_{LDI} = 0.0001 + 3(0.000183) = 0.0006$$

Cálculo de la concentración del límite de detección:

$$C_{LDI} = \frac{0.0006 - 0.0001}{0.0087} = 0.057$$

Límite de Cuantificación de Plomo (Pb)

Cálculo de la señal del límite de cuantificación:

$$Y_{LCI} = 0.0001 + 10(0.000183) = 0.0019$$

Cálculo de la concentración del límite de cuantificación:

$$C_{LCI} = \frac{0.0019 - 0.0001}{0.0087} = 0.21$$

Límite de Linealidad para Plomo (Pb)

$$Y_{LL} = 0.049$$

$$X_{LL} = 1.0$$

3.3 Resultados del Análisis por Absorción Atómica.

Los resultados para el contenido de metales pesados (Cu, Fe y Pb) en las muestras se obtuvieron por triplicado y se presentan en las siguientes tablas:

Tabla 3.13. Concentración de Cobre (Cu) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas.

Muestra	Cobre (Cu)				
	Concentración (mg/L)			Concentración promedio (mg/L)	Desviación. estándar
	1	2	3		
DSG-W1	0.054	0.057	0.055	0.055	0.002
DSG-W2	0.116	0.105	0.100	0.107	0.008
DR-W1	0.166	0.133	0.132	0.144	0.019
DR-W2	0.122	0.121	0.121	0.121	0.001
DGV-A1	0.040	0.040	0.040	0.040	0.000
DGV-A2	0.106	0.105	0.113	0.108	0.004
DMP-A1	0.071	0.068	0.069	0.069	0.002
DMP-A2	0.034	0.032	0.040	0.035	0.004
VH-S1	0.137	0.141	0.147	0.142	0.005
VH-S2	0.273	0.273	0.280	0.275	0.004
V-S1	0.133	0.129	0.137	0.133	0.004
V-S2	0.117	0.114	0.124	0.118	0.005
VDM-A1	0.122	0.118	0.124	0.121	0.003
VDM-A2	0.205	0.203	0.210	0.206	0.004
VLC-S1	0.150	0.143	0.152	0.148	0.005
VLC-S2	0.180	0.175	0.181	0.179	0.003

Tabla 3.14. Concentración de Hierro (Fe) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas.

Muestra	Hierro (Fe)			Concentración promedio (mg/L)	Desviación estándar
	Concentración (mg/L)				
	1	2	3		
DSG-W1	0.348	0.373	0.366	0.362	0.013
DSG-W2	0.313	0.297	0.301	0.304	0.008
DR-W1	0.484	0.490	0.488	0.487	0.003
DR-W2	0.373	0.350	0.364	0.362	0.012
DGV-A1	0.457	0.469	0.457	0.461	0.007
DGV-A2	0.474	0.486	0.482	0.481	0.006
DMP-A1	0.638	0.638	0.639	0.638	0.001
DMP-A2	0.204	0.202	0.207	0.204	0.003
VH-S1	0.497	0.463	0.469	0.476	0.018
VH-S2	0.489	0.466	0.479	0.478	0.012
V-S1	0.643	0.624	0.640	0.636	0.010
V-S2	0.547	0.563	0.542	0.551	0.011
VDM-A1	0.767	0.759	0.765	0.764	0.004
VDM-A2	0.622	0.676	0.654	0.651	0.027
VLC-S1	0.611	0.603	0.599	0.604	0.006
VLC-S2	0.745	0.746	0.739	0.743	0.004

Tabla 3.15. Concentración de Plomo (Pb) en las muestras de duraznos en almíbar y verduras mixtas.

Muestra	Plomo (Pb)			Concentración promedio (mg/L)	Desviación estándar
	Concentración Pb (mg/L)				
	1	2	3		
DSG-W1	0.040	0.019	0.023	0.027	0.011
DSG-W2	0.042	0.041	0.042	0.042	0.001
DR-W1	0.031	0.045	0.039	0.038	0.007
DR-W2	0.016	0.040	0.024	0.027	0.012
DGV-A1	0.042	0.022	0.031	0.032	0.010
DGV-A2	0.076	0.030	0.045	0.050	0.023
DMP-A1	0.005	0.025	0.021	0.017	0.011
DMP-A2	0.054	0.062	0.054	0.057	0.005
VH-S1	0.039	0.041	0.038	0.039	0.002
VH-S2	0.057	0.026	0.046	0.043	0.016
V-S1	0.035	0.000	0.018	0.018	0.018
V-S2	0.033	0.048	0.032	0.038	0.009
VDM-A1	0.012	0.043	0.017	0.024	0.017
VDM-A2	0.037	0.047	0.041	0.042	0.005
VLC-S1	0.020	0.014	0.050	0.028	0.019
VLC-S2	0.053	0.056	0.047	0.052	0.005

Los resultados obtenidos del análisis espectrofotométrico se obtuvieron en mg/L debido a que las muestras se encontraban en forma líquida pero dado que las muestras originales son sólidas los resultados se deben presentar en unidades de mg/kg.

Tabla 3.16. Resultados del análisis para Cobre (Cu).

Muestra	Concentración mg/L	V _{aforo} L	W _{muestra} g	W _{muestra} Kg	Concentración mg/kg
Duraznos en almíbar					
DSG-W1	0.055	0.1	10.0303	0.0100303	0.548
DSG-W2	0.107	0.1	10.2312	0.0102312	1.046
DR-W1	0.144	0.1	9.9941	0.0099941	1.441
DR-W2	0.121	0.1	10.0408	0.0100408	1.205
DGV-A1	0.04	0.1	10.0076	0.0100076	0.400
DGV-A2	0.108	0.1	10.0658	0.0100658	1.073
DMP-A1	0.069	0.1	9.9834	0.0099834	0.691
DMP-A2	0.035	0.1	9.9674	0.0099674	0.351
Verduras mixtas					
VH-S1	0.142	0.1	10.0226	0.0100226	1.417
VH-S2	0.275	0.1	10.0235	0.0100235	2.744
V-S1	0.133	0.1	9.9434	0.0099434	1.338
V-S2	0.118	0.1	10.0046	0.0100046	1.179
VDM-A1	0.121	0.1	9.9987	0.0099987	1.210
VDM-A2	0.206	0.1	9.9960	0.0099960	2.061
VLC-S1	0.148	0.1	9.9920	0.0099920	1.481
VLC-S2	0.179	0.1	10.0602	0.0100602	1.779

Tabla 3.17. Resultados del análisis para Hierro (Fe).

