



**Centro de Investigación
en Materiales Avanzados, S.C.**

**Determinación de plomo en muestras
ambientales y biológicas por espectrometría de
fluorescencia atómica acoplada a la generación
de hidruros-inyección en flujo**

Tesis

Que como requisito para obtener el grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta:

Blanca Gladiana Beltrán Piña

Directora de tesis:

Dra. Luz Olivia Leal Quezada

Chihuahua, Chihuahua. Diciembre del 2010

*A mi esposo Ramón Gerardo y
a mis queridas hijas
Ingrid Fernanda y Mildred Guadalupe*

Agradecimientos

A ti Dios y a ti madre santísima María, por la fuerza, paciencia y coraje que me dieron durante esta etapa de mi vida que hoy culmino con éxito, también por cuidar a mis hijas en los momentos en que no podía estar con ellas y hacer posible que todo estuviera bien.

A mis amores Ramón, Ingrid y Lupita, por su paciencia y amor.

A mis queridos padres Blanca y Benito, gracias por estar siempre ahí en el momento indicado, cuando más los necesito, los amo.

A mis hermanos Videyra y Bogdan por escucharme y darme tan buenos consejos, saben que los quiero y los admiro. También a ti Violeta y a ti hermoso Ariel por formar parte de esta familia que me apoya tanto.

A mi directora de tesis la Dra. Luz Olivia Quezada (Lucy) como le decimos de cariño, por ser tan compresiva en los momentos en que tuve dificultades con mi tesis, le agradezco su apoyo, su amistad y todos los conocimientos transmitidos.

A mis queridas mosqueteras Laura Chaparro, Angélica Cervantes y Patricia Peregrino, gracias hermosas por todo su apoyo y por estar conmigo en las buenas y las malas.

Agradecimientos

Quiero agradecer también toda la ayuda y amistad que me brindaron las chicas del Laboratorio de Análisis Químicos, la Qulm. Silvia Miranda, Ing. Alma Rubio y finalmente la Dra. Miriam Moreno a quien también le doy gracias por aceptar ser uno de mis sinodales en mi examen de titulación.

También a la Dra. Teresa Alarcón por participar en la revisión de esta tesis y formar parte del grupo de sinodales en el examen de titulación, gracias doctora por todos sus consejos.

Al Ing. Alejandro Benavides del Laboratorio de Calidad del Agua, por su ayuda y disposición de tiempo en la preparación de muestras.

Agradezco al Dr. Héctor Rubio de la Facultad de Zootecnia, por brindarme su amistad y colaborar con sus conocimientos y dirección en la realización de una de las partes más importantes de la presente tesis. Además de ser uno de los sinodales en mi examen de titulación.

Contenido

Capítulo I.

Introducción 1

1. Plomo: Generalidades. 3
2. Ciclo geoquímico del plomo. 5
3. Toxicidad. 9
4. Plomo en el metabolismo humano. 11
 - 4.1. Plomo presente en sangre y plasma. 12
 - 4.2. Plomo en tejidos mineralizantes. 13
5. Normatividad. 16

Capítulo II.

Revisión de la metodología analítica. 18

1. Sistemas de detección. 18
2. Técnicas analíticas para la determinación de plomo. 18
3. La Espectrometría de Fluorescencia Atómica (AFS) como técnica analítica seleccionada para la detección de Pb(II). 25
 - 3.1. Fuente de luz. 26
 - 3.2. Atomizador. 27
 - 3.3. Sistema óptico. 28
 - 3.4. Sistema de detección. 29
4. Sistemas de introducción de muestra. 31
 - 4.1. Análisis por Inyección en Flujo (FIA). 31
 - 4.2. Generación de Hidruros (HG). 33
5. Principales interferencias que tienen lugar en la generación 35

de hidruros.	
5.1. Interferencias en la fase líquida.	36
5.1.1. Interferencias por componentes.	36
5.1.2. Interferencias por matriz.	36
5.2. Mecanismos en la fase líquida.	36
5.2.1. Competencia por el reductor.	36
5.2.2. Analito/analito-hidruro e interferente.	37
5.2.3. Reducción preferencial del interferente.	37
5.2.4. Formación de complejos boro-metal.	38
5.3. Interferencias en la fase gas.	39
5.3.1. Interferencias en el transporte.	40
5.3.2. Interferencias en la atomización.	40
6. Agentes enmascarantes y sus mecanismos de acción.	40
6.1. Mecanismos de acción de tioles.	41
6.2. Selección de los agentes enmascarantes.	42
7. Generación del hidruro de plomo (plumbano).	44
8. Tetraborohidruro de potasio (TBH) y sus mecanismos de reacción en la formación del plumbano.	45
8.1. Hexacianoferrato como agente oxidante.	45
8.2. Peróxido de hidrógeno y su mecanismo de acción.	47

Capítulo III.

Objetivos

1. Objetivo general	50
1.1. Objetivos específicos	50

Hipótesis

2. Hipótesis general	51
2.1. Hipótesis específicos	51

Capítulo IV	
Materiales y métodos	
	53
1. Instrumentación.	53
2. Procedimiento.	54
3. Metodología de la investigación.	55
3.1. Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb(II), (Etapa 1).	56
3.2. Validación del método seleccionado (Etapa 2).	59
3.3. Determinación de Pb(II) en muestras ambientales y biológicas (Etapa 3).	61
3.4. Estudio de agentes enmascarantes.	63

Capítulo V.	
Resultados y discusión	
	68

Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb(II), (Etapa 1).	68
--	-----------

1. Optimización de las condiciones de operación del AFS-640.	68
1.1. Flujo del gas argón.	68
1.2. Temperatura del atomizador.	70
1.3. Efecto del volumen de muestra.	71
1.4. Efecto de la velocidad de flujo de la muestra y reactivos hacia el detector sobre la IF.	73
2. Optimización de las variables químicas.	75
2.1. Concentración de KBH_4 .	75
2.2. Peróxido de Hidrógeno como agente oxidante.	76

2.3. Ferricianuro de Potasio como agente oxidante.	77
2.4. Efecto de la concentración de HCl.	78
3. Parámetros analíticos.	80
3.1. Curvas de Calibración, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LQ) y desviación estándar relativa (RSD).	80
4. Interferencias.	85
Validación del método seleccionado (Etapa 2).	88
1. Validación del método FeM.	89
Medición de Pb(II) en muestras ambientales y biológicas mediante el método FeM (Etapa 3).	92
1. Agua de grifo.	92
2. Agua de mina tratada.	92
3. Sangre, plasma y suero.	93
Estudio de agentes enmascarantes (AE) (Etapa 4).	95
1. Optimización de las concentraciones de los AE.	95
2. Efecto de los AE en la señal analítica del Pb(II) en presencia de iones interferentes.	98
2.1. Efecto de los AE en presencia de Arsénico.	99
2.2. Efecto de los AE en presencia de ión Cobre.	101
2.3. Efecto de los AE en presencia de ión Cromo.	103
2.4. Efecto de los AE en presencia de ión Hierro.	105
3. Cálculo del límite de tolerancia máximo a iones interferentes usando los AE.	107
CONCLUSIONES.	109
REFERENCIAS.	111

Tablas

Tabla 1. Solubilidad de los compuestos del plomo.	4
Tabla 2. Estimación de la emisión antropogénica de plomo hacia la atmósfera.	6
Tabla 3. Normas y regulaciones para el plomo.	16
Tabla 4. Ventajas y desventajas de las técnicas analíticas en la determinación de Pb(II) en muestras ambientales y biológicas.	23
Tabla 5. Preparación de reactivos en la optimización de los parámetros de operación del AFS-640.	57
Tabla 6. Variables de operación.	58
Tabla 7. Concentraciones de reactivos utilizadas en la optimización.	58
Tabla 8. Concentración de iones interferentes en los CRM.	60
Tabla 9. Procedimiento para la Preparación de los AE.	64
Tabla 10. Diseño experimental factorial para el estudio de AE.	66
Tabla 11. Optimización del sistema de inyección en flujo (FI).	74
Tabla 12. Optimización de parámetros del AFS-640.	74
Tabla 13. Parámetros analíticos del sistema FI-HG-AFS en PM.	81
Tabla 14. Parámetros analíticos del sistema FI-HG-AFS en FeM.	83
Tabla 15. Límites de tolerancia a iones interferentes en la determinación de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb (II) con H_2O_2 y $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ como agentes oxidantes.	87
Tabla 16. Medición de los CRM con el método del Fe.	91
Tabla 17. Determinación de Pb(II) en muestra de agua del grifo	92

Tabla 18. Determinación de trazas de plomo en muestra de agua de mina tratada	93
Tabla 19. Contenido de plomo en sangre total.	94
Tabla 20. Contenido de plomo en suero.	94
Tabla 21. Contenido de plomo en plasma.	94
Tabla 22. Análisis estadístico de datos para el arsénico.	100
Tabla 23. Análisis estadístico de datos para el cobre.	102
Tabla 24. Análisis estadístico de datos para el cromo.	104
Tabla 25. Análisis estadístico de datos para el fierro.	106

Figuras

Figura 1. Ciclo natural del plomo.	7
Figura 2. Comparación de células con punteado Basófilico debido a presencia de plomo y células normales de sangre.	10
Figura 3. Modelo simplificado del metabolismo del plomo en el organismo humano.	12
Figura 4. Fotografía cortesía de Dra. Celsa López Campos, Unidad del Instituto Mexicano del Seguro Social IMSS, Torreón, México.	15
Figura 5. Técnica de voltamperometría.	21
Figura 6. Emisión de la fluorescencia atómica.	25
Figura 7. Tubo de cuarzo de la flama de Argón-hidrógeno.	27
Figura 8. Sistema óptico del AFS-640.	29
Figura 9. Configuración básica para Análisis por Inyección en Flujo (FIA).	31
Figura 10. Señal obtenida en una configuración FIA.	32
Figura 11. Esquema representativo de HG con detección de Espectrometría Atómica.	34
Figura 12. Posibles fuentes de interferencias durante diferentes etapas involucradas en la generación de hidruros.	39
Figura 13. Agentes enmascarantes más comúnmente seleccionados.	43
Figura 14. Equipo AFS-640, bomba peristáltica y generador de hidruros y lámparas de alta intensidad.	54
Figura 15. Esquema del funcionamiento del AFS-640.	55
Figura 16. Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb (II).	56

Figura 17. Diagrama de flujo en la preparación de los CRM.	61
Figura 18. Modo de preparación de muestras ambientales y biológicas.	62
Figura 19. Diagrama de flujo del estudio de agentes enmascarantes.	63
Figura 20. Optimización de los flujos de argón.	69
Figura 21. Optimización de la Temperatura del Atomizador.	70
Figura 22. Volumen de muestra para el método PM.	72
Figura 23. Volumen de muestra para el método del Ferricianuro.	72
Figura 24. Optimización del Caudal de Inyección de muestra.	73
Figura 25. Efecto de la concentración del TBH (KBH_4) sobre la señal analítica del Pb(II).	75
Figura 26. Influencia de la concentración de peróxido de hidrogeno en la señal analítica del Pb(II).	76
Figura 27. Influencia de la concentración del ferricianuro de potasio en la señal analítica del Pb(II).	78
Figura 28. Optimización de la concentración del HCl.	79
Figura 29. Efecto de la señal analítica del plomo a diferentes pH para los métodos analíticos PM y FeM.	80
Figura 30. Curva de Calibración rango de 1 a 11 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en PM.	82
Figura 31. Curva de calibración del rango de concentración entre 10 y 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en PM.	82
Figura 32. Curva de calibración del rango de concentración de 0.5 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en FeM.	84
Figura 33. Curva de calibración de para el rango de concentración de 8 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en FeM.	84

Figura 34. Espectro del Pb(II) en el BCR-610 sin la adición de KI.	90
Figura 35. Espectro de Pb(II) en el BCR-610 con la adición de KI.	90
Figura 36. Gráficas de calibración obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de KI adicionadas a la solución reductora de KBH_4 .	96
Figura 37. Curvas de calibración para plomo obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de L-Cisteína en el sistema de flujo continuo (FI system).	97
Figura 38. Curvas de calibración para plomo obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de 1,10-Fenantrolina en el sistema de flujo continuo (FI-system).	98
Figura 39. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de As(V) y los tres AE.	99
Figura 40. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de Cu(II) y los tres AE.	101
Figura 41. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de Cr(III) y los tres AE.	103
Figura 42. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de Fe(III) y los tres AE.	105

Resumen

El objetivo del presente trabajo de investigación fue desarrollar, optimizar y validar una técnica analítica para la determinación de plomo a niveles traza en muestras ambientales y biológicas. El sistema analítico para la determinación de plomo incluye el acoplamiento del análisis por inyección en flujo (FIA) a la unidad de generación de hidruros (HG) con fluorescencia atómica (AFS) como técnica de detección. Debido a que la generación del hidruro de plomo (plumbano) es más eficiente para plomo (IV) que para plomo (II) y que su reacción de formación depende en gran medida de las condiciones experimentales utilizadas y de la adición de aditivos que mejoran su eficiente generación, se implementaron y compararon dos métodos; uno utilizando peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y otro ferricianuro de potasio ($K_3[Fe(CN)_6]$), ambos como agentes oxidantes. La investigación desarrollada incluyó la optimización de variables de operación del equipo de fluorescencia atómica; flujo del gas argón, volumen de muestra, velocidad de inyección. La concentración de todos los reactivos utilizados fue también optimizada. Se llevó a cabo un estudio de iones interferentes en ambos procedimientos. El método seleccionado fue el que utiliza al $K_3[Fe(CN)_6]$ como agente oxidante, ya que se obtuvieron mejores prestaciones analíticas, con un límite de detección y cuantificación de $0.03 \mu g L^{-1}$ y $0.5 \mu g L^{-1}$, respectivamente. La precisión fue caracterizada por un valor de RSD de 1.14%, mientras que la frecuencia de análisis fue de 70 inyecciones por hora. Con este método se llevaron a cabo los experimentos posteriores. Los resultados obtenidos mostraron que los dos métodos presentaron poca tolerancia a iones interferentes que se encuentran comúnmente en muestras ambientales y biológicas, tales como arsénico, cobre, fierro y cromo, entre otros. Esto condujo la investigación hacia el estudio de agentes enmascarantes y su rol en la generación del plumbano en presencia de

los iones mencionados anteriormente. Los enmascarantes seleccionados para este estudio fueron: ioduro de potasio (KI), L-cisteína (LC) y 1,10-fenantrolina (FEN), que son los más utilizados en estudios de interferencias realizados para otros elementos que generan hidruros. La bibliografía para plomo en este rubro es casi inexistente. Los resultados de la adición de los agentes enmascarantes en la generación del plumbano fueron satisfactorios para los iones interferentes de As, Cu y Fe, elevando sus límites de tolerancia. Sin embargo, ningún agente enmascarante tuvo efecto sobre el ion Cr. La validación del método se hizo mediante el análisis de dos materiales de referencia certificados: una muestra de agua de pozo (BCR-610) y una de tejido de almeja (SRM-2976). Los valores encontrados estuvieron en concordancia con los certificados. Así mismo, se llevó a cabo la aplicación de la metodología desarrollada al análisis de plomo en muestras de agua de grifo, agua de mina tratada, así como también muestras biológicas: sangre, plasma y suero. Todas fueron fortificadas para medir la recuperación del analito de interés. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios. Además de las dos apreciables ventajas que presenta ésta técnica, las cuales son sensibilidad analítica y precisión, también se puede obtener un menor consumo de reactivos, por lo tanto, menor generación de residuos.

Abstract

The main aim of this thesis was the development, optimization and validation of an analytical technique for the determination of lead at trace levels in environmental and biological samples. The system includes the coupling of flow injection analysis (FIA) to hydride generation (HG) with atomic fluorescence (AFS) as detection technique. Lead hydride (plumbane) generation is more efficient for Pb(IV) than Pb(II). This reaction depends on experimental conditions and the use of additives to improve its efficiency. Therefore, two chemical methods were tested and compared: one of them using hydrogen peroxide (H_2O_2) and the second one potassium ferricyanide ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), both as oxidant agents. The developed investigation included operation variables optimization such as argon flow, sample and reagents volumes and injection throughput. All reagents concentration were optimized. In addition, a study of interfering ions was also carried out for both methods. The $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ method provided better analytical performance with a detection and quantification limits of $0.03 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The accuracy was evaluated by RSD value of 1.14% whereas an analysis frequency was of 70 injection per hour was achieved. Thus, it was selected for further experiments. The study of interferences showed low tolerance levels of foreign ions in both methods. The evaluated ions are those which are commonly founded in environmental and biological samples, such as arsenic, chromium, copper and iron, among others. This fact leaded the investigation to the study of masking agents and their role on the plumbane generation in presence of the interfering ions mentioned above. The masking agents selected for this study were: potassium iodide, L-Cysteine, y 1,10-fenantroline, which are the most used in interferences studies of others hydride-forming elements, since references for this issue in lead determination are scarce. The results of masking agents addition

for plumbane generation were satisfactory for As, Cu and Fe, increasing their tolerance levels. However, the masking agents tested have been ineffective for the interference of Cr ion. The validation of the proposed methodology was carried out by the analysis of two certified reference materials: groundwater sample (BCR-610) and mussel tissue (SRM-2976). The obtained results were in good agreement with the certified values. The developed methodology was applied to the analysis of lead in drinking water and treated mine water as well as biological samples: blood, plasma and serum. All samples were fortified in order to evaluate the lead recovery. Satisfactory results were obtained. In addition to two significant advantages of this technique, which are analytical sensitivity and accuracy, it is achieved a lower reagent consumption, therefore, less waste generation.

Introducción

Se definen como metales pesados aquellos elementos cuyo peso atómico es superior al del sodio (Peris *et al.*, 2007), es decir, mayor que 23 g mol^{-1} . Los metales pesados intervienen en prácticamente todos los procesos vitales conocidos, así como también pueden producir problemas graves a la salud de los seres humanos (Bragazza, 2006). La peligrosidad de los metales pesados es mayor al no ser química ni biológicamente degradables (Barakat, 2010). Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años., además, tienen la propiedad de bioacumularse, por lo que la ingesta de plantas o animales contaminados puede provocar síntomas de intoxicación (ATSDR, 2005). La actividad humana incrementa el contenido de estos metales en el ambiente en cantidades considerables, siendo ésta sin duda, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas (Nordberg *et al.*, 1995).

Dentro de los metales pesados hay dos grupos; el primer grupo lo representan los oligoelementos o micronutrientes que son los requeridos en pequeñas cantidades, o cantidades traza por plantas y/o animales y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, rebasado cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn (Hawkes, 1997). El segundo grupo son los conocidos como metales pesados, los cuales no tienen una función biológica conocida.

Su presencia en determinadas concentraciones en seres vivos conlleva a disfunciones en los organismos y pueden resultar altamente tóxicos (Barakat *et al.*, 2010) y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Los elementos: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Sb, Bi representan este grupo. Estos son los metales tóxicos cuya

concentración en el ambiente puede causar daños en la salud de las personas. La toxicidad de estos metales se debe a su capacidad de combinarse con una gran variedad de moléculas orgánicas, pero la reactividad de cada metal es diferente y consecuentemente lo es su acción tóxica. Usualmente las moléculas suelen tener dentro de su estructura grupos sulfhídricos los cuales se combinan con facilidad con los metales pesados produciendo inhibición de las actividades enzimáticas del organismo (Hawkes, 1997).

Desde un punto de vista toxicológico, dentro de los metales pesados más importantes a considerar es el plomo, el cual ocupa el segundo lugar en la lista de "las 20 sustancias más peligrosas" listadas según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR, 2007). El 14% de este metal se produce en América Latina, siendo los más importantes en este rubro Perú y México (Danza *et al.*, 1997).

La determinación de plomo en muestras ambientales y biológicas juega un rol importante en el monitoreo de la contaminación ambiental (Di Nezio *et al.*, 2004). El plomo se encuentra en la atmósfera, aguas naturales y suelos como consecuencia de la descarga de aguas residuales de origen industrial, desechos de jales provenientes de las industrias mineras, pinturas deterioradas de edificios y deposición de partículas por emisiones de vehículos (Yebra y Barinaga, 2002).

De la atmósfera, aguas y suelos, el plomo se puede incorporar a la cadena trófica, es decir, a plantas, animales, peces y finalmente a humanos, ocasionando serios daños a la salud incluso a concentraciones traza, debido a su acumulación y toxicidad, lo cual ha generado e incrementado el interés por establecer y aplicar nuevas metodologías analíticas para su determinación (Zahida *et al.*, 2008).

1. Plomo: Generalidades

El Plomo es un metal pesado, grisáceo, maleable, suave, denso y dúctil (Greenwood, 2002). Se encuentra en forma natural en la corteza terrestre de un modo relativamente abundante. Fue uno de los primeros metales extraídos por el hombre a partir de la galena (PbS), la cerusita (PbCO₃) y la anglesita (PbSO₄) (Azañero *et al.*, 2002)

Se obtiene de 2 fuentes principales; una fuente primaria, mediante la fundición del metal y una secundaria como consecuencia del reciclaje de baterías y chatarra. Es muy estable y resiste la corrosión, no conduce electricidad pero es un buen escudo protector contra la radiación, debido a su alta densidad y propiedades nucleares (ATSDR, 1999). Se emplea en grandes cantidades en la fabricación de baterías, en el revestimiento de cables eléctricos y en aparatos de rayos X (CEPIS, 1995).

Tiene un punto de fusión de 328 °C, un punto de ebullición de 1740 °C, su densidad relativa es de 11.34 g cm⁻³ y 207.20 g mol⁻¹ su masa atómica (Enhag, 2004). El plomo reacciona con el ácido nítrico, pero a temperatura ambiente le afectan muy poco los ácidos sulfúrico y clorhídrico. En presencia de aire, reacciona lentamente con el agua formando hidróxido de plomo, que es ligeramente soluble (Emsley, 2003).

Se presenta en la naturaleza en ocho formas isotópicas: cuatro de ellas son estables y las otras cuatro son radiactivas. Los isótopos estables son el plomo 206, plomo 207 y plomo 208, los cuales son respectivamente, los productos finales de las series de descomposición radiactiva del

uranio, actinio y torio. El plomo 204 no tiene precursores radiactivos naturales (Olías *et al.*, 2005).

Los compuestos de plomo son diferentes entre sí, en solubilidad y por lo tanto, en su biodisponibilidad y toxicidad en el medio ambiente (Baxter y Frech, 1995). Estas dos características son un elemento importante a considerar cuando se evalúan las posibles implicaciones de la exposición al plomo, debido a que los compuestos solubles y orgánicos del mismo son adsorbidos más fácilmente (Baxter y Frech, 1995). Lo anterior se muestra en la Tabla 1, en la que se compara la solubilidad de distintos compuestos respecto a la del acetato de plomo que es una de las formas más solubles.

Tabla 1. Solubilidad de los compuestos de plomo.

Forma química	Solubilidad en...	
	Agua	Solventes orgánicos
Plomo	Insoluble	Insoluble
Acetato de plomo Pb(C₂H₃O₂)₂	2210 g L ⁻¹ a 50°C	Soluble en glicerol, muy poco en álcalis
Cloruro de plomo Pb(Cl)₂	9.9 g L ⁻¹ a 20°C	Insoluble en alcohol
Cromato de plomo Pb(CrO₄)	0.2 mg L ⁻¹	Insoluble en ácido acético
Nitrato de plomo Pb(NO₃)	376.5 g L ⁻¹ a 0°C	0.4 g L ⁻¹ en alcohol puro y 13.33 g L ⁻¹ en metanol puro

2. Ciclo geoquímico del plomo

El ciclo del plomo en el campo geoquímico incluye fuentes naturales y artificiales, el destino del metal en la biósfera una vez modificado por factores naturales, artificiales y la actividad humana (Ubillus, 2003).

Los datos sobre las concentraciones naturales de plomo en la atmósfera, son difíciles de obtener debido a la gran contaminación causada por la actividad humana e industrial (ATSDR, 1999). En áreas del mundo no contaminadas las concentraciones medias del plomo son menores de $0.01 \mu\text{g L}^{-1}$. Por otra parte, otra cantidad se puede desprender al desactivarse los radioisótopos ó de emanaciones volcánicas.

La cantidad de plomo ingerida a través de los alimentos y agua es mayor que la inhalada por el aire urbano, pero ésta última es más fácil de absorberse y por lo tanto representa un peligro a la salud (ATSDR, 2007).

Las principales fuentes de contaminación de plomo aéreo son: emisiones causadas por el uso de combustibles, actividades industriales como la fundición primaria y secundaria, el uso de carbón mineral empleado como combustible en actividades industriales o comerciales (Tabla 2) y los cigarrillos. Aunque la mayor parte del plomo queda en la ceniza del cigarrillo, se ingieren en el humo $20 \mu\text{g}$ de plomo por paquete. La cantidad de plomo emitida dependerá de diversas variables, que incluyen la temperatura ambiente, la velocidad del viento, el tipo de combustible, entre otros (Ubillus, 2003)

El plomo puede estar presente en aguas naturales y suelos como resultado de la descarga industrial de aguas residuales, polvo o partículas de pintura provenientes de la reparación o renovación de edificios (ATSDR, 2007).

Tabla2. Estimación de la emisión antropogénica de Pb hacia la atmósfera.

Fuente	Emisión (Toneladas / año)
Combustión del carbón Plantas de energía eléctrica industrial y doméstico	780 – 4,650 990 – 9,900
Combustión de petróleo Plantas de energía eléctrica Industrial y doméstico	230 – 1,740 720 – 2,150
Producción de plomo: (fundición) Minería Producción de plomo Producción de plomo – níquel Producción de cadmio - zinc	1,700 – 3,400 11,700 – 31,200 11,000 – 22,100 5,520 – 11,500
Otros Producción de acero Fuentes móviles	1,070 – 14,200 248,030

En la Figura 1 se muestra que de la atmósfera, aguas y suelos, el plomo entra a la cadena trófica y es adsorbido por plantas y animales marinos, en donde puede ser bioconcentrado y estar biodisponible a los humanos, dando lugar a intoxicaciones de tipo accidental y crónicas (Lanphear *et al.*, 2002). Los peces depredadores, mariscos, almejas, entre otros, son capaces de concentrar este metal presente en las aguas hasta en factores superiores a 100,000. México es uno de los más grandes productores de plomo en América Latina, y este hecho ha traído como consecuencia la contaminación del suelo por metales pesados en gran parte debido a los residuos generados por industrias mineras (Puga *et al.*, 2006).

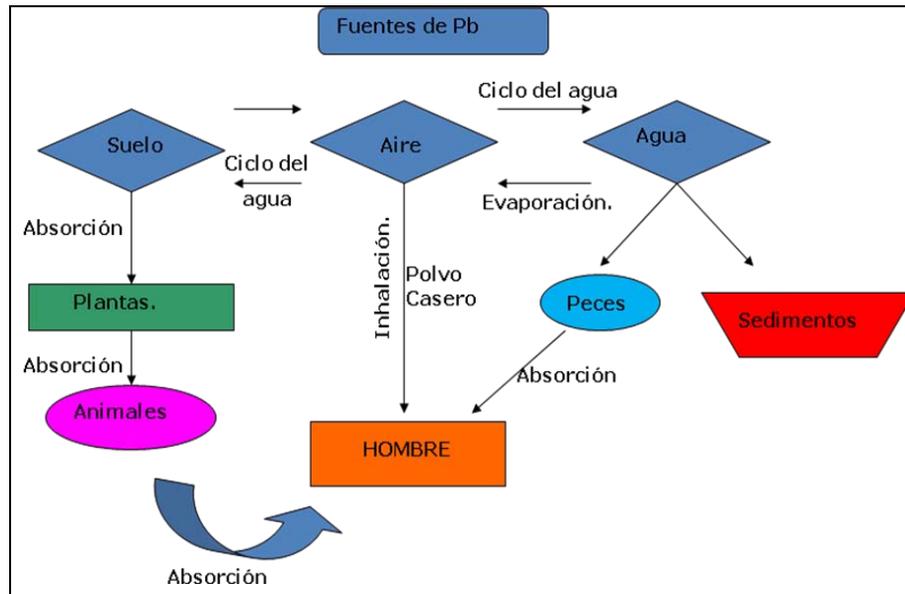


Figura 1. Ciclo natural del plomo.

En Chihuahua, estado minero por excelencia, se han realizado mediciones de metales pesados, incluyendo al plomo, en suelos contaminados (Chavez *et al.*, 2006), obteniendo elevadas concentraciones, mismas que sobrepasan los niveles máximos permisibles establecidos por las normas internacionales y nacionales. Un ejemplo son las mediciones llevadas a cabo en suelos de la mina de San Francisco del Oro, Chihuahua, en donde

se encontró que el plomo en los primeros 5 sitios ubicados dentro de los 1500 m de distancia a los jales, presentan valores arriba de 1000 mg L^{-1} en la parte superficial. En relación a estos valores la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 1992) señala para suelo superficial un rango entre 50 y 100 mg L^{-1} , clasificándolos como sitios excesivamente fitotóxicos.

Otro ejemplo en el estado de Chihuahua y que no puede pasar inadvertido es el caso de la fundidora "Ávalos", la cual fue considerada como una de las compañías más importantes de Latinoamérica por su alta producción. Estuvo en operación cerca de 90 años, sin embargo, a su paso dejó considerables concentraciones de plomo en el suelo. Sosa et al., 2009, encontró $11,518 \text{ mg L}^{-1}$ de plomo, en muestras de jales depositados en suelo, representando así un riesgo para la salud de las personas que habitan en zonas aledañas a la fundidora, por exposición de polvos que contienen plomo (Ornelas et al., 2007). Actualmente la fundidora se encuentra cerrada, y el sitio en proceso de remediación.

En muestras de agua natural provenientes del río Conchos, se obtuvieron valores de hasta 0.94 mg L^{-1} de plomo, rebasando los límites permitidos por las normas oficiales mexicanas (Quintana, 2007). En peces se presentaron valores de plomo más altos de los permitidos en la NOM-028-SSA1-1993, hasta 40 veces más en branquias y 20 en músculo. Es preocupante que la concentración de este metal en músculo de pescado sea 20 veces mayor que lo establecido en esta norma y que la contaminación de estos cuerpos de agua ya haya alcanzado un nivel crítico y esté causando problemas de intoxicación a las especies que lo habitan (Moreno, 2008).

