



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“Estudio polarográfico de Pb y Cd en sangre”**

TESIS QUE PARA RECIBIR EL TÍTULO DE

**LICENCIADO EN QUÍMICA**

*PRESENTA*

KATHYA MARCELA BRIÑO ENRIQUEZ

*ASESORADO POR*

M.C. NORMA ELISA GASCÓN ORTA

*ENERO 2005*



Tesis desarrollada en el laboratorio de Química Analítica III de la Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



## APROBACION DE TEMA DE TESIS

**SRITA. KATHYA MARCELA BRIÑO ENRIQUEZ**  
**PRESENTE:**

Por este conducto me permito informar a USTED que el H. Consejo Técnico Consultivo de esta Facultad de Ciencias Químicas, en sesión ordinaria de fecha 16 DE NOVIEMBRE DEL 2004, tuvo a bien aprobar el tema de su tesis profesional titulada: **"ESTUDIO POLAROGRAFICO DE Pb Y Cd EN SANGRE"**, mismo que será asesorado por MC. NORMA ELISA GASCON ORTA, para la presentación de su examen profesional de **Licenciado en Químico**.

Sin más por el momento queda de usted.

*Atentamente*

  
**ING. ROSELIA COLUNGA REYNA**  
**SECRETARÍA DE LA FACULTAD** CIENCIAS QUÍMICAS SECRETARÍA



San Luis Potosí, S.L.P., a 8 de diciembre del 2004.

## **Agradecimientos.**

Primero a Dios un gran GRACIAS, él me ha dado todo por lo que hoy tengo este logro más.

A mis padres por el apoyo incondicional y la paciencia para soportar mis errores.

A mis hermanos por estar siempre para impulsar, a su manera especial.

A Francisco por tanto apoyo y respeto para mis proyectos de vida, pero más aún por su amor que me complementa.

A todos mis amigos, grandes y chicos, son parte fundamental de lo que soy.

A los maestros que con su manera especial ahora son amigos, de los mejores.

Para todos mis maestros, que en buenas o malas situaciones fortalecieron ese orgullo y coraje por obtener resultados.

## ÍNDICE

<i>TEMA</i>	<i>PÁGINA</i>
Carta de aprobación de tema de tesis.	
Agradecimientos.	
Índice.	i
Glosario.	ii
Resumen.	iii
INTRODUCCIÓN.	1
OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.	2
a) Objetivos.	2
b) Justificación.	2
1. ANTECEDENTES	4
1.1 Tanque Tenorio.	4
1.2 Análisis de iones metálicos en sangre.	8
1.2.1 Métodos comúnmente empleados.	8
1.2.2 Estudios previos empleando métodos electroquímicos.	8
1.3 Efectos de los iones metálicos en la salud.	10
1.3.1 Plomo.	10
1.3.2 Cadmio.	13
1.4 Técnica empleada: Polarografía de onda cuadrada Osteryoung.	14

2. METODOLOGÍA	
2.1 Tratamiento de muestra.	16
2.2 Método de adiciones estándar.	17
2.3 Determinación polarográfica.	17
2.4 Condiciones analíticas.	18
3. RESULTADOS.	19
3.1 Electrolito soporte.	19
3.2 Muestras reales.	22
3.2.1 Muestras sanguíneas de humanos.	22
3.2.2 Muestras sanguíneas de aves.	24
3.2.3 Muestras de tejidos de aves.	26
3.3 Parámetros estadísticos.	29
3.3.1 Exactitud y precisión del método.	29
3.3.2 Límites de detección y cuantificación.	29
4. CONCLUSIONES.	31
BIBLIOGRAFÍA.	33
ANEXO 1: ELECTROQUÍMICA.	35
ANEXO 2: SANGRE Y SUS COMPONENTES.	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<i>PÁGINA</i>
Fig. 1 Fotografía del Tanque Tenorio, SLP	4
Fig. 2 Fotografía del canal de alimentación al Tanque Tenorio.	5
Fig. 3 Fotografías de la fauna.	5
Fig. 4 Fotografía de la disección de la sora.	7
Fig. 5 Descripción gráfica de un polarograma de onda cuadrada.	15
Fig. 6 Respuesta polarográfica del $\text{Cd}^{2+}$ en solución buffer $\text{HAcO}/\text{AcO}^-$	19
Fig. 7 Respuesta polarográfica del $\text{Pb}^{2+}$ en solución buffer $\text{HAcO}/\text{AcO}^-$	20
Fig. 8 Respuesta polarográfica del $\text{Pb}^{2+}$ en HCl	20
Fig. 9 Respuesta polarográfica del $\text{Cd}^{2+}$ en HCl	21
Fig. 10 Respuesta polarográfica para la mezcla de cationes a distintas concentraciones.	21
Fig. 11 Gráfica de probabilidad entre suero y sangre y entera	23
Fig. 12 Gráfica obtenida para la persona 1.	23
Fig. 13 Gráfica obtenida para la persona 2.	24
Fig. 14 Gráficas para determinar la concentración para la hembra	25
Fig. 15 Gráficas para determinar la concentración para el macho	26
Fig. 16 Gráficas para determinar la concentración en el corazón de la sora	27
Fig. 17 Gráfica para determinar la concentración en el hígado de la sora	27
Fig. 18 Gráfica para determinar la concentración en el buche de la sora	28
Fig. 19 Descripción gráfica de la respuesta obtenida por polarografía de barrido lineal y su variación de parámetros.	39
Fig. 20 Descripción gráfica de la respuesta obtenida mediante polarografía diferencial de pulsos.	40
Fig. 21 Composición sanguínea, distribución de agua en el plasma.	45

## ÍNDICE DE TABLAS

### *PÁGINA*

Tabla 1. Principales manifestaciones por la presencia de plomo en sangre.	12
Tabla 2. Ingesta media diaria de metales por el hombre	14

## GLOSARIO

$\mu\text{g dL}^{-1}$	Unidad de concentración, microgramos por decilitro.
A	Ampere.
ALA	Ácido $\alpha$ -aminolebulinato.
B-EPP	Enzima Porsobilinógeno.
$\text{Cd}^{2+}$	Cación del metal cadmio.
DOF	Diario Oficial de la Federación.
DVP	Polarografía o voltamperometría de pulso diferencial.
$E^{\circ}$	Potencial Formal.
$E_{1/2}$	Potencial de media onda.
EDTA	Ácido etilendiamino tetracético.
EGM	Electrodo de gota de mercurio.
g.r.a.	Grado reactivo analítico.
HEM	Hemoglobina.
Hz	Hertz.
LOD	Límite de detección.

LOQ	Límite de cuantificación.
LSV	Voltamperometría de Barrido lineal.
M.V.Z.	Médico Veterinario Zootecnista.
mV	Milivolts.
NPV	Polarografía c
OSHA	Occupational Safety and Health Administration.
OSWSV	Osteryoung Square Wave Stripping Voltametry
SEAM	Stripping Electroanalytical Methods.
SWV	Voltamperometría de onda.
TFME	Electrodo de capa delgada de mercurio.
U-ALA	Enzima ALA deshidratasa.
VPE	Voltametría de preconcentración electrolítica.
VPNE	Voltametría de preconcentración no electrolítica.

## RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados del diseño y de los principales parámetros de validación de una técnica electroquímica para realizar la determinación de  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en sangre, tanto con tratamiento previo para la muestra como sin éste; la técnica empleada fue la polarografía de onda cuadrada de Osteryoung.

El método presenta una buena sensibilidad y reproducibilidad, así como también linealidad, exactitud y precisión. Los límites de detección y cuantificación encontrados, para ambos cationes, se encuentran por debajo de los niveles permisibles por la (Occupational Safety and Health Administration) OSHA.

Se realizó el análisis para  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en sangre humana, sangre de aves y en tejidos de las aves (corazón, hígado y buche). En algunos casos las concentraciones obtenidas excedieron los límites permisibles sugeridos por la OSHA.

## INTRODUCCIÓN

La cuantificación de  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en sangre es comúnmente realizada por absorción atómica, donde es necesario realizar un tratamiento previo de muestra. En el estudio polarográfico propuesto en este trabajo se presentan los resultados del diseño y validación de una técnica electroquímica para la determinación de  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en sangre, tanto con tratamiento previo para la muestra como sin éste.