Muestra	Concentración mg/L	V _{aforo} L	W _{muestra} g	W _{muestra} Kg	Concentración mg/kg
Duraznos en almíbar					
DSG-W1	0.362	0.1	10.0303	0.0100303	3.609
DSG-W2	0.304	0.1	10.2312	0.0102312	2.971
DR-W1	0.487	0.1	9.9941	0.0099941	4.873
DR-W2	0.362	0.1	10.0408	0.0100408	3.605
DGV-A1	0.461	0.1	10.0076	0.0100076	4.606
DGV-A2	0.481	0.1	10.0658	0.0100658	4.779
DMP-A1	0.638	0.1	9.9834	0.0099834	6.391
DMP-A2	0.204	0.1	9.9674	0.0099674	2.047

Verduras mixtas					
VH-S1	0.476	0.1	10.0226	0.0100226	4.749
VH-S2	0.478	0.1	10.0235	0.0100235	4.769
V-S1	0.636	0.1	9.9434	0.0099434	6.396
V-S2	0.551	0.1	10.0046	0.0100046	5.507
VDM-A1	0.764	0.1	9.9987	0.0099987	7.641
VDM-A2	0.651	0.1	9.9960	0.0099960	6.513
VLC-S1	0.604	0.1	9.9920	0.0099920	6.045
VLC-S2	0.743	0.1	10.0602	0.0100602	7.386

Tabla 3.18. Resultados del análisis para Plomo (Pb).

Muestra	Concentración mg/L	V _{aforo} L	W _{muestra} g	W _{muestra} Kg	Concentración mg/kg
Duraznos en almíbar					
DSG-W1	0.027	0.1	10.0303	0.0100303	0.269
DSG-W2	0.042	0.1	10.2312	0.0102312	0.411
DR-W1	0.038	0.1	9.9941	0.0099941	0.380
DR-W2	0.027	0.1	10.0408	0.0100408	0.269
DGV-A1	0.032	0.1	10.0076	0.0100076	0.320
DGV-A2	0.05	0.1	10.0658	0.0100658	0.497
DMP-A1	0.017	0.1	9.9834	0.0099834	0.170
DMP-A2	0.057	0.1	9.9674	0.0099674	0.572
Verduras mixtas					
VH-S1	0.039	0.1	10.0226	0.0100226	0.389
VH-S2	0.043	0.1	10.0235	0.0100235	0.429
V-S1	0.018	0.1	9.9434	0.0099434	0.181
V-S2	0.038	0.1	10.0046	0.0100046	0.380
VDM-A1	0.024	0.1	9.9987	0.0099987	0.240
VDM-A2	0.042	0.1	9.9960	0.0099960	0.420
VLC-S1	0.028	0.1	9.9920	0.0099920	0.280
VLC-S2	0.052	0.1	10.0602	0.0100602	0.517

Revisando la bibliografía se encontraron diversas normas que especifican los límites máximos permisibles (LMP) de los metales analizados, sin embargo a nivel nacional las normas que especifican los límites de estos metales se especifican para agua potable por lo que se han tomado como referencia las

normas establecidas nivel internacional. En la *Tabla 3.19* se presentan diversas normas y los límites máximos permisibles que se establecen en ellas.

Tabla 3.19. Límites máximos permisibles de Cu, Fe y Pb establecidos en diversas normas a nivel nacional e internacional.

Elemento	México				República de Chile		UE	
	NOM-127-SSA1-1994		NOM-243-SSA1-2010		Reglamento Sanitario de Alimentos			
	Agua potable		Lácteos		Néctares de fruta		Alimentos para infantes	
Cu	2.00	mg/L	---	---	5.0	mg/kg	---	---
Fe	0.30	mg/L	---	---	15.0	mg/kg	---	---
Pb	0.01	mg/L	0.5	mg/kg	0.3	mg/kg	0.1	mg/kg
Elemento	Unión Aduanera de Centroamérica		OMS		FAO		Norma Boliviana	
	Harinas de trigo		Agua potable		Néctares de fruta		Agua potable	
Cu	---	---	3.0	mg/L	5	mg/kg	---	---
Fe	---	---	0.3	mg/L	15	mg/kg	5	mg/L
Pb	0.5	mg/kg	0.1	mg/L	0.3	mg/kg	---	---

3.4 Discusión de resultados.

Como productos principales del presente trabajo de tesis se obtuvieron los siguientes resultados:

- ✦ Implantación de un método analítico para análisis por espectrofotometría de absorción atómica de metales en fruta y verdura enlatada, con el empleo de parámetros básicos de control y aseguramiento de la calidad, lo cual garantiza la confiabilidad de los resultados.
- ✦ Cuantificación de cobre, hierro y plomo en las muestras de fruta y verdura enlatada y la comparación con los límites máximos permisibles nacionales e internacionales disponibles.

En relación a lo anterior se consideró importante señalar lo siguiente:

Las curvas de calibración se aceptaron bajo criterios establecidos por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, por sus siglas en inglés) que establece que para ser aceptadas dichas curvas estas deben presentar un coeficiente de correlación (R) mayor o igual a 0.995 y el coeficiente de variación no debe ser mayor de 4.

Cabe mencionar que para garantizar una mayor confiabilidad de los resultados obtenidos se debe realizar una validación completa del método (exactitud, sesgo, reproducibilidad, precisión, incertidumbre de medición, sensibilidad, recuperación), en este caso no se pudo realizar la validación total del método analítico propuesto debido a las limitantes del material con que se contaba y es por ello que sólo se han tomado como referencia los límites de detección, cuantificación y de linealidad del método, que en conjunto definen el intervalo de trabajo.

Para el análisis de los resultados se tomaron en cuenta los límites máximos permisibles de metales establecidos por la FAO y el “Reglamento Sanitario de Alimentos” de República de Chile ya que estos son los únicos que se presentan en unidades de mg/kg.

Todas las muestras contienen los metales analizados aunque para el caso del cobre la mayoría de las muestras de duraznos en almíbar lo contienen por debajo del límite confiable de cuantificación (muestras identificadas como DSG-W1, DSG-W2, DGV-A1, DGV-A2, DMP-A1 y DMP-A2) y una de ellas por debajo del límite confiable de detección (DMP-A2), lo que significa que aún cuando se reporta contenido de cobre en estas muestras no se tiene la certeza de que la concentración reportada sea la concentración realmente presente en las muestras, aun así las concentraciones de cobre encontradas son inferiores al límite máximo permisible (5 mg/kg).