3. Toxicidad

Hipócrates de Cos (370 a.C.) fue el primero en describir síntomas en trabajadores intoxicados con plomo. Nicanor, en el siglo II a.C., relacionó directamente el estreñimiento, cólico, palidez, parálisis y perturbaciones de la visión con la exposición al plomo (Wolf *et al.*, 2007).

Plinio el viejo y Paracelso describen el envenenamiento por plomo en los constructores de naves. Dieciséis siglos después Bernardo Ramazzini, en 1713, describe temblor y parálisis en las manos de alfareros que usan plomo para el glaseado (Ramírez, 2005).

El primer autor moderno que describió este envenenamiento fue Tanquereldes Planches en un estudio publicado en 1839, basado en 1200 casos de intoxicación por plomo, tan completo que hasta hoy es muy poco lo que se ha agregado a la descripción de síntomas y signos por esta intoxicación (Meyer *et al.*, 2008).

Laennec en 1831, Andral y Gavarret, en 1840, llaman la atención sobre la anemia causada por el plomo (Flora, 2002).

Garrod, en 1892, fue el primero en informar del aumento de porfirinas en la orina y Behrend, en 1899, observó el punteado basófilo en los hematíes (Hunter, 1962; Zenz, 1988).

La Figura 2 muestra la comparación entre células con punteado basófilo debido a la presencia de plomo y células normales de sangre.

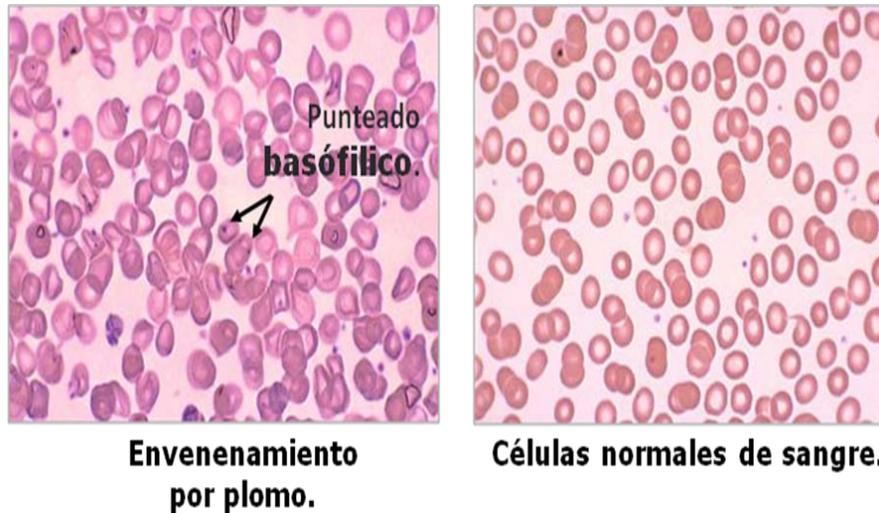


Figura 2. Comparación entre células con punteado basófilico debido a la presencia de plomo y células normales de sangre.

En 1960, la intoxicación por plomo en los países desarrollados pasó de ser un problema ocupacional a un problema de salud pública, sobre todo en infantes (Lanphear *et al.*, 2002).

La población infantil de México enfrenta un problema de salud pública debido a toxicidad subclínica por plomo (Jiménez *et al.*, 1993).

Estudios realizados señalaron diferentes fuentes responsables de la carga de plomo en el cuerpo de los niños, como: la gasolina con plomo (ATSDR, 2007), los pigmentos, el esmalte (Lanphear *et al.*, 2007) y el vidriado de la cerámica (Aguilar, 2003) y la soldadura de las latas de alimentos (CEPIS, 1995), entre otros.

Afortunadamente se identifica una tendencia a la baja en los niveles de exposición, lo cual en parte se refleja por la disminución y posterior eliminación del uso de plomo en las gasolinas (INE, 2007).

Sin embargo, a nivel global, las concentraciones ambientales de plomo han aumentado más de mil veces durante los tres últimos siglos como consecuencia de la actividad humana (Chávez, 2006).

4. Plomo en el metabolismo humano

Una vez que el plomo ingresa al organismo, éste se distribuye por diversos órganos y se deposita en ellos por periodos variados de tiempo. (Aguilar, 2003).

La absorción y el destino biológico del plomo cuando ingresa al cuerpo humano dependen de una serie de factores que incluyen el estado nutricional, la salud y la edad del individuo (Aufderheide y Wittmers, 1992).

No se debe olvidar que un factor adicional a considerar es la forma química en la que el plomo, o los compuestos de plomo, entran al cuerpo (Martínez, 2002). En la Figura 3 se muestra como es el comportamiento del plomo inorgánico en el cuerpo humano, es decir su absorción, depósito en sangre, huesos y las vías probables de excreción.

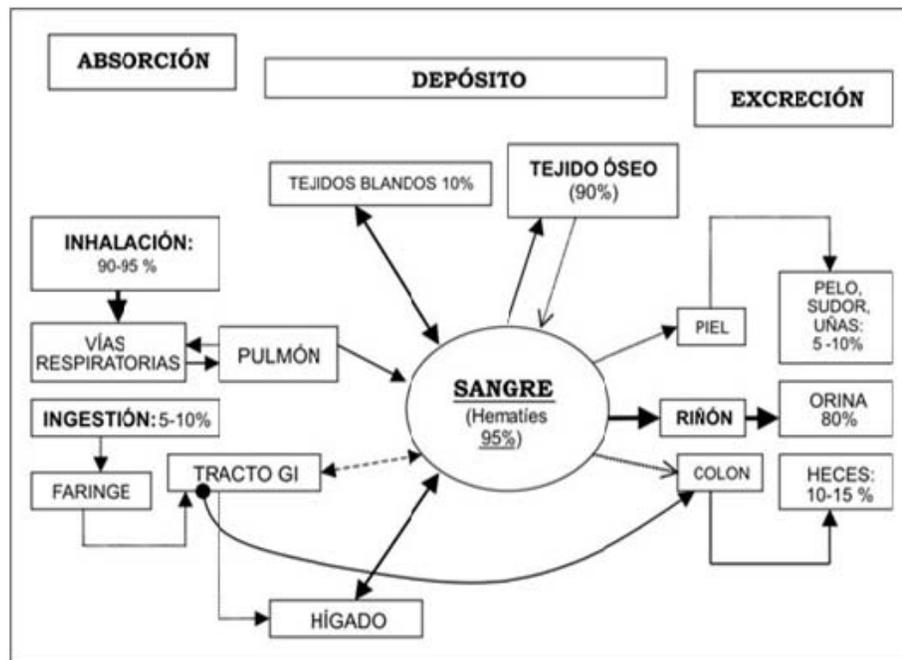


Figura 3. Modelo simplificado del metabolismo del plomo en el organismo humano (Fuente: Corey, 1999).

4.1. Plomo presente en sangre y plasma

Aproximadamente el 99% del plomo sanguíneo está asociado a los glóbulos rojos, el 1% restante se queda en el plasma sanguíneo, es decir, mientras más alta sea la concentración de plomo en la sangre, mayor será el porcentaje de plomo en el plasma (Azcona *et al.*, 2002).

El plomo en la sangre favorece que ésta lo transporte a los tejidos blandos como lo son riñones, sistema nervioso central y pulmones (Hu *et al.*, 2006).

El plomo puede ser transmitido de la madre al feto por transferencia placentaria estando expuesto a casi la misma concentración de plomo que la madre (Martínez, 2002). Se ha descrito un aumento de abortos

espontáneos y un incremento de la tasa de muerte en recién nacidos. También la exposición paterna está asociada con la aparición de abortos (Antilla, 1995). También se ha encontrado mayor riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares en trabajadores expuestos a plomo (Michaels, 1991).

Como contraparte se ha descrito el efecto favorecedor del plomo en el desarrollo de afecciones cardiovasculares como la hipertensión arterial (Kirkby y Gyntelberg, 1985), existiendo una relación causal cuando una persona se encuentra expuesta a bajos niveles de plomo (Schwartz, 1995).

El análisis que mide el nivel de plomo en la sangre es la herramienta más usada para medir la exposición al plomo (DeSilva, 1981).

4.2. Plomo en tejidos mineralizantes

En los tejidos mineralizantes como son los huesos y los dientes de los adultos, se encuentra cerca del 94% de la carga corporal total de plomo, mientras que en los niños esta cantidad se aproxima al 73% (Barry, 1981).

El plomo que se encuentra en los tejidos mineralizantes no se distribuye de manera uniforme. Tiende a acumularse en las regiones óseas que presentan una mayor calcificación en el momento de la exposición (ATSDR, 2005).

El Pb(II) tiene afinidad por ocupar los sitios que ocupa el Ca(II) en los huesos, es así como se comienza el proceso de acumulación. Cuando existe una resorción de Ca(II), el plomo comienza su movilización desde los huesos hacia la sangre, esto ocurre especialmente durante el embarazo, la lactancia, la menopausia, el desequilibrio fisiológico, la enfermedad crónica, el hipertiroidismo, la enfermedad renal, las fracturas óseas y con la edad avanzada, todas estas etapas en las que se involucra una deficiencia de calcio (Hernández *et al.*, 2002).

La reserva de plomo inerte reviste un riesgo especial ya que constituye una fuente endógena de plomo que puede mantener los niveles de plomo en la sangre elevados aunque la exposición haya cesado tiempo atrás (ATSDR, 2005).

El plomo que no se almacena en los huesos abandona el cuerpo en la orina o las heces, es decir, aproximadamente 99% de la cantidad de plomo que entra al cuerpo de un adulto es excretado en un periodo de dos semanas, sin embargo, solamente 32% del plomo que entra al cuerpo de un niño lo abandonará en el mismo período (ATSDR, 2007).

En la Figura 4 podemos observar ligeras líneas de plomo en una niña de cinco años con lento desarrollo en huesos y con plomo en sangre a un nivel de $37.7 \mu\text{g dL}^{-1}$, mientras que el límite permisible de plomo para niños según las normas nacionales e internacionales es de $10 \mu\text{g dL}^{-1}$.

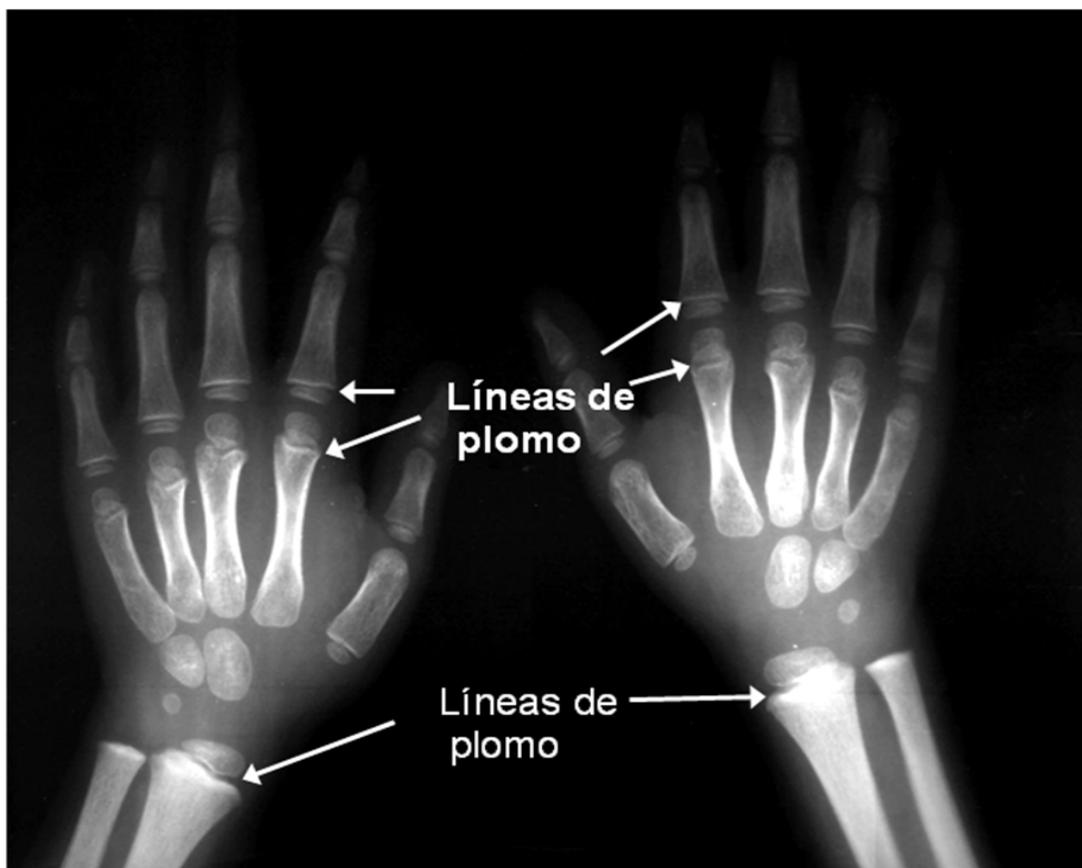


Figura 4. Fotografía cortesía de Dra. Celsa López Campos, Unidad del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en Torreón, México.

Esta fotografía fue obtenida mediante un método que determina plomo en hueso, se conoce como K-XRF o fluorescencia K de rayos X, tomando varias mediciones de los niveles de plomo en el hueso; sin embargo, en la actualidad este método se está usando principalmente para fines de investigación (Gulson *et al.*, 2003).

5. Normatividad

En la Tabla 3 se presenta un resumen de algunas de las legislaciones existentes para el plomo en diversos organismos, tanto nacionales como internacionales. Esta normatividad incluye agua para consumo humano, regadío de zonas agrícolas, suelos, aire y lo más importante para monitoreo biológico de plomo en seres humanos.

Tabla 3. Normas y regulaciones para plomo.

Agencia	Medio	Nivel	Observación
Norma Oficial Mexicana NOM-199-SSA1-2000	Sangre	<100 µg L ⁻¹ 100-140 µg L ⁻¹ 150-240 µg L ⁻¹ 250-440 µg L ⁻¹ 450-690 µg L ⁻¹ >700µg L ⁻¹	Categoría I, Categoría II, Categoría III, Categoría IV. Categoría V, Categoría VI
OMS Organización Mundial de la Salud.	Sangre Niños.	100 µg L ⁻¹ 150 µg L ⁻¹	La OMS define como intoxicación por plomo los valores de plumbemia de más de 15 µg dL ⁻¹
OSHA Administración de la Salud y Seguridad Ocupacional.	Sangre	400 µg L ⁻¹ 600 µg L ⁻¹	Causa para notificación escrita y examen médico Causa para la remoción de la fuente de exposición por razones médicas
Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994.	Agua (consumo humano)	100 µg L ⁻¹	
EPA	Agua (consumo humano)	150 µg L ⁻¹ 0 µg L ⁻¹	Nivel de acción para suministros públicos Objetivo No-ejecutable; Objetivo de nivel .

Tabla 3. Normas y regulaciones para plomo. Continuación.

Agencia	Medio	Nivel	Observación
FDA	Comida	Varios 150 $\mu\text{g L}^{-1}$	Niveles de acción para varios tipos de comida, ejemplo; comida para infantes.
Norma Oficial Mexicana NOM-185-SSA-2002	Productos Lácteos (cremas, quesos, mantequilla, leche)	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	El productor o fabricante, debe determinar la presencia y cantidad de metales pesados y metaloides en las materias primas, en el producto en proceso de elaboración o en el producto terminado.
Norma Oficial Mexicana. NOM-F-261,1975 (INE, 2010)	Colorantes orgánicos	10,000 $\mu\text{g L}^{-1}$	Estos colorantes son agregados a alimentos, bebidas, medicamentos y cosméticos.
EPA	Suelo	< 50 mg L^{-1} 400 mg L^{-1} 1200 mg L^{-1}	Suelo no contaminado. Áreas infantiles. Áreas en general.
Comité de consultores de la Universidad de California	Agua para riego agrícola	5000 $\mu\text{g L}^{-1}$	A concentraciones muy elevadas puede inhibir el crecimiento celular de las plantas.
Instituto Nacional de Ecología. (INE, 2007)	Agua para riego agrícola	5000 $\mu\text{g L}^{-1}$	En el Acuerdo CE-CCA-001/89, por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua, expedido en diciembre de 1989.

*Los valores que se muestran para aguas de riego se han obtenido suponiendo un caudal de aplicación de 1200 mm año^{-1} , que es el adecuado en las buenas prácticas en la agricultura.

<http://www.miliarium.com/Paginas/Prontu/Tablas/Aguas/CalidadAguaRiego.htm>

Capítulo II.

Revisión de la metodología analítica

1. Sistemas de detección

El plomo es un metal que generalmente está presente en pequeñas concentraciones en muestras ambientales y por otra parte, estas muestras presentan matrices complejas (Yebra y Moreno, 2002), por lo cual, en la actualidad está disponible una amplia variedad de métodos analíticos para el análisis de plomo.

La elección del método analítico, por lo general, depende de la instrumentación disponible, la experiencia del analista y los niveles de concentración del analito. Las técnicas más frecuentemente utilizadas se describen brevemente en los siguientes párrafos.

2. Técnicas analíticas para la determinación de plomo

Las técnicas de Absorción Atómica en Flama (FAAS) son las más utilizadas para las determinaciones de plomo, por ejemplo, en muestras de suelo. Son de fácil manejo y de bajo costo de operación, sin embargo, este método tiene una limitada sensibilidad para plomo, por lo que se requiere un paso de preconcentración y/o separación del analito, antes de su determinación (Bingöl and Akçay, 2005).

Una de las técnicas ampliamente utilizadas por su sensibilidad para analizar elementos traza, entre ellos plomo, es la Absorción Atómica Electrotérmica (ET-AAS), mejor conocida como Espectroscopía de

Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS) (Rodríguez *et al.*, 2008), en la cual para evitar problemas de interferencias causados por matrices complejas, también es necesario un procedimiento de preconcentración o separación del analito. Esto se puede realizar en línea, utilizando las técnicas de análisis por inyección en flujo (FIA o FI), el método de adición de estándar ó usando el procedimiento denominado *modificación de la matriz*. La modificación de la matriz consiste en agregar un material específico que reduce la volatilidad del analito y por lo tanto, permite la calcinación de la muestra a una mayor temperatura.

La precisión y exactitud típicas para las mediciones de la mayoría de los elementos traza por la GFAAS están en el rango de 1-5% y 0.5-5% respectivamente (González *et al.*, 2004). La técnica FI-ETAAS se ha empleado en la determinación de plomo en hojas de olivo y pino (Burguera y Burguera, 1993).

Otra de las técnicas que ha sido utilizada para las determinaciones de plomo en suelo es la Espectrometría de Emisión Atómica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES) (Vandecasteele *et al.*, 1993).

La ICP-AES, a diferencia de AAS, es una técnica multielemental que permite el análisis simultáneo de un gran número de elementos (Vandecasteele *et al.*, 1993). Se basa en la medición de la radiación de la línea espectral emitida por átomos excitados en un plasma de Ar generado por calentamiento inductivo con un campo electromagnético de alta frecuencia.

Los principales componentes de un instrumento ICP-AES son la antorcha plasmática, el nebulizador y el policromador. Las partículas cargadas

calientan el argón hasta que el plasma alcanza una temperatura de 5500-8000 °K (Elfering *et al.*, 1998). Esto lleva a una vaporización casi completa del analito y a una alta eficiencia de atomización. La solución de la muestra es introducida vía nebulizador dentro de la antorcha utilizando un flujo transportador de Ar de 1 L min⁻¹ y para el gas que enfría, se requiere de un flujo de gas de 10 L min⁻¹ (Alastuey *et al.*, 2000). La técnica más común de introducción de la muestra es vía nebulizador. Esta técnica tiene un rango dinámico lineal de tres a seis órdenes de magnitud, permitiendo la determinación de un amplio rango de concentraciones sin dilución o preconcentración, por ejemplo, una concentración para el análisis de Plomo de 0.2 µg L⁻¹ (Lara *et al.*, 2005).

La Espectrometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS), es una técnica bien establecida en los laboratorios de análisis., se ha posicionado rápidamente como una de las técnicas más útiles y versátiles para la determinación de trazas en el análisis de alimentos (Vandecasteele, 1993). El desarrollo de la ICP-MS se produjo por el deseo de combinar la capacidad multielemental y amplio rango de trabajo lineal de la técnica ICP-EAS con los límites de detección excepcionalmente bajos de la técnica GFAAS.

La ICP-MS también sufre de efectos de la matriz, por ejemplo, la matriz induce cambios de la intensidad de la señal iónica especialmente en concentraciones de >1 g L⁻¹ de sólidos disueltos. Se utilizan diversos métodos para corregir o superar estos efectos de la matriz: dilución de la muestra, compatibilización de la matriz, uso de un estándar interno, adición de estándar, separación química, dilución isotópica ó un sistema FIA para la introducción y pre-tratamiento de la muestra.

Tsunoda *et al.*, (2000) propuso un método para determinar plomo en tejidos de plantas mediante la técnica de FI-HG-ICP-MS, la cual mejoró la sensibilidad, los límites de detección para el hidruro de plomo, es decir, existió una eficiente separación del analito de la matriz con una cuantitativa transferencia del hidruro gaseoso al detector. Esta técnica también ha sido probada en determinaciones de plomo en sangre y plasma de trabajadores expuestos ocupacionalmente, obteniendo buenos resultados (Schütz *et al.*, 1996), así como en determinaciones en muestras de agua para consumo humano (Gürleyük *et al* 2005).

Dentro de las técnicas electroquímicas se encuentra la Voltamperometría que es una técnica en la cual la corriente originada por una reacción de transferencia de electrones en la superficie de un electrodo se mide en función del potencial aplicado al mismo. Para ello se aplica un programa de potencial y se observa el gráfico resultante corriente-potencial (voltamperograma). Las especies químicas a analizar deben ser oxidables o reducibles sobre el electrodo (electroactivas). El parámetro que controla este proceso (oxidación o reducción) es el potencial del electrodo. La corriente producida por la reacción electroquímica se le denomina corriente faradaica y se buscan las condiciones experimentales para que la corriente sea proporcional a la concentración (Sanna *et al.*, 2000). La Figura 5 muestra un equipo utilizado para la obtención de un voltamperograma.



Figura 5. Técnica de voltamperometría.

La NOM-199-SSA1-2000, establece este método para la determinación de plomo en sangre, en el cual la sangre se añade en el reactivo apropiado para la rápida liberación del plomo de la muestra, éste se concentra y deposita en un electrodo de mercurio/grafito, durante la etapa de electrodeposición. El plomo depositado se remueve del electrodo en la etapa de redisolución y se cuantifica por la integración del pico de corriente resultante de una rápida reacción electroquímica. El área del pico que se obtiene durante la etapa de redisolución, es proporcional a la cantidad de plomo presente en la sangre.

La Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X (EFR-X) o también conocida como Fluorescencia de rayos X (XRF por sus siglas en inglés), es una de las técnicas más sofisticadas que se han aplicado para determinar el contenido de plomo en muestras ambientales de sedimentos en zonas costeras (Salazar *et al.*, 2004).

La fluorescencia de rayos X nos brinda algunas ventajas: el análisis no es destructivo (es decir, la muestra no sufre daños al analizarla), bajo costo, determinación rápida, interpretación de resultados simple, permite determinaciones multielementales simultáneamente y se pueden analizar muestras en estado gaseoso, líquido y sólido (Meléndez *et al.*, 2009).

También el contenido de un elemento a ser analizado en una muestra puede ser determinado de acuerdo a la cantidad de intensidad de la fluorescencia atómica. La espectrometría de fluorescencia atómica (AFS), está basada en la excitación de los átomos en su estado fundamental por una fuente de luz en una muestra, ésta es una excitación en frío. Es una técnica que presenta las ventajas de baja sensibilidad analítica en la medición de elementos a concentraciones

traza, además de que se puede acoplar a diferentes sistemas de introducción de muestra, como la generación de hidruros o la inyección en flujo. La fluorescencia atómica como sistema de detección, ha sido utilizada en la medición de Pb(II) en muestras de vino, arroz y agua, obteniendo excelentes resultados (Wu *et al.*, 2007). La Tabla 4 resume las ventajas y desventajas de las técnicas analíticas descritas anteriormente.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de las técnicas analíticas en la determinación de Pb(II) en muestras ambientales y biológicas.

Técnica analítica	Ventajas	Desventajas
FAAS	Instrumentación sencilla Costo relativamente bajo Alto rendimiento de muestras Precisión 0.3-1% Exactitud 0.5-5% Detección mg kg ⁻¹	Interferencias físicas, químicas y de ionización. Caudales altos de gases de combustión (Argón-nitrógeno, v.g.)
GF-AAS	Precisión 1-5% Exactitud 0.5-5% Sensibilidad mayor a la FAAS en un factor de 1000 (µg kg ⁻¹)	Bajo rendimiento de muestras. Interferencias químicas. Pérdida del analito en la etapa de calcinación.
ICP-AES	Técnica multielemental (análisis simultáneo de varios elementos) Alto rendimiento de muestra Límite de detección aproximado a FAAS No utiliza lámparas Analiza los no metales (Cl, Br, S, I)	Espectro de emisión complejo. Interferencias espectrales de matriz, argón y especies moleculares. Alto costo de instrumentación. Menor generación de residuos.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de las técnicas analíticas en la determinación de Pb(II) (continuación)

<p>ICP-MS</p>	<p>Técnica multielemental Menores límites de detección y precisión que GFAAS Disponibilidad de información isotópica Detección $<0.05 \text{ ng L}^{-1}$</p>	<p>Alto costo de funcionamiento y operación. Existencia de interferencias isobáricas. Efectos de matriz. Interferencias espectrales.</p>
<p>Fluorescencia de rayos X</p>	<p>Espectro fácil de obtener e interpretar Método no destructivo de muestra Permite analizar muestras en estado sólido, líquido, pastillas, polvos Trabajo en rango amplio de concentraciones Análisis cualitativo</p>	<p>Difícil de detectar elementos a concentraciones $<100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Patrones generalmente caros Efectos de matriz.</p>
<p>Voltamperometría</p>	<p>Se puede aumentar la señal de detección variando el tamaño del electrodo y el tiempo de electrólisis Buena sensibilidad de $1 \times 10^{-3} \text{ M}$</p>	<p>Alto costo de los materiales de electrodos. Uso de mercurio para el sistema de reacción. Baja reproducibilidad.</p>
<p>FIA-HG-AFS</p>	<p>Alta sensibilidad analítica, menores interferencias espectrales, bajo costo de adquisición y operación</p>	<p>Funciona únicamente para elementos formadores de hidruros. Analiza un elemento a la vez.</p>

3. La Espectrometría de Fluorescencia Atómica (AFS) como técnica analítica seleccionada para la detección de Pb(II)

La Espectrometría de Fluorescencia Atómica (AFS), es una forma de emisión por excitación con radiación electromagnética. Un vapor atómico absorbe una radiación de una fuente de luz, para que los electrones sean excitados a un nivel de alta energía, luego cuando los electrones regresan a sus niveles normales de energía, este proceso emite una radiación, que es característica de cada elemento, llamada fluorescencia atómica.

Cuando la longitud de onda de la radiación de excitación es igual a la longitud de onda de la fluorescencia producida, esta fluorescencia es llamada "Fluorescencia de resonancia. La línea espectral para el plomo es de 283.3 nm (Figura 6) (Karadjova *et al.*, 2007).

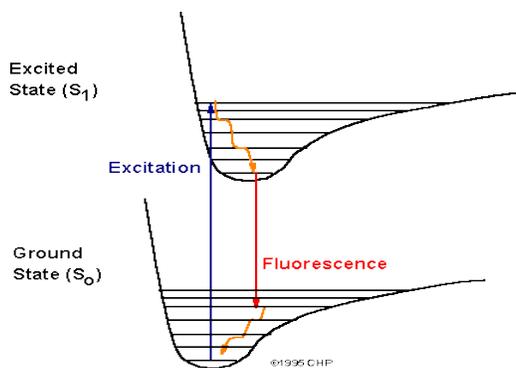


Figura 6. Emisión de la fluorescencia atómica.

Existe una relación funcional entre la intensidad de la fluorescencia atómica, la concentración de algún elemento a ser determinada, la intensidad de la fuente de luz de excitación y otros parámetros que han sido relacionados con la función básica (1) (Laborda *et al.*, 2007).

$$I_a = I_0A(1-e^{-KLN})\dots\dots\dots(1)$$

En la ecuación anterior se asume que la excitación por la fuente de luz es estable con características de longitud de onda radiando sobre el vapor atómico aproximadamente constante, que los átomos solo absorben la longitud de onda de cierta frecuencia y la fluorescencia atómica es creada después de ser excitados a un nivel específico de energía y que la distribución del átomo en estado fundamental en el atomizador es uniforme y la temperatura de atomización es también uniforme.

La relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración es bajo condiciones de baja densidad de átomos. Por lo tanto la espectrometría de fluorescencia atómica es recomendable sólo para determinaciones de bajo contenido del analito (Laborda *et al.*, 2007).

El espectrómetro de fluorescencia atómica consiste de 3 partes: Fuente de luz de excitación, atomizador, sistema de detección. A continuación se describen detalladamente.

3.1. Fuente de luz

Para evitar la radiación de la fuente de excitación, el sistema de detección debe de estar localizado formando un ángulo recto con la fuente de luz.

Para obtener la más alta sensibilidad analítica con el método de espectrometría de fluorescencia atómica, se requiere una fuente de luz de excitación estable y de alta intensidad. Algunas de las condiciones

que las lámparas deben tener son: la más alta fuente de intensidad de radiación absorbiendo en el rango del átomo del elemento a ser determinado, buena estabilidad por un largo tiempo, bajo ruido, corto tiempo de precalentamiento y bajo costo. En el análisis de la espectrometría de la fluorescencia atómica, las fuentes de luz de excitación usadas son: lámpara de descarga vapor metálico, lámpara de xenón-arc, lámpara de descarga de electrodos, lámpara de cátodo hueco, ICP, láser y lámpara de cátodo hueco de alta intensidad.