Los tiempos de análisis y el costo son las principales diferencias y a su vez cualidades con las que cuenta la polarografía sobre la absorción atómica.

Se contó con muestras sanguíneas de aves y humanas, así como con tejidos de las aves estudiadas. Las muestras humanas se obtuvieron de manera aleatoria de estudiantes y personal de la Facultad de Ciencias Químicas, sin bloqueo de edad o sexo, mientras que las aves provenían del Tanque Tenorio, estas se encontraron muertas en la laguna a lo largo de cuatro meses.

En polarografía la corriente que circula en la celda se mide en función del potencial del electrodo de trabajo, esta corriente es proporcional a la concentración del analito. Las técnicas polarográficas más sensibles tienen un límite de detección próximo a  $10^{-9}$  M y precisión cercana a 95% (Harris, 1992). La técnica polarográfica empleada fue de onda cuadrada de Osteryoung.

Este estudio se realizó como parte del proyecto del Sistema de Investigación Miguel Hidalgo, clave No. 2002020605, denominado "Fitoremediación de metales pesados en el tanque Tenorio y su impacto ambiental" la decisión de analizar  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  fue tomada en base a la toxicidad de estos cationes y al contenido de los mismos en las aguas de dicho lugar. (Montante et al, 1998)

## **OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.**

### *a) Objetivos.*

1. Determinar las condiciones analíticas óptimas para cuantificar  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en sangre por medio de métodos electroanalíticos de redisolución.
2. Determinar el límite de detección y de cuantificación, así como la exactitud, precisión y linealidad del método propuesto.
3. Aplicar el método propuesto en muestras de sangre reales.

### *b) Justificación.*

Los métodos electroanalíticos son ampliamente utilizados en los estudios científicos y en el monitoreo de materiales industriales y ambientales. Uno de los métodos electroanalíticos más utilizados es la voltamperometría (polarografía). El método permite la determinación de un gran número de iones metálicos y de compuestos orgánicos con un límite de detección de  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M (Harris, 1993).

La cuantificación a nivel de trazas en muestras complejas de origen industrial, clínico o ambiental representa una tarea prioritaria de la química analítica moderna. Dichos elementos, si bien están en baja concentración, se acumulan en los seres vivos, de ahí la importancia de su evaluación. Los límites de toxicidad en seres humanos están siendo constantemente redefinidos lo cual origina el desarrollo de nuevas y más sensibles técnicas de análisis. Los estudios toxicológicos han demostrado que la forma libre de los iones metálicos es en sí la más tóxica (Brainina, 1993).

No sólo la sensibilidad de las técnicas es un parámetro importante. Los costos, el tiempo de análisis, el no necesitar un tratamiento de muestra son factores que las técnicas empleadas actualmente no tienen a su favor, a diferencia del método propuesto.

A diferencia de la absorción atómica, método comúnmente empleado, la polarografía permite la determinación de varios iones metálicos de manera simultánea; la instrumentación es simple y no requiere instalaciones especiales como sistemas de enfriamiento, ventilación, lámparas, etc.

Como cualquier ciudad, San Luis Potosí está expuesto a los metales pesados. Por ello, este trabajo pretende implementar un método electroquímico que permita la determinación confiable de dichos metales en fluidos biológicos, que a mediano plazo permita el monitoreo en la población.

## 1 ANTECEDENTES.

### 1.1 *Tanque Tenorio.*

El Tanque Tenorio es una depresión natural ubicada en el sureste de la ciudad de San Luis Potosí, tiene aproximadamente un kilómetro de longitud transversal y límites de forma irregular (Fig. 1). En los terrenos aledaños se encuentran zonas de agricultura con sistema de riego sin control sanitario. Cuenta con dos descargas principales de corrientes continuas y un flujo de mediano a grande (Fig. 2), la vegetación del lugar es abundante predominando los juncos, tanto en los límites como en el interior de la laguna; en el caso de la fauna podemos encontrar aves, tanto migratorias como residentes, peces, víboras, roedores, etc. (Fig. 3).



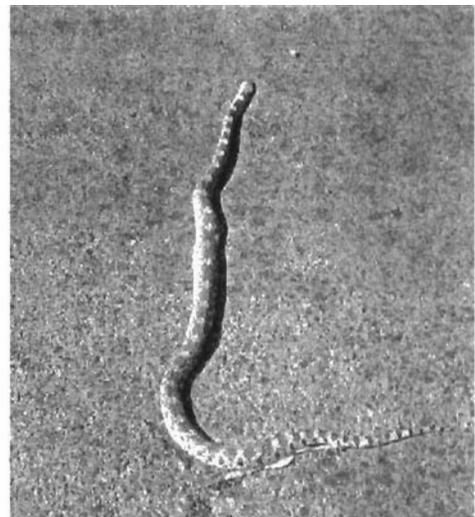
**Figura 1.** Fotografía del Tanque Tenorio, SLP



**Figura 2.** Fotografía del canal de alimentación al Tanque Tenorio.



**a)**



**b)**

**Figura 3.** Fotografías de la fauna; a) migratoria, b) local del tanque Tenorio.

Durante un largo período, las aguas residuales de la zona industrial de San Luis Potosí han sido descargadas a unos canales que llegan al Tanque Tenorio. Estudios preliminares indican cantidades importantes de metales pesados presentes en dichas aguas (Montante et al, 1998), así como en los productos que se cosechan en los terrenos aledaños. La naturaleza presente en dicho tanque se ha ido modificando a las condiciones prevalecientes a fin de sobrevivir, tal es el caso de la vegetación (fitoadaptación) así como la fauna del lugar.

Es en la fauna donde nos concentraremos, especialmente en las aves. Dentro de las especies migratorias los patos son los mas abundantes teniendo parvadas mayores a los quinientos elementos. En colaboración con la Facultad de Agronomía, se obtuvieron diferentes especímenes muertos, en todos los casos se tomaron muestras sanguíneas, mientras que los tejidos solamente de uno. Los especímenes fueron: una grulla (Ibis cara blanca), pato café hembra (Plegadis Chihi), dos patos café machos (Anas Discors) y una Sora (Porzana Carolina).

A continuación se da una descripción general de estas aves:

La grulla, *Ibis cara blanca*, es un ave de plumaje gris con reflejos azules, tiene el pico alargado y patas largas y delgadas, tiene una longitud aproximada de cincuenta centímetros (midiendo de pata a pico).

La Sora, *Porzana Carolina*, es un ave de tamaño pequeño, tiene un pico corto mientras que sus patas son largas y delgadas, es de plumaje café con ciertas partes en blanco, tiene una longitud aproximada de treinta centímetros.

En cuanto a los patos, aunque de distinta especie, todos fueron cafés con ciertos reflejos blancos, de tamaño mediano a grande distinguiéndose su especie por la distribución de sus colores.

Para la obtención de las muestras provenientes de las aves se contó con la colaboración del M.V.Z. César Posadas de la Facultad de Agronomía, la disección se realizó en el laboratorio de Química Analítica I (Fig. 4).



**Figura 4.** Fotografía de la disección de la sora.

La concientización acerca de la presencia de plomo en sangre se ha visto incrementada respecto a los niveles en los cuales puede causar daños cognitivos detectables, por lo que también aumenta la importancia de monitorear las concentraciones de exposición. En el caso del cadmio, las concentraciones en la biosfera están incrementando como consecuencia de la actividad industrial, por lo tanto representan un problema ambiental en proporciones crecientes.

## *1.2 Análisis de iones metálicos.*

### *1.2.1 Métodos comúnmente empleados.*

En la actualidad México no cuenta con una norma establecida, sin embargo, por parte de la Secretaría de Salubridad y Asistencia existe el proyecto de norma PROY-NOM-211-SSA1-2002, Proyectos y Servicios. Métodos de prueba fisicoquímicos. Agosto, 2003 (DOF, 2003). En ella se muestra el procedimiento para la determinación de As, Cd, Cr, Sn, Fe, Hg, Ni, Ag, Pb, Se y Zn por espectrofotometría de absorción atómica con tratamiento previo de muestra con ácido nítrico.