En lo que respecta a los metales hierro y plomo se puede decir con certeza que las concentraciones reportadas para las muestras son las concentraciones

reales presentes en ellas ya que se encuentran dentro del intervalo confiable de trabajo (por encima de los límites de detección y de cuantificación), por otra parte la mayoría de las muestras presentan un contenido de plomo superior al límite máximo permitido (0.3 mg/kg).

La presencia de los metales pesados analizados en el producto implica que el envasado no se hizo de manera adecuada o hubo un manejo inadecuado de la lata durante su transporte y almacenamiento. La migración de los metales hacia el alimento que contiene depende del estado en que se encuentre la lata (con abolladuras o sin ellas). Por lo anterior existen las llamadas buenas prácticas para la conservación de los alimentos donde se toma en cuenta el manejo adecuado que debe tener un alimento enlatado para conservar su inocuidad.

A continuación se presenta una tabla con observaciones sobre el estado físico de la lata que contenía a cada una de las muestras:

Tabla 3.20. Observaciones sobre el estado del envase de las muestras.

Muestra	Observaciones del envase
DSG-W1	Golpe en un costado del cuerpo. Golpe en el cuerpo cerca de la tapa inferior.
DSG-W2	Golpe a lo largo del cuerpo y en el engatillado de la tapa inferior..
DR-W1	Presenta marcas de óxido en los engatillados de las tapas inferior y superior.
DR-W2	Se observan marcas de óxido en el exterior del cuerpo.
DGV-A1	Golpeada en un costado y golpe en el engatillado de la tapa inferior
DGV-A2	Presenta 2 golpes en el cuerpo de la lata.
DMP-A1	Golpe en el engatillado de la tapa superior.
DMP-A2	Múltiples golpes en el cuerpo de la lata.
VH-S1	Sin observaciones.
VH-S2	Presenta manchas de óxido en el exterior del cuerpo de la lata.
V-S1	Golpe en el cuerpo de la lata
V-S2	Sin observaciones.
VDM-A1	Golpe en el cuerpo de la lata, la lata se ve abollada.
VDM-A2	Golpe en el cuerpo de la lata. Manchas de óxido en la parte exterior del cuerpo de la lata.
VLC-S1	Golpe en el cuerpo de la lata.
VLC-S2	Múltiples sobre el cuerpo de la lata.

Se encontró que mientras más deteriorada se encuentre la lata mayor es el contenido de metales encontrados en las muestras por lo que se ha determinado que un factor a considerar al comprar un alimento enlatado es el estado del envase (la lata). Teniendo esto en cuenta es posible que lo encontrado en diversos artículos sea cierto, “los alimentos enlatados pueden llegar a conservarse

en buen estado por más de 30 años”, siempre y cuando el envase se encuentre en perfectas condiciones.

En base a los resultados obtenidos se hace evidente la necesidad de establecer una norma que regule el contenido de metales en los alimentos enlatados como producto final, es decir, debe existir una norma que asegure la calidad e inocuidad de los alimentos una vez que han sido enlatados, dicha norma debiera abarcar tanto a los productos de elaboración nacional como a los productos de importación.

Como una alternativa viable y confiable para la conservación de alimentos se proponen los envases flexibles. Entre los envases flexibles existen una clasificación de especial interés en la industria alimentaria, los envases “Pouch Retort” que son resistentes a las altas temperaturas del proceso de esterilización de los alimentos, pero debido a los laminados delgados que los constituyen requieren de mucho menos tiempo de procesamiento térmico que las latas rígidas, además proporcionan las mismas ventajas de inocuidad y preservación de alimentos que las latas y con beneficios adicionales: ocupan menos espacio que una lata, ahorra espacio de almacenaje y el producto empacado pesa menos que un alimento en lata reduciendo así los costes de transporte.

Siendo más específico se pueden utilizar las bolsas pouch retort (o bolsas retortables) para envasar frutas y verduras y además pueden ser utilizadas para contener cualquier otro tipo de producto alimenticio (carnes, salsas, postres e incluso bebidas), además al drenarse el contenido de dichos envases flexibles estos retienen un mínimo del producto. Siendo una tecnología creciente existen muchos fabricantes lo que abarata el costo del envase.

Toda investigación debería ser publicada de alguna manera para evitar que alguien con la misma inquietud se vea en la necesidad de repetir todo el proceso que implica la investigación y así el material existente pueda ser tomado como referencia para la búsqueda de nuevos conocimientos.

CONCLUSIONES

El trabajo presentado tiene el alcance para ser aplicado para el análisis de cualquier fruta o verdura en conserva e incluso para hacer una evaluación total de la toxicidad por metales pesados de ellos (se evalúan todos los metales potencialmente presentes en las muestras). También puede servir como guía para cualquier persona que desee desarrollar alguna metodología de análisis para algún caso en específico debido a que se describe la metodología de trabajo que se siguió desde el inicio del proyecto y se ha demostrado que se pueden obtener resultados satisfactorios y confiables.

Cuando se propone un nuevo método de análisis se debe contar con el respaldo de personas con experiencia en la aplicación de las técnicas a utilizar así como en el análisis químico para que respalde y autorice dicho método, de esta forma se tiene la certeza de que el método no responde sólo a las exigencias e intereses de la persona que lo elaboró.

Las normas en las que se establecen métodos de análisis, cualquiera que sea el caso, no deben seguirse como meras recetas de cocina, sino que deben utilizarse como guías para alcanzar los objetivos individuales de la investigación o problemática a que se aplique. Una norma en la que se incluya alguna metodología de análisis no sólo debe centrarse en hacer cumplir estándares nacionales sino que también debe hacerse para cumplir estándares internacionales dando la posibilidad a que sea consultada y usada como referencia a nivel internacional.

A nivel nacional se requiere una norma o una reglamentación que proteja la calidad de los productos alimenticios una vez que han sido enlatados ya que no existe de manera oficial reglamento alguno sobre el buen manejo de los alimentos enlatados que garantice la inocuidad y buena calidad de los alimentos ya enlatados; los alimentos enlatados se encuentran expuestos a un mal manejo y consiguiente contaminación desde el momento en que se encuentran listos para su almacenaje hasta el momento en que llegan al anaquel de venta.