3.2. Atomizador

El tubo de cuarzo de la flama de argón-hidrógeno es especialmente diseñado para la espectrometría de fluorescencia atómica con generador de hidruros. Éste utiliza el borohidruro de potasio y una solución en medio ácido para la producción del hidruro volátil del analito de interés e hidrogeno. Ambos son arrastrados por una corriente de Ar hacia el atomizador de tubo de cuarzo, en donde también se produce la flama de argón-hidrógeno, la cual es necesaria para una efectiva atomización del elemento a ser determinado (Figura 7).

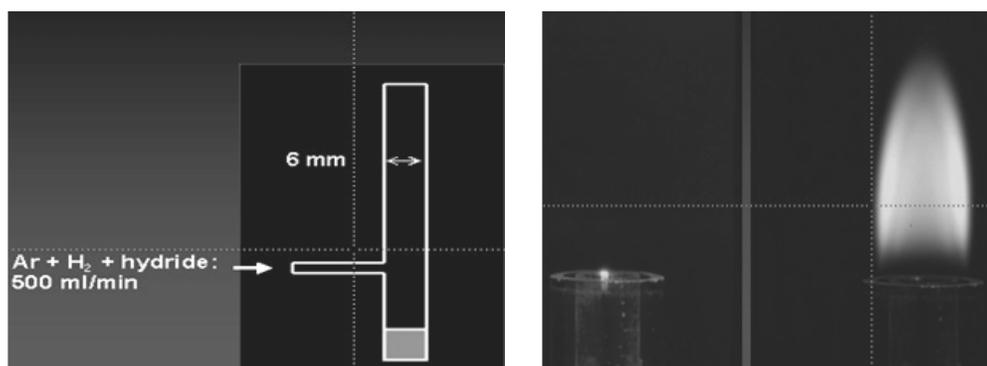


Figura 7. Tubo de cuarzo de la flama de argón-hidrógeno.

Este sistema de atomización consiste de un tubo de cuarzo abierto, un filamento de horno, materiales térmicos de insolación y una cubierta externa de metal. El filamento con 300 W es directa o indirectamente calentado (winded on) a la parte externa del tubo de cuarzo. La temperatura de calentamiento (850-900 °C) es controlada por el voltaje que se provee por la parte externa del tubo de cuarzo.

El sistema cuenta con dispositivos de componentes térmicos infrarrojos y temperaturas bajas de auto ignición de la flama de hidrógeno. La temperatura de precalentamiento del atomizador es controlada por la computadora para permitir la temperatura de atomización de los diferentes elementos de análisis.

3.3. Sistema óptico

Constituido por fototubos y fotomultiplicadores. El espectrómetro de fluorescencia atómica tiene un sistema de no dispersión sin monocromador porque no hay requerimiento de división de luz. El fotomultiplicador R166 es usado directamente, la sección de onda es de 160-320 nm y consiste de una fuente de luz de excitación, atomizador, fotomultiplicador y detector de amplificación, estos componentes son mostrados en la Figura 8.

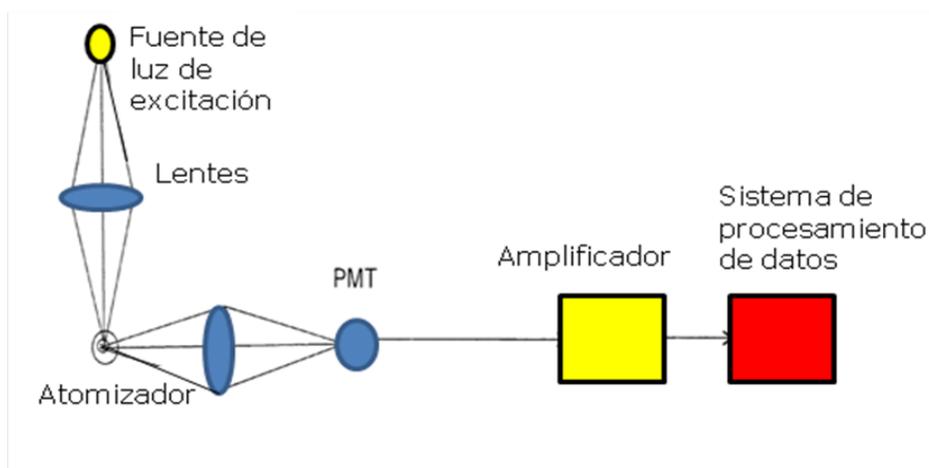


Figura 8. Sistema óptico del AFS-640.

3.4. Sistema de detección

El rendimiento del fotomultiplicador depende de parámetros como lo son la respuesta espectral y sensibilidad del fotocátodo. La cantidad mínima de luz en el tubo está en función de la corriente oscura. Normalmente ésta debe estar debajo de 10^{-8} Ampere. El material del fotocátodo del fotomultiplicador R166 es de Cs-Te, que es altamente sensible a la radiación de 160-320nm, pero no para longitudes de ondas mayores a 320 nm.

Como las normas internacionales y nacionales recomiendan medir el plomo por espectrometría atómica, la determinación de plomo en el presente trabajo de investigación, se hizo mediante la técnica de **Espectrometría de Fluorescencia atómica acoplada a la Generación de Hidruros y Flujo Continuo** como sistema de introducción de muestra (**FI-HG-AFS**, por sus siglas en inglés). Estos sistemas son descritos de forma detallada en la siguiente sección.

El acoplamiento de HG con AFS ha provisto a la química analítica de una poderosa herramienta para la determinación de elementos que forman hidruros volátiles incluyendo al plomo (Chen *et al.*, 2002).

La generación de hidruros separa el analito de interés de los componentes indeseables de matriz y la fluorescencia atómica es utilizada por su alta sensibilidad, amplio rango lineal, fácil uso y bajo costo (Leal *et al.*, 2006).

La generación de hidruros usualmente requiere grandes cantidades de tetrahidroborato y oxidantes, incrementando el costo de los análisis (Dedina, 2007). Además cuando se lleva a cabo la reacción se pueden producir espumas y aerosoles; estos inconvenientes pueden ser evitados con un sistema FIA (Baraguan *et al.*, 2002).

En resumen, el acoplamiento de FI-HG-AFS es una técnica que permite tener bajo consumo de reactivos y como consecuencia baja generación de residuos; por otra parte, ayuda a reducir las interferencias por metales de transición en comparación con los sistemas batch, debido al corto tiempo de interacción de la muestra-reactivos (Zheng *et al.*, 2009).

4. Sistemas de introducción de muestra

4.1. Análisis por Inyección en Flujo (FIA)

El sistema de introducción de muestra utilizado en esta investigación es el FIA, el cual se encuentra dentro de los métodos automáticos de análisis. Esta técnica apareció en 1975 propuesta por J. Ruzicka y E. H. Hansen. Los componentes básicos son: un sistema impulsor de muestra y reactivos, que en este caso es una bomba peristáltica, un conjunto de tubos de plástico (*manifold*) flexibles de Tygon) y un detector (Figura 9) (Ruzicka y Hansen, 1975). En este sistema un volumen constante de muestra es intercalada en una corriente de líquido portadora (carrier) y se le va haciendo confluir con los distintos reactivos del método analítico (Cerdá, 2006). El régimen de flujo es laminar, proporcionando importantes ventajas al FIA: zona de muestra bien definida, caudales reducidos y por lo tanto, consumo reducido de reactivos y alta frecuencia de análisis (Cañizares, 2002).

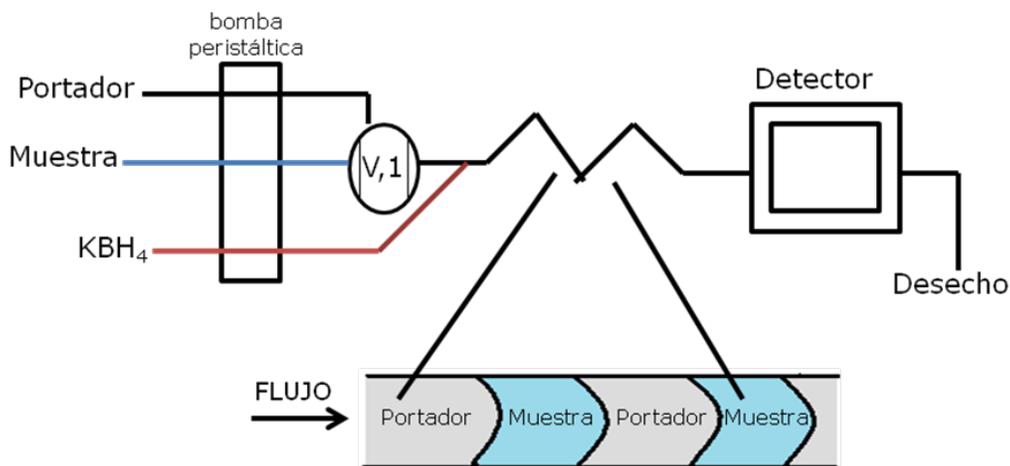


Figura 9. Configuración básica para Análisis por Inyección en Flujo (FIA).

Como se mencionó en el párrafo anterior, el régimen laminar permite que exista una zona bien definida de bolo de muestra inyectado (Figura 9, parte inferior), produciéndose un gradiente de concentración a lo largo de todo el bolo. La figura 10 muestra la dispersión que sufre la muestra bajo una configuración FIA, al ser un sistema continuo se obtiene una señal en forma de pico, cuyo máximo corresponde a la parte del bolo menos diluida (Cañizares, 2002).

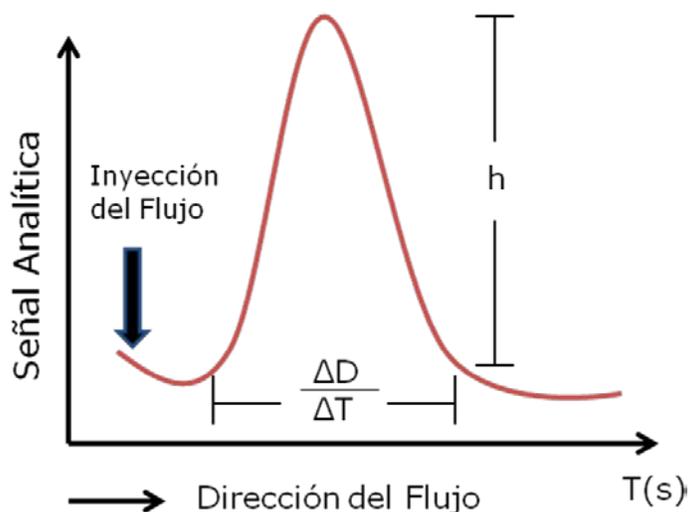


Figura 10. Señal obtenida en una configuración FIA.

Como se muestra en la parte superior de la Figura 10, la dispersión que sufre el bolo de muestra en el tubo abierto al pasar a lo largo de la configuración; h , altura del pico; ΔD , ancho del pico en un diferencial de tiempo ΔT .

Las ventajas más sobresalientes de los sistemas FIA son su configuración extremadamente simple, fácil operación y bajo costo (Leal *et al.*, 2006). Además, la gran reproducibilidad y el control de la dispersión permiten realizar medidas cinéticas de flujo detenido.

La rápida respuesta del FIA hace que se disponga de la información analítica en tiempo real y la elevada resolución temporal elimina la necesidad de recoger muestras individuales y almacenarlas (Stewart y Ruzicka, 1976). Además se consigue una disminución de consumo de la muestra y no se requieren ciclos de lavado para evitar la contaminación entre muestras.

Su punto débil es el uso de bombas peristálticas para la impulsión de los líquidos, ya que estas bombas requieren el uso de tubos flexibles de Tygon, lo que implica cambios en los caudales debido al aplastamiento progresivo que sufren los tubos, los cuales son especialmente vulnerables a reactivos agresivos como ácidos ó disolventes orgánicos (Cerdá, 2006).

Este sistema de introducción de muestra puede estar conectado a una interfase como es la unidad de generación de hidruros.

4.2. Generación de Hidruros (HG)

La generación de hidruros (HG) o generación de vapor químico (CVG, por sus siglas en ingles), es uno de los métodos más populares para la determinación de niveles traza y ultra traza de varios elementos formadores de hidruros (Dedina y Tsalev, 1995). Este proceso se lleva a cabo en presencia de tetrahidrobórato (III) (TBH) o boro hidruro de potasio o sodio, el cual produce hidrógeno (Feng *et al.*, 2005) en medio ácido (HCl) y convierte las especies iónicas de Ge, Sn, Pb, As, Sb, Bi, Se, Te, en los correspondientes hidruros volátiles o elemento volátil en el caso del Hg(II) (D'Ulivo *et al.*, 2008) y más recientemente metales de transición y metales nobles (Pohl y Prusisz., 2007).

Los mecanismos de la generación de hidruros (Figura 11) en fase acuosa en la reacción con TBH han sido recientemente sujetos de varias investigaciones tratando de clarificar muchos aspectos controversiales de este sistema de reacción (D'Ulivo *et al.*, 2005; D'Ulivo *et al.*, 2007), así como también, los mecanismos de descomposición bajo condiciones analíticas de reacción (D'Ulivo *et al.*, 2004). Para todos estos elementos los productos finales son: AsH_3 , SbH_3 , BiH_3 , GeH_4 , SnH_4 y PbH_4 .

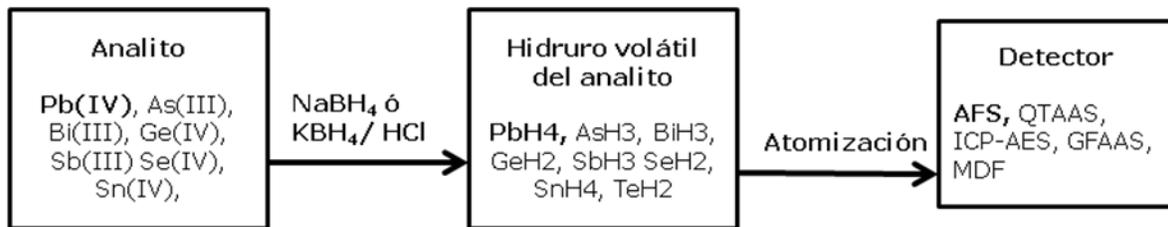


Figura 11. Esquema representativo de HG con detección de espectrometría atómica.

Este mecanismo consiste esencialmente de dos etapas. En la primera etapa, el TBH o uno de sus intermediarios (especies de hidroboro) comienza su descomposición e interactúa con el analito formando complejos analito-complejo borano intermediarios. En la segunda etapa este complejo formado transfiere átomos de hidrógeno al átomo del analito, por ejemplo, en AsH_3 se le transfirieron 3 átomos de hidrógeno de tres moléculas diferentes de borano.

Se presume que los mecanismos de reacción para metales de transición y metales nobles son similares, pero las investigaciones se han dificultado por la naturaleza desconocida de productos e intermediarios (Feng *et al.*, 2005).

Entre los mecanismos que más se buscan para ser clarificados en la generación de hidruros, está el rol que juegan la composición del medio de reacción en el control de la eficiencia, selectividad y tolerancia a iones interferentes (Dedina y Tsalev, 1995), así como también, la acción de aditivos ampliamente conocidos, y su interacción con el TBH.

5. Principales interferencias que tienen lugar en la generación de hidruros

Como se mencionó con anterioridad, la principal ventaja de la generación de hidruros es la separación del analito de los componentes indeseables de matriz (Kumar y Riyazuddin, 2010); sin embargo, interferencias no espectrales pueden ocurrir en la fase líquida y fase gaseosa debido a la contaminación (Pierce y Brown, 1977) y a los hidruros formados simultáneamente con el analito (Petrick *et al.*, 1987); además la adición de ácidos para la digestión provoca también estas interferencias (D'Ulivo *et al.*, 1998).

Las interferencias pueden ocurrir en la etapa de la reacción química, durante la formación de los hidruros, en la separación de las especies volátiles de la fase líquida y durante la atomización (Dedina y Tsalev, 1995). La magnitud de las interferencias depende de factores como el tipo de sistema de generación de hidruros, el tipo de atomizador utilizado, las concentraciones de ácido y solución reductora y el orden de mezclado de los reactivos. En los siguientes párrafos se describen los tipos de interferencias que existen y sus posibles mecanismos de acción.

5.1. Interferencias en la fase líquida

Las interferencias de la fase líquida pueden ocurrir en la fase de formación del hidruro o en su transferencia, se dividen en dos: de componentes y de matriz.

5.1.1. Interferencias por componentes

Relacionadas con el estado de oxidación del analito en la muestra, que puede ser diferente a los estados de oxidación de los patrones.

5.1.2. Interferencias por matriz

Ocurren cuando la matriz de una muestra afecta la formación del hidruro y su eficiencia. La interferencia puede deberse a la presencia de elementos de los grupos VIII y IIB, así como a los ácidos utilizados en la digestión. También el transporte del hidruro generado puede contaminarse con iones metálicos en el atomizador; estas especies pueden encontrarse como metales libres o especies volátiles.

5.2. Mecanismos de interferencias en la fase líquida

5.2.1. Competencia por el reductor

Ha sido descrito que el analito y el interferente compiten por el TBH al mismo tiempo, aún cuando la etapa de reacción del analito con el TBH es muy corta. Los problemas más serios de interferencias que causan una disminución en la señal analítica del elemento, son causados porque los iones interferentes reaccionan más rápidamente que el plomo o el analito de interés (Thomson y Thomerson, 1980).

Se ha observado que al aumentar la concentración de TBH la señal analítica también aumenta, esto hace pensar que a una concentración alta de TBH se minimizarían las interferencias, sin embargo, sólo una pequeña fracción del TBH es requerida para la generación del hidruro (Welz y Schubert, 1986). Desde este punto de vista, la competencia por el agente reductor debería disminuir la señal analítica pero no inhibir la formación de los hidruros, es decir, no se consideraría como un mecanismo de interferencia (Kumar y Riyazuddin, 2010).

5.2.2. Analito/analito-hidruro e interferente

Mayer et al., (1979), describieron que precipitados insolubles formados entre analito/analito-hidruro e interferente, pueden causar una interferencia. El tiempo de contacto entre estas especies, el cual es más alto para sistemas batch que para sistemas de flujo continuo, es un factor crítico para que ocurra este tipo de interferencia (Kumar y Riyazuddin, 2010).

5.2.3. Reducción preferencial del interferente

Los metales de transición forman precipitados insolubles con el TBH durante la generación de hidruros (Welz y Melcher, 1984; Bye, 1986). Estos precipitados son considerados metales coloidales, que co-precipitan el analito o adsorben el hidruro del analito descomponiéndolo catalíticamente. Esto se basa en que los metales de transición son buenos catalizadores para las reacciones de hidrogenización (Welz y Melcher, 1984). El orden de mezclado de los reactivos es importante para la formación de los precipitados. Si el TBH se adicionara a las muestras se formaría un precipitado de color negro, pero este

precipitado no se forma si el HCl se adiciona primero (Pierce y Brown, 1977).

Welz y Schubert, (1986), observaron que altas concentraciones de HCl y bajas concentraciones del TBH podrían extender el rango de interferencias.

El HCl incrementa la solubilidad de los metales precipitados y forma cloro-complejos con los iones metálicos, disminuyendo la concentración de iones libres. Bajas concentraciones de TBH reducen la posibilidad de que el ion interferente forme iones metálicos, que son como se mencionó con anterioridad, los que ocasionan las interferencias (Kumar y Riyazuddin, 2010).

5.2.4. Formación de complejos boro-metal.

El borohidruro reduce a los iones metálicos produciendo finas partículas de metales y boro-metal (Glavee *et al.*, 1992). Estudios en difracción de rayos-X indican que los precipitados son boruros de metal y no metales en su estado fundamental (Bye, 1986). Considerando la química compleja de las reacciones TBH-analito-ion interferente, se concluye que la formación de coloides metálicos y boruros de metal y su interacción con el hidruro del analito, son los mecanismos de interferencia de los metales de transición y metales nobles (D'Ulivo *et al.*, 2008). La Figura 12 esquematiza las posibles fuentes de interferencias en la generación de hidruros.

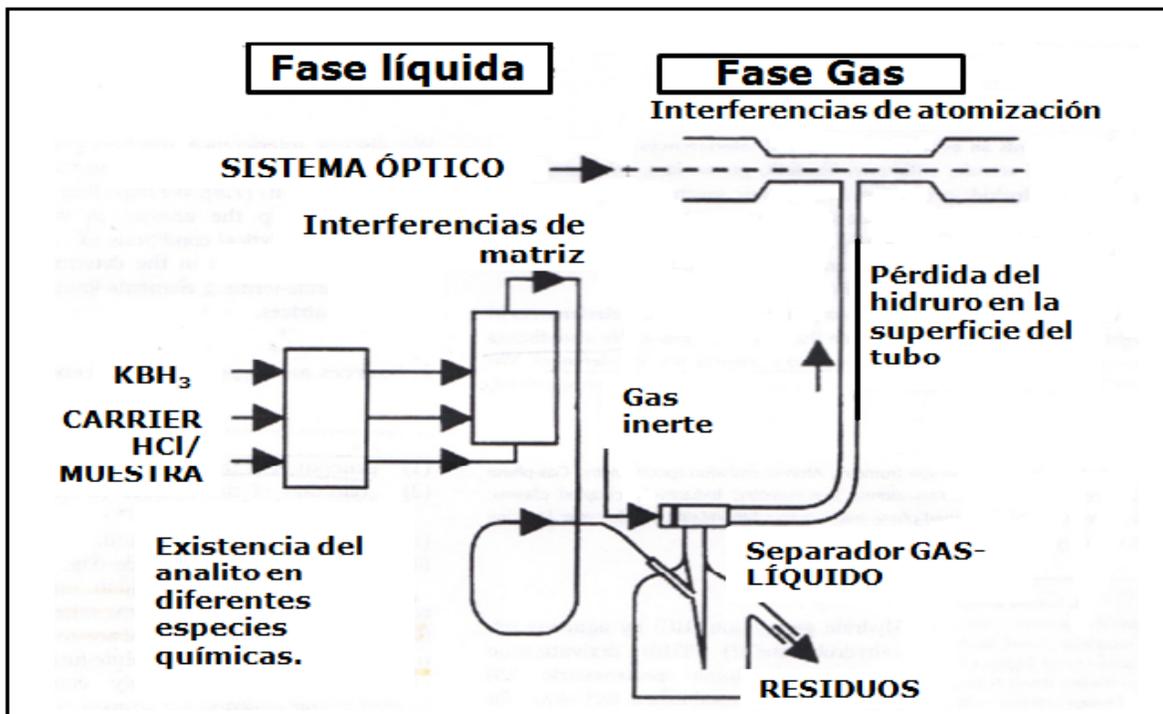


Figura 12. Posibles fuentes de interferencias durante diferentes etapas involucradas en la generación de hidruros.

5.3. Interferencias en la fase gaseosa

Son causadas por un interferente en forma volátil o como un spray líquido (Dedina y Tsalev, 1995).

Estas especies interfieren con la producción de radicales libres de hidrógeno requeridos para la atomización. Además pueden acelerar la recombinación de iones del analito y se forman especies poliatómicas o partículas (Dedina, 2007).

Estas interferencias pueden ocurrir en la superficie o dentro del generador ó en la conexión del tubo que va al atomizador, lo cual trae consigo un efecto de memoria. Según el lugar en donde son originadas las interferencias en la fase gas, se pueden dividir en dos:

5.3.1. Interferencias en el transporte

Éstas tienen lugar a lo largo de la ruta del hidruro del generador al atomizador, causando pérdida del hidruro que contiene al analito de interés.

5.3.2. Interferencias de atomización

Dependen del mecanismo de atomización del hidruro y de la transferencia del analito a un atomizador en particular (Dedina, 2007).

6. Agentes enmascarantes y sus mecanismos de acción

El uso de agentes enmascarantes es uno de los más importantes métodos para el control de interferencias en la fase líquida, causadas por metales de transición (Kumar y Riyazuddin, 2010). En la fase gaseosa, una de las interferencias que se pueden presentar es cuando existe una mutua formación de hidruros, es decir el del analito de interés y el que se forma con el interferente. Ésta interferencia podría ser evitada en la formación del hidruro interferente, adicionando un aditivo que reaccione preferencialmente con el interferente más que con el elemento de interés.

Los mecanismos de acción de los agentes enmascarantes en HG son explicados en base a la interacción analito/interferente-agente enmascarante (aditivo). Estos aditivos son adicionados a las muestras

en un gran número de casos (ejemplo, el KI con HCl/ácido ascórbico)(D'Ulivo *et al.*, 2002).

La acción del agente enmascarante podría ser debida a la precipitación del interferente. En algunos casos el modo de adición es de gran importancia, ya que de ello depende la capacidad del agente enmascarante, para inhibir o minimizar las interferencias que se presentan comúnmente en el análisis químico (Schmidt *et al.*, 1993).

En estudios recientes se ha propuesto que existe una fase de formación de haluros que cataliza la reacción de HG, formando complejos que son reducidos a hidruros más rápidamente que si el analito estuviera únicamente como ion (Pitzalis *et al.*, 2007).

Existen diferentes mecanismos por medio de los cuales los agentes enmascarantes ejercen su acción, dependiendo del tipo de sustancia que se emplee. A continuación se describen algunos de ellos.

6.1. Mecanismos de acción de tioles

Un tiol es un grupo de la forma (-SH) y en la reacción de HG se utiliza para el control de las interferencias; L-cisteína (L-Cys), L-Cistina, pencicilamina, tiourea, tioglicerol son algunos ejemplos de este tipo de agentes enmascarantes (Pitzalis *et al.*, 2007).

Existen dos mecanismos por medio de los cuales ejercen su efecto; primero, formación de un sustrato con el analito que es más reactivo con los intermediarios de hidroboro y segundo, la formación de complejos TBH-Cys del tipo $(RS-BH_3)^-$, los cuales tienen más propiedad de reaccionar con el interferente y que es en lo que se ha hecho más

énfasis en recientes investigaciones (D'Ulivo, 2005). Se ha observado que estos complejos son mejores reductores que el TBH por ser especies donadoras de electrones (Dedina, 2007). Sin embargo, los tioles no son efectivos para interferencias de Bi, Sb, Se o Te por la formación de complejos como RS-Se-SR (Marcucci *et al.*, 2001).

6.2. Selección de los agentes enmascarantes

Para evitar las interferencias de otros elementos o de matrices complejas, sobre la generación del plumbano, el uso de los agentes enmascarantes es uno de los métodos más convenientes, su aplicación, es objeto de varias investigaciones (Zheng *et al.*, 2009). En el caso del plomo, diferentes aditivos han sido utilizados.

En China, algunos investigadores han descrito procedimientos en sistemas AFS, para el análisis de Pb(II) en muestras de vegetación y geológicas (Hill *et al.*, 2000; Zhang, 1988), en las cuales las interferencias han sido abatidas con fenantrolina, tiocianato y ácido oxálico como agentes enmascarantes.

Un agente enmascarante ideal debería de producir apropiadas modificaciones químicas en la etapa de generación del hidruro, reduciendo interferencias y manteniendo la sensibilidad analítica de la técnica (Kumar y Riyazuddin, 2010).

Estas características las tienen los siguientes aditivos: ioduro de potasio (KI), 1,10-fenantrolina (FEN) y L-Cisteína (L-Cys) (Figura 13), los cuales fueron seleccionados para probar su efecto sobre algunos iones interferentes en la generación del plumbano. Además, son algunos de los más populares agentes enmascarantes utilizados para el control de

interferencias, probados en el análisis de otros elementos como selenio y cobalto (D'Ulivo *et al.*, 2002).

L-cisteína (L-Cys), se ha comprobado que es un agente enmascarante cuyas propiedades son favorables para disminuir interferencias en la fase líquida causadas por elementos de transición (Chen *et al.*, 1992; D'Ulivo, 2002).



Figura 13. Agentes enmascarantes seleccionados.

1,10-phenantrolina (FEN), ha sido reportada para controlar interferencias de Ni(II) y Cu(II) en análisis de muestras geológicas. Se reportó que fue buen aditivo en la interferencia de Co(II) sobre Pb(II) presente en un material de referencia certificado (BYG 2-1 y BYG 5-1) (Zheng *et al.*, 2009) (Kirkbright y Taddia, 1987)(Ek y Huldén, 1987).

Ioduro de potasio (KI), recientemente fue utilizado en el control de interferencias de Ni(II), Co(II) y Cu(II) en la determinación de Te. El KI adicionado a la solución reductora ha sido muy favorable y se han obtenido mejores resultados que adicionándolo a las muestras y estándares, donde fue inefectivo y los límites de tolerancia fueron los mismos que los obtenidos en ausencia de agentes enmascarantes (D'Ulivo *et al.*, 2002) (Farias *et al.*, 2002).

7. Generación del Hidruro de plomo (Plumbano)

La generación del hidruro de plomo, mejor conocido como plumbano (PbH_4), es uno de los más interesantes y controversiales casos, la generación del hidruro de plomo, mejor conocido como Plumbano (PbH_4), ya que pocos trabajos han sido realizados sobre su generación, debido a su inestabilidad térmica y bajo rendimiento (Denkhaus *et al.*, 1998).

La eficiente formación del plumbano depende de los aditivos utilizados en el sistema de reacción, como lo son: peróxido de hidrógeno, H_2O_2 (Vijan y Wood, 1976), persulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Jin y Taga, 1982), dicromato de potasio, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Fleming, 1976), permanganato de potasio, KMnO_4 y Sulfato de cesio, CsSO_4 (Castillo *et al.*, 1985), Bromato de potasio, KBrO_3 (Nakahara y Wasa, 1985), ferricianuro de potasio, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Tao y Zhou, 1985), con ácidos inorgánicos; ácido nítrico, HNO_3 (Cabrera. *et al.*, 1994; Madrid y Cámara, 1994; Mena, 1997), ácido clorhídrico, HCl (Ebdon, 1994), ácidos orgánicos; málico, tartárico, láctico (Maleki, 1999). Todos estos aditivos poseen excelentes propiedades oxidantes.