La cuantificación de los cationes de interés se realiza comúnmente por absorción atómica electrotrémica y mediante un espectrofotómetro de masas con acoplamiento de plasma. En la mayoría de los casos la muestra se diluye de cinco a diez veces para disminuir su viscosidad y posteriormente se trata con una mezcla de ácido nítrico, fosfórico y Tritón-X. Las temperaturas del tratamiento oscilan entre los 500°C para el Pb y 1700°C para el Cd; se emplea plata como estándar interno. (Correia, 2004)

Otro tratamiento de muestra sugerido es mediante una solución de amoniaco, EDTA,  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$  y Tritón-X (White, 1999)

El Cd se encuentra en una longitud de onda de 228,8 nm y el Pb se encuentra en una longitud de onda de 217,3 o 283,3 nm; en ambos casos se emplea una mezcla de gases de aire/acetileno. Se elabora una curva de calibración graficando la absorbancia en función de la concentración y se ajusta la curva por mínimos cuadrados.

### *1.2.2 Estudios previos empleando métodos electroquímicos.*

En 1952 Barker propone un conjunto nuevo de métodos electroanalíticos, conocidos actualmente como métodos electroanalíticos de redisolución (SEAM, por sus siglas en inglés), que consisten en una preconcentración del analito sobre el electrodo con el fin de disminuir los límites de detección.

Las ventajas esenciales de SEAM sobre otros métodos utilizados para determinar concentraciones traza de sustancias inorgánicas y orgánicas en soluciones y para analizar y estudiar sólidos son:

- La posibilidad de determinar a un número considerable (arriba de 40) elementos químicos de la Tabla Periódica y muchas sustancias orgánicas.
- Límites de detección bajos alcanzando  $10^{-9}$ - $10^{-10}$  M para algunos elementos (Cd, Bi, Tl, Pb, Ni) y sustancias orgánicas.
- Elevada selectividad de SEAM, buena exactitud y reproducibilidad.
- Fácil computarización y automatización de los procedimientos analíticos.
- Relativa simplicidad y bajo precio de los instrumentos usados en SEAM.

Es una costumbre asumir (*Brainina*, 1993) que los iones libres (hidratados) de los metales pesados son tóxicos. Los complejos metálicos o metales unidos a partículas coloidales son menos tóxicas, aunque, por ejemplo, los complejos con lípidos solubles del cadmio o del cobre son tan tóxicos como los iones metálicos libres debido a su capacidad de penetrar rápidamente al medio biológico con la subsiguiente disociación y liberación del ion metálico libre.

En 1991 Jagner et al; reporta la determinación simultánea de  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  tanto en sangre entera como en suero sanguíneo, sin embargo la muestra debe ser diluida antes del ataque con una mezcla de ácidos. Aún siendo un tratamiento sencillo el tiempo necesario, cerca de una hora, afecta de manera significativa el tiempo de análisis. La técnica empleada fue la potenciometría de redisolución anódica, los resultados obtenidos fueron comparados con otros laboratorios, donde emplearon técnicas diferentes, mostrando resultados satisfactorios.

Otra técnica encontrada en la literatura es la Voltamperometría diferencial de pulsos (Kabir et al, 2002) empleando mercurio sobre carbono vítreo como electrodo de trabajo, se empleó el método de adición de estándar para la calibración. Para la determinación de  $Pb^{2+}$  emplearon un electrolito soporte de pH 3,2 mientras que para la determinación de  $Cd^{2+}$

se realizó con un electrolito soporte de pH 4,6; el tratamiento de muestra se realizó por medio de ácido nítrico.

Todos los métodos descritos en la bibliografía requieren un pretratamiento de la sangre para posteriormente realizar la medición final. En este estudio se pretende realizar la determinación de plomo y cadmio sin llevar a cabo previamente el ataque ácido ni dilución alguna.

### *1.3 Efectos de los iones metálicos en la salud.*

#### *1.3.1 Plomo*

Su ingesta en cualquiera de sus formas es altamente tóxico. Sus efectos suelen sentirse después de haberse acumulado en el organismo durante un periodo de tiempo. Los síntomas de envenenamiento son anemia, debilidad, estreñimiento, parálisis en muñecas y tobillos, entre otros (tabla 1). Las escamas de pinturas con base de plomo y los juguetes fabricados con compuestos de plomo están consideradas como muy peligrosas para los niños, para los que el plomo resulta especialmente dañino, incluso a niveles que antes se consideraban inocuos. El plomo puede producir disminución de la inteligencia, retraso en el desarrollo motor, deterioro de la memoria y problemas de audición y equilibrio. En adultos, el plomo puede aumentar la presión sanguínea. En la actualidad, los envenenamientos por plomo se tratan administrando una sal de sodio o calcio del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). El plomo se elimina del organismo desplazando el calcio o el sodio y formando un complejo estable con EDTA que se elimina por la orina.

Los adultos absorben entre 5 y 15% del Pb ingerido y de éste es retenido menos de 5% de lo que se absorbe. Más de 90% de Pb en sangre se encuentra en los eritrocitos presentando dos comportamientos principales, el primero está relacionado con la membrana y otro con el grupo HEM. La absorción de plomo por los pulmones sucede raramente ya que solamente una fracción menor de partículas de alrededor de 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro exterior es retenida en el pulmón.

La acumulación total de plomo en la vida, con una exposición ocupacional, puede encontrarse entre 200 y 500 mg. Además puede acumularse en riñón y cerebro; el transporte transplacentar es otro factor de exposición. (Letkeman, 1996).

Dentro de las principales formas en que encontramos el plomo se encuentran:

- El carbonato de plomo básico,  $\text{Pb}(\text{CO}_3)_2 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$ , llamado plomo blanco o albayalde, ha sido utilizado como pigmento blanco desde hace 2.000 años. También se utiliza en otros pigmentos y barnices para cerámica. Últimamente, a causa del peligro de envenenamiento, la pintura a base de plomo ha dejado de usarse en espacios interiores. En este proceso, se recubren ollas de barro, conteniendo rejillas de plomo y ácido etanóico, con cascas (pequeños trozos de cortezas ricas en taninos); la reacción de las cascas al fermentar y del ácido etanóico desprende plomo al cabo de un periodo de unos 90 días. Hoy existen procesos industriales más rápidos, como la electrólisis o la introducción de aire y dióxido de carbono en grandes cilindros rotatorios llenos de plomo en polvo y ácido etanóico.
- El monóxido de plomo ( $\text{PbO}$ ), o litargirio, un polvo cristalino amarillo formado al calentar plomo en presencia de aire, se usa para hacer cristal de roca, como desecante de aceites y barnices, y para elaborar insecticidas. El plomo rojo ( $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ) o minio, un polvo cristalino escarlata formado por oxidación del monóxido de plomo, se utiliza como capa protectora en estructuras de hierro y acero.
- El cromato de plomo  $\text{Pb}(\text{CrO}_4)$ , o amarillo de plomo, un polvo cristalino empleado como pigmento amarillo, se prepara por reacción del acetato de plomo con dicromato de potasio. El cromo rojo, el cromo amarillo naranja y el cromo amarillo limón son algunos de los pigmentos obtenidos del cromato de plomo. El etanoato de plomo (II),  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , una sustancia cristalina blanca, llamada azúcar de plomo por su sabor dulce, se prepara comercialmente disolviendo litargirio en ácido etanóico. Se emplea como agente cáustico en tintes, como desecante de pinturas y barnices, y para elaborar otros compuestos de plomo. El tetraetilplomo,  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ , es el principal ingrediente del antidetonante que se añade a la gasolina para evitar detonaciones prematuras en los motores de combustión interna, y está considerado un agente contaminante del aire.

**Tabla 1.** Principales manifestaciones por la presencia del  $Pb^{2+}$  en sangre en  $\mu g\ dL^{-1}$  (Encarta, 2002).