Al elaborar una metodología de análisis químico no sólo se debe cuidar que se logre obtener los resultados esperados, también se debe cuidar que sea lo más segura posible para la(s) persona(s) que aplique(n) dicha metodología. Incluso al elaborar una metodología para análisis químico se debe tomar en cuenta que esta se pueda llevar a cabo con material común de un laboratorio y no utilizar material especializado, lo que garantiza una aplicación más eficiente de los métodos de análisis.

Para hacer un método de análisis éste no sólo debe cumplir con las expectativas de quien lo desarrolla sino que debe poder aplicarse por otras personas y además los resultados obtenidos con la aplicación de dicho método deben ser confiables por lo que antes de publicarse se debe realizar una validación total de dicho método.

Se encontró que todas las muestras analizadas por metales pesados (Cu, Fe, Pb) contenían los tres metales buscados, aunque las concentraciones para hierro y cobre resultaron inferiores a los límites máximos permisibles y para el plomo la mayoría de las muestras presentan una concentración superior al límite máximo permisible (0.3 mg/kg).

El protocolo propuesto para la determinación de metales pesados en alimentos enlatados presentó resultados aceptables y mediante la semivalidación del método se sabe que los resultados obtenidos mediante el método de análisis propuesto son totalmente confiables.

Al realizar los cálculos para elaborar las curvas de calibración hubo casos en los que el coeficiente de variación (CV) sobrepasó el criterio de aceptación establecido por la FAO ($CV \leq 4$), un caso para la curva de calibración de cobre y dos para la curva de calibración de plomo, aun así las curvas de calibración fueron aceptadas debido a que los valores de absorbancia presentaron una variación de tan solo una milésima y se consideró que al manejar valores de milésimas de unidad las ligeras variaciones provocaron que el coeficiente de variación resultara de un valor elevado.

Cuando se manejan datos de valor numérico pequeño, milésimas en este caso, se debe tener especial consideración y cuidado al momento de utilizarlos debido a que las variaciones son más notorias y ello puede crear confusión al no obtener los resultados deseados; en este caso al notar que los valores numéricos no diferían significativamente se omitió un criterio de aceptación de los datos.

Si bien las latas son de fácil reciclaje y larga durabilidad su producción y manufactura son costosos debido a la gran cantidad de energía que se debe usar para la transformación del metal, además de que los cuidados que se deben tener durante su fabricación se incrementan con las exigencias del consumidor por lo que se debe optar por opciones más seguras, económicas, y que brinden al consumidor la seguridad de consumir alimentos que no dañen su salud.

Recomendaciones

Al comprar un alimento enlatado se debe tener especial cuidado al seleccionar el artículo que se va a comprar, se debe de comprar un alimento cuyo envase (lata) no se encuentre deteriorado de alguna manera, ya sea golpeado o que presente manchas de óxido, de esta manera se garantiza que el contenido de la lata se ha mantenido con la misma calidad e inocuidad con las que fue envasado.

Como alternativa a las latas se deberían utilizar las bolsas pouch retort que permiten ahorrar energía durante el empaqueo ya que requieren de un tiempo menor de exposición al calor que las latas para esterilizar su contenido y disminuirían los costos de transportación del producto por ser más ligeras, además de ahorrar espacio de anaquel.

GLOSARIO

Agrafado. Sinónimo Engatillado*.

Analito. Componente específico de una muestra a medir en un análisis.

Blanco analítico o de reactivos. Matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.

Digestión. Degradación de materia orgánica mediante el uso de reactivos.

Engatillado. Procedimiento empleado para unir dos chapas de metal, que consiste en doblar el borde de cada una, enlazarlos y machacarlos para que se unan, también es llamado engargolado.

Envase. Cualquier recipiente en el cual está contenido el producto preenvasado para su venta al consumidor.

Límite de cuantificación del instrumento. Concentración mínima del analito en una muestra y que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas en el instrumento.

Límite de detección del instrumento. Concentración mínima del analito en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones de operación establecidas en el instrumento.

Límite máximo permisible. Concentración de metales que no debe ser excedido en los alimentos enlatados. Estos valores están consignados en los criterios de salud para consumo de los alimentos.

Neuropatía. Enfermedad del sistema nervioso.

Pouch retort. Se le llama así a una bolsa pequeña o contenedor hecho de un material suave, es un envase cerrado en que puede calentarse una sustancia.

Transductor. Dispositivo que transforma el efecto físico de la radiación en una señal eléctrica.

Troquelado. Recortar con ayuda de una máquina con bordes cortantes piezas de metal. Dicha máquina utiliza cortadores con la forma y tamaño de las piezas que se desean obtener para así lograr cortes uniformes y de gran precisión.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ‡ Jean-Claude CHEFTEL, Henri CHEFTEL, Pierre Besafon; “Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos”, Vol. II, Editorial ACRIBA (Paris, Francia, 1977) pp. 259-348.
- ‡ Hobart H. Willard, Lynne L. Merrit, John A. Dean, *Métodos instrumentales de análisis*, (compañía editorial continental S.A., México, cuarta impresión) pp. 383.
- ‡ Arturo Lara Alejo, Ma. Adriana Contreras Martínez, *Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la elaboración de conservas enlatadas no acidificadas*, secretaría de salud (México, D.F.; Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, 1996) p. 60, 62.
- ‡ Tamara Castrillón Rodríguez, *Guía técnica AINIA de envase y embalaje; Recubrimientos para envases metálicos*, Dpto. de Tecnologías del Envase de AINIA.
- ‡ Yip L, Dart RC. “Arsenic,” en Sullivan JB, Krieger GR, eds. *Clinical environmental health and toxic exposures*. (Philadelphia: Lippincott William y Wilkins, 2001) pp. 858-866.
- ‡ Ford M. “Arsenic,” en Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Howland MA, Hoffman RS, eds. *Goldfrank’s Toxicologic Emergencies*, 6ª edición. Stamford (Appleton and Lange, 1998) pp. 1261-1273.
- ‡ *Preventing lead poisoning in your children*. Declaración por parte de “The centre of disease control. U.S. Department of Healt and Human Services” (CDC. 1991Atlanta, GA).
- ‡ Inversiones El Salmón, C.A. ,Nuestra historia. Recuperado de http://www.angelfire.com/planet/isalca/pag_web_isalca.html, 26-Septiembre-09

- ✦ http://www.quiminet.com/ar1/ar_hgsAarmvcd-que-son-las-buenas-practicas-de-laboratorio-blp-glp.htm. Recuperado 20 de Febrero de 2011.