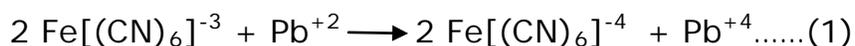
Castillo *et al.*, (1985), reportó que la generación del plumbano es más eficiente para $\text{Pb}(\text{IV})$ que para $\text{Pb}(\text{II})$. Sin embargo, Nerin *et al.*, (1989), estuvo en desacuerdo con la hipótesis antes mencionada, porque en investigaciones llevadas a cabo, se demostró que la presencia de un oxidante fue siempre necesaria para mejorar la generación del plumbano, independientemente del estado de oxidación del plomo.

En la siguiente sección se analizan los mecanismos de reacción llevados a cabo en medio ácido, entre el agente reductor tetraborohidruro de potasio (TBH) y dos diferentes agentes oxidantes; ferricianuro de potasio $K_3(Fe[(CN)_6])$ y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), como dos métodos potenciales para las determinaciones de plomo.

8. El tetraborohidruro de potasio (TBH) y sus mecanismos de reacción en la formación del plumbano

8.1. Hexacianoferrato ó Ferricianuro de potasio como agente oxidante

D'Ulivo *et al.*, (2008), presentaron fuerte evidencia acerca de la gran mejora que produce el hexacianoferrato (III), también conocido como ferricianuro de potasio o de sodio, en la eficiente generación del plumbano; sin embargo, esta hipótesis no puede ser explicada fácilmente considerando únicamente que el $K_3[Fe(CN)_6]$ oxida al Pb(II). Si analizamos el potencial redox de la pareja de $Fe[(CN)_6]^{-3}/Fe[(CN)_6]^{-4}$ ($E^0=0.36V$) y Pb(IV)/Pb(II) ($E^0=1.69V$) y la reacción (1), que debe de tener un $pK=45$, la cual indica que esta reacción por sí sola no puede llevar al plomo a su estado tetravalente de oxidación.



En cambio la formación entre los complejos de $Fe[(CN)_6]^{-3}$ y Pb(II) y Pb(IV), y entre $Fe[(CN)_6]^{-4}$ también con Pb(II) y Pb(IV) inducen el equilibrio de la reacción hacia el lado derecho. Desafortunadamente no se cuenta con las constantes de estabilidad para estos compuestos, excepto para $Fe[(CN)_6]^{-4}$ y Pb(II), el cual forma un complejo insoluble $Pb_2Fe(CN)_6$ ($pK=18.02$) (Freund *et al.*, 1959).

Otra posibilidad entre los mecanismos de reacción aún no bien establecidos es la reacción que puede ocurrir entre el TBH (borohidruro de potasio) y el hexacianoferrato (III), la cual produce complejos intermediarios de hidroborano que reaccionan con el Pb(II).

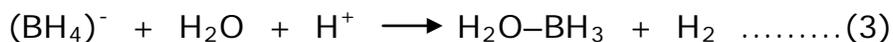
El mecanismo de reacción propuesto se describe a continuación (D'Ulivo *et al.*, 2008).

I. La neutralización del HCl con NaOH.



II. Hidrólisis del TBH en solución acuosa.

Estrictamente relacionada con los mecanismos de generación de hidruros, es llevada a cabo mediante las siguientes reacciones (K= 1 x 10⁶ L mol⁻¹s⁻¹ a 25°C)(Davis *et al.*, 1962).



III. La reacción del hexacianoferrato (III) con (BH₄)⁻ es válida en solución acuosa en presencia de ligandos/donadores; probablemente también se formen otros compuestos de borano dependiendo del tipo de especies donadoras como H₂O ó OH⁻ (Freund *et al.*, 1959).



IV. La reacción de oxidación del Pb(II) por hexacianoferrato (III).

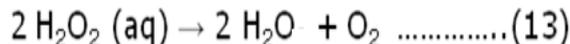
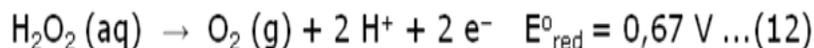
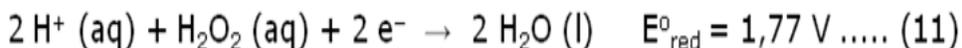


V. La formación del Plumbano, mediante la reacción de Pb(II) y Pb(IV) con todos aquellos borano-complejos los cuales fueron formados en el mismo medio de reacción.



8.2. Peróxido de hidrógeno y su mecanismo de acción

Fuertes agentes oxidantes combinados con ácidos inorgánicos fueron empleados en el 60% de casi 90 artículos publicados, en los cuales el hidruro de plomo fue sintetizado con propósitos analíticos, y en más de la mitad de ellos el peróxido de hidrógeno fue usado como agente oxidante (Baraguan *et al.*, 2002). El H_2O_2 es inestable y se descompone rápidamente en oxígeno y agua con liberación de calor mediante las reacciones (11), (12), (13). También se muestran los potenciales de oxidación y reducción los cuales nos indican que la primera reacción es más factible de llevarse a cabo (Laborda *et al.*, 2002).



De forma similar a como el hexacianoferrato (III) actúa sobre el TBH, lo hace el peróxido de hidrógeno, es decir, actúa como agente oxidante sobre el TBH con la producción de hidrógeno (Dedina y Tsalev, 1995).

Es por esto que la reacción (7) es prácticamente igual a la reacción (14). Desde el punto de vista analítico, el hidrógeno que se produce en esta reacción puede estar involucrado en la reducción del metal o metaloide y en la formación del respectivo hidruro (Laborda *et al.*, 2002).



En esta reacción se asume que el analito es reducido, por lo tanto el estado de oxidación del analito en el hidruro debería de ser menor que el original. La asignación del estado de oxidación del analito en la molécula del hidruro es basada en el concepto de la distribución de electrones compartidos del analito y átomos de hidrógeno, teniendo en cuenta sus electronegatividades (capacidad de los átomos de un elemento para atraer hacia sí los electrones de otro elemento y formar un compuesto). Siguiendo la regla de la electronegatividad, se pudieran establecer los estados de oxidación de los diferentes elementos como As, Sb ó Pb en particular; sin embargo, existe una falta de acuerdo en la literatura de química analítica. Bajo estas condiciones descritas, los mecanismos de reacción de formación de hidruros son dudosos y los que

ya se han descrito han sido hechos de conceptos inherentes provenientes de otras áreas de la química (Laborda *et al.*, 2002).

Teniendo en consideración los aspectos químicos que involucran la formación del hidruro de plomo (plumbano) y que es poca la información que existe sobre los aditivos necesarios para una eficiente generación del mismo, se analizaron en esta investigación dos diferentes agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno y ferricianuro de potasio) para establecer una comparación entre ambos métodos y obtener una mayor sensibilidad analítica y precisión en las mediciones.

Capítulo III.

1. Objetivo general

Desarrollar, optimizar y validar una técnica analítica para la determinación de plomo a niveles traza en muestras ambientales y biológicas.

1.1. Objetivos específicos.

Optimizar los parámetros instrumentales de la técnica FI-HG-AFS para la determinación de trazas de plomo.

Aplicar y comparar dos métodos en la generación del hidruro de plomo, utilizando dos agentes oxidantes: peróxido de hidrógeno y ferricianuro de potasio.

Estudiar las interferencias con los iones que más comúnmente son encontrados en muestras ambientales y biológicas por ambos métodos.

Elegir una de las metodologías, basándose en sus prestaciones analíticas y en el estudio de interferencias.

Validar la metodología seleccionada con dos materiales de referencia certificados, el BCR-610 (agua de pozo) y el SRM-2976 (tejido de almeja).

Cuantificar los niveles de plomo en muestras ambientales y biológicas.

Estudiar el efecto de diversos agentes enmascarantes y su rol en el abatimiento de interferencias presentadas en la generación del hidruro de plomo.

Calcular el límite máximo permisible de concentración a iones interferentes utilizando agentes enmascarantes.

2. Hipótesis general

Es posible desarrollar, optimizar y validar una nueva técnica analítica más precisa y sensible para la determinación de plomo en muestras ambientales y biológicas.

2.1. Hipótesis específicas

Es posible estandarizar los parámetros instrumentales de la técnica FI-HG-AFS para la determinación de trazas de plomo.

Existen diferencias entre dos métodos para la generación del hidruro de plomo, si se utilizan dos agentes oxidantes; peróxido de hidrógeno y ferricianuro de potasio.

Es posible detectar diferentes niveles de interferencias con los iones que más comúnmente son encontrados en muestras ambientales y biológicas.

No existen diferencias entre los valores certificados de cada uno de los dos materiales de referencia certificados, el BCR-610 (agua de pozo) y el SRM-2976 (tejido de almeja) y los valores obtenidos en el laboratorio, mediante la técnica de FI-HG-AFS, por lo que es posible validar la técnica.

La metodología propuesta servirá para la determinación de plomo en muestras ambientales y biológicas.

Existen diferencias entre los agentes enmascarantes y su rol en el abatimiento de interferencias presentadas en la generación del hidruro de plomo.

Existe alguna mejoría en el límite máximo de concentración de iones interferentes utilizando los agentes enmascarantes.

Capítulo IV

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue llevada a cabo entre agosto del 2009 y diciembre del 2010, en el Departamento de Medio Ambiente y Energías renovables del Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C., (CIMAV), el cual tiene su ubicación en la ciudad de Chihuahua, Chih., México.

1. Instrumentación

Las mediciones de todos los experimentos se llevaron a cabo en un espectrofotómetro de fluorescencia atómica, AFS-640 (fabricado por Beijing Raleygh Analytical Instrument Corp., China), con un sistema de introducción de muestra de inyección en flujo acoplado a un generador de hidruros. Éste consiste de una bomba peristáltica con dos canales, uno de ellos aspira la solución reductora, mientras que el otro aspira la solución de muestra/carrier; tiene un bucle de almacenamiento de muestra y uno de reacción, así como dos corrientes de argón (auxiliar y principal). La fuente de luz, una lámpara de cátodo hueco, fue operada a 80 mA en modo de doble pulso a 283.3 nm. El tubo fotomultiplicador R166 fue empleado como sistema de detección. Todas las funciones del equipo son controladas por medio de un software en la computadora del mismo (Figura 14).

2. Procedimiento.

En las mediciones, la bomba peristáltica impulsa la solución reductora (KBH_4) dentro del módulo de mezclado. La corriente del carrier pasa a través de la bomba peristáltica y entra dentro del bucle de almacenamiento. Cuando la bomba se detiene, la recolección ó carga de la muestra está completa.



Figura 14. Equipo AFS-640, bomba peristáltica y generador de hidruros, lámparas de alta intensidad.

Posteriormente, la bomba peristáltica enciende de nuevo y la corriente del carrier empuja la muestra dentro del bucle de reacción, donde la generación del hidruro se lleva a cabo. Durante este proceso, el hidruro volátil del plomo (plumbano) y el gas hidrógeno generado entran dentro del tubo del atomizador. Una vez atomizada la muestra, la lámpara de alta intensidad emite su radiación sobre los átomos de plomo en estado fundamental y se emite la fluorescencia cuando los electrones excitados pasan a un nivel de excitación menor. La señal de la fluorescencia en

tiempo real es traducida en un detector y detectada en el software del equipo (Figura 15).

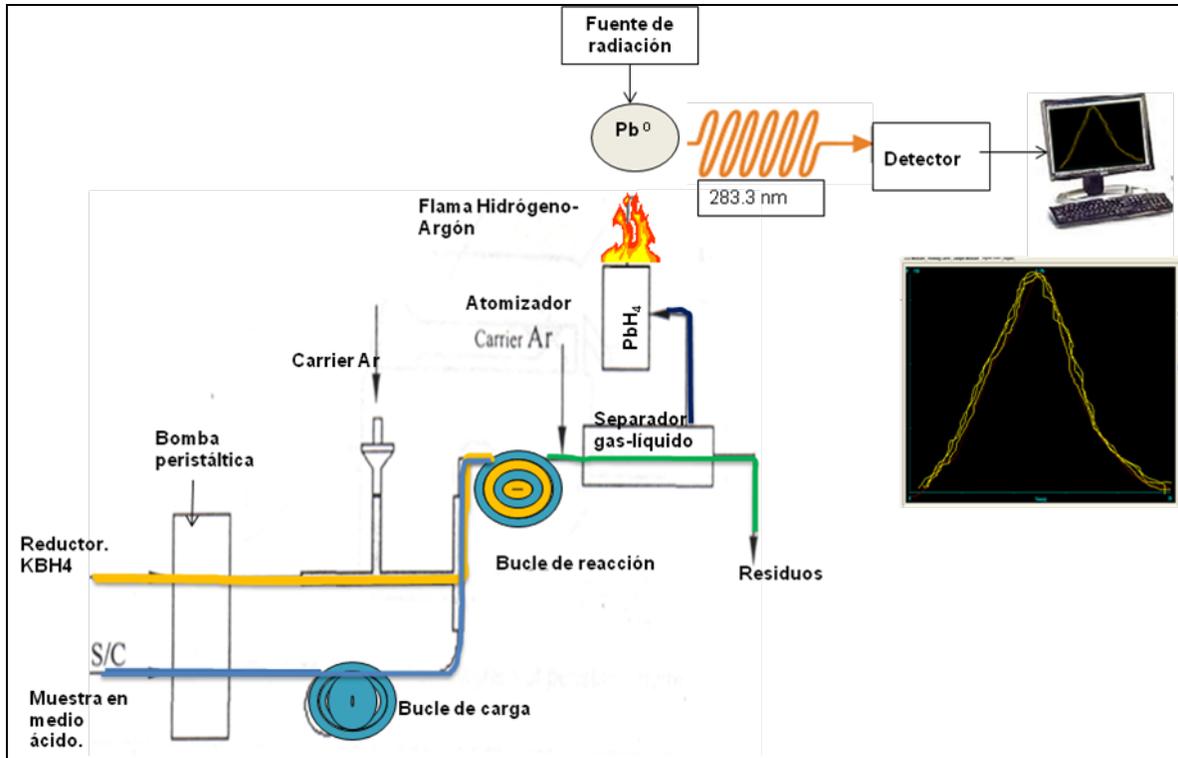


Figura 15. Esquema del funcionamiento del AFS-640.

3. Metodología de la Investigación

La metodología, fue dividida en cuatro etapas, que se describen de forma detallada en esta sección, así como los materiales y el diseño de experimentos utilizados. En cada experimento se emplearon químicos de grado analítico. Para la preparación de las soluciones se utilizó agua desionizada con una resistividad de $18\Omega \text{ m}^{-1}$. El material de vidrio necesario para las determinaciones fue sumergido en 10% (v/v) de ácido clorhídrico (HCl) (J.T. Baker 37.6%) y ácido nítrico (HNO_3) (J.T. Baker 64.8%), por 24 horas y después se enjuagó 3 veces con agua desionizada para remover el exceso de los ácidos.

3.1. Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb(II), (Etapa 1)

En esta etapa se llevó a cabo la optimización de los parámetros de operación del espectrómetro de fluorescencia atómica (AFS-640), parámetros analíticos, concentraciones de reactivos y el estudio de interferencias de dos métodos analíticos: Método del peróxido (PM) y Método del ferricianuro de potasio (FeM) (Figura 16).

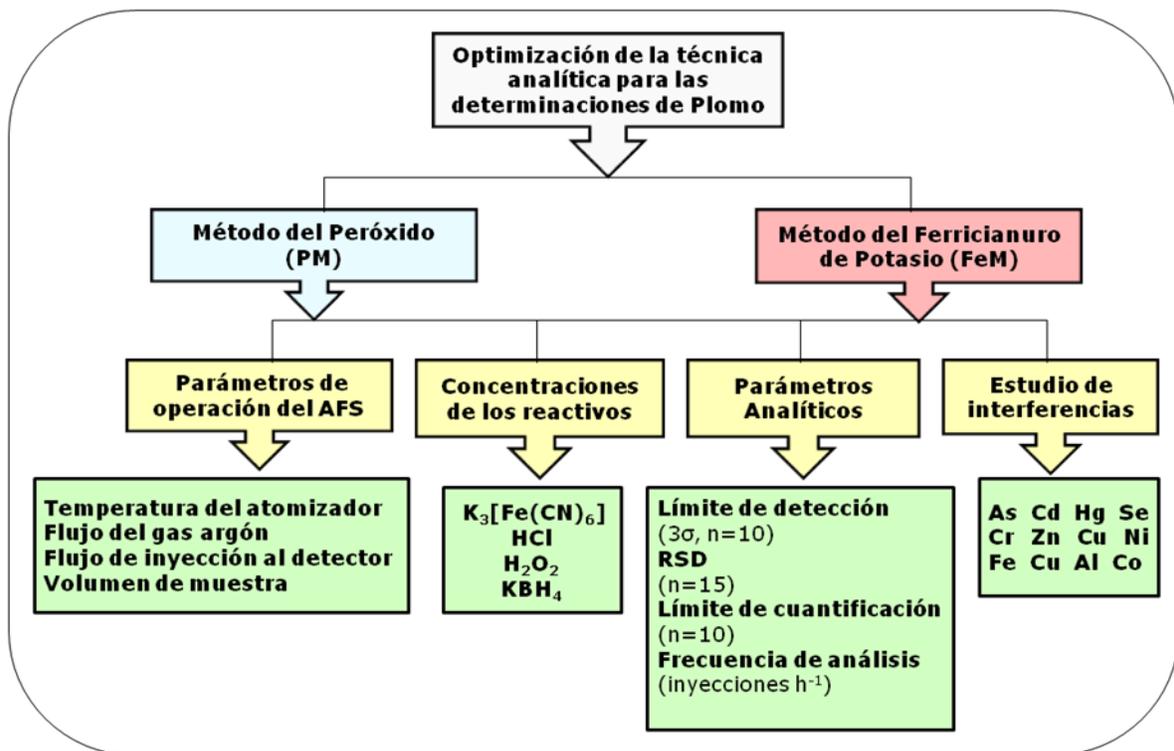


Figura 16. Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb(II).

Las concentraciones y modo de preparación de las soluciones empleadas en cada método con las cuales se comenzó la optimización de los parámetros de operación del AFS-640, se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Preparación de reactivos en la optimización de los parámetros de operación del AFS-640.

Reactivos y su concentración	Modo de preparación
1.5 % (m/v) KBH ₄ (Aldrich 98 %)	Se disuelven 7.5 g de KBH ₄ , y 1 g de KOH en 500 mL de agua desionizada (PM). 7.5 g de KBH ₄ , 1 g de KOH, 7.5 g K ₃ [Fe(CN) ₆] (7.5% m/v) (J.T.Baker 99.7%) en 500 mL de agua desionizada (FeM).
1.5 % (v/v) HCl	15 mL de HCl, aforados en un matraz de 1000 mL con agua desionizada. Solución utilizada para el aforo de los estándares y como carrier.
5 % (v/v) H ₂ O ₂ (J.T. Baker 30%)	Para cada curva de calibración, 25 mL de H ₂ O ₂ , aforados en un matraz de 500 mL, con HCl al 1.5% (v/v) (PM).
Estándares de Pb(II), 20 µg L ⁻¹ para PM y 10 µg L ⁻¹ para FeM	Los patrones fueron preparados diluyendo a partir de una solución patrón (high-purity standards) de 1000 mg L ⁻¹ de Pb(II), con la solución de 5% (v/v) de H ₂ O ₂ , en (PM) y en el caso del (FeM), únicamente con HCl al 1.5% (v/v).
Estándares de As(V), Se(IV), Cr(III), Sb(III), Cu (II), Fe(III), Co(III), Zn(II), Cd(II), Al(III), Ni(II), Hg(II)	Estos patrones fueron preparados diluyendo a partir de una solución patrón (high-purity standards), de forma requerida para cada método y se utilizaron para el estudio de interferencias.

Para cada parámetro de operación se construyeron graficas, en las cuales se presenta su variación contra la intensidad de fluorescencia que da como señal analítica el AFS-640; es decir, cada una de las variables fue analizada de forma univariada (Tabla 6) en términos de obtener la mejor sensibilidad analítica y precisión en las mediciones.

Tabla 6. Variables de operación.

1. Flujo de gas argón (mL min^{-1}): 200, 300, 400, 500
2. Temperatura del atomizador ($^{\circ}\text{C}$): 0, 100, 200
3. Volumen de muestra (mL): 0.666, 1, 1.333, 1.666, 2, 2.333 en PM y en FeM se incluyó el valor de 0.333
4. Flujo de muestra al detector (mL min^{-1}): 8, 10, 11.5, 13, 14.5 en PM y de 6, 8, 10, 12, 14, 16 en FeM

Las variables químicas (concentraciones de los reactivos), fueron optimizadas luego de haber fijado los parámetros de operación del AFS-640. En la Tabla 7 se presenta la variación de cada una de ellas, procediéndose de la misma forma que en los parámetros de operación.

Tabla 7. Concentraciones de reactivos utilizadas en la optimización.

1. Concentraciones de KBH_4 (% m/v): 1, 1.3, 1.5, 2, 2.5. 3, 4 en PM y 0.5, 1, 1.5, 2.5, 3 en FeM
2. $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (% m/v): 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5
4. H_2O_2 (%v/v): 3,5, 7, 10
5. HCl (%v/v): 1, 1.5, 2, 2.5 en PM y 1, 1.5, 2 en FeM

Con las variables de operación y químicas optimizadas, se calcularon los parámetros analíticos. Las curvas de calibración de plomo fueron construidas para obtener la linealidad de los métodos, que es la relación

entre la respuesta del instrumento a una concentración conocida del analito (Greenwood y Earnshaw, 2002). El límite de detección corresponde a la menor cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado pero no cuantificado con exactitud (Miller y Miller, 2005). También la desviación estándar relativa (RSD) también fue calculada.

Se construyeron dos curvas de calibración con estándares de Pb(II) y para dos rangos de concentraciones en cada método: de 1 a 11 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb y de 10 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb en el PM, por otra parte una curva de 0.5 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ y una de 8 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb en el FeM. Se calcularon los límites de detección y de cuantificación, la desviación estándar relativa (RSD) y la frecuencia de análisis para cada método.

La selectividad de la técnica propuesta fue evaluada estudiando el efecto de la adición de iones interferentes en la determinación de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de plomo para ambos métodos, PM y FeM, considerando que un elemento no interfiere cuando el máximo pico de variación es tres veces menos que la desviación estándar (Leal *et al.*, 2006). Los elementos utilizados en este estudio de interferencias se mencionaron en la parte baja de la Tabla 5.

3.2. Validación del método seleccionado (Etapa 2)

Se seleccionó el mejor método entre PM y FeM, en base a los resultados obtenidos en los parámetros analíticos. El método elegido fue validado con dos materiales de referencia certificados (CRM): primero una muestra de agua de pozo (BCR 610, Community Bureau of Reference) y un tejido liofilizado de almeja (SRM 2976, National Institute of Standards Technology). El contenido de plomo y de otros iones presentes en los CRM se menciona en la Tabla 8.

Tabla. 8. Concentración de iones interferentes en los CRM.

BCR 610	Concentración $\mu\text{g L}^{-1}$	SRM 2976	Concentración $\mu\text{g L}^{-1}$
As	10.8	As	13.3 ± 1.8
Cd	2.04	Cd	0.82 ± 0.16
Cu	45.7	Cu	4.02 ± 0.33
Ni	22.6	Fe	1.19 ± 0.18
Al	159	Se	1.80 ± 0.15
		Zn	137 ± 13

Se pesaron 0.5 g de SRM-2976 en los contenedores de teflón del microondas utilizado para la digestión (MARSx, CEM) con 1.2 mL de ácido nítrico y 3.5 mL de agua desionizada (Reis *et al.*, 2008). Después de la digestión del material, la muestra fue filtrada y diluida en 50 mL con agua desionizada, y se procedió a su medición (Figura 17).

El BCR-610 fue analizado directamente sin necesidad de digerir en el microondas (Figura 17). Se añadió ioduro de potasio (KI) al 1.8% como agente enmascarante dentro de la solución reductora para evitar efectos negativos en la señal analítica por la presencia de los iones interferentes.

Las muestras fueron analizadas por triplicado y se utilizó la prueba estadística "*t*" *student* con el objetivo de comparar las medias de los resultados con las concentraciones certificadas (Miller y Miller, 2005).

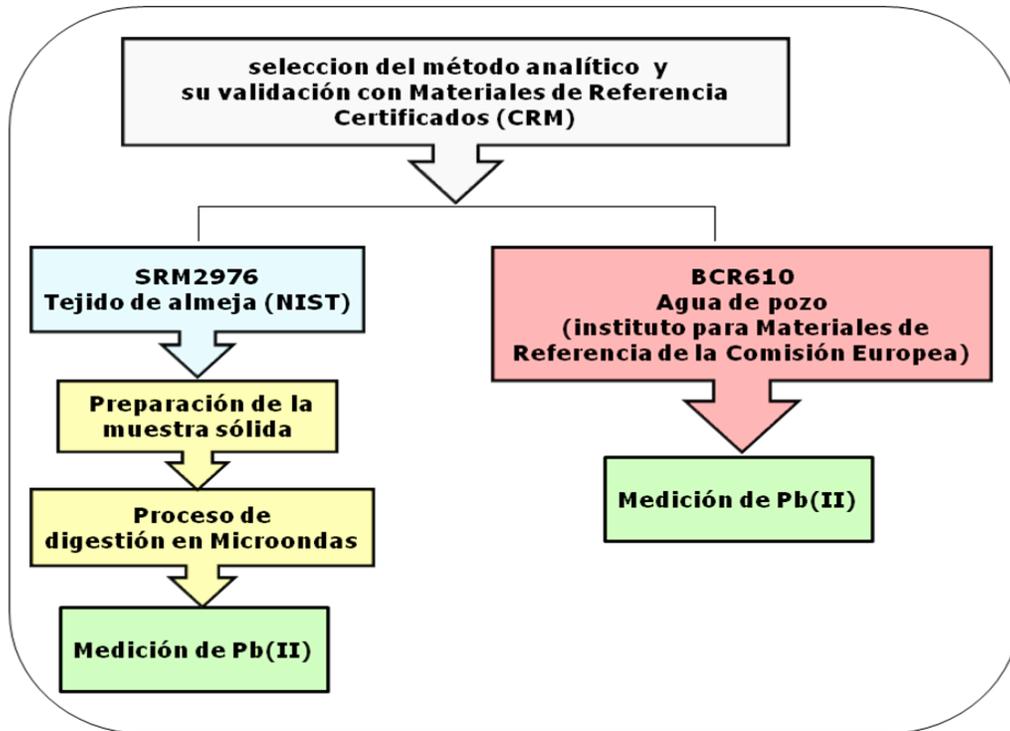


Figura17. Diagrama de flujo en la preparación de los CRM.

3.3. Determinación de Pb(II) en muestras ambientales y biológicas (Etapa 3)

Para probar la aplicabilidad de la técnica seleccionada, se llevaron a cabo mediciones de plomo en muestras ambientales y biológicas. Se utilizó el método de adición de estándar y se midieron las recuperaciones del analito de interés en agua de la llave, muestra de agua de mina tratada y en muestras de sangre, plasma y suero (Figura 18). Las muestras fueron analizadas por duplicado.

Las muestra de agua de grifo y de agua de mina tratada se filtraron, y con ellas se prepararon los estándares de Pb requeridos, para la obtención de los porcentajes de recuperación, mediante su medición en el equipo de fluorescencia atómica. Para las muestras de agua de mina tratada, se tomaron 20 mL de las mismas, se les adicionaron las

concentraciones de Pb(II) correspondientes y se aforaron con 50 mL de agua desionizada.

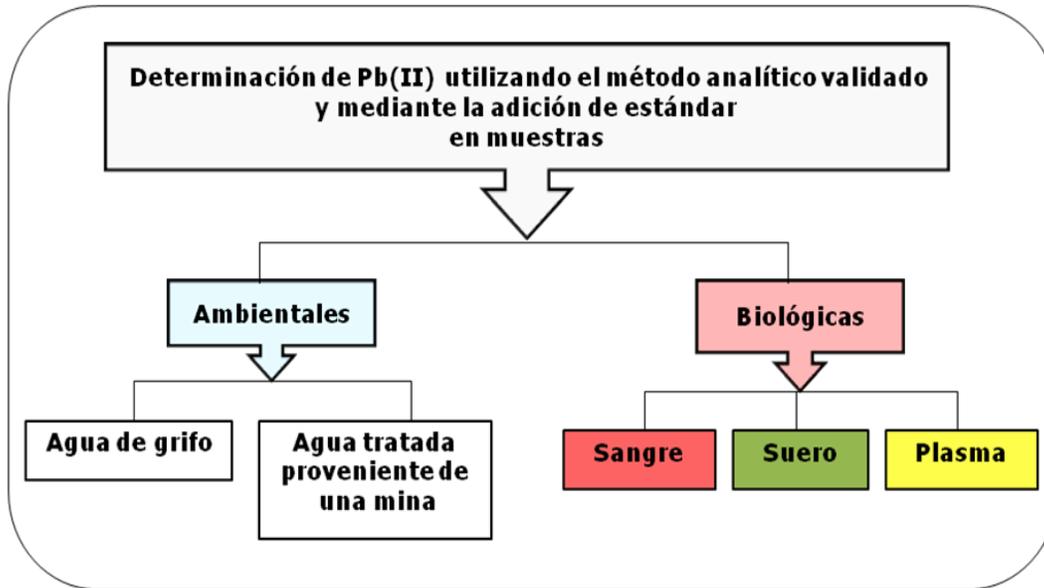


Figura 18. Modo de preparación de muestras ambientales y biológicas.

Se pesó aproximadamente 1 gramo de cada una de las muestras biológicas analizadas y se realizó la digestión con 10 mL de HNO_3 para luego aforar a 100 mL con agua desionizada. A los estándares de plomo se les adicionó 2 mL de cada muestra y se aforaron a 50 mL con la solución de HCL al 1.5 % (v/v). Los porcentajes de recuperación fueron obtenidos de igual forma que en las muestras ambientales.