EFECTO	NIÑOS	ADULTOS
<b>Hemaefectos</b>		
Anemia	80 - 100	80 - 100
U-ALA	40	40
B-EPP	15	15
Inhibición ALA	10	10
<b>Neuroefectos</b>		
Encefalopatía	80 - 100	100 - 120
Encefalopatía subclínica		50
Deficiencia en I.Q.	<30	
Neuropatía periferal	40	40
Efectos in útero	<15	
<b>Nefroefectos</b>		
Aminoaciduria	80 - 100	?
Neuropatía crónica		60
Metabolismo de vitamina D	<30	

Las concentraciones de plomo en las zonas urbanas excede por mucho las concentraciones en las zonas rurales, de 10 a 50 veces mas, las fuentes del metal pueden ser de origen gaseoso, en descargas industriales o por partículas. Las emisiones gaseosas se ven asociadas, fundamentalmente, con los gases vehiculares, que aunque se promueve el uso de gasolina libre de plomo los aditivos todavía lo contienen (tetraetilo de plomo  $Pb(C_2H_5)_4$  ; tetrametilo de plomo  $Pb(CH_3)_4$ . (Casarett & Doull, 1986)

No debemos perder de vista otras fuentes de contaminación tales como las fundidoras, combustión de carbón, extracción del plomo, elaboración de óxido de plomo y descargas industriales, entre otras; es precisamente esta última la que nos atañe directamente puesto que el principal origen contaminante de las aguas del tanque tenorio es industrial.

### 1.3.2 Cadmio

El cadmio y las disoluciones de sus compuestos son altamente tóxicos, con efectos acumulativos similares a los del envenenamiento por mercurio.

El  $\text{Cd}^{2+}$  se encuentra presente por precipitación, en fertilizantes, etc. Casi todo el Cd transportado por el aire es respirable, otro aporte significativo son los cigarrillos (1-2  $\mu\text{g}$  por unidad). Una pequeña fracción de  $\text{Cd}^{2+}$  en sangre puede transformarse por medio de la metalotioneína, el  $\text{Cd}^{2+}$  corporal se encuentra entre 50 y 75% en el hígado y los riñones, hasta el momento no se conoce el tiempo de vida media pero puede llegar a ser hasta de 30 años.

El cadmio es encontrado de formas variadas, principalmente las descritas a continuación:

- Las sales de cadmio se usan en fotografía y en la fabricación de fuegos artificiales, caucho, pinturas fluorescentes, vidrio y porcelana. El cadmio se ha utilizado como material de control o protección en las plantas de energía, debido a su capacidad para absorber neutrones de baja energía. El sulfuro de cadmio se utiliza en un tipo de pila (batería) fotovoltaica, y las pilas eléctricas de níquel-cadmio tienen habitualmente usos especializados.
- El sulfato de cadmio ( $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) se utiliza como astringente. El sulfuro de cadmio (CdS), que aparece como un precipitado amarillo brillante cuando se pasa sulfuro de hidrógeno a través de una disolución de sal de cadmio, es un pigmento importante conocido como amarillo de cadmio. El seleniuro (CdSe), se utiliza también como pigmento.

Es de vital importancia el reconocer que la simple presencia de estos metales en el organismo no representa un peligro, por el contrario son parte fundamental de la dieta (tabla 2), sino que es cuando la ingesta recomendada y las fuentes de obtención no son las biológicamente consideradas como normales.

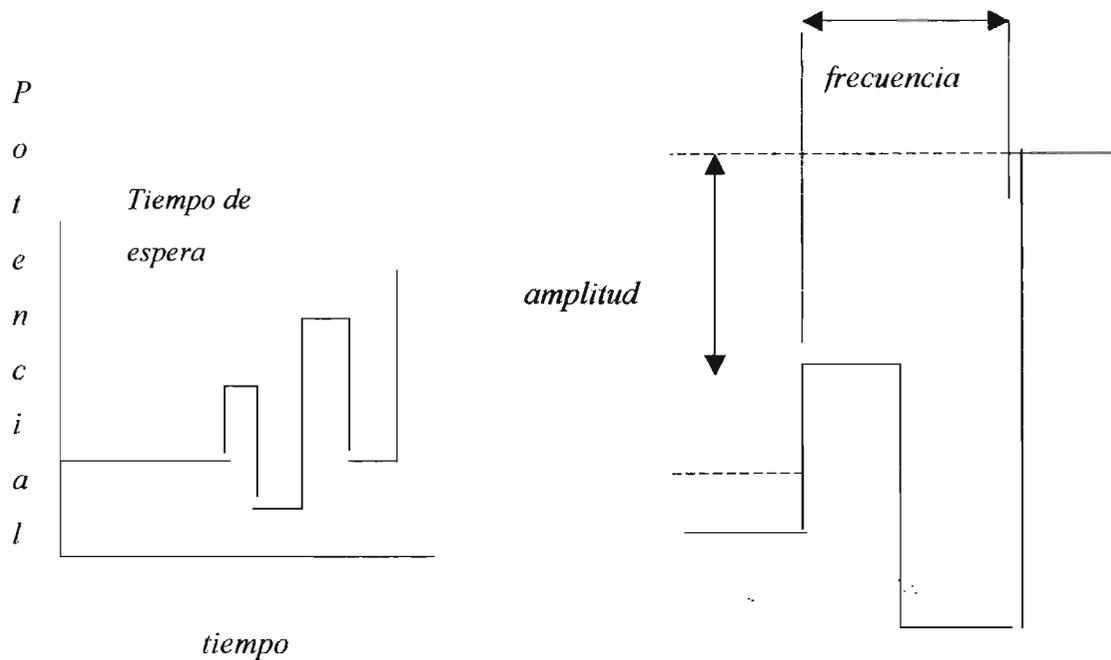
**Tabla 2.** Ingesta media diaria de metales por el hombre (mg/día). (Encarta, 2002)

Metal	Comida y agua	Aire	Dosis oral tóxica (mg)	Contenido corporal total (mg)	Vida media en todo el cuerpo (días)
Sb	0.100	0.00170	100	7.9	38
Ba	0.735	0.03000	200	22	65
Be	0.012	0.00004		0.03	180
Bi	0.020	0.00076		0.23	5
Cd	0.160	0.00740	3	50	200
Cr	0.245	0.00110	200	1.8	616
Co	0.390	0.00012	500	1.5	9.5
Cu	1.325	0.01140	250 - 500	72	80
Fe	15.000	0.08400		4200	800
Pb	0.300	0.04600		120	1460
Mn	4.400	0.02880		12	17
Hg	0.025				70
Ni	0.600	0.00236		10	667
Ag	0.06 - 0.08		60	1	5
Sn	7.300	0.00060	2000	17	35
Ti	1.375	0.00140		9	320
U	0.050			0.7	100
V	0.116	0.00916		22	42
Zn	14.500	0.01680		2300	933
Zr	0.490			420	450

1.4 Técnica empleada: Polarografía de onda cuadrada Osteryoung.

La señal de polarográfica de esta técnica consiste en una onda cuadrada superpuesta a una variación escalonada del potencial, la corriente se registra durante tiempos cortos en el máximo y en el mínimo de cada onda cuadrada; la diferencia se grafica en función del potencial escalonado (Fig. 5).

La señal cuadrada que constituye el pulso inverso (anódico) provoca la reoxidación del producto formado en cada pulso directo (catódico). La señal polarográfica es la diferencia entre las dos corrientes. Una concentración dada de analito proporciona una señal de mayor amplitud que en otro tipo de polarografía, esto es debido que en la polarografía de pulsos no se usa la corriente de la reacción opuesta.



**Figura 5.** Descripción gráfica de la perturbación impuesta en la polarografía de onda cuadrada de Osteryoung (OSWSV).

## 2 METODOLOGÍA

### 2.1 Tratamiento de muestra.

En algunas ocasiones, como en el caso de los tejidos, la muestra requiere un tratamiento previo. El método aquí sugerido y realizado consiste en agregar a un mililitro de sangre, o su proporcional en masa y dos mililitros de una mezcla ácida formada por ácido nítrico y sulfúrico en relación uno a uno. La mezcla se lleva hasta cien grados Celsius incrementando tres grados por minuto, posteriormente se mantiene la temperatura hasta llegar a sequedad durante diez minutos (realizarse en campana de extracción, la producción de vapores es abundante). Finalmente se agregan diez mililitros de electrolito soporte a fin de disolver el residuo.

Al agregar el ácido sulfúrico, una precipitación se presenta ya que las proteínas sufren una desnaturalización dejando libre el  $Pb^{2+}$  para reaccionar con el ácido sulfúrico



El calentamiento provee una oxidación en la materia orgánica y favorece la obtención del precipitado de plomo, en el caso del cadmio el mecanismo es el mismo. La redisolución se hace en el electrolito soporte a un pH bajo a fin de evitar la complejación del Pb y así tener el  $Pb^{2+}$  en solución.