BIBLIOGRAFÍA ADICIONAL

- ✦ Frank A. Lee, "Basic Food Chemistry" second edition, AVI Publishing Company, pp. 233
- ✦ Adriana Núñez [et. al.]; "*Determinación de metales pesados (aluminio, plomo, cadmio y níquel) en rábano (Raphanus sativus L.), brócoli (Brassica oleracea L. var. italica) y calabacín (Cucurbita pepo L. var. italica)*".
- ✦ Reglamento Sanitario de los Alimentos (dpto. 977/96) de la República de Chile.
- ✦ Codex Alimentarius. Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos.
- ✦ Recommended methods of analysis and sampling *codex stan*.
- ✦ NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
- ✦ Norma Oficial Mexicana. NOM-002-SSA1-1993. Salud ambiental. Bienes y servicios. Envases metálicos para alimentos y bebidas. Especificaciones de la costura. Requisitos sanitarios.
- ✦ Norma Oficial Mexicana. NOM-130-SSA1-1995, "Bienes y servicios. alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias".

- ✦ I.S.O. 3004, Recipientes metálicos estancados para alimentos. Capacidad y dimensiones de las latas de conservas alimentarias redondas estancadas para uso general, 1ª ed., 1974, 16-d.
- ✦ www.canafem.org.mx/info_nuti.html. 18 Mayo de 2010

ANEXOS

ANEXO 1

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES
(COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA
NOM-117-SSA1-1994.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1994	PÁGINA 1 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1994

Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Emmanuel López Arias	M. en C. Sandra S. Morales García	M. en C. Sandra S. Morales García



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1994	PÁGINA 2 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

1. OBJETIVO.

Determinar la presencia de cobre, fierro y plomo en alimentos enlatados (frutas y verduras) mediante espectroscopia de absorción atómica, método de atomización por flama.

2. ALCANCE.

El presente método es aplicable para el análisis de metales en frutas y verduras enlatadas.

3. RESPONSABILIDADES.

Es responsabilidad del químico analista cumplir con los lineamientos establecidos en este procedimiento y reportar cualquier desviación del mismo.

4. SEGURIDAD.

El Manejo del material de vidrio, lámpara, reactivos y soluciones debe hacerse con precaución.

Usar campana de extracción, ropa de protección, lentes de seguridad y mascarilla cuando se preparan soluciones con ácidos y digestiones. Debe evitarse el contacto directo con la piel y vías respiratorias.

Se requiere de un sistema de ventilación permanente para eliminar los gases calientes y algunas veces tóxicos producidos durante el análisis por el quemador durante la operación del espectrofotómetro de absorción atómica.

5. DEFINICIONES.

Blanco de calibración del instrumento. Es la solución del ácido usado como diluyente.

Blanco de reactivos, es la solución que contiene todos los reactivos usados en los mismos volúmenes y concentraciones en el



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 3 DE 14
		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

procesamiento de la muestra. Este blanco debe seguir los pasos de digestión y preparación de la muestra.

Concentración característica, es la concentración en solución del elemento a determinar que produciría una señal de 0.0044 unidades de absorbancia (1% de absorción) comparado con la señal de la solución blanco.

La concentración característica se calcula cuando en la porción lineal de la curva de calibración donde se lee la absorbancia "A" dada por una concentración "C", se obtiene la ecuación:

$$C.C. = (C * 0.0044) / A$$

Donde:

c.c = concentración característica.

c = concentración.

A = absorbancia.

Digestión ácida de la muestra, es el proceso de oxidación de las sustancias orgánicas e inorgánicas en la muestra con objeto de liberar a los metales de los aniones orgánicos y llevarlos a un estado de oxidación más alto.

Espectroscopia, es lo referente con la medición de espectros.

Espectroscopia de absorción atómica, es una rama del análisis instrumental en el cual un elemento es atomizado en forma tal que permite la observación, selección y medida de su espectro de absorción.

Espectroscopia de absorción atómica por flama, es el método por el cual el elemento se determina mediante un espectrómetro de absorción atómica, usado en conjunto con un sistema de nebulización y una fuente de atomización.

La fuente de atomización es un quemador que utiliza diferentes mezclas de gases, las más frecuentes son aire-acetileno y óxido nitroso-acetileno.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 4 DE 14
		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

Estándar múltiple, Es la solución formada por una mezcla de varios estándares de diferentes elementos de igual o diferentes concentraciones.

Exactitud, es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia, se expresa como el porcentaje de recuperación obtenido del análisis de la muestra a la que se le ha adicionado una cantidad conocida de la sustancia.

Flama reductora, es una flama que se caracteriza por una concentración más elevada del reductor o combustible (acetileno) con respecto al oxidante. Generalmente es amarillenta y/o más blanca según la abundancia de combustible.

Flama oxidante, es una flama que se caracteriza por tener una concentración más elevada de agente oxidante (N₂O, aire) con respecto al combustible. Generalmente es azulosa y los tonos varían según la abundancia del oxidante.

Límite de detección, es la concentración que hay que introducir en un instrumento analítico para que produzca una señal con una intensidad al doble que el ruido de fondo.

Optimización óptica del instrumento para el análisis de un elemento, consiste en la alineación de la lámpara, selección del slit ó la ventana, selección de la longitud de onda, así como de la posición vertical y horizontal del quemador.

Sensibilidad, es la señal detectada a una concentración en miligramos de metal por litro que produce una absorción de 1%.

Solución madre, es a partir de esta solución que se preparan las soluciones de trabajo.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 5 DE 14
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

6. GENERALIDADES.

Debido al creciente consumo de alimentos enlatados se ha hecho de mayor interés el grado de toxicidad que estos pudieran tener, y aún más el que se garantice la inocuidad de estos.

En México no existe normatividad que controle la calidad de los alimentos una vez que ya han sido enlatados para lo cual se hace la propuesta de una metodología de análisis aplicable a frutas y verduras enlatadas.