3.4. Estudio de Agentes Enmascarantes (Etapa 4)

El estudio detallado de agentes enmascarantes (AE) y su posible influencia en las interferencias que afectan la generación del plumbano fue llevado a cabo en tres fases (Figura 19). En la primera fase se construyeron curvas de calibración probando diferentes concentraciones de los AE, con la finalidad de observar si existía pérdida de sensibilidad en el método, es decir, si la presencia de los AE causaba por si misma algún tipo de interferencia.

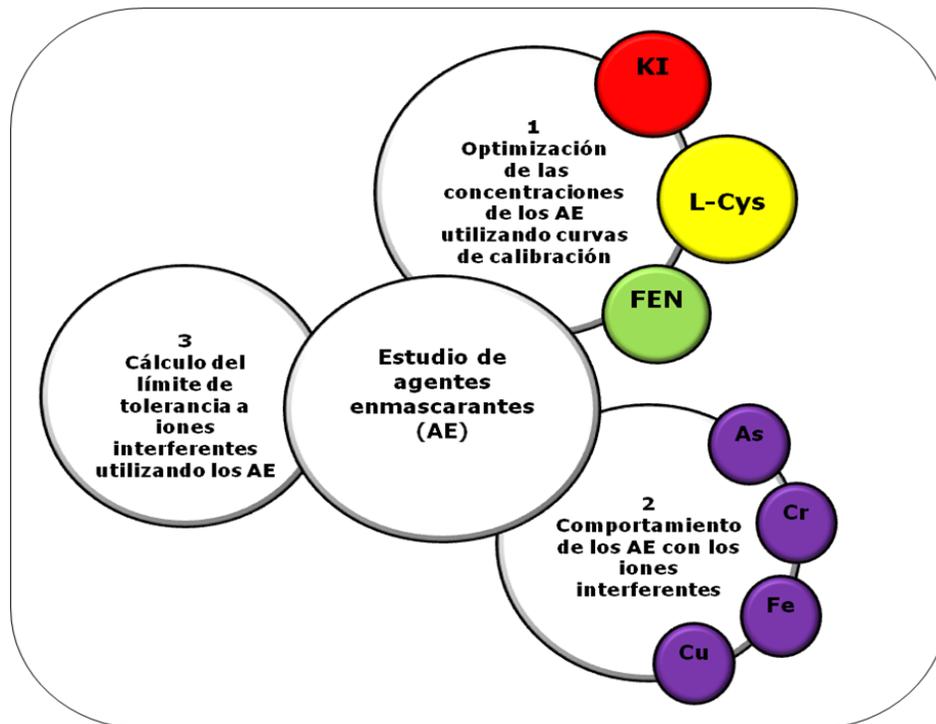


Figura 19. Diagrama de flujo del estudio de agentes enmascarantes.

Los AE utilizados y la forma en que fueron preparados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Procedimiento para la Preparación de los AE.

Agentes enmascarantes	Modo de preparación
<p>Ioduro de potasio (J.T.Baker 99.6%)</p> <p>Concentraciones preparadas: 0, 1.8, 3.6 % (m/v)</p> <p>Estándares de Pb(II) para las curvas de calibración: 2, 4, 6, 8, 10 ($\mu\text{g L}^{-1}$)</p>	<p>Se pesan 9 g de KI para obtener una concentración de 1.8% y se disuelven en 500ml de la solución reductora KBH_4 al 1%.</p>
<p>1,10-Fenantrolina (Mallinckrodt Chemicals).</p> <p>Concentraciones preparadas: 0, 0.03, 0.3 % (m/v)</p> <p>Estándares de Pb(II) para las curvas de calibración: 2, 4, 6, 8, 10 ($\mu\text{g L}^{-1}$)</p>	<p>0.03 g de 1,10-Fenantrolina se pesan y se disuelven en 100 mL de ácido acético al 1.2%, ajustando el pH a 4 adicionando gota a gota una solución de NaOH al 4.5%. De esta solución se toman 2 mL y se adicionan a cada matraz (50 mL) de prueba.</p>
<p>L-Cisteína (aldrich 97%)</p> <p>Concentraciones preparadas: 0, 0.6, 1, 1.5% (m/v)</p> <p>Estándares de Pb(II) para las curvas de calibración: 2, 4, 6, 8, 10 ($\mu\text{g L}^{-1}$)</p>	<p>La disolución de L-Cisteína se preparó disolviendo 3 g en 500 mL de una solución de HCl al 1.5% y se adiciona a los estándares de plomo hasta el aforo.</p>

En la segunda fase, se analizó la influencia de los AE sobre los iones interferentes de As(V), Cr(III), Cu(II), Fe(III). El análisis se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA), considerando un diseño de tratamientos factorial 4x4. El Factor A fue el agente enmascarante y se consideraron cuatro niveles; ioduro de potasio (KI), L-Cisteína (LC), 1,10-Fenantrolina (FEN) y sin agente enmascarante (SA). El Factor B fue la concentración y se consideraron diferente número de niveles para cada ión interferente.

Como resultado de este diseño factorial se obtuvieron los tratamientos, los cuales se analizaron bajo un diseño experimental completamente al azar con dos repeticiones.

La significancia estadística fue considerando un nivel de $\alpha=0.01$. La detección de interacción se plasmó en una gráfica para mostrar este efecto. El diseño experimental para cada ión interferente se presenta en la Tabla 10.

El análisis de datos estadísticos se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA), con el objetivo de determinar si existía efecto por agente enmascarante (Factor A), o por las diferentes concentraciones de los iones interferentes (Factor B). Así mismo, se analizaron las interacciones entre los factores y los niveles de cada factor. Se utilizó el programa estadístico Minitab 15.

Con el objetivo de probar la aplicabilidad de los AE, en la fase tres, se llevó a cabo el cálculo de los límites de tolerancia a iones interferentes utilizando los agentes enmascarantes de igual forma que se hizo en el estudio de interferencias y con la información obtenida en la fase 2.

Tabla 10. Diseño experimental factorial para el estudio de AE.

Elemento	Factor A	Factor B
<p>As</p> <p>Experimento 1</p>	<p><u>Agente enmascarante</u></p> <p>Nivel 1: sin agente enmascarante Nivel 2: Ioduro de potasio Nivel 3: L-Cisteína Nivel 4: 1,10-Fenantrolina</p>	<p><u>Concentraciones de As</u> $(\mu\text{g L}^{-1})$</p> <p>Niveles (4): 0, 100, 200, 300</p> <p>No. de tratamientos: 16</p>
<p>Fe</p> <p>Experimento 2</p>	<p><u>Agente enmascarante</u></p> <p>Nivel 1: sin agente enmascarante Nivel 2: Ioduro de potasio Nivel 3: L-Cisteína Nivel 4: 1,10-Fenantrolina</p>	<p><u>Concentraciones de Fe</u> $(\mu\text{g L}^{-1})$</p> <p>Niveles (6): 0, 100, 200, 300, 600, 1000</p> <p>No. de tratamientos: 24</p>

Tabla 10. Diseño experimental factorial de AE (continuación).

<p style="text-align: center;">Cu</p> <p style="text-align: center;">Experimento</p> <p style="text-align: center;">3</p>	<p><u>Agente enmascarante</u></p> <p>Nivel 1: sin agente enmascarante</p> <p>Nivel 2: Ioduro de potasio</p> <p>Nivel 3: L-Cisteína</p> <p>Nivel 4: 1,10-Fenantrolina</p>	<p style="text-align: center;"><u>Factor B:</u></p> <p style="text-align: center;"><u>Concentraciones de Cu</u></p> <p style="text-align: center;">Niveles (5):</p> <p style="text-align: center;">0, 300, 600, 1000, 2000</p> <p style="text-align: center;">No. de tratamientos:</p> <p style="text-align: center;">20</p>
<p style="text-align: center;">Cr</p> <p style="text-align: center;">Experimento</p> <p style="text-align: center;">4</p>	<p><u>Agente enmascarante</u></p> <p>Nivel 1: sin agente enmascarante</p> <p>Nivel 2: Ioduro de potasio</p> <p>Nivel 3: L-Cisteína</p> <p>Nivel 4: 1,10-Fenantrolina</p>	<p style="text-align: center;"><u>Concentraciones de Cr</u></p> <p style="text-align: center;">Niveles (4):</p> <p style="text-align: center;">0, 100, 200, 400</p> <p style="text-align: center;">No. de tratamientos:</p> <p style="text-align: center;">16</p>

Capítulo V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La optimización de las variables fue analizada de forma univariada y en términos de la mayor sensibilidad analítica y la más baja desviación de la señal (mediciones precisas). Los resultados de cada etapa de la investigación se presentan en la siguiente sección.

Optimización de la técnica analítica para las determinaciones de Pb(II) (Etapa 1)

1. Optimización de las condiciones de operación del AFS-640

1.1. Flujo del gas argón

Se estudió el efecto del flujo de argón como carrier sobre la intensidad de fluorescencia (Figura 20). A bajo flujo de argón se obtuvo menor intensidad de fluorescencia, debido a la descomposición relativa del PbH_4 antes de llegar al atomizador (Madrid y Cámara, 1994); mientras tanto, a flujos de argón muy altos pueden ocurrir dos inconvenientes que producen una menor reproducibilidad de la señal: el primero es que las partículas sólidas de borohidruro de potasio sean arrastradas y depositadas en el tubo de cuarzo lo cual ocasiona que no exista un buen transporte del plumbano al atomizador (Maleki *et al*, 1999) y segundo, que puede existir una formación de burbujas en el separador gas-líquido

ocasionando un arrastre de pequeñas gotas de agua al tubo del atomizador (Madrid y Cámara , 1994).

La mayor intensidad de fluorescencia y mejor precisión en las mediciones, se encontró a flujos de argón de 400 mL min⁻¹ en PM y de 300 mL min⁻¹ en el FeM. Estos valores fueron utilizados en los subsecuentes experimentos de la investigación.

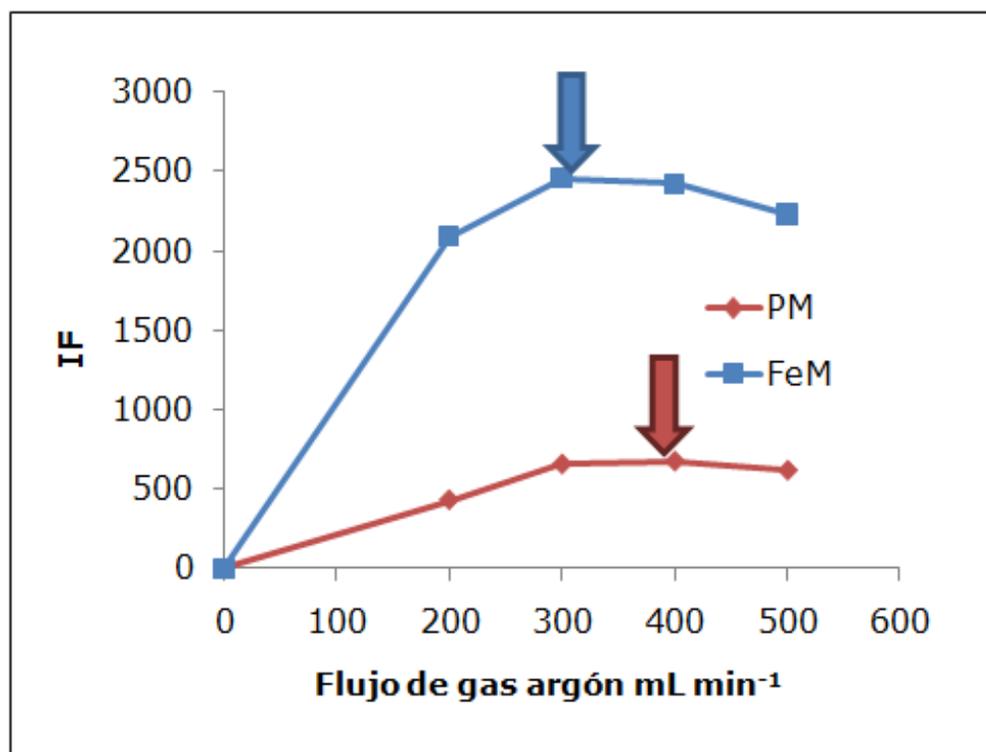


Figura 20. Optimización de los flujos de argón.

Las condiciones de operación utilizadas fueron: en el método del peróxido una solución de 20 µg L⁻¹ Pb, 1.5 % (v/v) HCl, 1.5 % (m/v) KBH₄ y 5% (v/v) H₂O. Para el método del ferricianuro: 10 µg L⁻¹ Pb, 1.5 % (v/v) HCl, 1.5 % (m/v) KBH₄ y 1.5% (m/v) [K₃Fe(CN)₆].

1.2. Temperatura del Atomizador

La importancia de esta optimización radica en que seleccionando una adecuada temperatura del atomizador (temperatura adicional a la proporcionada por la flama) aseguramos una completa y más eficiente atomización de plomo que proviene del plumbano (Madrid y Cámara, 1994). El pico de la más alta intensidad de fluorescencia de plomo fue monitoreado para obtener la mayor sensibilidad. El mejor resultado obtenido para el método del peróxido fue de 100°C y para el método del ferricianuro 0°C, es decir, temperatura ambiente (Figura 21). Esto debido probablemente a que las reacciones llevadas a cabo con el peróxido de hidrógeno son menos eficientes en lo que se refiere a la producción de hidrógeno, elemento indispensable para sostener la flama argón-hidrógeno.

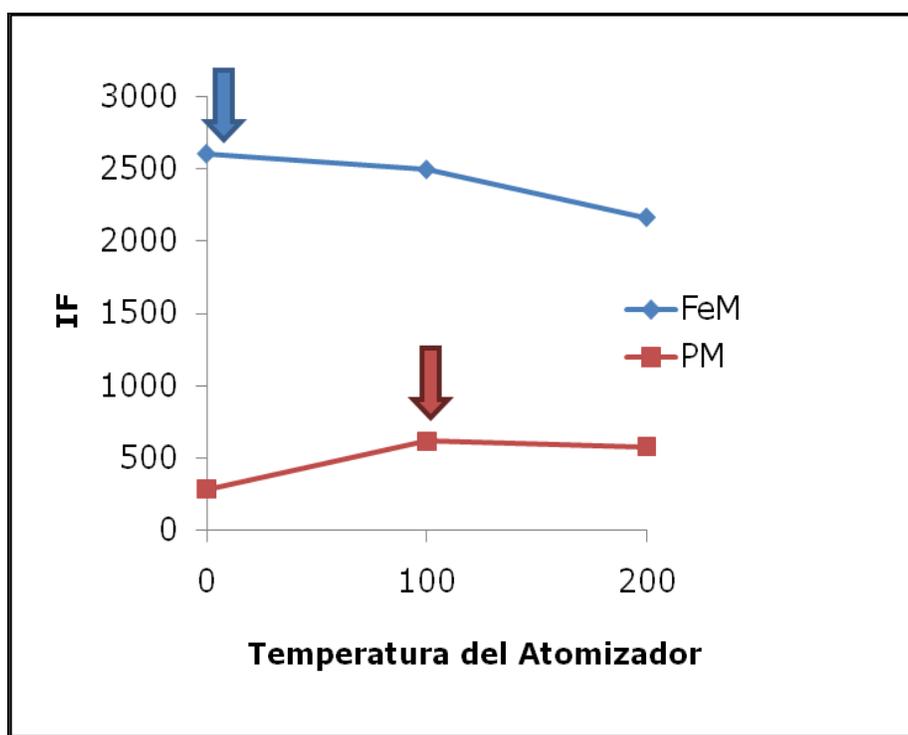


Figura 21. Optimización de la Temperatura del Atomizador.

En esta optimización las condiciones de operación que se utilizaron son: estándar de Pb(II) de $20 \mu\text{g L}^{-1}$, KBH_4 al 1.5% (m/v), HCl 1.5% (v/v), H_2O_2 al 5% (v/v) para PM y un estándar de Pb(II) de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, KBH_4 1% (m/v), HCl 1.5% (v/v) y $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1.5% (m/v).

Esto tiene como consecuencia que la temperatura de la flama por sí sola no es capaz de proveer una eficiente atomización del plomo, necesitando una temperatura extra durante el transporte del plumbano a través del tubo del atomizador y que es provista por medio de una instrucción al software y con una resistencia del equipo AFS-640.

1.3. Efecto del volumen de muestra

Buscando obtener un compromiso entre la más alta señal analítica y un adecuado volumen de muestra, el tiempo de carga de muestra fue optimizado (Leal *et al.*, 2006). Se observó que conforme se variaba el volumen de muestra, la señal de intensidad de fluorescencia también aumentaba, sin embargo, el gasto de reactivos se incrementaba al mismo tiempo (Wu *et al.*, 2007). La velocidad de flujo se mantuvo constante a 10 mL min^{-1} . Por estas razones el tiempo de carga fue puesto en 10 segundos y el volumen de muestra calculado fue de 1.6 mL en PM (Figura 22) y de 8 segundos con un volumen de muestra de 1.3 mL para FeM (Figura 23).

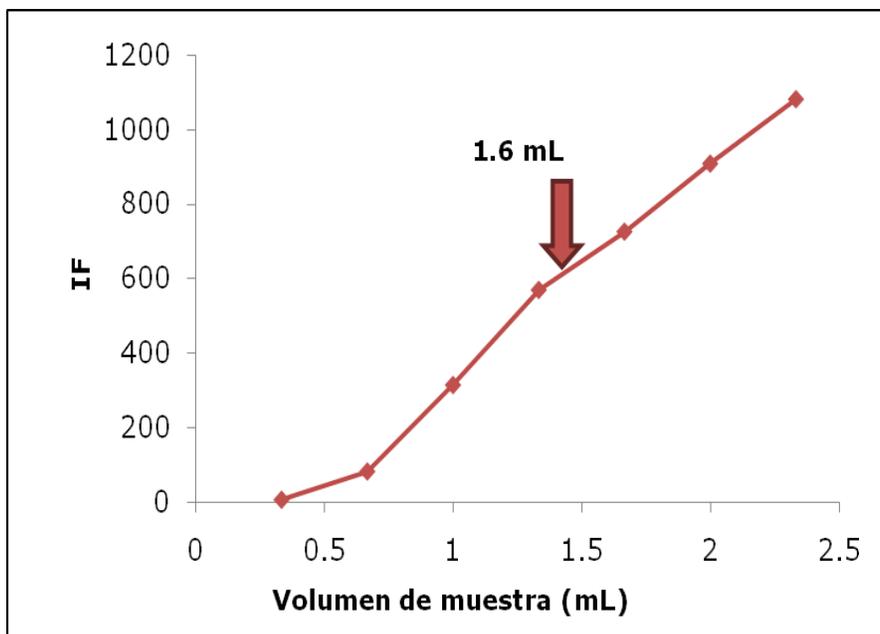


Figura 22. Volumen de muestra para el método PM.

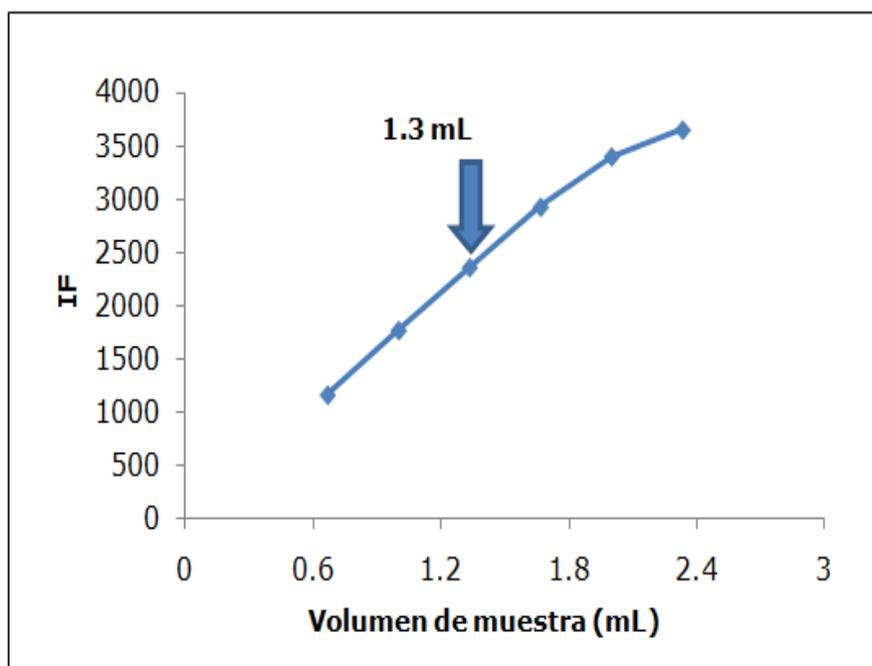


Figura 23. Volumen de muestra para el método FeM.

Para optimizar el volumen de muestra en ambos métodos, se utilizaron las mismas concentraciones de reactivos, del mismo modo que en las optimizaciones anteriores.

1.4. Efecto de la velocidad de flujo de la muestra y reactivos hacia el detector sobre la señal analítica de intensidad de fluorescencia

Está descrito en la literatura que bajas velocidades de flujo de muestra y reactivos hacia el detector producen picos más anchos y una disminución en la frecuencia de análisis. Por otra parte, altas velocidades de flujo podrían causar un incremento de la presión dentro del FI (Injection Flow system), dañando la repetitividad de la señal (Leal *et al.*, 2006). Con el objetivo de minimizar estos inconvenientes, la óptima velocidad de inyección fue obtenida variando el caudal de la muestra, obteniendo un valor de 10 mL min^{-1} para ambos métodos. Estos resultados son mostrados en la Figura 24.

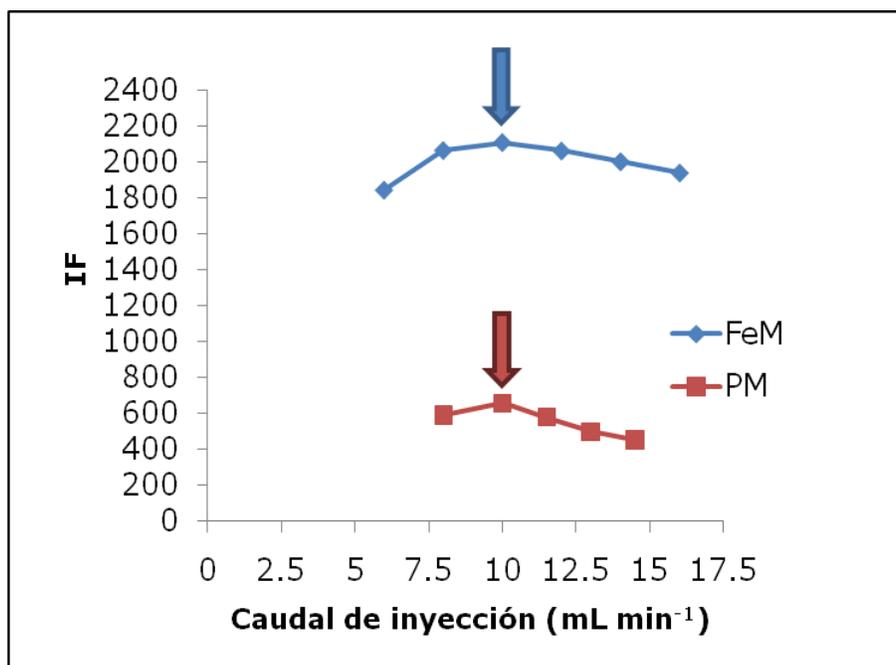


Figura 24. Optimización del Caudal de Inyección de muestra.

Condiciones de operación: estándar de Pb(II) de $20 \mu\text{g L}^{-1}$, KBH_4 al 1.5% (m/v), HCl 1.5% (v/v), H_2O_2 al 5% (v/v), 1.666 mL de muestra

para PM y un estándar de Pb(II) de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, KBH_4 1 % (m/v), HCl 1.5% (v/v), $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1.5% (m/v), volumen de muestra de 1.3 mL.

La Tabla 11 resume los resultados de las optimizaciones instrumentales llevadas a cabo por ambos métodos (PM y FeM), así como también otras condiciones del equipo (Tabla 12) cuyos valores fueron provistos del manual de operación del AFS-640.

Tabla 11. Optimización del sistema de inyección en flujo (FI).

Sistema FI	^a PM	^b FeM
Volumen de muestra	1.6 mL	1.3 mL
Flujo de inyección a el detector	10 mL min^{-1}	8 mL min^{-1}

Tabla 12. Optimización de parámetros del AFS-640.

AFS-640	^a PM	^b FeM
Corriente de la lámpara	80 mA	80 mA
Negative high voltage	270 mV	270 mV
Corriente auxiliar de cátodo	0 mA	0 mA
Altura del atomizador	7 mm	7 mm
Temperatura del atomizador	$100 \text{ }^\circ\text{C}$	Room temp.
Flujo del gas argón	300 ml L^{-1}	400 ml L^{-1}
Flujo auxiliar de argón	0 ml L^{-1}	0 ml L^{-1}
Tiempo de pre-lectura ó <i>Delay time</i>	6 seg	4 seg
Tiempo de lectura ó <i>Reading time</i>	24 seg	22 seg

2. Optimización de las variables químicas

2.1. Concentración de KBH_4

La solución de KBH_4 es utilizada como agente reductor, sin embargo, también provee el hidrógeno necesario para soportar la flama de argón-hidrógeno (Wu *et al.*, 2007). Como se muestra en la Figura 25 a bajas concentraciones de borohidruro de potasio no existe una buena eficiencia para llevar a cabo las funciones antes descritas, mientras tanto, a muy altas concentraciones ($>2.5\%$ m/v) se incrementan la señal, pero hay una excesiva formación de espuma y aerosoles y el gasto del reactivo puede ser mayor (Baraguan *et al.*, 2002), por este motivo las concentraciones de 1.5 y 1% (m/v), fueron seleccionadas para PM and FeM respectivamente.

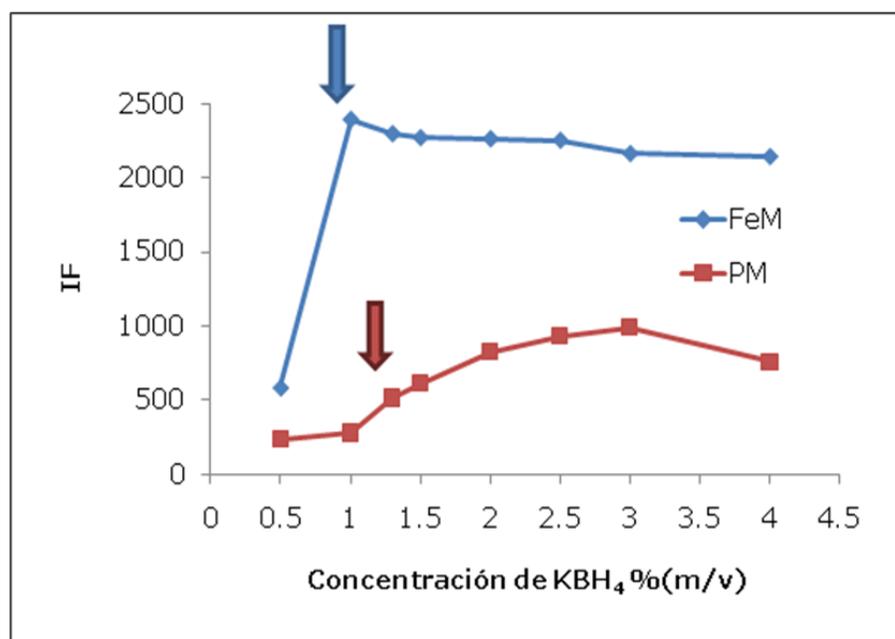


Figura 25. Efecto de la concentración del TBH (KBH_4) sobre la señal analítica del Pb(II) .

En este experimento se utilizaron los parámetros del equipo optimizados y las siguientes concentraciones de reactivos: para PM $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II), 1.5 % (v/v) HCl, 5%(v/v) H_2O_2 . Y en el FeM una solución de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II), 1.5 % (v/v) HCl, 1.5%(m/v) $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

2.2. Peróxido de Hidrógeno como agente oxidante

Como se mencionó con anterioridad, en más de la mitad de 90 artículos publicados, el peróxido de hidrógeno es empleado como agente oxidante para la generación del hidruro de plomo (Baraguan *et al.*, 2002); en este método una solución al 5% (v/v) de H_2O_2 fue utilizada (Figura 26).

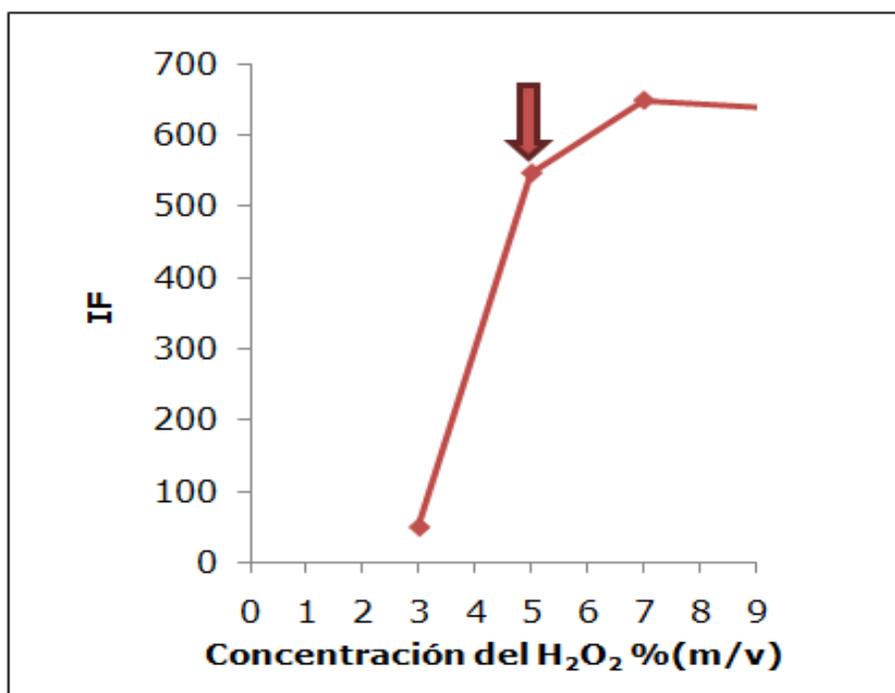


Figura 26. Influencia de la concentración de peróxido de hidrogeno en la señal analítica del Pb(II).