Este método aplica tanto para la sangre como para muestras de tejidos siendo diferente sólo en el tiempo de ataque.

Los residuos de tipo biológico fueron agrupados y puestos a disposición del laboratorio de Análisis Clínicos en la Facultad de Ciencias Químicas para su desecho.

### *2.2 Método de adiciones estándar*

El método de adición de estándar se basa en la existencia de una relación lineal entre la señal registrada y la concentración; de procedimiento sencillo este consiste en:

- Registrar el polarograma de la solución problema.
- Añadir a la muestra una alícuota de concentración conocida y evaluar.
- Añadir la cantidad de alícuotas deseada y evaluar.

De acuerdo con una respuesta lineal, el incremento en la corriente de difusión de esta nueva solución puede utilizarse para estimar la cantidad de sustancia problema en la solución inicial. Se grafica una curva de intensidad de la respuesta contra la concentración, es por extrapolación que se conoce la concentración del analito.

### *2.3 Determinación polarográfica:*

El procedimiento a seguir fue:

- Colocar 10 mL de electrolito soporte en la celda polarográfica, burbujear nitrógeno durante 5 min y realizar un barrido en un rango de potencial de -800 a -200 mV
- Agregar una alícuota de 10  $\mu$ L de la solución patrón, se le burbujea nitrógeno durante 3 min y se realiza el barrido en el mismo rango de potencial.
- Se realiza esta secuencia para el número deseado de alícuotas.

Este método se evaluó al analizar la concentración de un patrón sanguíneo obtenido en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina.

#### 2.4 Condiciones analíticas.

El equipo utilizado es un potenciostato BAS 100B en su versión 1.0, empleándose la técnica de polarografía de onda cuadrada de Osteryoung bajo las siguientes condiciones:

Amplitud de la onda cuadrada	25 mV
Frecuencia de la onda cuadrada	30 Hz
Rango de potencial	-800 a -200 mV
Tiempo de deposición	180 s
Sensibilidad	1E -06 A/V
Velocidad de barrido	4 mV/s

Los electrodos empleados fueron el de plata/cloruro de plata (KCl saturado) como referencia, alambre de platino como auxiliar y mercurio como electrodo de trabajo.

El electrolito soporte empleado fue HCl 0,1M con pH 1,2; en su interior se burbujeó nitrógeno grado reactivo analítico (g.r.a.) previo al análisis (3 – 5 min) a fin de eliminar el oxígeno dentro de la solución, durante el tiempo de depósito y de barrido de potenciales se mantiene automáticamente el burbujeo de nitrógeno sobre la solución con el fin de evitar la redisolución de oxígeno atmosférico en la celda electroquímica, se debe tener un cuidado especial en no sobre exponer la solución al bombeo de nitrógeno pues se forma una red de burbujas interferente.

Se prepararon soluciones patrón de  $Pb^{2+}$  y de  $Cd^{2+}$  a partir de  $Pb(NO_3)_2$  y  $Cd(NO_3)_2$  (g.r.a.) de 12,5 y 26,0 ppm respectivamente. Además se contó con un control de  $Pb^{2+}$  en sangre de  $96,0 \mu g dL^{-1}$ . Estos rangos de concentración fueron elegidos en base a los niveles permitidos por OSHA.

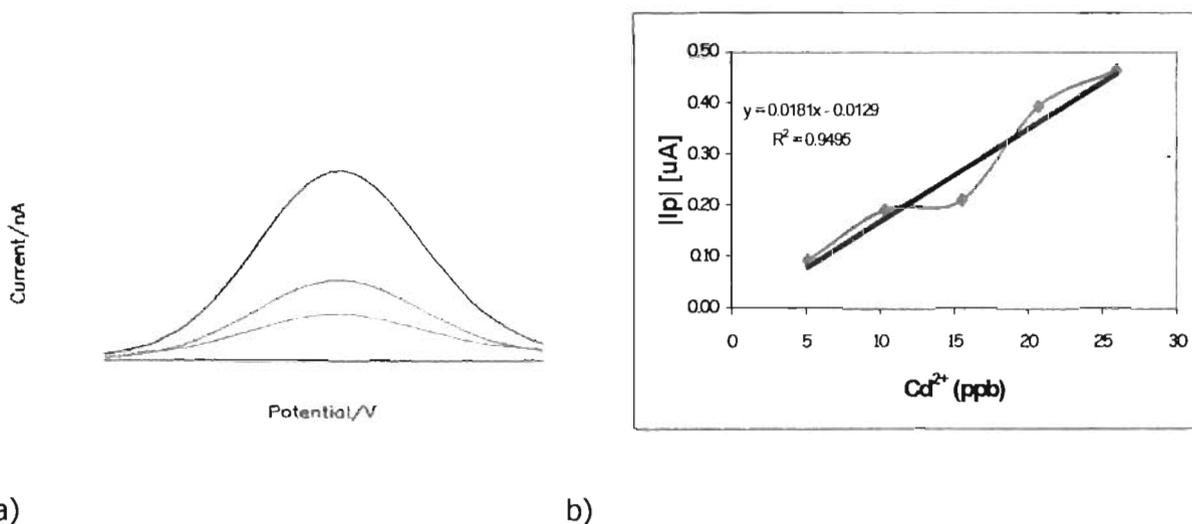
Todas las disoluciones empleadas en este trabajo se prepararon con reactivos grado analítico y agua desionizada. Los ácidos empleados para el ataque fueron de elevada pureza.

### 3 RESULTADOS.

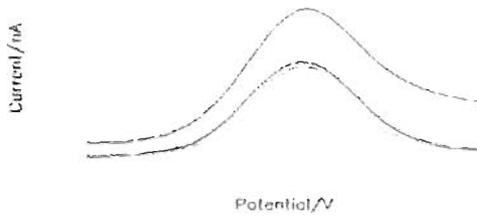
#### 3.1 Electrolito soporte.

Se verificó la linealidad del método empleando el método de adición de estándar, en un inicio para cada catión por separado y posteriormente en mezcla. Por regresión lineal se obtiene el valor de la pendiente, ordenada y el factor de correlación lineal.

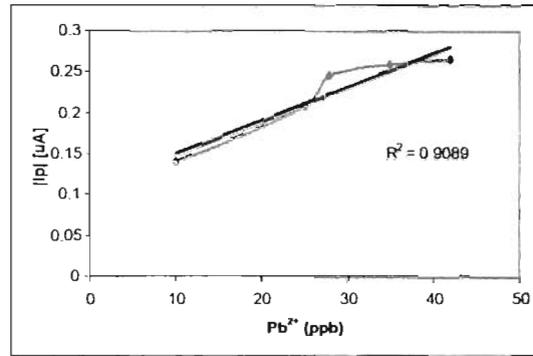
En un inicio se consideró emplear como electrolito soporte una solución buffer de ácido acético – acetato a un pH de 4,79. Se obtuvo una buena respuesta individual para ambos iones metálicos empleándose la polarografía de onda cuadrada de Osteryoung (OSWSV) ( $\text{Cd}^{2+}$  (Fig. 6) y  $\text{Pb}^{2+}$  (Fig. 7)). La mezcla de ambos cationes no presentó una buena resolución.



**Figura 6.** a) Respuesta polarográfica OSWSV del  $\text{Cd}^{2+}$  en solución buffer  $\text{HAcO}/\text{AcO}^-$  pH 4.7, velocidad de barrido 4 mV/s, b) Gráfico de corriente de pico vs. Concentración de  $\text{Cd}^{2+}$ .



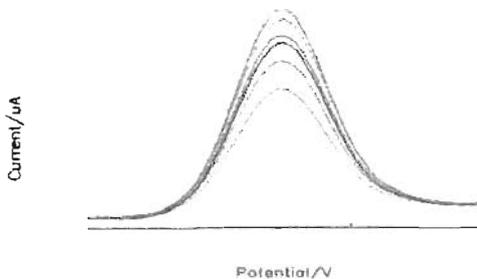
a)



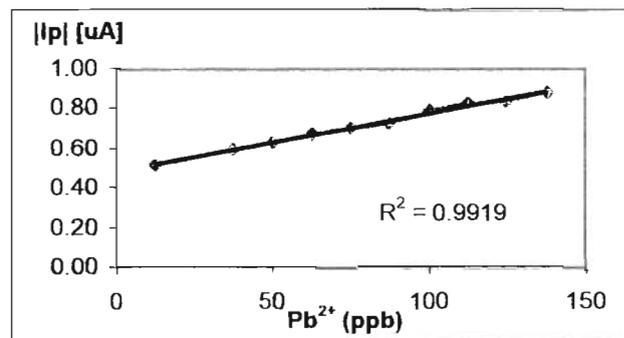
b)

**Figura 7.** a) Respuesta polarográfica OSWSV del  $Pb^{2+}$  en solución buffer HAcO/ACO<sup>-</sup> pH 4.7, velocidad de barrido 4 mV/s, b) Gráfico de corriente de pico vs. concentración de  $Pb^{2+}$ .