7. FUNDAMENTO DEL MÉTODO.

La espectrofotometría de absorción atómica consiste en medir la radiación absorbida característica del elemento químico deseado, la medición se realiza al hacer incidir sobre el elemento químico, una haz de luz monocromática específica para el elemento a medir, la radiación absorbida se determina por diferencia, entre la radiación incidente y la transmitida.

Un espectrofotómetro de absorción atómica está constituido por los siguientes elementos:

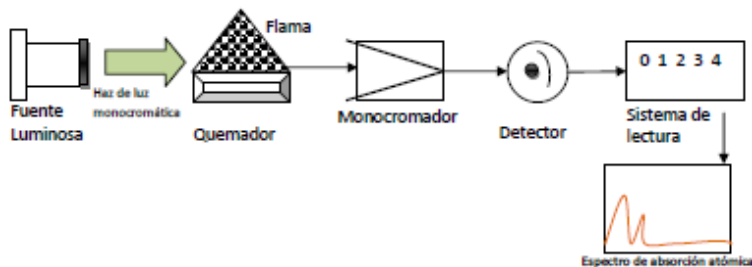


Figura 6.2. Instrumentación básica de un equipo de absorción atómica.

El cálculo de la medición de concentración de masa se basa en la Ley de Lambert y Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 6 DE 14
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

concentración de masa de la(s) especie(s) que absorbe(n) para un conjunto de condiciones instrumentales establecidas.

Expresiones matemáticas usuales de la Ley de Lambert y Beer:

$$\alpha = a \cdot b \cdot \gamma \quad \text{y} \quad \alpha = \log(I_0 / I)$$

α = absorbancia del elemento químico a medir

a = coeficiente de absortividad

b = longitud del paso óptico

γ = concentración de masa de la especie que absorbe

I_0 = radiación incidente

I = radiación transmitida

8. MATERIALES.

- ✦ Crisoles de porcelana.
- ✦ Mortero de porcelana.
- ✦ Matracas de aforados de 100 ml y 500 ml.
- ✦ Embudo de filtración.
- ✦ Papel Whatman No.4.
- ✦ Pipetas volumétricas de 2 y 5 ml.
- ✦ Pipetas graduadas de diferentes capacidades.
- ✦ Propipeta.
- ✦ Probetas de 50 ml.
- ✦ Mechero de Bunsen.
- ✦ Manguera de látex.
- ✦ Pinzas para crisol.
- ✦ Coladera de plástico.
- ✦ Abrelatas.
- ✦ Triángulos de porcelana.
- ✦ Vidrio de reloj.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 7 DE 14 NUMERO DE VERSION: 001 NUMERO DE REVISION: 000
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		

↳ Tripie.

9. EQUIPOS.

- ↳ Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.
- ↳ Parrilla de calentamiento.
- ↳ Espectrofotómetro de absorción atómica con atomizador de flama. Marca Perkin Elmer, Modelo AAnalyst 300.
- ↳ Muffa que alcance 550 °C.
- ↳ Lámparas de cátodo hueco para los elementos a determinar.

10. REACTIVOS.

- ↳ Soluciones estándar de referencia certificadas de cada uno de los metales.
- ↳ Ácido nítrico concentrado.
- ↳ Ácido clorhídrico concentrado.
- ↳ Aire comprimido seco y limpio.
- ↳ Agua deionizada.
- ↳ Acetileno grado absorción atómica.

11. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.

Ácido nítrico al 50%.

Medir 50 ml de agua deionizada con una probeta y verter en un matraz aforado de 100 ml.

Medir 50 ml de HNO₃ concentrado con una probeta y verter, lentamente y cuidando que el ácido escurra por la pared interna, en el matraz aforado que contiene los 50 ml de agua deionizada.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 8 DE 14 NUMERO DE VERSION: 001 NUMERO DE REVISION: 000
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		

Ácido clorhídrico 1N.

Medir 48 ml de agua deionizada con una probeta de 500 ml y verter en un matraz aforado de 500ml.

Medir 42 ml de HCl con una pipeta y verter, lentamente y cuidando que el HCl escurra por las paredes en un matraz aforado de 500 ml y agregar cuidadosamente agua deionizada hasta la marca del matraz.

Estándares de Calibración

Los estándares de calibración son preparados diluyendo la solución patrón del metal, de la siguiente manera:

Preparar un blanco de reactivo y al menos 5 soluciones de calibración en concentraciones crecientes en el intervalo óptimo de trabajo, donde la primera solución este muy cercana al límite de detección del método. Las soluciones de calibración deben ser preparadas usando el mismo tipo de ácidos y a la misma concentración en que se encuentra en la muestra después de su digestión.

Para todos los metales a analizar se prepararán estándares con las siguientes concentraciones en ppm (mg/L): 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.6, 3.2 y 6. Con el mismo porcentaje de acidez con el que las muestras sean preparadas.

12. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.

Lavar la parte superior de la lata para evitar contaminación del producto.

Homogenizar la muestra por agitación e inversión repetida de la lata.

Abrir la lata teniendo cuidado de no tocar los bodes filosos.

Transferir el contenido de la lata a un vaso de precipitados e identificar el vaso de precipitados con la clave asignada al producto.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 9 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

Dejar escurrir la muestra en una coladera de plástico recuperando el líquido en el mismo vaso de precipitados al que se transfirió al extraerlo de la lata.

Macerar aproximadamente 50 g de la muestra inicial.

Pesar 10 g de la muestra macerada y transferir a un crisol de porcelana.

Carbonizar las muestras en flama hasta la ausencia de humo.

Colocar el crisol en la mufla y elevar la temperatura a 500 °C, posteriormente elevar la temperatura gradualmente hasta 550°C. Mantener la temperatura 16 horas o toda la noche.

Apagar la mufla y dejar enfriar.

Eliminar residuos de carbón: Lavar las paredes del crisol con 2 ml de ácido nítrico al 50%.

Disolver las cenizas completamente en 5ml de ácido clorhídrico 1N, transferir la muestra a un vaso de precipitados, enjuagar el crisol con 2 alícuotas de 5 ml de ácido clorhídrico 1N y transferir al mismo vaso de precipitados. Mezclar y tapar el vaso con un vidrio de reloj.

Colocar el vaso de precipitados en una parrilla de calentamiento y dejar hasta que la solución sea totalmente transparente.

Dejar enfriar la muestra.

Lavar los vidrios de reloj con agua deionizada recolectando los lavados dentro de cada vaso.