Las condiciones de operación utilizados fueron: $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II), 1.5 % (v/v) HCl, 1.5 % (m/v) KBH_4 , 1.666 mL de muestra y un caudal de inyección de 10 mL min^{-1} .

Tal como se muestra en la Figura 26 al aumentar la concentración del H_2O_2 la intensidad de fluorescencia aumenta; sin embargo, la precisión de las mediciones disminuye. Por este motivo, se decidió utilizar una concentración en la cual exista un compromiso entre una alta señal analítica y buena precisión.

2.3. Ferricianuro de potasio como agente oxidante

El rol del $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, que es uno de los aditivos más utilizados para hacer más eficiente la generación del hidruro de plomo (Dedina y Tsalev, 1995), es la oxidación del Pb(II) al Pb(IV) (D'Ulivo *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos mostraron que a partir de una concentración del 1% (m/v) del $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, la intensidad de fluorescencia es mantenida casi de forma lineal, dando fuerte evidencia de que estos reactivos reaccionan entre sí para formar compuestos intermediarios que favorecen la formación del plumbano; es decir si la concentración del TBH es constante (reactivo limitante) y se incrementa la concentración del hexacianoferrato (III), éste último se convertiría en el reactivo en exceso. De este modo la reacción, en algún momento llega a un punto de equilibrio, en donde ya no hay más formación de complejos que reaccionen con plomo y hagan más eficiente la formación del plumbano. Este hecho fue mencionado de forma detallada en el marco teórico cuando se describió el mecanismo de la generación del plumbano. Por lo tanto, 1.5% (m/v) fue seleccionado como valor

óptimo (Figura 27), presentando la menor desviación estándar entre sus mediciones y la señal analítica más alta.

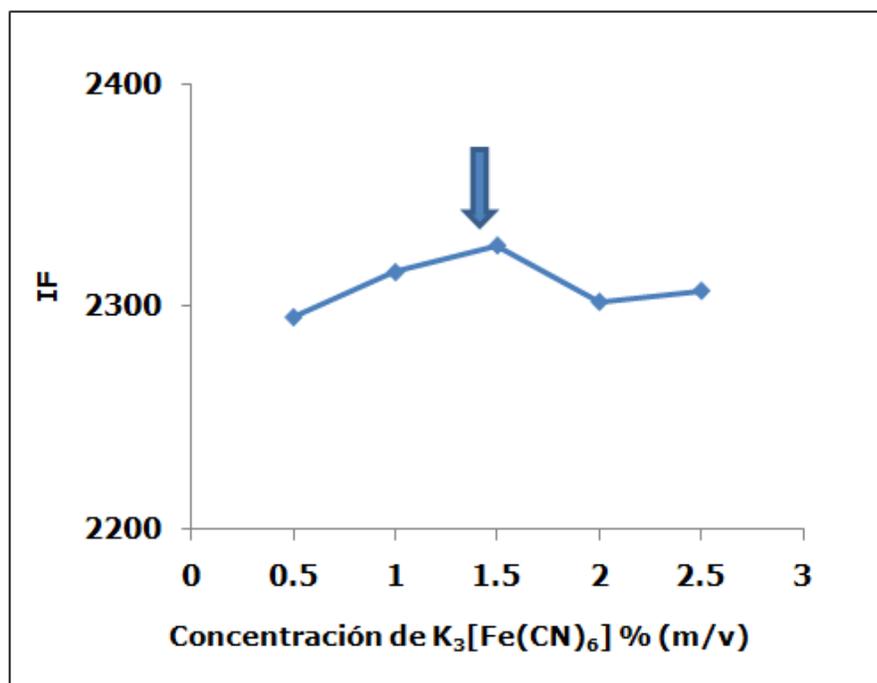


Figura 27. Influencia de la concentración del ferricianuro de potasio en la señal analítica del Pb(II).

Las condiciones de operación para este experimento fueron: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II), 1.5 % (v/v) HCl, 1.5 % (m/v) KBH_4 , 1.3 mL de muestra y un caudal de inyección de 10 mL min^{-1} .

2.4. Efecto de la concentración de HCl

La elección del medio ácido que va a ser utilizado depende principalmente de consideraciones prácticas, como son la pureza del reactivo, su disponibilidad y precio (Karadjova *et al.*, 2007). En los experimentos de este trabajo de investigación se eligió HCl de alta pureza, calidad *INSTRA*.

La influencia de la concentración de HCl sobre la señal analítica ha sido evaluada (Figura 28), así como también los valores de pH para cada solución de HCl (Figura 29). La sensibilidad de la técnica fue alta en 1.5% (v/v) de HCl para ambos métodos, PM and FeM. La acidez de las muestras y estándares fueron también optimizadas, ya que sus valores deben de ser similares entre sí, para asegurar una mayor sensibilidad (Li y Pacey., 1995). La generación del plumbano siempre es más favorecida a un bajo pH ($\text{pH} < 2$) (Wu *et al.*, 2007).

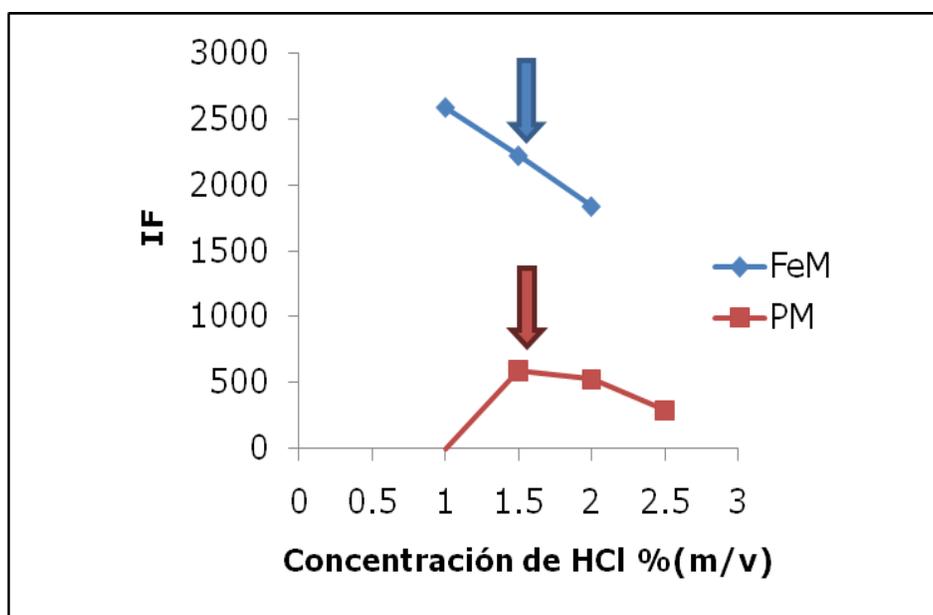


Figura 28. Optimización de la concentración del HCl.

Condiciones de operación para PM: $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb, 1.5% (m/v) KBH_4 , 5%(v/v) H_2O_2 y un volumen de muestra de 1.6 ml. Y en FeM se utilizó una solución de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II), 1 % (m/v) KBH_4 , 1.5%(m/v) $[\text{K}_3 \text{Fe}(\text{CN})_6]$. En ambos métodos una velocidad de inyección de 10 mL min^{-1} fue puesta en el equipo de AFS.

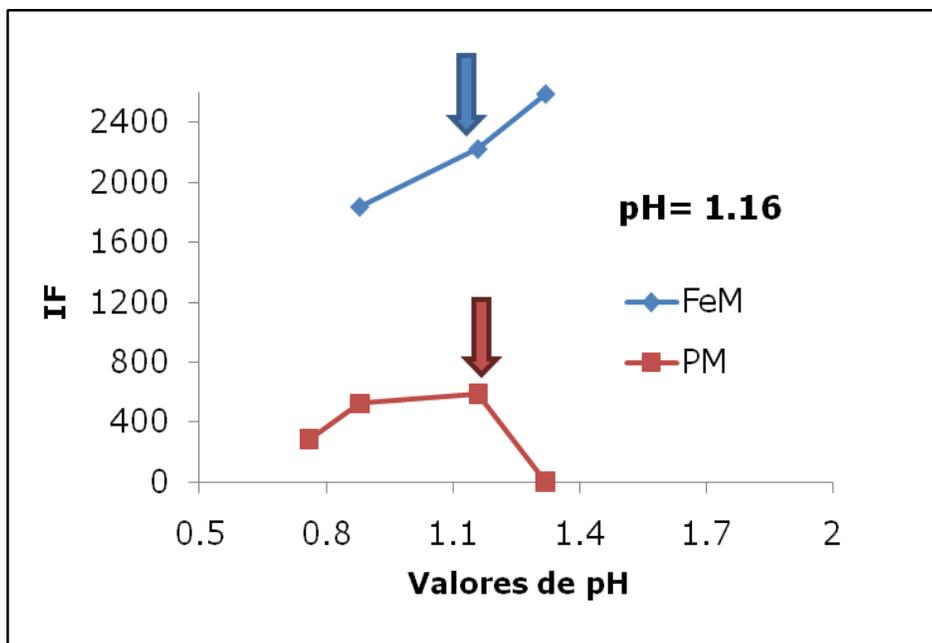


Figura 29. Efecto de la señal analítica del plomo a diferentes pH para los métodos analíticos PM y FeM.

3. Parámetros analíticos

3.1. Curvas de Calibración, límites de detección (LD) y cuantificación (LQ) y desviación estándar relativa (RSD)

Las curvas de calibración de plomo fueron construidas para determinar la linealidad de los métodos, que es la relación entre la respuesta del instrumento a una concentración conocida del analito (Skoog, 1990). El límite de detección corresponde a la menor cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado con exactitud (Miller y Miller, 2005). La desviación estándar relativa también fue calculada. Todos estos valores así como los datos de las curvas de calibración son mostrados en la Tabla 13.

Tabla 13. Parámetros analíticos del sistema FI-HG-AFS en PM

Parámetros analíticos	Curva 1	Curva 2
Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1-11	10-80
Ecuación de la curva	$Y=43.83x+0.175$	$Y=28.96x+53.63$
Coefficiente de correlación	$R=0.9994$	$R=0.9999$
Limite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$) (3σ), (n=10)	0.42	0.83
Limite de cuantificación ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1	No aplica
RSD (n=15)	7.15 estándar de $3 \mu\text{g L}^{-1}$	2.29 estándar de $40 \mu\text{g L}^{-1}$
Frecuencia de muestreo	53 inyecciones h^{-1}	53 inyecciones h^{-1}

En las Figuras 30 y 31 se presentan las curvas de calibración construidas para el método del peróxido. Las condiciones de operación fueron: KBH_4 al 1.5% (m/v), H_2O_2 al 5% (v/v), HCl 1.5% (v/v), un volumen de muestra de 1.666 mL y con un flujo de inyección de 10 mL min^{-1} .

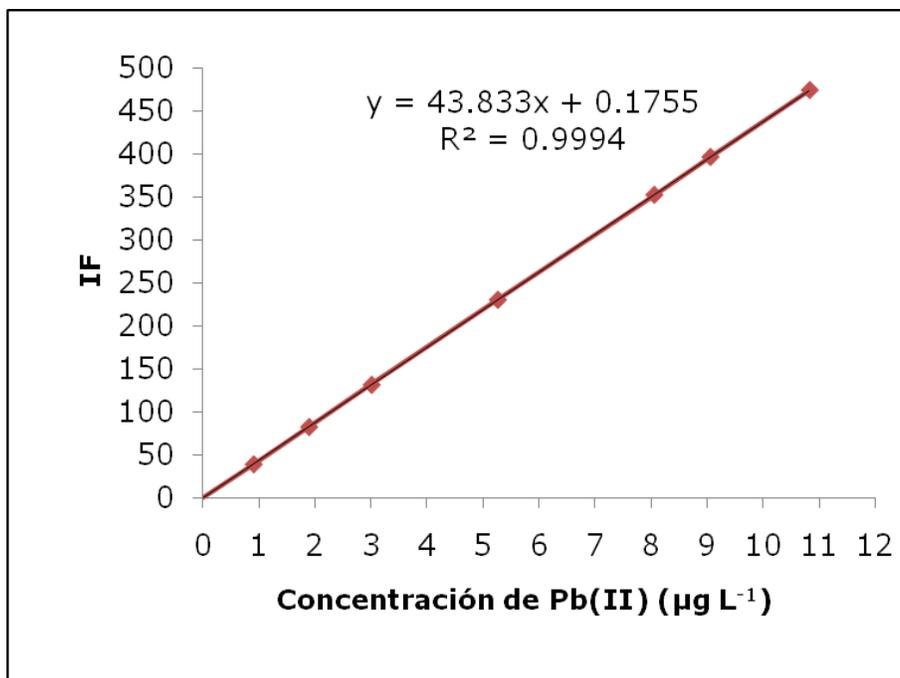


Figura 30. Curva de Calibración rango de 1 a 11 µg L⁻¹ de Pb(II), en PM.

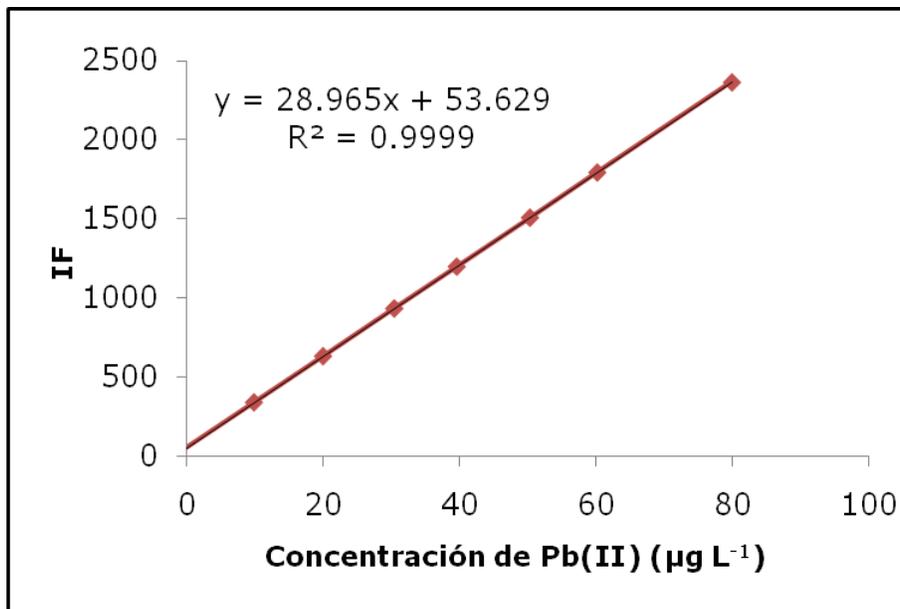


Figura 31. Curva de calibración del rango de concentración entre 10 y 80 µg L⁻¹ de Pb(II), en PM.

Las condiciones de operación utilizadas en la construcción de las curvas de calibración en FeM (Figura 32 y 33) fueron: 1 % (m/v) KBH_4 , 1.5%(m/v) de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, un volumen de muestra de 1.3 mL y un flujo de inyección de 10 mL min^{-1} . Los parámetros analíticos obtenidos para el método del ferricianuro de potasio se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Parámetros analíticos del sistema FI-HG-AFS en FeM.

Parámetros analíticos	Curva 1	Curva 2
Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.5-2	8-80
Ecuación de la curva	$Y=360.07x+20.474$	$Y=192.1x+676.61$
Coefficiente de correlación	0.9975	0.9986
Limite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$) (3σ), (n=10)	0.03	0.062
Limite de cuantificación ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.5	No aplica
RSD (n=15)	1.14 estándar de $1.2 \mu\text{g L}^{-1}$	0.83 estándar de $50 \mu\text{g L}^{-1}$
Frecuencia de muestreo	70 inyecciones h^{-1}	70 inyecciones h^{-1}

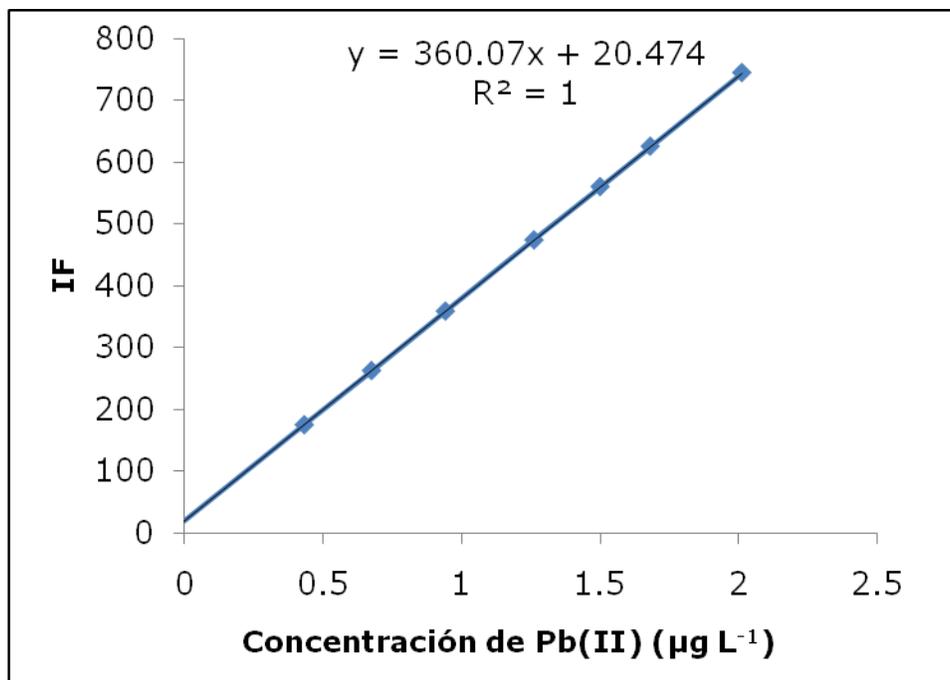


Figura 32. Curva de calibración del rango de concentración de 0.5 a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en FeM.

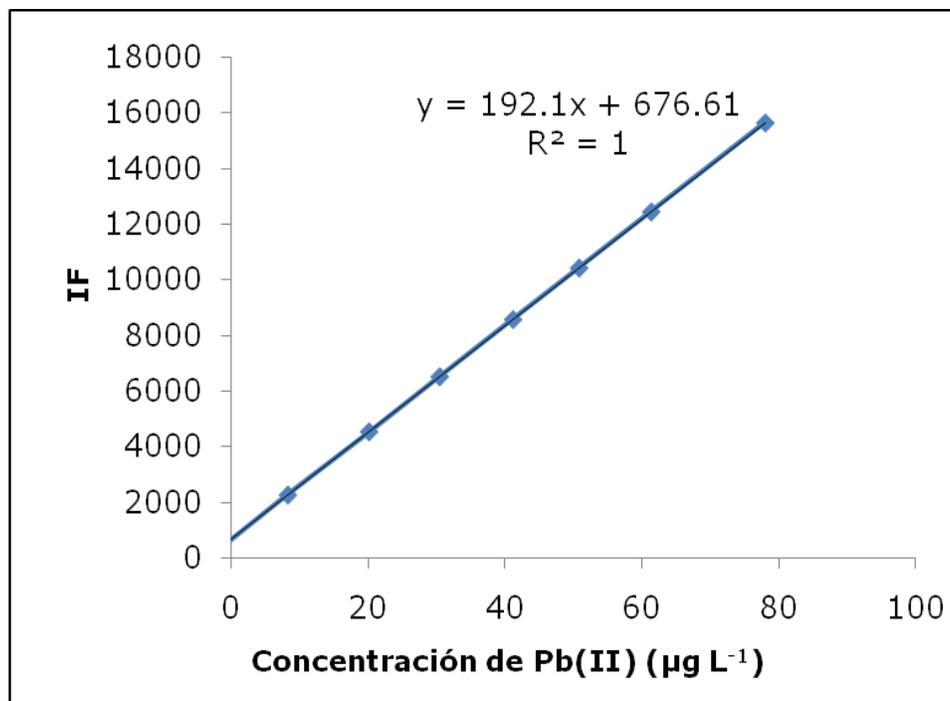


Figura 33. Curva de calibración de para el rango de concentración de 8 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) en FeM.

De los resultados obtenidos en la construcción de las curvas de calibrado de ambos métodos, se puede observar que los parámetros analíticos del método que utiliza ferricianuro de potasio como agente oxidante, presenta mejores límites de detección y de cuantificación, mejor precisión y mayor frecuencia de muestreo, en relación a los resultados obtenidos con el método que utiliza al peróxido de hidrógeno como agente oxidante.

Se debe puntualizar que ambos métodos presentan buena sensibilidad y precisión en las mediciones de Pb(II), además de contar con un amplio rango lineal. En el método del PM se pueden determinar concentraciones desde 1 a 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y en el FeM concentraciones desde 0.5 a 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

4. Interferencias

El estudio de las interferencias fue llevado a cabo en presencia de metales de transición como zinc, fierro, cobalto, níquel y cromo, así como también con elementos formadores de hidruros como arsénico, antimonio, cadmio, mercurio y aluminio.

En la mayoría de los casos las interferencias causadas por los iones mencionados anteriormente, disminuyen la señal (interferencias negativas) para concentraciones más altas que aquellas mencionadas en la Tabla 15. El mayor problema con la determinación de plomo por la técnica de generación de hidruros es que es altamente susceptible a sufrir interferencias, las cuales restringen severamente el análisis de matrices complejas (Zheng *et al.*, 2009).

Como se mencionó en la sección del marco teórico, donde se habla de los mecanismos de interferencias que existen, hay elementos que forman hidruros volátiles y además producen alta supresión de la señal analítica, debido a su competencia por el agente reductor y a que reaccionan con él de forma más rápida en relación con la velocidad con la que el plomo puede reaccionar (Kumar y Riyazuddin., 2010). Por lo tanto, arsénico, antimonio, mercurio y selenio pueden suprimir la señal afectando la generación del plumbano en ambos métodos, aún si sus concentraciones son tan bajas como las del analito de interés.

Con el método del peróxido de hidrógeno (Tabla 15), 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio y zinc fueron tolerados. El zinc es un elemento considerado como fuente de producción de hidrógeno (Laborda *et al.*, 2002) en ciertos tipos de reacción, con lo que se tendría una mejor atomización en la reacción de generación del plumbano, dado que se sostendría de una forma más eficiente la flama H_2 -Argón (Dedina y Tsalev, 1995).

Sin embargo, el plomo presentó muy poca o nula tolerancia a los iones cobre y selenio utilizando ambos métodos. Otros niveles de tolerancia bajos fueron obtenidos para metales de transición como cromo, fierro, níquel, cobalto. Esto puede ser debido a la adsorción del hidruro sobre pequeñas esferas metálicas que son formadas por reducción de los elementos antes mencionados (Leal *et al.*, 2006).

Tabla 15. Límites de tolerancia a iones interferentes en la determinación de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb (II) con H_2O_2 y $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ como agentes oxidantes

Ion adicionado	Límite máximo de concentración tolerada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	PM	FeM
As(V)	10	5
Sb(III)	5	5
Cd(II)	1000	10
Fe(III)	10	5
Zn(II)	1000	3
Al(III)	10	12
Ni(II)	50	40
Co(III)	10	50
Cu(II)	*	10
Hg(II)	10	50
Se(IV)	*	10

Se pronosticaba que utilizando ferricianuro de potasio como agente oxidante las interferencias serían minimizadas, tomando en cuenta que al reaccionar con el TBH, se forman complejos de borano intermediarios, los cuales reaccionan con el Pb(II) y provocan una mejoría en la eficiencia de la generación del plumbano; es decir, la presencia del ferricianuro de potasio es indispensable en el sistema de reacción (D'Ulivo *et al.*, 2008). Sin embargo, se encontró que también en este método se toleran muy bajas concentraciones de iones interferentes, incluso el nivel de tolerancia a zinc y cadmio disminuyó

considerablemente de 1000 a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla 15). En el caso de Se y Cu se observó una pequeña mejoría en el límite máximo de tolerancia, lo que resulta muy positivo ya que son elementos muy comunes en muestras ambientales.

Estos resultados pueden ser explicados con el mecanismo de interferencia causado por la competencia del agente reductor (TBH), entre los iones interferentes y el plomo. Al reaccionar éstos de forma más rápida con el TBH que el plomo, disminuyen la concentración necesaria para reaccionar con el ferricianuro de potasio (hexacianoferrato III), con la subsecuente disminución de formación de complejos de boro intermediarios, los cuales son necesarios para reaccionar con el Pb(II) y generar el plumbano.

Selección del método (Etapa 2)

Con los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros analíticos y el estudio de interferencias, se consideró y seleccionó el método FeM para continuar con la investigación. Se tomó en consideración que con este método la señal analítica aumentaba el doble ($IF=1300$ para un estándar de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II)) en relación a la que se obtiene con el método PM donde la $IF=500$ para un estándar de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II)), lo que proporciona una mayor sensibilidad. Este hecho lo convierte en el método más apropiado, además de que presenta mejores límites de detección, cuantificación y una mayor precisión. Ha sido reportado que utilizando el ferricianuro de potasio como agente oxidante, existe una mejoría con el problema de los iones interferentes presentes en las muestras (Zheng, 2009). Sin embargo, en los resultados obtenidos en el estudio de interferencias, se observó que en

ambos métodos (PM y FeM) la señal analítica del plomo se ve afectada debido a la presencia de iones interferentes, por consiguiente el criterio de la mejora de interferencias utilizando $K_3[Fe(CN)_6]$, no fue tomado en consideración al momento de elegir el método analítico.

1. Validación del método FeM

El material de referencia certificado SRM-2976 (tejido de almeja), fue preparado como se indicó en la metodología. No se presentó ninguna dificultad en la determinación de la concentración esperada de plomo en la muestra. Por otro lado, el BCR-610 (agua de pozo), requirió de la adición de un aditivo que actuara como agente enmascarante, ya que en primera instancia, el valor obtenido no estaba en concordancia con el valor certificado. Con base en la información que produjo el estudio de iones interferentes y de los antecedentes de interferencias que se producen en la generación del plumbano, se llevó a cabo más adelante en la etapa 4, un estudio de agentes enmascarantes, en el cual se tomó la decisión de utilizar ioduro de potasio para validar el método FeM con el BCR-610.

En pruebas preliminares se pudo observar el espectro de la muestra del BCR-610, sin la adición de KI (Figura 34) y compararlo con el que se obtuvo si se adiciona el agente enmascarante (Figura 35).

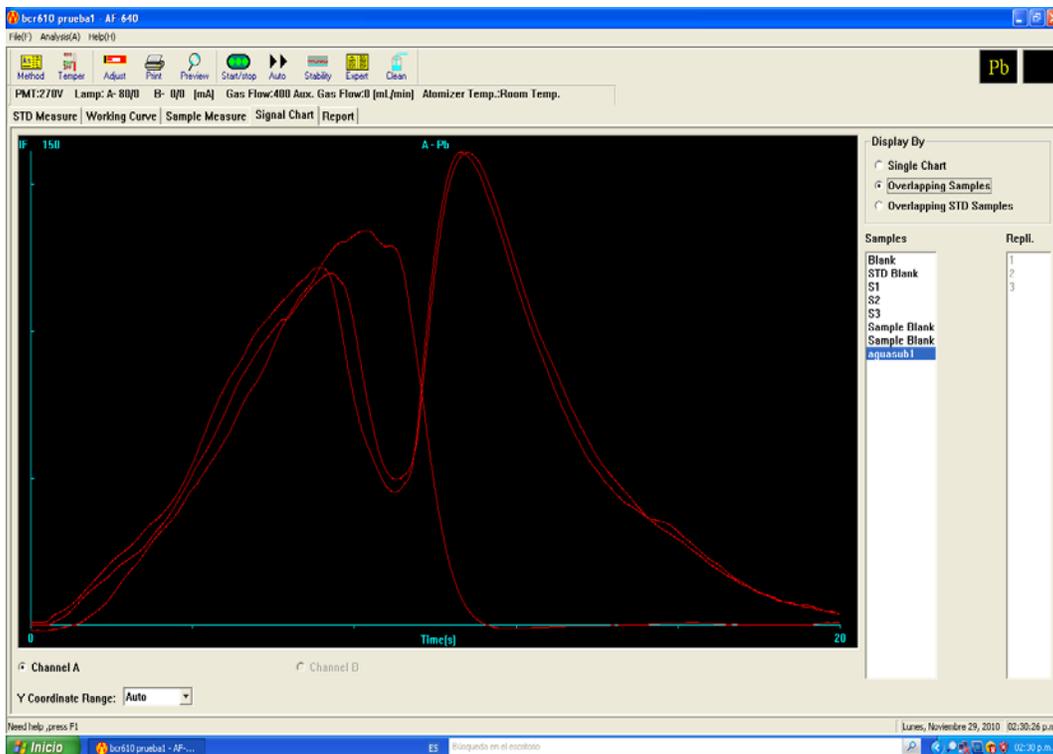


Figura 34. Espectro del Pb(II) en el BCR-610 sin la adición de KI.