El electrolito soporte en el que obtuvimos una mejor respuesta fue el HCl 0,1M con pH 1,2 como se muestra en las figuras 8 y 9. Debido a que en este medio los protones son abundantes y dado que el punto isoeléctrico de los aminoácidos de la sangre se encuentra por encima de este pH, los cationes se encuentran en su forma libre.



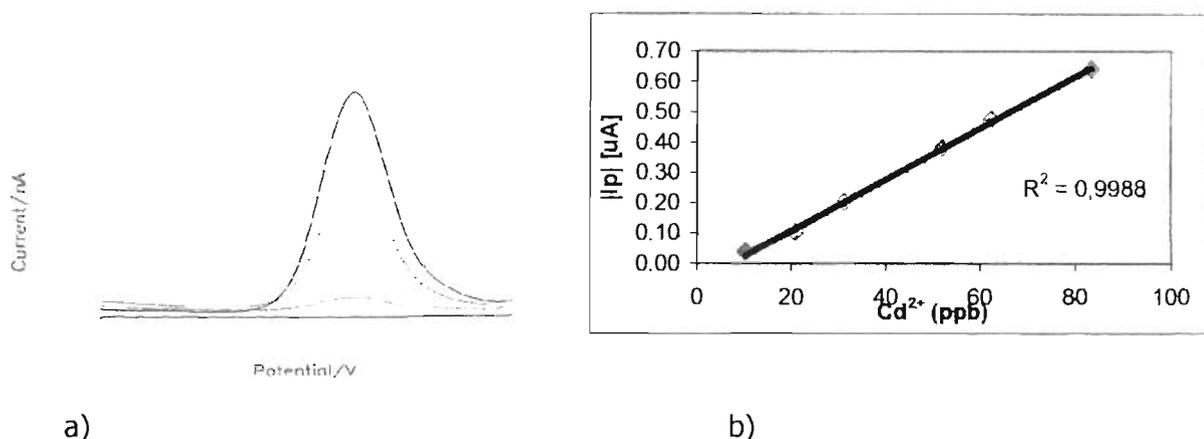
a)



b)

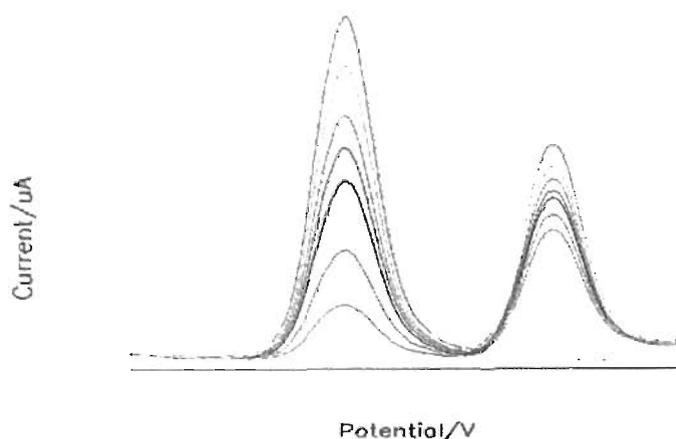
**Figura 8.** a) Respuesta polarográfica OSWSV del  $Pb^{2+}$  en HCl 0.1 M, velocidad de barrido 4mV/s, b) Gráfica de corriente de pico vs. concentración.

FMOT. 2461



**Figura 9.** a) Respuesta polarográfica OSWSV del Cd<sup>2+</sup> en HCl 0.1 M vs. Ag/AgCl, velocidad de barrido 4mV/s, b) Gráfico de corriente de pico vs. concentración de Cd<sup>2+</sup>.

Los resultados obtenidos en ácido clorhídrico para la mezcla de plomo y cadmio mostraron una resolución adecuada (Fig. 10), además del incremento proporcional respecto a la concentración (linealidad).



**Figura 10.** Respuesta polarográfica OSWSV para la mezcla de Pb<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup> a distintas concentraciones (12.5ppb a 100.5ppb) en barridos entre -800 y -200 mV vs. Ag/AgCl velocidad de barrido 4mV/s.

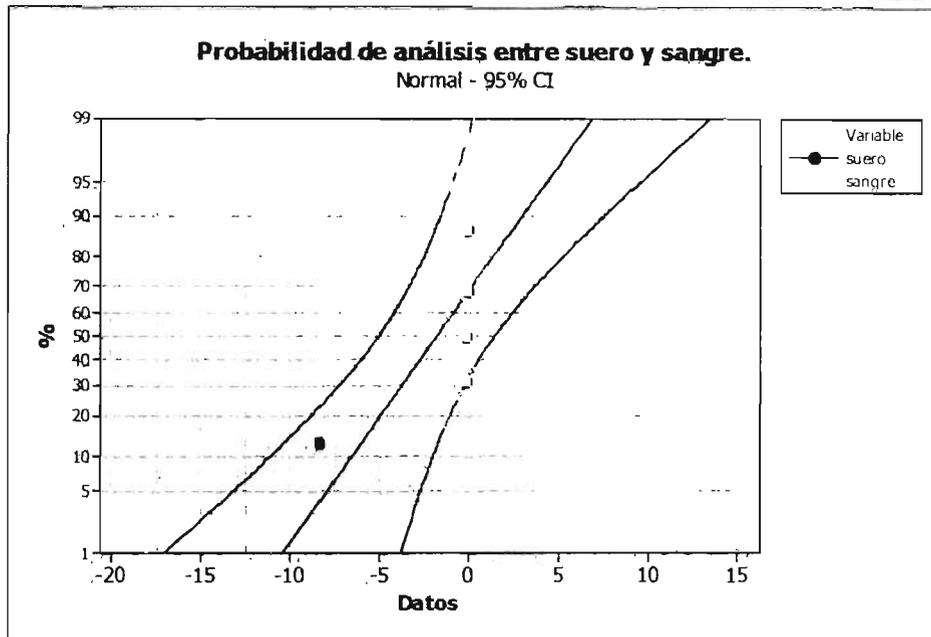
Además de poseer una linealidad adecuada y una respuesta congruente con la concentración, la identificación de los cationes debía ser posible, estos se identifican por el potencial de pico de cada uno. El potencial de pico reportado en la literatura para el  $\text{Cd}^{2+}$  es de  $-0,57$  V mientras que en los polarogramas se registró en  $-0,572$  V; en el caso del  $\text{Pb}^{2+}$  el potencial de pico reportado en la literatura es de  $-0,40$  V mientras que en los polarogramas se registró en  $-0,392$  V (Skoog, 2001). Todos los potenciales reportados son contra Ag/AgCl.

### *3.2 Muestras reales.*

Se realizó la determinación en sangre humana y de aves, tanto con tratamiento previo de muestra como sin este para ambos cationes, en ambos casos los resultados fueron concluyentes.