Filtrar en papel Whatman No.4 y recolectando en un matraz aforado de 100 ml, antes de la determinación.

Aforar el matraz con agua deionizada.

Correr un blanco de reactivos y de digestión.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 10 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

Proceder a leer en espectrofotómetro de absorción atómica.

13. OPERACIÓN DEL EQUIPO.

CALIBRACIÓN

Es necesario comprobar que se tiene una calibración inicial y periódica aceptable.

Se inicia la configuración operacional del instrumento y en el sistema de adquisición de datos permitir un periodo no menor a 30 minutos para el calentamiento de las lámparas.

Se debe verificar la estabilidad del instrumento mediante el análisis de una solución estándar 20 veces más concentrada que el límite de detección del instrumento (LDI) para el analito, leída un mínimo de cinco veces y calculando la desviación estándar resultante, la cual debe ser menor al 5%.

El instrumento debe calibrarse para el analito a determinar, usando el blanco de calibración y los estándares de calibración preparados a 3 o 4 niveles de concentración dentro del intervalo dinámico de concentración del analito.

Ajustar el instrumento a 0 con el blanco de calibración. Introducir los estándares de calibración del analito de menor a mayor concentración y registrar al menos tres réplicas de la absorbancia de cada uno.

Elaborar una curva de calibración graficando absorbancia en función de la concentración.

Lo anterior puede llevarse a cabo en equipos que se programan directamente, en los cuales sólo es necesario introducir los estándares y marcar su concentración teórica.

Introducir la muestra problema y seguir las indicaciones de la sección "operación del equipo".



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 11 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

OPERACIÓN DEL EQUIPO AANALYST 300 PARA ABSORCIÓN ATÓMICA DE PERKIN ELMER.

- Conectar el equipo a una línea de voltaje regulada.
- Abrir la válvula de los gases (Acetileno, Aire).
- Colocar el quemador adecuado (Acetileno/Aire).
- Bajar la posición del quemador para que el haz de luz pase libremente.
- Encender el equipo de Absorción Atómica AANALYST 300 y la computadora.

Una vez encendida la computadora y el equipo desplazar al menú INICIO en la barra de tareas y buscar el programa "AA Winlab Analyst" y abrirlo dando clic, una vez iniciado el programa verificar si hay comunicación entre el equipo y la computadora (se verifica si se encuentra en la figura una paloma fondo verde) de ser así oprimir "Exit" y con ello se abre un menú donde se debe seleccionar la técnica a utilizar (flama u horno de grafito). Seleccionar la técnica de flama con esto se abre el menú de selección del método; seleccionar un método ya existente y confirmar dando clic en el botón "OK" esto desplazara la ventana EDITAR METODO en esta ventana podremos hacer cambios si es necesario como: λ , slit, tiempo de análisis tipo de flama, unidades de medición, replicas y flujos de los gases. También anotaremos los datos de nuestra curva de calibración teniendo como capacidad máxima 15 puntos una vez terminado cerrar la ventana oprimiendo la "x" que se encuentra en la parte superior derecha.

Cuando nos encontremos con todas las ventanas en la parte superior de la pantalla desplazaremos la ventana de LAMPARAS esto con el fin de colocar las lámparas en cada una de las posiciones que son 6 se hará escribiendo el símbolo y automáticamente seleccionara los mA requeridos, la lámpara se activa oprimiendo con el puntero el círculo que se encuentra junto al elemento que indica de que es cada lámpara. La lámpara se activará y se alineará sola, se verificará la energía de la lámpara y una vez terminado esto se procederá a alinear el quemador.



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 12 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NUMERO DE VERSION: 001
		NUMERO DE REVISION: 000

Alineación del quemador:

Con una tarjeta trazar una línea de aproximadamente 1 cm de largo y al final una cruz esta tarjeta será colocada en la ranura del quemador y hacer incidir el haz de luz sobre la cruz si no es así, girar las perillas de horizontal/vertical y arriba/abajo para mover la cámara de niebla y así el quemador hasta que el haz de luz choque con la cruz con esto quedara optimizado el quemador cerrar el icono y abrir el de FLAMA. Primero se ajusta el flujo de los gases oprimiendo ADJUST al oprimir verificaremos que en el equipo de A.A haya la presión necesaria de los gases para la flama, de no estar correcto ajustar los flujos con las perillas que se encuentran en el equipo de A.A hasta el flujo correcto.

Una vez terminado se procederá a encender la flama dando clic sobre el botón ON una vez encendida esperar aprox. 10 segundos para que se estabilice la flama y transcurrido el tiempo se deberá de colocar el capilar en agua deionizada para verificar si está aspirando el nebulizador, de no ser así verificar.

Toma de datos:

Lecturas de las muestras y estándares. Desplazar el icono de ANALISIS MANUAL.

Primero colocar el capilar en el blanco (con la flama encendida) y dar clic en el botón ANALYZE BLANK y empezará a leer, al terminar se analizará el primer punto de la curva dando clic sobre el botón ANALYZE STANDARD, repetir el proceso hasta terminar de analizar todos los puntos de la curva.

Posteriormente se analizan las muestras introduciendo el capilar en la muestra dar clic sobre el botón ANALYS SAMPLE hasta él termino de cada una de las muestras. Imprimir los resultados y la curva de calibración, el equipo da resultados en unidades de mg/l por lo tanto no se necesita interpretar los resultados pero se verifican con la ecuación de la línea recta ($Y = b + mx$).



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 13 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

Purgar las líneas de alimentación de los gases cerrando las llaves de paso, la flama consumirá los gases que se encuentren en las manguera por lo tanto se apagará la flama.

Cerrar el programa y apagar tanto el equipo de A.A como la computadora.

Condiciones de los elementos a analizar

ELEMENTO	LONGITUD DE ONDA	SLIT	mA	TIPO DE FLAMA
Cu	324.8	0.7	15	OXIDANTE
Pb	283.3	0.7	10	OXIDANTE
Fe	213.9	0.7	30	OXIDANTE

14. RESULTADOS.

Los resultados se expresan en mg/kg

Interpolar los valores de absorbancia o altura de pico de la muestra analizada en la curva de calibración para así obtener el contenido del analito en la muestra en mg/kg y finalmente obtener los resultados empleando la siguiente fórmula.

$$\frac{\text{mg}}{\text{kg}} = \frac{C \times V}{P}$$

Donde:

C = Concentración del elemento encontrado en la muestra (mg/L).