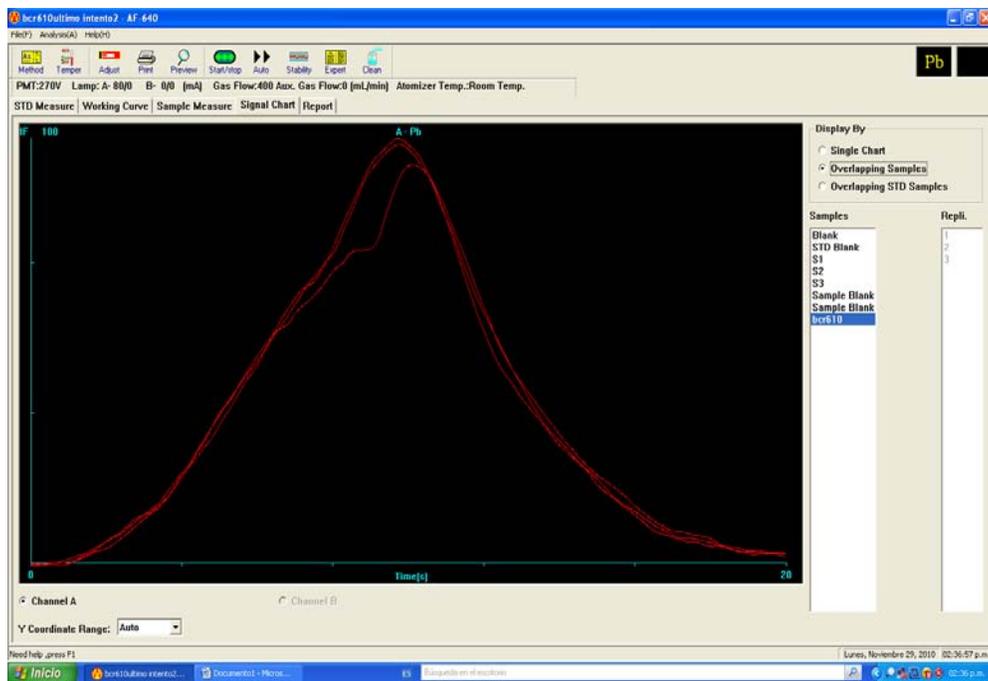


Figura 35. Espectro de Pb(II) en el BCR-610 con la adición de KI.

Se puede observar en la Tabla 16, que los resultados obtenidos fueron los esperados en relación con los valores certificados. Se utilizó la prueba estadística *"t" student* con el objetivo de comparar las medias de los resultados con las concentraciones certificadas. No se encontraron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% para cada muestra. Los valores obtenidos para la *"t"* fueron de 1.119 y 0.817 para BCR-610 y SRM-2976, respectivamente. Se realizaron tres réplicas con 3 repeticiones cada una. El valor crítico de *"t"* fue de 2.92 para ambos materiales.

Tabla 16. Medición de los CRM con el método FeM.

Muestra	Valor certificado	Valor obtenido
BCR-610 Agua de pozo (mg kg⁻¹) de Pb(II)	7.78±0.13	7.13±0.05
SRM-2976 Tejido de almeja (mg kg⁻¹ de Pb(II) en base seca)	1.19±0.18	1.06±0.22

Medición de muestras ambientales y biológicas mediante el método FeM (Etapa 3)

1. En agua de grifo el contenido de plomo fue de $0.16 \mu\text{g L}^{-1}$, valor que estuvo por debajo del límite máximo permisible según la norma mexicana (NOM-127-SSA1-1994). Este análisis fue llevado a cabo mediante el método de adición de estándar. Los resultados en la Tabla 17 muestran que no existe una variación de $\pm 10\%$ (criterio de aceptación) en los porcentajes de recuperación, lo que da fuerte evidencia de que no existen interferencias de matriz.

Tabla 17. Determinación de Pb(II) en muestra de agua del grifo.

Adición Pb(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0	0.16 ± 0.002	
2	$2.07 \pm .003$	96
6	$6.05 \pm .002$	98
10	$9.77 \pm .005$	107
16	16.12 ± 0.12	100

2. El interés de medir plomo en una muestra de agua proveniente de los pozos que se perforan para la extracción de metales, radica en que esta agua es tratada y mezclada con agua de río para diluirla, minimizando la concentración de metales, para utilizarla como agua de riego en zonas agrícolas. La concentración de plomo encontrada fue de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, valor aceptable dentro de lo establecido por el Instituto Nacional de Ecología (INE, 1997), que establece como límite máximo permisible $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ de plomo para agua de riego.

De igual forma, en la tabla 18 se presentan los resultados obtenidos con la adición de estándar, revelando la inexistencia de interferencias de matriz, ya que las recuperaciones estuvieron dentro del criterio de aceptación del $\pm 10\%$, los resultados se muestran en la Tabla 18..

Tabla 18. Determinación de trazas de plomo en muestra de agua de mina tratada.

Adición Pb(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0	20.23 \pm 0.416	
20	39.05 \pm 0.236	97
30	47.25 \pm 0.422	94
40	56.73 \pm 0.377	94

- Los contenidos de plomo en sangre varían de acuerdo a la composición de la misma. Este analito puede estar presente en sangre total, suero ó plasma. Las tablas 19, 20 y 21 presentan los resultados obtenidos en el análisis de sangre total, suero y plasma, respectivamente.

Tabla 19. Contenido de plomo en sangre total.

Adición Pb(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0	0	0
2	2.049 ± 0.009	97
4	3.866 ± 0.026	97
6	6.115 ± 0.026	104
8	7.945 ± 0.033	100
10	9.994 ± 0	98

Tabla 20. Contenido de plomo en suero.

Adición Pb(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0	0.117	0
2	2.036 ± 0.002	96
4	4.078 ± 0.002	102
6	5.959 ± 0.016	102
8	7.740 ± 0.016	98
10	10.24 ± 0.042	100

Tabla 21. Contenido de plomo en plasma.

Adición Pb(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0	0.021	0
2	2.190 ± 0.275	104
4	4.080 ± 0.195	101
6	6.011 ± 0.22	102
8	7.749 ± 0.074	98
10	10.25 ± 0.087	101

En estas muestras se obtuvieron excelentes porcentajes de recuperación, por consiguiente estuvieron dentro de los criterios de aceptación ($\pm 10\%$).

Según la norma mexicana NOM-199-SSA1-2000, el contenido de plomo en las muestras de sangre total, plasma y suero estuvo por debajo del límite permisible.

Estudio de agentes enmascarantes (AE) (Etapa 4)

1. Optimización de las concentraciones de los AE

En esta etapa de análisis, las condiciones de operación para cada experimento fueron: soluciones de Pb(II), 1% (m/v) KBH_4 , 1.5% (v/v) HCl, 1.5%(m/v) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

En ausencia de especies interferentes, el KI produce una ligera pérdida de sensibilidad, que va en aumento a medida que su concentración se incrementa. No se observó curvatura en las gráficas de calibración (Figura 36); por lo tanto, para minimizar la pérdida de sensibilidad, se eligió una concentración de 1.8% (m/v) de KI para los subsecuentes experimentos con iones interferentes.

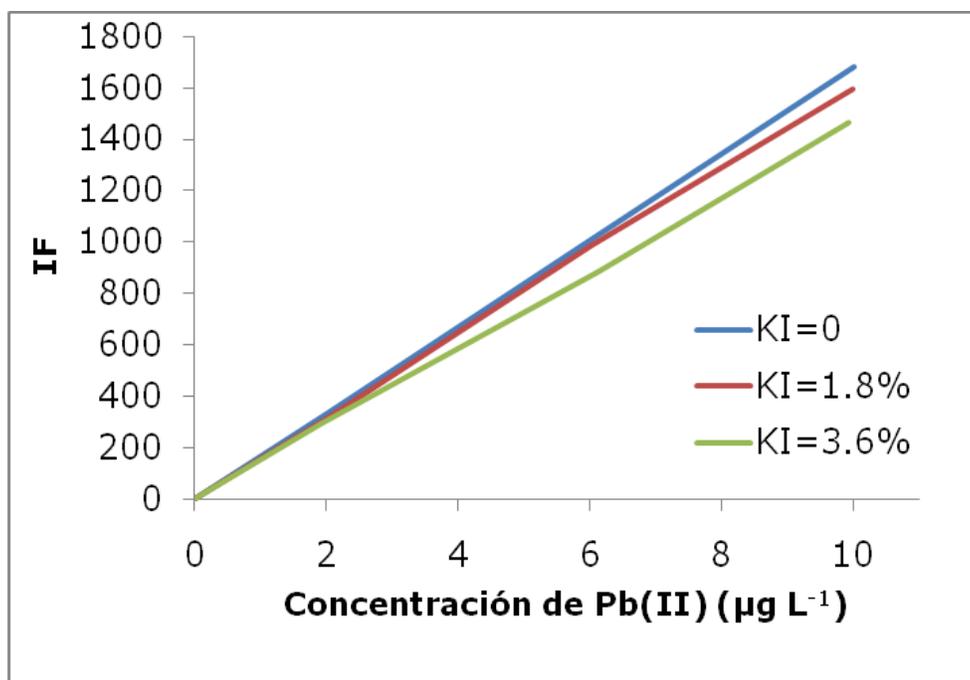


Figura 36. Gráficas de calibración obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de KI adicionadas a la solución reductora de KBH_4 .

Con L-Cisteína se observó que los blancos aumentaban conforme se aumentaba la concentración de la misma. No existió ningún efecto depresivo de la señal, por el contrario, la IF aumentó y esto puede ser causado por interferencias de matriz. Por tal motivo, buscando un compromiso entre sensibilidad y las interferencias que la matriz ocasionaba, la concentración seleccionada fue de 0.6% (m/v). En la Figura 37, se presentan las curvas de calibración construidas con diferentes concentraciones de L-Cys. Se observa que la sensibilidad del método se ve un poco más afectada en comparación con la pérdida de sensibilidad que ocasiona el KI en las curvas obtenidas con el mismo.

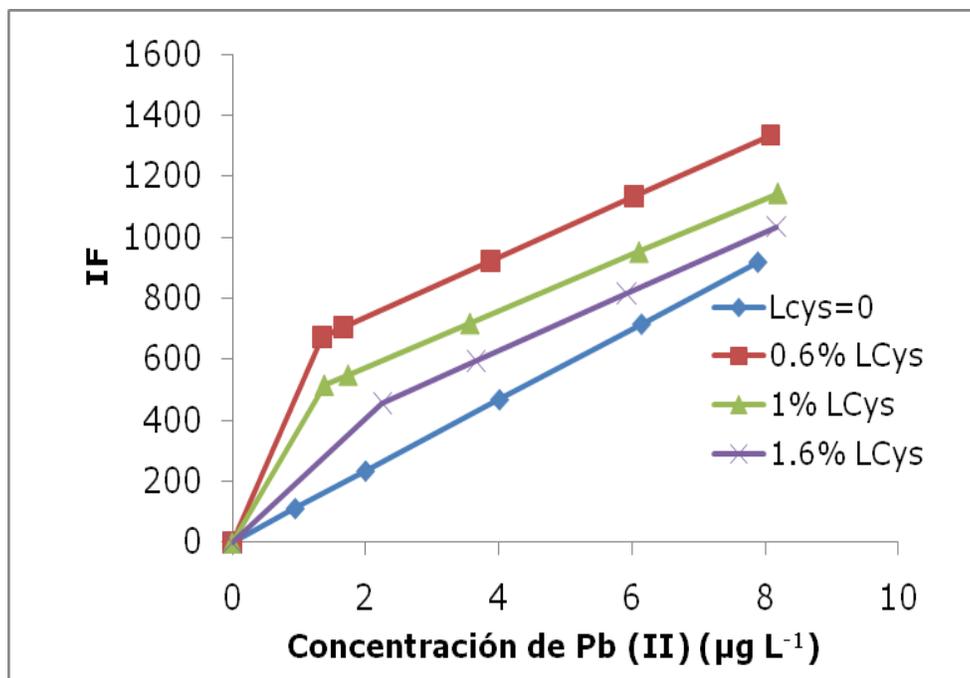


Figura 37. Curvas de calibración para plomo obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de L-Cisteína adicionadas a los estándares de plomo.

De igual manera, 1,10-Fenantrolina fue probada a dos diferentes concentraciones. No se observó curvatura en las gráficas, indicando que no hubo efectos por matriz. Se eligió una concentración de 0.03% (m/v) de 1,10-Fenantrolina, considerando que la curva de esta concentración se mantuvo casi paralela a la curva en la que no se utiliza el AE. Los resultados se muestran en la Figura 38.

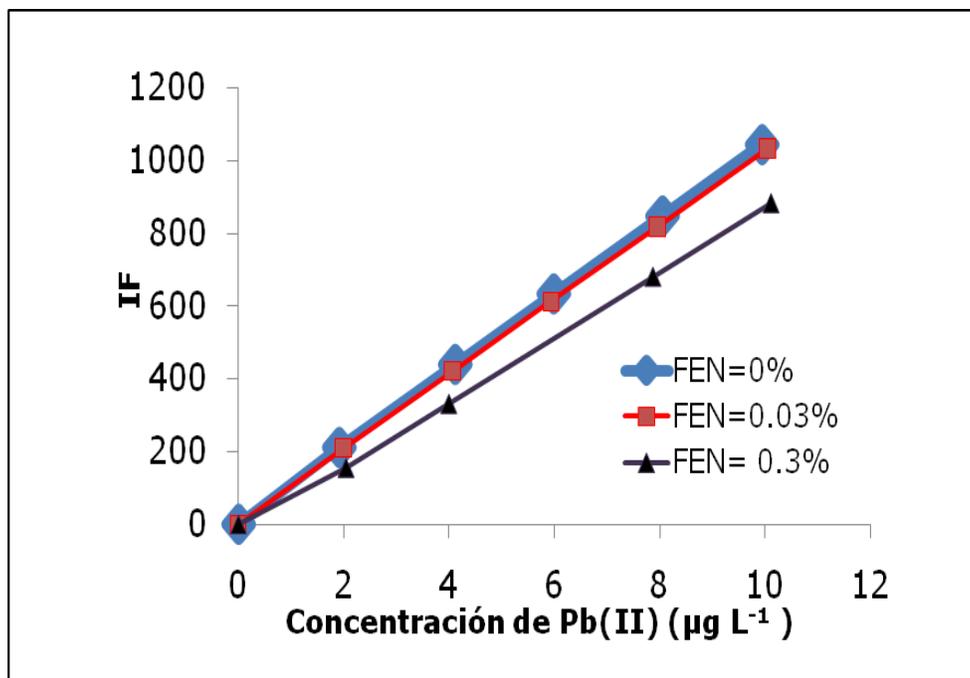


Figura 38. Curvas de calibración para plomo obtenidas en presencia de diferentes concentraciones de 1,10-Fenantrolina adicionadas a los estándares de plomo.

En resumen, las concentraciones a utilizar en los subsecuentes experimentos son: 1.8 %(m/v) de KI, 0.6 %(m/v) de L-Cys y 0.03 %(m/v) de FEN.

2. Efecto de los AE en la señal analítica del Pb(II) en presencia de iones interferentes.

Para llevar a cabo este estudio, se consideró que la curva patrón es aquella en la cual el estándar de plomo está en presencia de diferentes concentraciones del ión interferente y sin la utilización de los AE. También se construyó la curva KI, en donde se emplea yoduro de potasio, la curva FEN en la cual se utiliza 1,10-Fenantrolina y la curva L-Cys para L-Cisteína.

2.1. Efecto de los AE en presencia de Arsénico

En la Figura 39, si se compara un punto determinado del estándar de plomo sin AE (curva patrón), contra el punto en el cual existe una concentración de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As en presencia de 1,10-fenantrolina (curva FEN), no se aprecian diferencias entre ambos. En cambio, probando con $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, y comparando de igual manera que en el ejemplo anterior, la diferencia es más notoria y esto ocurre también con los puntos de la curva KI. Con L-Cisteína no es tan notorio el efecto enmascarante (curva L=Cys), debido a que la señal analítica del Pb(II) va en decremento en presencia de las diferentes concentraciones de As. Complejos como As(III)-Cys se pueden formar más rápido que los complejos TBH-Cys, así disminuye la concentración del complejo que forma con el analito de interés, el cual, lo que favorece la formación del plumbano (Kumar y Riyazuddin, 2010).

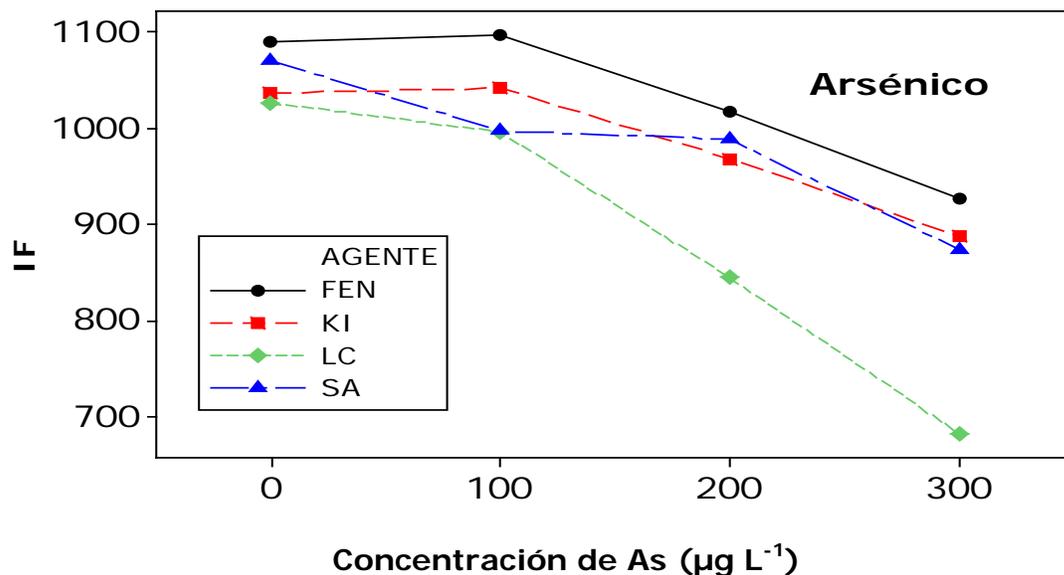


Figura 39. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de As(V) y los tres AE.

El ANOVA detectó diferencias estadísticas por agente ($P < 0.01$), por concentración del ión interferente ($P < 0.01$) y en la interacción ($P < 0.01$). Es decir, los tres agentes enmascarantes en mayor o menor grado tuvieron efecto enmascarante sobre el arsénico en las determinaciones de plomo. Estos resultados fueron obtenidos utilizando el programa estadístico del Minitab 15 y se resumen en la Tabla 22.

Tabla 22. Análisis estadístico de datos para el arsénico.

Análisis de la influencia de agentes enmascarantes sobre la señal de plomo en presencia del ion interferente arsénico.						
----- 12/12 9:52:00 -----						
General Linear Model: PB-AS versus AGENTE, CONCENTRACIONES						
Factor	Type	Levels	Values			
AGENTE	fixed	4	FEN, KI, LC, SA			
CONCENTRACIONES	fixed	4	0, 100, 200, 300			
Analysis of Variance for PB-AS, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
AGENTE	3	265832	265832	88611	851.47	0.000
CONCENTRACIONES	3	669247	669247	223082	2143.61	0.000
AGENTE*CONCENTRACIONES	9	109190	109190	12132	116.58	0.000
Error	80	8325	8325	104		
Total	95	1052595				
S = 10.2014 R-Sq = 99.21% R-Sq(adj) = 99.06%						
Unusual Observations for PB-AS						
Obs	PB-AS	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
7	1014.00	987.90	4.16	26.10	2.80	R
19	1014.00	987.90	4.16	26.10	2.80	R
R denotes an observation with a large standardized residual.						

2.2. Efecto de los AE en presencia de Cobre

El ioduro de potasio (KI) puede enmascarar al ión cobre debido a la formación y precipitación de CuI (Narsito y Agterdenbos, 1991). Como se muestra en la Figura 40, el KI funciona como agente enmascarante en el rango de concentración de 0 a $600 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre, en el cual la IF se mantiene por encima de la que se tiene con la curva patrón. La 1,10-Fenantrolida ha sido reportada en la mejora de los límites de tolerancia de Cu(II) (Ek y Huldén, 1987), ya que aumenta la señal analítica en un comienzo y se mantiene así hasta el final.

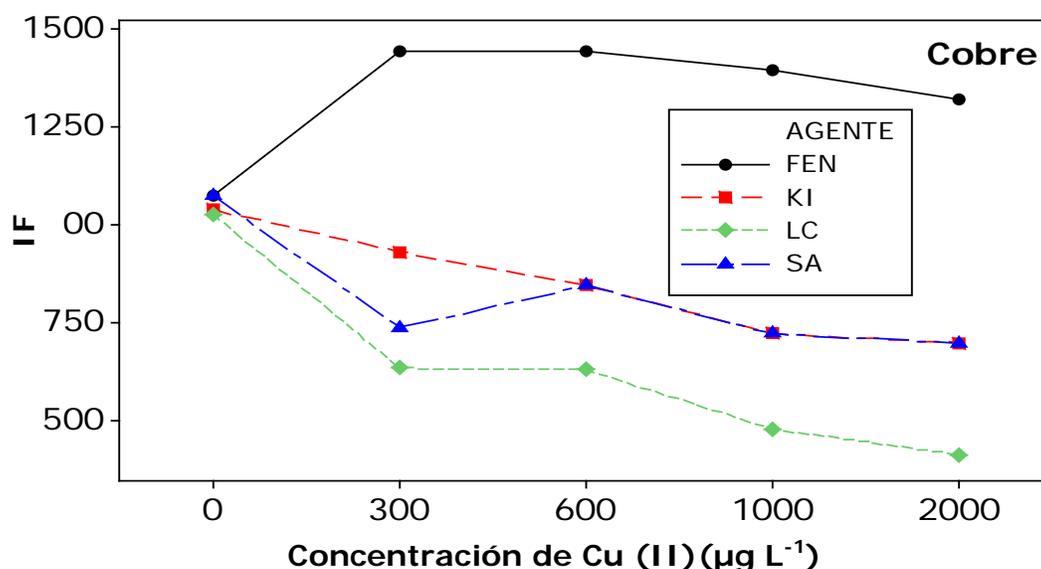


Figura 40. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de Cu(II) y los tres diferentes AE.

Esto se debe probablemente a que ejerce un efecto enmascarante sobre el cobre. Para mejores resultados se tendría que ajustar la concentración de la 1,10-Fenantrolida hasta obtener el valor deseado de

IF. El agente enmascarante L-Cys no ejerció su efecto (Curva L-Cys) y esto se puede apreciar cuando la señal analítica del Pb(II) disminuye incluso por debajo de la curva patrón.

De igual forma que en el caso del arsénico, el ANOVA detectó diferencias estadísticas por agente ($P < 0.01$), por concentración ($P < 0.01$) y en la interacción ($P < 0.01$). Los resultados, que se muestran en la Tabla 23 e indican la influencia de los agentes enmascarantes cuando se encuentra cobre en concentraciones diferentes y plomo, en una misma solución.

Tabla 23. Análisis estadístico de datos para el cobre.

Análisis de la influencia de agentes enmascarantes sobre la señal de plomo en presencia del ion interferente cobre.					
----- 12/12 10:07:33 -----					
ANOVA: PB-CU versus AGENTE, CONCENTRACIONES					
Factor	Type	Levels	Values		
AGENTE	fixed	4	FEN, KI, LC, SA		
CONCENTRACIONES	fixed	5	0, 300, 600, 1000, 2000		
Analysis of Variance for PB-CU					
Source	DF	SS	MS	F	P
AGENTE	3	8076305	2692102	10345.46	0.000
CONCENTRACIONES	4	1080205	270051	1037.78	0.000
AGENTE*CONCENTRACIONES	12	1941592	161799	621.78	0.000
Error	100	26022	260		
Total	119	11124124			
S = 16.1314 R-Sq = 99.77% R-Sq(adj) = 99.72%					

2.3. Efecto de los AE en presencia de Cromo

Cada curva de los diferentes AE tuvo casi el mismo comportamiento que la curva patrón, con lo cual se podría deducir que ningún agente enmascarante tuvo efecto sobre las diferentes concentraciones de cromo utilizadas (Figura 41). Sin embargo, se debe considerar que las condiciones experimentales no fueron las óptimas para que los AE ejercieran su efecto, ya que, se ha reportado en investigaciones llevadas a cabo sobre control de interferencias, que éstas pueden ser minimizadas si se modifica el medio ácido, la concentración de los AE y del agente reductor, entre otras (Kumar y Riyazuddin, 2010).

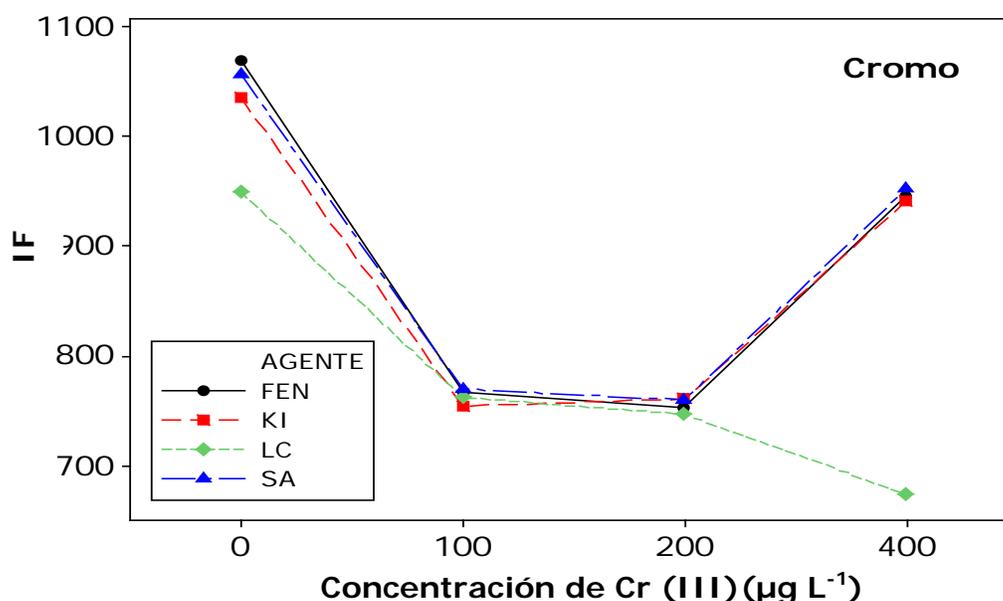


Figura 41. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de 10 µg L⁻¹ en presencia de diferentes concentraciones de Cr(III) y los tres diferentes AE.

Para el caso del Cr, el ANOVA detectó diferencias estadísticas por el tipo de agente ($P < 0.01$), por la concentración ($P < 0.01$) y por la interacción ($P < 0.01$). En la Figura 38 se observa que el efecto de interacción fue

dado por los valores de L-cisteína, ya que si se eliminara este agente se tendría un polinomio entre los otros tres agentes probados y como consecuencia no habría interacción. Lo mismo ocurre por la diferencia entre agente, donde el valor de L-cisteína está aumentando el error experimental. El análisis estadístico se presenta en la Tabla 24.

Tabla 24. Análisis estadístico de datos para el cromo.

Análisis de la influencia de agentes enmascarantes sobre la señal de plomo en presencia del ion interferente Cromo.						
----- 12/12 10:11:33 -----						
General Linear Model: PB-CR versus AGENTE, CONCENTRACIONES						
Factor	Type	Levels	Values			
AGENTE	fixed	4	FEN, KI, LC, SA			
CONCENTRACIONES	fixed	4	0, 100, 200, 400			
Analysis of Variance for PB-CR, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
AGENTE	3	172870	172870	57623	722.67	0.000
CONCENTRACIONES	3	1171127	1171127	390376	4895.83	0.000
AGENTE*CONCENTRACIONES	9	215463	215463	23940	300.24	0.000
Error	80	6379	6379	80		
Total	95	1565839				
S = 8.92952 R-Sq = 99.59% R-Sq(adj) = 99.52%						
Unusual Observations for PB-CR						
Obs	PB-CR	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
79	771.60	754.15	3.65	17.45	2.14	R
84	921.90	945.63	3.65	-23.73	-2.91	R
95	962.80	945.63	3.65	17.17	2.11	R
96	921.90	945.63	3.65	-23.73	-2.91	R
R denotes an observation with a large standardized residual.						

2.4. Efecto de los AE en presencia de Hierro

El ion Fe(III) no causa fuertes interferencias en comparación con el cromo. La curva KI se mantiene por debajo de la curva patrón y con el mismo comportamiento. Esto se pudiera explicar si se considera que con el KI, el Fe (III) se reduce a Fe(II), el cual causa una mayor interferencia que Fe(III) (D'Ulivo *et al.*, 2002). Sin embargo, a una concentración de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de hierro, se observa un pequeño incremento en la señal analítica. Un caso interesante se presenta en la curva de L-Cys y la curva de FEN al llegar al punto de $600 \mu\text{g L}^{-1}$ de concentración de hierro, a partir del cual abruptamente la IF se incrementa (Figura 42).

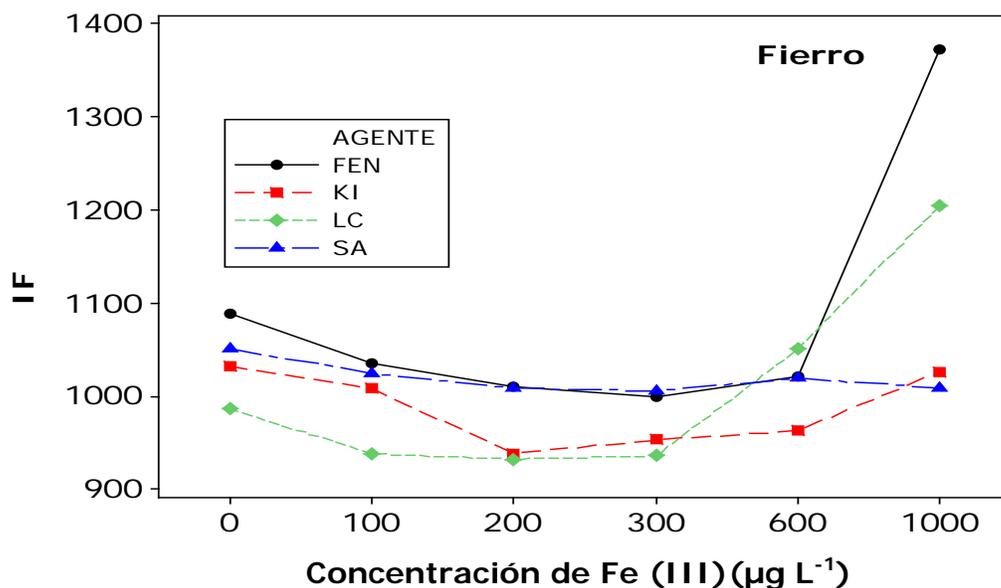


Figura 42. Efecto en la señal analítica de un estándar de plomo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia de diferentes concentraciones de Fe(III) y los tres diferentes AE.