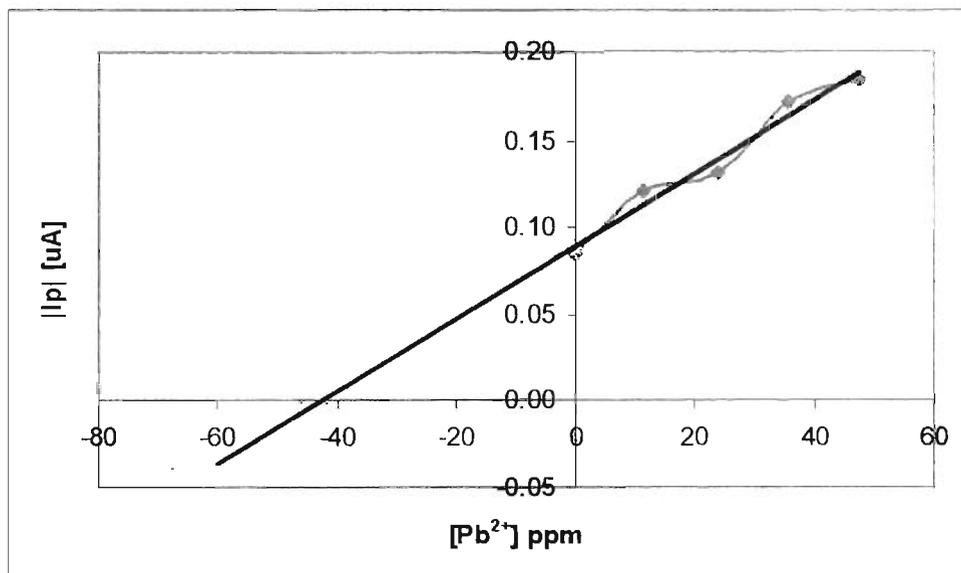
#### *3.2.1 Muestras sanguíneas de humanos.*

Los análisis sanguíneos comenzaron con muestras de sangre humana, la toma de muestra se realizó en el laboratorio de Química Analítica III así como en el de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas, en un inicio se realizó tanto en sangre entera como en suero sanguíneo, los resultados obtenidos fueron similares siendo estadísticamente iguales (Fig. 11), cada valor graficado es la media de tres ensayos.



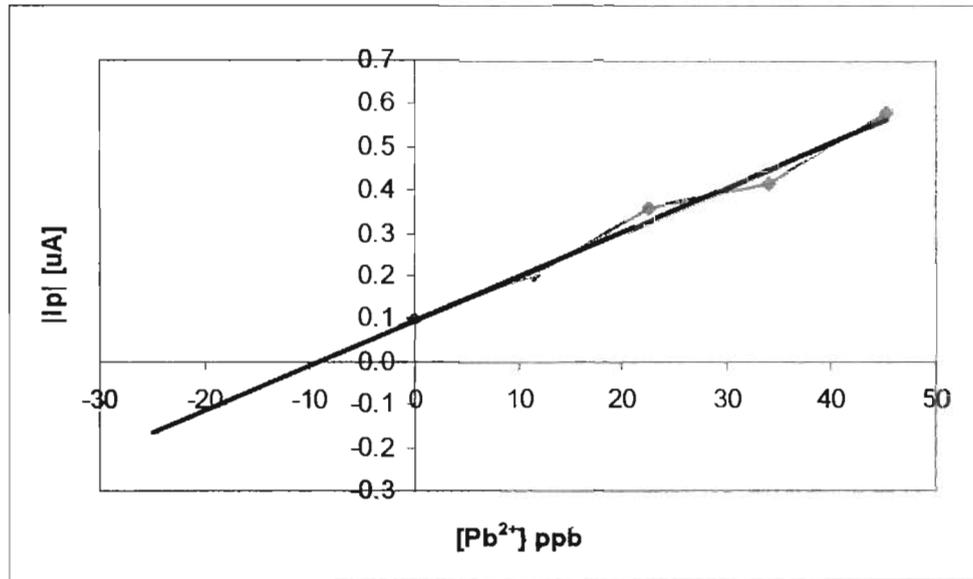
**Figura 11.** Gráfica de probabilidad entre suero y sangre entera.

Una vez que no se observaron cambios entre el suero y la sangre entera, los siguientes análisis se realizaron en sangre humana sin tratamiento previo de muestra, los valores reportados son la media de tres ensayos, teniéndose valores semejantes entre cada medición, distinguiéndose las personas entre si sólo por numeración.



**Figura12.** Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$  en la persona 1

La concentración de plomo obtenida para la persona 1 es de  $Pb^{2+}$  43 ppb a partir de la adición de cinco alícuotas en HCl como electrolito soporte.



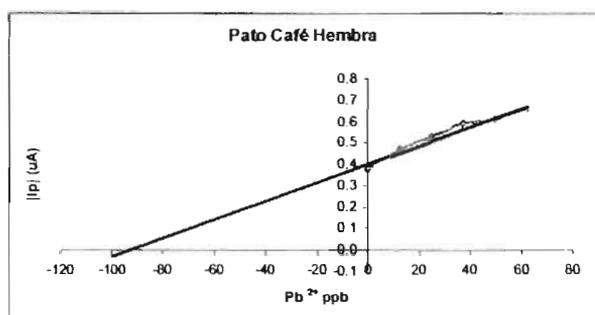
**Figura13.** Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$  en la persona 2

La concentración de plomo obtenida para la persona 2 es de 10.2 ppb a partir de la adición de cinco alícuotas en HCl como electrolito soporte.

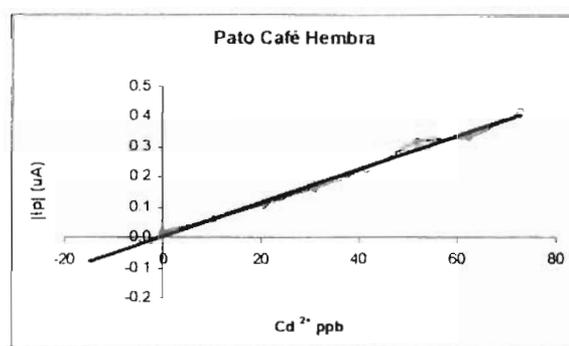
Las concentraciones de  $Pb^{2+}$  obtenidas para las personas 1 y 2, como se muestran en las figuras 12 y 13 respectivamente, se encuentran dentro de los rangos establecidos por OSHA, en el caso del  $Cd^{2+}$  no se encontró presente en las personas evaluadas.

### 3.2.2 Muestras sanguíneas de aves.

Entre los patos, dos de ellos eran machos y uno hembra, esta última de especie Plegadis Chihi, se le extrajo sangre y se dividió para su análisis, los datos en la tabla 3 son la media de tres ensayos de la misma ave.



a)



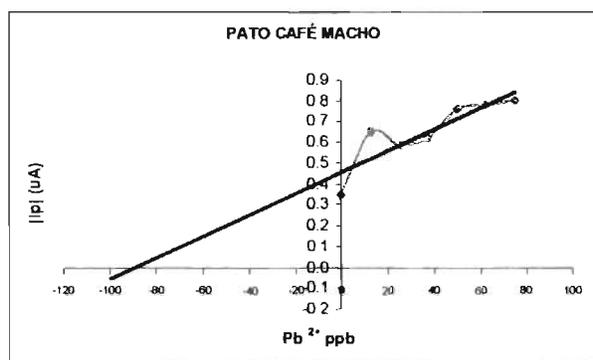
b)

Concentración  $Pb^{2+}$  93 ppb  
 Concentración  $Cd^{2+}$  6.18 ppb

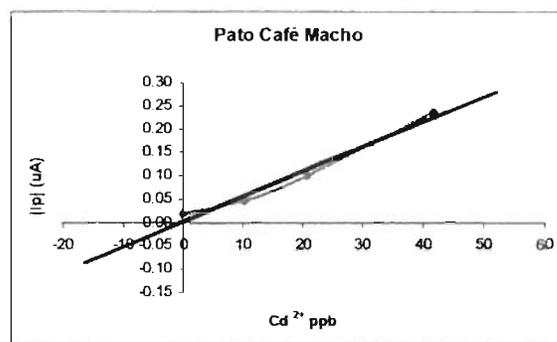
**Figura 14** a) Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$  en el pato hembra; b) Gráfica para determinar la concentración de  $Cd^{2+}$  en el pato hembra.

Los valores obtenidos para el  $Pb^{2+}$  (93 ppb) se encuentran dentro del rango considerado como normal, el  $Cd^{2+}$  también se encuentra dentro del rango más sin embargo está más cerca de excederlo.