V = Volumen final al que se llevo la muestra (L).

P = Peso inicial de la muestra (kg).



CLAVE: DMAAF-01	DETERMINACIÓN DE METALES (COBRE, FIERRO Y PLOMO) EN ALIMENTOS ENLATADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN BASE A LA NOM-117-SSA1-1984	PÁGINA 14 DE 14
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

15. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Norma oficial mexicana NOM-117-SSA1-1994, bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.
- 2 Determinación de metales por EAA-Método de flama, Q. Ángel Saúl Sánchez García.
- 3 Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente-2008.

ANEXO 2

SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO.



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 1 DE 8
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

**SEMIVALIDACIÓN DEL
MÉTODO.**

ELABORÓ:	REVISÓ:	AUTORIZÓ:
Emmanuel López Arias	M. en C. Sandra S. Morales García	M. en C. Sandra S. Morales García



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 2 DE 8
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

1. OBJETIVO.

Demostrar la confiabilidad del resultado de lo que se esta midiendo.

Indicar el procedimiento y los cálculos para determinar los límites de detección, cuantificación y de linealidad de un método espectrofotométrico por absorción atómica técnica de flama.

2. ALCANCE.

El presente método es aplicable para verificar que la capacidad de un método analítico satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

Este procedimiento es aplicable para determinar el límite de detección, cuantificación y de linealidad de un método espectrofotométrico por absorción atómica técnica de flama para muestras de alimentos enlatados (frutas y verduras).

3. RESPONSABILIDADES.

Es responsabilidad de químico analista cumplir con los lineamientos establecidos en este procedimiento y reportar cualquier desviación del mismo.

4. SEGURIDAD.

El Manejo del material de vidrio, lámpara, reactivos y soluciones debe hacerse con precaución.

Usar campana de extracción, ropa de protección, lentes de seguridad y mascarilla cuando se preparan soluciones con ácidos



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 3 DE 8
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

y digestiones. Debe evitarse el contacto directo con la piel y vías respiratorias.

Se requiere de un sistema de ventilación permanente para eliminar los gases calientes y algunas veces tóxicos producidos durante el análisis por el quemador durante la operación del espectrofotómetro de absorción atómica.

5. GENERALIDADES.

En muchas situaciones, cuando se tiene interés en medir un componente en una muestra, es necesario contar con una metodología de medición que cumpla con el atributo de confiabilidad, para lo cual será necesario llevar a cabo estudios experimentales que permitan demostrar la confiabilidad del resultado de lo que se está midiendo, un proceso que permite cumplir este fin es la validación.

6. MATERIALES.

Vasos de precipitados de diferentes capacidades.
 Pipetas graduadas de diferentes capacidades.
 Pipetas volumétricas de diferentes capacidades.
 Matraces aforados de 50, 100, y 250 ml.

7. EQUIPOS.

Espectrofotómetro de absorción atómica con atomizador de flama.
 Lámparas de cátodo hueco para los elementos a determinar.



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 4 DE 8
AREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

8. REACTIVOS.

Soluciones estándares de referencia certificadas de cada uno de los metales.

Ácido clorhídrico concentrado.

Ácido nítrico concentrado.

Agua deionizada.

9. SOLUCIONES.

Ácido nítrico 50% v/v.

Ácido clorhídrico 1N.

Preparación de Soluciones.

Ácido nítrico al 50%.

Medir 50 ml de agua deionizada con una probeta y verter en un matraz aforado de 100 ml.

Medir 50 ml de HNO₃ concentrado con una probeta y verter, lentamente y cuidando que el ácido escurra por la pared interna, en el matraz aforado que contiene los 50 ml de agua deionizada.

Ácido clorhídrico 1N.

Se trabajó con ácido clorhídrico con una pureza del 37.3%, en base a lo cual se hicieron los cálculos para la preparación de la solución.

Medir 50 ml de agua deionizada con una probeta de 500 ml y verter en un matraz aforado de 500ml.

Medir 42 ml de HCl con una pipeta y verter, lentamente y cuidando que el HCl escurra por las paredes en un matraz



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 5 DE 8
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

aforado de 500 ml y agregar cuidadosamente agua deionizada hasta la marca del matraz.

Soluciones Estándar.

A partir de la solución madre cuya concentración de los metales problema es:

Tabla 9.1. Concentración de metales en la solución madre.

Metal	Concentración (µg/ml)	Metal	Concentración (µg/ml)	Metal	Concentración (µg/ml)
Cu	200	Fe	200	Pb	200

Preparar para cada metal una solución secundaria de concentración 10 µg/ml. Para ello tomar 5ml de la solución madre y aforar a 100 ml con agua deionizada.

Tabla 9.2. Formato para la presentación de datos para volúmenes calculados para la preparación de estándares.

Estándar No.	Concentración requerida (µg/ml)	Volumen de estándar requerido (ml)
1		
2		
3		
4		
5		
6		



CLAVE: SVM-01	SEMIVALIDACIÓN DEL MÉTODO	PÁGINA 6 DE 8
ÁREA: ABSORCIÓN ATÓMICA		NÚMERO DE VERSIÓN: 001
		NÚMERO DE REVISIÓN: 000

Preparación de Estándares

Los estándares se deben preparar de igual manera que se prepararon las muestras, con el mismo porcentaje de acidez. Por lo tanto se debe tomar el volumen calculado de la solución secundaria de concentración 10 ppm, agregar 2 ml de HNO₃ 50% v/v y 15 ml de HCl 1N, posteriormente aforar a 100 ml.

10. PROCEDIMIENTO.

Determinación del Intervalo de Trabajo.

1. Se prepara una curva de calibración de 4 a 6 puntos.
 2. Obtención de los valores de absorbancia $Y_{i,n}$ de los puntos de la curva de calibración, el número de réplicas (n) pueden estar entre ($5 \leq n \leq 10$).
- De cada serie de datos se obtiene la desviación estándar (S_i) y el promedio de la absorbancia (\bar{Y}_i), con éstos dos últimos se calcula el coeficiente de variación (CV_i).

3. Comprobación visual de la linealidad entre la absorbancia promedio (\bar{Y}_i) y la concentración graficando \bar{Y}_i vs X_i .

4. Determinar el coeficiente de correlación lineal.

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