Este efecto puede ser causado por la formación de un complejo tipo THB-Cys ó THB-Fen, que reacciona con el analito de interés (plomo) y

evita la formación de especies interferentes (Pitzalis *et al.*, 2007; D'Ulivo *et al.*, 2005), facilitando la reacción del plumbano en algún momento de la reacción

El ANOVA en los experimentos con el fierro, detectó diferencias estadísticas por agente ($P < 0.01$), por concentración ($P < 0.01$) y en la interacción ($P < 0.01$) (Tabla 25). Dando evidencia de que existe la formación de complejos que reaccionan con el fierro y minimizan el efecto de interferencia que causa este ión, tan común en muestras ambientales y biológicas.

Tabla 25. Análisis estadístico de datos para el fierro.

Análisis de la influencia de agentes enmascarantes sobre la señal de plomo en presencia del ion interferente Fierro.						
General Linear Model: PB-FE versus AGENTE, CONCENTRACIONES						
Factor	Type	Levels	Values			
AGENTE	fixed	4	FEN, KI, LC, SA			
CONCENTRACIONES	fixed	6	0, 100, 200, 300, 600, 1000			
Analysis of Variance for PB-FE, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
AGENTE	3	204601	204601	68200	204.42	0.000
CONCENTRACIONES	5	546320	546320	109264	327.51	0.000
AGENTE*CONCENTRACIONES	15	464743	464743	30983	92.87	0.000
Error	120	40035	40035	334		
Total	143	1255699				
S = 18.2654 R-Sq = 96.81% R-Sq(adj) = 96.20%						
Unusual Observations for PB-FE						
Obs	PB-FE	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
73	945.40	986.60	7.46	-41.20	-2.47	R
R denotes an observation with a large standardized residual.						

3. Cálculo del límite de tolerancia máximo a iones interferentes usando los AE

Como se mencionó en el estudio de interferencias, se considera que un elemento no interfiere cuando el máximo pico de variación es tres veces menor que la desviación estándar (Leal *et al.*, 2006).

El límite de tolerancia a arsénico fue de $100\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando KI y FEN. Con L-cisteína fue de $20\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que la concentración de arsénico que se toleraba sin utilizar agentes enmascarantes era únicamente de $5\mu\text{g L}^{-1}$.

Ningún agente enmascarante tuvo efecto sobre las diferentes concentraciones de cromo. Al hacer el cálculo del límite de tolerancia, ninguna concentración de cromo fue aceptable.

El ioduro de potasio (KI) enmascaró $50\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II), lo cual es un resultado favorable, considerando que la concentración del límite máximo de tolerancia sin AE era únicamente de $10\mu\text{g L}^{-1}$. L-Cisteína y 1,10-Fenantrolina no tuvieron efecto en las diferentes concentraciones de cobre utilizadas a las condiciones experimentales antes descritas.

Esto puede abrir una nueva línea de investigación, en la que se ajusten las concentraciones de los reactivos, con el objetivo de obtener información más detallada que ayude a explicar el efecto de los AE.

Para el caso del Fe(III), con LC se obtuvo un límite máximo de tolerancia que aumentó en 60 veces; es decir, se toleró una concentración de hierro de $600\mu\text{g L}^{-1}$. Utilizando 1,10-fenantrolina también se obtuvo un valor aceptable de $100\mu\text{g L}^{-1}$, en comparación a

la concentración de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, que se obtenía sin utilizar ningún agente enmascarante.

Conclusiones

La técnica de FI-HG-AFS fue propuesta para la determinación de plomo con dos diferentes métodos. El uso del ferricianuro de potasio como agente oxidante presentó mejores prestaciones analíticas, como son: alta sensibilidad y precisión en las mediciones. Este método (FeM) fue seleccionado en los experimentos subsecuentes de la investigación.

Sin embargo, ambos métodos estudiados (PM y FeM) tuvieron afectaciones en la señal analítica de plomo debido a interferencias por iones comúnmente encontrados en muestras ambientales y biológicas. Por esta razón, este criterio no fue tomado en consideración en la elección del método.

En el estudio de agentes enmascarantes llevado a cabo con diferentes iones interferentes, se observó que éstos tuvieron buen efecto con la interferencia de arsénico, mejorando la señal analítica de plomo y en algunos casos restableciéndola.

Para el ión interferente cobre el mejor agente enmascarante fue yoduro de potasio (KI), debido a la formación y precipitación del CuI .

En el caso del interferente cromo, ningún agente enmascarante tuvo efecto positivo en la señal analítica de plomo, a las condiciones experimentales utilizadas. Sin embargo, hay que considerar para

posteriores trabajos el hacer una modificación de estas condiciones y observar si existe un efecto positivo enmascarando al ión cromo.

Las interferencias por fierro fueron minimizadas con los agentes enmascarantes L-cisteína y 1,10-Fenantrolina, incluso a altas concentraciones de fierro, debido a la formación de complejos de tipo TBH-Cys ó TBH-Fen, que pueden reaccionar preferencialmente con el ión plomo.

Los resultados obtenidos revelan la importancia de optimizar las condiciones experimentales en el uso de cada uno de los agentes enmascarantes utilizados, tales como, pH, concentración y modo de adición para que puedan ejercer un adecuado y deseado efecto enmascarante.

La técnica propuesta FI-HG-AFS con ferricianuro de potasio como agente oxidante, ofrece las ventajas de bajo consumo de reactivos, poca generación de residuos, bajo costo y buena sensibilidad para medir plomo en muestras con matriz compleja.

Este método se validó con CRM, obteniendo resultados satisfactorios.

La metodología propuesta se aplicó con éxito en la determinación de plomo en muestras biológicas y ambientales, lo que evidencia su utilidad en el análisis de matrices diversas.

Referencias

-- A --

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, (ATSDR). 2007. Resumen de salud pública Plomo. División de Toxicología y Medicina Ambiental. Departamento de Salud y Servicios Humanos., Atlanta, GA., USA.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, (ATSDR). 2005. Perfiles Toxicológicos para Plomo. Departamento de Salud y Servicios Humanos., Atlanta, GA., USA.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, (ATSDR). 1999. ToxFAQs para Plomo. Departamento de Salud y Servicios Humanos., Atlanta, GA., USA.
- Aguilar, V.J. 2003. Niveles de Plomo en sangre y factores asociados, en niños del Municipio de Centro Habana. *Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). Revista Cubana Hig. Epidemiol*, 41, 2.
- Alastuey, A., Querol, X., Mantilla, E., Rodríguez, S.I. 2000. Estudio y evaluación de la contaminación atmosférica por material particulado en España: necesidades derivadas de la propuesta de la directiva del consejo relativa a partículas PM10 y PM2. 5 e implicaciones en la industria cerámica. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 39(1), 135-148.
- Antilla, A., Heikkilä, P., Pukkala, E. 1995. Excess lung cancer among workers exposed to lead. *Scand J. Work Environ Health*, 21, 460-469.
- Aufderheide, A.C., Wittmers, L.E. 1992. Selected aspects of spatial distribution of lead in bone. *Neurotoxicol*, 13, 809-820.
- Azañero, O., Núñez, P., Figueroa, A., León, E., Fernández, S., Orihuela, S., Caballero, M., Bazán, R., Aragón, S. 2002. Flotación de Minerales Oxidados de Plomo. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 5, 34-43.

Azcona-Cruz, M.I., Rothenberg, S.J., Schnaas-Arrieta, L., Romero-Placeres, M., Perroni-Hernández, E. 2000. Niveles de plomo en sangre en niños de 8 a 10 años y su relación con la alteración en el sistema visomotor y del equilibrio. *Salud Pública de México*, 42.

- B -

Barakat, M.A. 2010. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, In Press, Corrected Proof.

Baranguan, M.T., Laborda, F., Castillo, J.R. 2002. Reagent injection FIA system for lead determination by hydride generation-quartz-tube atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 115-119.

Barry, P.S. 1981. Concentrations of lead in the tissues of children. *Br. J. Ind. Med*, 38, 61-71.

Baxter, D.C., Frech, W. 1995. Speciation of lead in environmental and biological samples. *Pure & Applied Chemistry*, 67, 615-648.

Bingöl, D., Akçay, M. 2005. Determination of trace elements in fly ash samples by FAAS after applying different digestion procedure. *Talanta*, 66, 600-604.

Bragazza, L. 2006. Heavy metals in bog waters: An alternative way to assess atmospheric precipitation quality?. *Global and Planetary Change*, 53, 290-298.

Burguera, J.L., Burguera, M. 1993. Determination of lead in biological materials by microwave-assisted mineralization and flow injection electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom*, 8, 235-241.

Bye, R. 1986. Interferences from bivalent cations in the determination of selenium by hydride-generation and atomic-absorption spectrometry: A discussion of the claim that the metal ions are reduced to the metallic state by sodium borohydride. *Talanta*, 33, 705-706.

- Cabrera, C., Madrid, Y., Camara, C. 1994. Determination of lead in wine, other alcoholic beverages and fruit slurries by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with on line microwave digestion. *J. Anal. At Spectrom*, 9, 1423-1426.
- Cañizares Macías, P. 2002. Análisis por inyección en flujo: herramienta clave para la automatización analítica. *Revista de la Sociedad Química de México*, 46, 167-174.
- Castillo, J.R., Mir, J.M., Martinez, C., Val, J., Colon, M.P. 1985. Influence of oxidizing agents in lead determination by hydride generation direct flame atomic absorption spectroscopy. *Microchim Acta*, 85, 253-263.
- Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, (CEPIS). 1995. Intoxicación por Plomo: De la detección a la prevención primaria. *Salud Pública de México*, 37, 264-275.
- Cerdà, V. 2006. Introducción a los métodos de análisis en flujo. SCWARE, S.L., Palma de Mallorca, España., pp. 38.
- Corey, G. 1999. Curso de Autoconstrucción en Evaluación de Riesgos. Caso 3: Evaluación del riesgo por exposición al Plomo. Universidad Autónoma de San Luis Potosí., San Luis Potosí, México. <http://www.bvsde.ops-oms.org/tutorial/casos/caso3/plom.html>
- Chávez, R. 2006. Fuentes de exposición al plomo. Boletín Ambiental Estructplan. Estructplan, Av. Rivadavia 18,451 1er. Piso, Moron (B1708EIL). Argentina. <http://www.estrucplan.com.ar/articulo>
- Chen, H., Brindle, I.D., Le, X.C. 1992. Prereduction of arsenic(V) to arsenic(III), enhancement of the signal, and reduction of interferences by L-cysteine in the determination of arsenic by hydride generation. *Analytical Chemistry*, 64, 667-672.
- Chen, S., Zhang, Z., Yu, H., Liu, W., M., S. 2002. Determination of trace level of lead by ICP-MS. *Anal. Chim. Acta.*, 463, 177-188.

- D -

- D'Ulivo, A., Onor, M., Spiniello, R., Pitzalis, E. 2008. Mechanism involved in chemical vapor generation by aqueous tetrahydroborate (III) in plumbane generation *Spectrochimica Acta part B*, 63, 835-842.
- D'Ulivo, A., Battistini, S., Pitzalis, E., Zamboni, R., Mester, Z., Sturgeon, R. 2007. Effect of additives on the chemical vapour generation of bismuthane by tetrahydroborate(III) derivatization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 783-791.
- D'Ulivo, A., Mester, Z., Sturgeon, R.E. 2005. The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatisation: a mass spectrometric study performed with deuterium labelled reagents. *Spectrochim. Acta Part B*, 60B, 423-438.
- D'Ulivo, A. 2004. Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media: A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 59, 793-825.
- D'Ulivo, A., Gianfranceschi, L., Lampugnani, L., Zamboni, R. 2002. Masking agents in the determination of selenium by hydride generation technique. *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 2081-2094.
- Danza, F. 1997. Contaminación por plomo. Informe elaborado por la comisión de Salud Ocupacional Sindicato Médico del Uruguay. Centro médico de Uruguay-Cardiología., Uruguay. www.smu.org.uy/gremiales/resoluciones/informes/plomo.pdf.
- Davis, R.E., Bromels, E., Kibby, C.L. 1962. Boron Hydrides. III. Hydrolysis of Sodium Borohydride in Aqueous Solution. *Journal of the American Chemical Society*, 84, 885-892.
- Dedina, J. 2007. Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 62, 846-872.

Dedina, J., Tsalev, D.L., 1995. Hydrides; Atomic absorption spectroscopy Wiley (Chichester England and New York) Reino Unido, Inglaterra, pp. 544.

Denkhaus, E., Golloch, A., Kampen, T.U., Nierfeld, M. 1998. Electrolytic hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry-in situ trapping of As on different pre-conditioned-heated graphite tubes. *Journal of Analytical Chemistry*, 361, 733-737.

DeSilva, P.E. 1981. Determination of lead in plasma and studies on its relationship to lead in erythrocytes. *Br. J. Ind. Med*, 38, 209-217.

Di Nezio, M.S., Palomeque, M.E., Fernández Band, B.S. 2004. A sensitive spectrophotometric method for lead determination by flow injection analysis with on-line preconcentration. *Talanta*, 63, 405-409.

- E -

Ebdon, L., Goodall, P., Hill, S.J., Thompson, K.C. 1994. Improved thallium hydride generation using continuous flow methodologies. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 9, 1417-1420.

Ek, P., Huldén, S.T., 1987. Determination of arsenic and selenium. *Talanta*, 34, 495-502.

Elfering, H., T. Andersson, J., G. Poll, K. 1998. Determination of organic lead in soils and waters by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Analyst*, 123, 669-674.

Emsley, J. 2003. Nature's Building Blocks An A-Z guide to the elements. 3rd ed. Oxford University Press, Oxford, pp. 552.

Enhang, P. 2004. Lead. Encyclopedia of the Elements: Technical Data History Processing Applications. Wiley on line library, pp. 1309.

Environmental Protection Agency, (EPA). 1992. Guide to site and soil description for hazardous waste site characterization. Office of Emergency and Remedial Response U.S., Washington, DC., 20460. <http://www.epa.gov/superfund/resources/soil/ssg496.pdf>

- F -

- Farías, S., Rodríguez, R.E., Ledesma, A., Batistoni, D.A., Smichowski, P. 2002. Assessment of acid media effects on the determination of tin by hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Microchemical Journal*, 73, 79-88.
- Feng, Y.L., Sturgeon, R.E., Lam, J.W., D'Ulivo, A. 2005. Insights into the mechanism of chemical vapor generation of transition and noble metals. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20, 255-265.
- Fleming, H.D., Ide, R.G. 1976. Determination of volatile hydride-forming metals in steel by atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 83, 67-82.
- Flora, S.J. 2002. Lead exposure: health effects, prevention and treatment. *J Environ Biol*, 23, 25-41.
- Freund, T. 1959. Kinetics of the reduction of inorganic ions by borohydride-ferricyanide. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 9, 246-251.

- G -

- Glavee, G.N., Klabunde, K.J., Sorensen, C.M., Hadjapanayis, G.C. 1992. Borohydride Reductions of Metal Ions. A New Understanding of the Chemistry Leading to Nanoscale Particles of Metals, Borides, and Metal Borates. *Langmuir*, 8, 771.
- Gong, Z., Lu, X., Ma, M., Watt, C., Le, X.C. 2002. Arsenic speciation analysis. *Talanta*, 58, 77-96.
- González, E., Ahumada, R., Medina, V., Neira, J., González, U. 2004. Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en la llama: aplicación en la determinación total de cadmio, plomo y zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos. *Quim. Nova*, 27, 873-877.
- Greenwood, N.N., Earnshaw, A. 2002. Chemistry of the Elements. 2nd. Ed. Elsevier. pp. 101-108.

Gürleyük, H., Brunette, R.C., Howard, C.R., Schneider, C., Thomas, R. 2005. Using Dynamic Reaction Cell ICP-MS Technology to Determine the Full Suite of Elements in Rainwater Samples. *Spectroscopy*, 20, 1-7.

Gulson, B.L., Mizon, K.J., Korsch, M.J., Palmer, J.M., Donnelly, J.B. 2003. Mobilization of lead from human bone tissue during pregnancy and lactation--a summary of long-term research. *The Science of The Total Environment*, 303, 79-104.

- H -

Hawkes, S.J., 1997. What Is a "Heavy Metal"? *Journal of Chemical Education*, 74, 1374.

Hernandez-Avila, M., Peterson, K.E., Gonzalez-Cossio, T., Sanin, L.H., Aro, A., Schnaas, L., Hu, H. 2002. Effect of maternal bone lead on length and head circumference at birth. *Arch Environ Health*, 57, 482-488.

Hill, S.J., Chenery, S., Dawson, J.B., Evans, E.H., Fisher, A., John Price, W., Smith, C.M.M., Sutton, K.L., Tyson, J.F. 2000. Advances in atomic emission, absorption and fluorescence spectrometry, and related techniques. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15, 763-805.

Hu, H., Tallez-Rojo, M.M.a., Bellinger, D., Smith, D., Ettinger, A.S., Lamadrid-Figueroa, H.C., Schwartz, J., Schnaas, L., Mercado-García, A., Hernández-Ávila, M. 2006. Fetal Lead Exposure at Each Stage of Pregnancy as a Predictor of Infant Mental Development. *Environ Health Perspect*, 114.

Hunter, D. 1962. The disease of occupations. 4th. Ed. The English Universities Press Ltd., 102, Newgate Street, E.C.1., London, pp. 1180.

- I -

Instituto Nacional de Ecología, (INE). 2007. Política de reducción de riesgos sobre plomo en México. México, D.F.
<http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/33/politica.html>.

- J -

- Jiménez, C., Romieu, I., Palazuelos, E., I., M., Cortes, M., Rivero, A., Catalan, J. 1993. Factores de exposición ambiental y concentraciones de plomo en sangre en niños de la ciudad de México. *Salud Pública de México*, 35, 599-606.
- Jin, K.K., Taga, M. 1982. Determination of lead by continuous flow hydride generation and atomic spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 143, 229-236.

- K -

- Karadjova, I., Lampugnani, L., D'Ulivo, A., Onor, M., Tsalev, D. 2007. Determination of lead in wine by hydride generation atomic fluorescence spectrometry in the presence of hexacyanoferrate(III). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 801-807.
- Kirkbright, G.F., Taddia, M. 1978. Application of masking agents in minimizing interferences from some metal ions in the determination of arsenic by atomic absorption spectrometry with the hydride generation technique. *Analytica Chimica Acta*, 100, 145-150.
- Kirkby, H., Gyntelberg, F. 1985. Blood pressure and other cardiovascular risk factors of long-term exposure to lead. *Scand J Work Environ Health*, 30, 15-19.
- Kumar, A.R., Riyazuddin, P. 2010. Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, 29, 166-176.

- L -

- Laborda, F., Bolea, E., Baraguan, M.T., Castillo, J.R. 2002. Hydride generation in analytical chemistry and nascent hydrogen: when is it going to be over?. *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 797-802.
- Laborda, F., Bolea, E., Castillo, J. 2007. Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 743-751.

- Lanphear, B.P., Hornung, R., Ho, M., Howard, C.R., Eberley, S., Knauf, K. 2002. Environmental lead exposure during early childhood. *Journal of Pediatrics*, 140, 40-47.
- Lara, R., Cerutti, S., Salonia, J.A., Olsina, R.A., Martinez, L.D. 2005. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 293-297.
- Leal, L.O., Forteza, R., Cerdà, V. 2006. Speciation analysis of inorganic arsenic by a multisyringe flow injection system with hydride generation–atomic fluorescence spectrometric detection. *Talanta*, 69, 500-508.
- Li, J., Lu, F., Umemura, T., Tsunoda, K.I. 2000. Determination of lead by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 419, 65-72.
- Li, M., Pacey, G.E. 1995. Lead determination at the ppb level using stopped-flow FIA. *Talanta*, 42, 1857-1865.

- M -

- Madrid, Y., Camara, C., 1994. Lead hydride generation atomic absorption spectrometry: an alternative to electrothermal atomic absorption spectrometry. A review. *Analyst*, 119, 1647-1658.
- Maleki, N., Safavi, A., Ramezani, Z. 1999. Determination of lead by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) using a solid medium for generating hydride. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14, 1227-1230.
- Marcucci, K., Zamboni, R., D'Ulivo, A. 2001. Studies in hydride generation atomic fluorescence determination of selenium and tellurium. Part 2, effect of thiourea and thiols. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 56, 393-407.
- Martínez, A. 2002. Plomo en suelo y su asociación con los niveles sanguíneos en niños y mujeres embarazadas. Tesis de Maestría. Universidad de Colima., Colima, México. pp. 9-15.
- Mayer, A., Hofer, C., Tolg, G., Raptis, S., Knap, G., Fressinius, Z. 1979. *Analytical Chemistry*, 296, 333.

- Meléndez, C., Camacho, D. 2009. Espectrometría de fluorescencia de rayos X. *Aventuras del Pensamiento*, 1-4.
- Mena, C.M., Cabrera, C., Lorenzo, M.L., Lopez, M.C. 1997. Determination of Lead Contamination in Spanish Wines and Other Alcoholic Beverages by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1812-1815.
- Meyer, P.A., Brown, M.J., Falk, H. 2008. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutat Res*, 659, 166-175.
- Michaels, D., Zoloth, S.R., Stern, F.B. 1991. Does Low-Level Lead Exposure Increase Risk of Death? A Mortality Study of Newspaper Printers. *International Journal of Epidemiology*, 20, 978-983.
- Miller, J.N., Miller, J.C. 2005. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. 5 th Ed. Pearson Education Ltd. Harlow, Edinburgh Gate, England. pp. 41-49.
- Moreno, M.V. 2008. Contaminación por metales pesados y arsénico en peces de tres presas del estado de Chihuahua. Tesis Doctoral. Facultad de Zootecnia. Secretaria de Investigación y Posgrado. Universidad Autónoma de Chihuahua., Chihuahua, Chih. pp. 58.

- N -

- Nakahara, T., Wasa, T. 1985. Nondispersive atomic fluorescence spectrometry determination of lead by hydride generation. *Analytical Science*, 1, 291-292.
- Narsito, Agterdenbos, J., Bax, D. 1991. Study of interferences by transition metal ions in hydride generation atomic absorption spectrometry of antimony. *Analytica Chimica Acta*, 244, 129-134.
- Nerin, C., Olavide, S., Cacho, J., Garnica, A. 1989. Determination of lead in airborne particulate by hydride generation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 44, 339-345.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-1994). Environmental health. Water for human use and consumption. Permissible limits of quality and treatments to be applied to water for drinking. . Diario Oficial de la Federación del 22 del Noviembre del 2000. México, D.F.

Norma Oficial Mexicana (NOM-028-SSA1-1993). Bienes y servicios. Productos de la pesca, pescados en conserva, especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación del 12 de Abril del 2002. México, D.F.

Norma Oficial Mexicana (NOM-199-SSA1-2002). Environmental health. Blood lead levels and measures as criteria for protecting the health of non-occupationally exposed population. . Diario Oficial de la Federación del 18 de Octubre del 2002. México, D.F.

Nordberg, G. 1995. Metales: Propiedades químicas y seguridad en el trabajo. 4a. Ed. ATSDR. Departamento de Salud y Servicios Humanos., Atlanta, GA., USA. pp. 11-16.

- O -

Olías, M., Fernández, I., Cerón, J.C., De la Rosa, J. 2005. Application of lead stable isotopes to the Guadimar Aquifer study after the mine tailings spill in Aznalcóllar (SW Spain). *Environmental Geology*, 47, 197-204.

Ornelas, H.M., Sanín, L.E., Díaz-Barriga, F., Reza, L.A., Romieu, I. 2007. Risk assessment in an old lead smelter complex in Chihuahua. *Tecnociencia*, 1, 26-35.

- P -

Peris, M., Micó, C., Recatalá, L., Sánchez, R., Sánchez, J. 2007. Heavy metal contents in horticultural crops of a representative area of the European Mediterranean region. *Science of The Total Environment*, 378, 42-48.

Petrick, K., Krivan, V. 1987. Interferences of hydride forming elements and of mercury in the determination of antimony, arsenic, selenium and tin by hydride-generation AAS. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 327, 338-342.

Pierce, F.D., Brown, H.R. 1977. Comparison of inorganic interferences in atomic absorption spectrometric determination of arsenic and selenium. *Analytical Chemistry*, 49, 1417-1422.

Pitzalis, E., Ajala, D., Onor, M., Zamboni, R., D'Ulivo, A. 2007. Chemical Vapor Generation of Arsane in the Presence of L-Cysteine. Mechanistic Studies and Their Analytical Feedback. *Analytical Chemistry*, 79, 6324-6333.

Pohl, P., Prusisz, B. 2007. Chemical vapor generation of noble metals for analytical spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 753-762.

Puga, S., Manuel, S., Toutcha, L., Cesar, Q., Campos, A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada*, 5, 1-2.

- Q -

Quintana, M. 2007. Comportamiento de la contaminación por plomo, níquel, vanadio, arsénico, cromo y hierro en la cuenca del río conchos. Tesis Doctoral. Facultad de Zootecnia. Secretaría de Investigación y Posgrado. Universidad Autónoma de Chihuahua., Chihuahua, Chih., pp. 61.

- R -

Ramírez, 2005. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *Anales de la Facultad de Medicina*, 66, 57-60.

Reis, P., Almeida, M.R., 2008. Matrix importance in animal material pre-treatment for metal determination. *Food Chemistry*, 107, 1294-1299.

Rodríguez, D., Sánchez, M.A., Rojas, D. 2008. Efectos interelementos en la atomización electrotérmica de Ag y Pb. *Av. Quim*, 3, 79-85.

Ruzicka, J., Hansen, E.H. 1975. *Anal. Chlm. Acta*, 78, 145-157.

- S -

Salazar, M., Lizano, O.G., Alfaro, E.J. 2004. Composición de sedimentos en las zonas costeras de Costa Rica utilizando Fluorescencia de Rayos-X (FRX). *Revista de biología tropical*, 52, 61-75.

Sanna, G., Pilo, M.I., Piu, P.C., Tapparo, A., Seeber, R. 2000. Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes. *Analytica Chimica Acta*, 415, 165-173.

Schmidt, C., Bahadir, M. 1993. Determination of arsenic in the presence of high copper concentrations using flow-injection analysis-hydride atomic absorption spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 346, 683-685.

Schütz, A., Pergdahl, I.A., Kholm, A., Skerfving, S. 1996. Measurement by ICP-MS of lead in plasma and whole blood of lead in workers and controls. *Occup Environ Med*, 53, 736-740.

Schwartz, J. 1995. Lead, Blood Pressure, and Cardiovascular Disease in Men. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 50, 31 - 37.

Skoog, D.A., West, D.M. 1990. Análisis instrumental. Interamericana. México. MX. México, pp. 806.

Sosa, M., Moreno, M., Reyes, B., Puga, S., Quintana, M., 2009. Evaluacion del impacto ambiental por plomo en suelo provocado por una empresa minera en la ciudad de Chihuahua. Memorias de la Red Ambiental.

http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/E/C/CAC-26.pdf

Stewart, J.W.B., Ruzicka, J. 1976. Flow injection analysis : Part V. Simultaneous determination of nitrogen and phosphorus in acid digests of plant material with a single spectrophotometer. *Analytica Chimica Acta*, 82, 137-144.

- T -

Tao, R., Zhou, H. 1985. Determination of lead in foods by hydride generation- atomic absorption spectroscopy. *Fenxi Huaxe*, 13, 283-285.

Thompson, K.C., Thomerson, D.R. 1980. Hydride generation fundamentals. *Analyst*, 105, 1137.

Tsunoda, K., Li, J., Lu, F., Umemura, T. 2000. Determination of lead by hydride generation inductively coupled plasmamass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 419, 65-72.

- U -

Ubillus, L.J. 2003. Estudio sobre la presencia de plomo en el medio ambiente de Talara Facultad de Química e Ingeniería. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. pp. 146.

- V -

Vandecasteele, C., Vanhoe, H., Dams, R.1993. Inductively coupled plasma mass spectrometry of biological samples. Invited lecture. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8, 781-786.

Vijan, P.N., Wood, G.R. 1976. Semi-automated determination of lead by hydride generation and atomic-absorption spectrophotometry. *Analyst*, 101, 966-973.

- W -

Welz, B., Schubert-Jacobs, M.1986. Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic absorption spectrometry. Part 4. Influence of acid and tetrahydroborate concentrations on interferences in arsenic and selenium determinations. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1, 23-27.

Wolf, A.D., Goldman, R., Bellinger, D.C. 2007. Update on the clinical management of childhood lead poisoning. *Pediatr. Clin. North Am.*, 54, 271-294.

Wu, H., Jin, J., Luo, M., Bi, S. 2007. A simple and sensitive flow-Injection on line preconcentration coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry for the determination of ultra-trace lead in water, wine, and rice. *Analytical Sciences*, 23, 1109-1112

- Y -

Yebra-Biurrun, M.C., Moreno-Cid Barinaga, A. 2002. Literature survey of on-line spectroscopic methods for lead determination in environmental solid samples. *Chemosphere*, 48, 511-518.

- Z -

- Zahida, K., Mumtaz, M., Siddique, A., Anwer, S., Zafar, U., Karim, A. 2008. Determination of lead in water by preconcentration technique using ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and dithizone. *J. Saudi Chem. Soc.*, 12, 463-468.
- Zenz, C., 1988. Occupational medicine: principles and practical applications 2nd. Ed. Chicago, Mosby. pp. 1-5.
- Zhang, Y., Riby, P., Cox, A.G., McLeod, C.W., Date, A.R., Cheung, Y.Y. 1988. On-line pre-concentration and determination of lead in potable water by flow injection atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 113, 125-128.
- Zheng, L., Lin, L., Zhu, L., Jiang, M. 2009. Investigation of cobalt interference on lead hydride generation with tetrahydroborate(III) in the presence of hexacyanoferrate(III). *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 64, 222-228.