De igual manera para los machos, se les extrajo sangre y se dividió para su análisis, realizándose por triplicado, los valores reportados en la tabla 4 son la media de las dos aves machos.



a)



b)

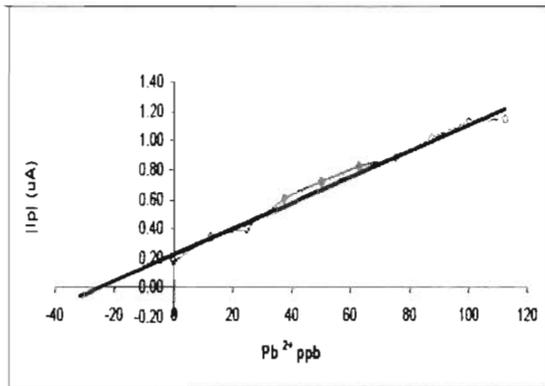
Concentración $Pb^{2+}$	92 ppb
Concentración $Cd^{2+}$	4.6 ppb

**Figura 15** a) Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$  en el pato macho; b) Gráfica para determinar la concentración de  $Cd^{2+}$  en el pato macho.

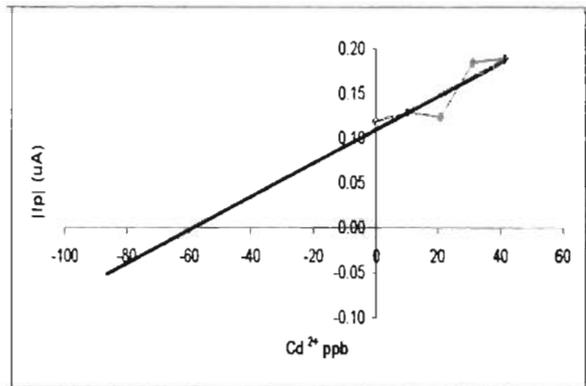
Los valores obtenidos, tanto para el  $Pb^{2+}$  como para el  $Cd^{2+}$ , no exceden los límites permisibles y de igual forma la presencia del plomo es más abundante que el cadmio.

### 3.2.3 Muestras de tejidos de aves.

Los tejidos fueron divididos en tres partes y el tratamiento de muestra se hizo por separado en cada fragmento, los valores reportados en las figuras 16, 17 y 18 corresponden a la media de los fragmentos en relación al tejido entero.



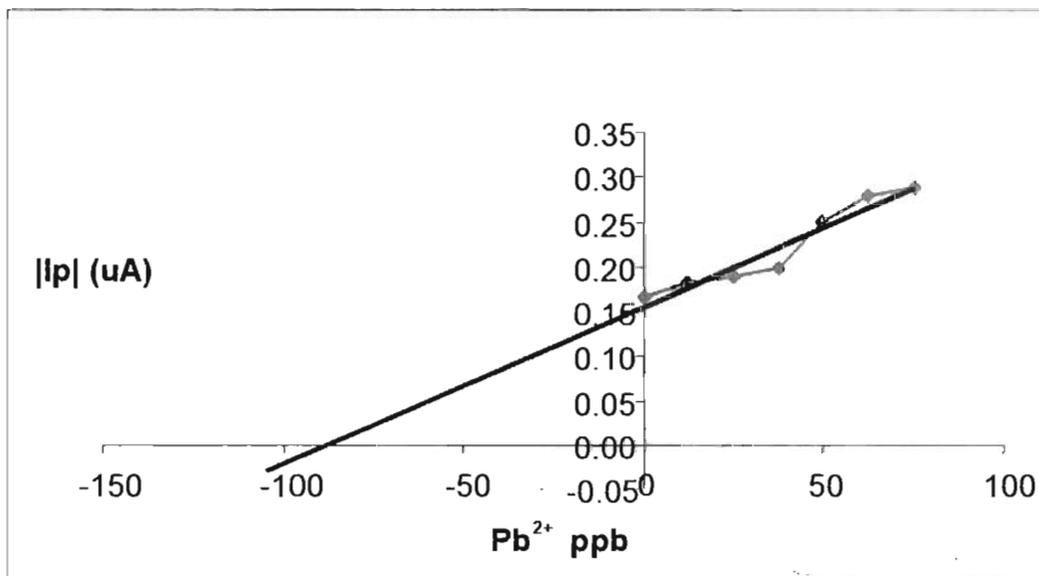
a)



b)

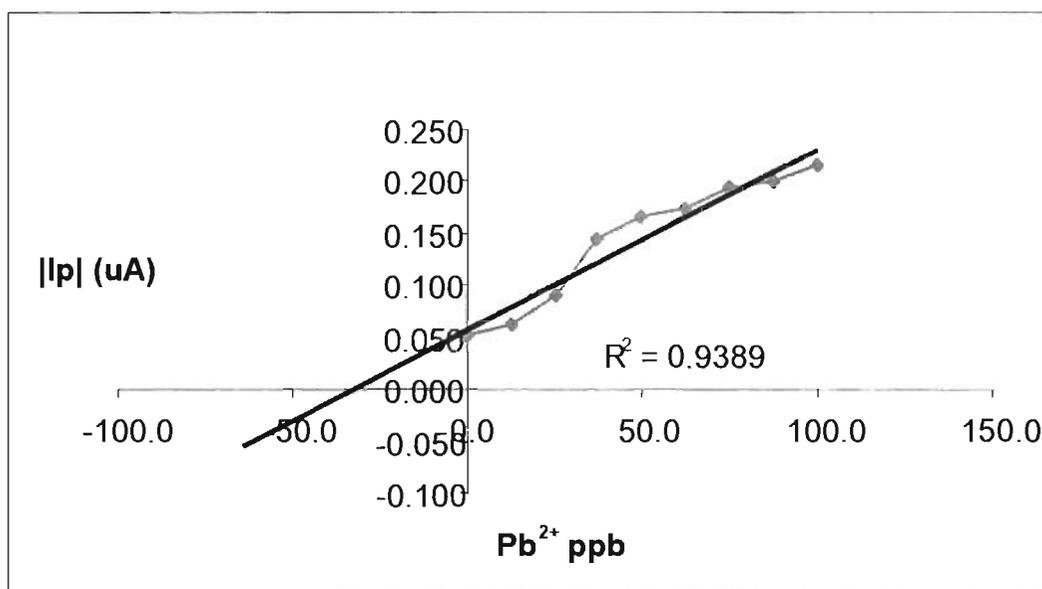
Concentración  $Pb^{2+}$  35.5 ppb  
 Concentración  $Cd^{2+}$  60 ppb

**Figura 16** a) Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$ ; b) Gráfica para determinar la concentración de  $Cd^{2+}$  en el corazón de la sora.



Concentración  $Pb^{2+}$  94 ppb

**Figura 17** a) Gráfica para determinar la concentración de  $Pb^{2+}$  en el hígado de la sora.



Concentración Pb<sup>2+</sup> 26.7 ppb

**Figura 18** a) Gráfica obtenida para determinación de la concentración de Pb<sup>2+</sup> en el buche de la sora.

De acuerdo a los tejidos estudiados, la concentración de Pb<sup>2+</sup> más elevada se encuentra en el hígado, mostrando que la toxicología del plomo además de manifestarse en las membranas sanguíneas tiene una permanencia en las membranas titulares. La ingesta de Pb<sup>2+</sup>, determinada en el buche, es elevada aunque se encuentra dentro del límite sanguíneo, mas sin embargo en el caso de ingesta se encuentra fuera del límite al menos para humanos (Figura 18).

Para el Cd<sup>2+</sup> sólo se encontró en el corazón, sin embargo fisiológicamente su mayor almacenamiento se encuentra en el riñón. Es remarcable el hecho de que no se encuentra presente en lo ingerido (buche) por lo que su presencia puede atribuirse a la calidad de agua consumida.

### 3.3 Parámetros estadísticos.

#### 3.3.1 Exactitud y Precisión del método.

La exactitud fue determinada a partir de un patrón sanguíneo con una concentración de 98 ppb, se analizó en el potencióstato BAS 100 del Laboratorio de Química Analítica III obteniendo un valor de 96 ppb y en el potencióstato Metrohm del Laboratorio de Suelos y Aguas con un resultado de 101 ppb, resultando así una desviación estándar de 4.72 ppb

Exactitud = Valor obtenido – Valor considerado real (Patrón)

$$\begin{array}{r} \text{Exactitud} = 96 \text{ ppb} - 98 \text{ ppb} \qquad \qquad \qquad -2 \text{ ppb} \\ \qquad \qquad \qquad = 101 \text{ ppb} - 98 \text{ ppb} \qquad \qquad \qquad 3 \text{ ppb} \end{array}$$

Tomando la media de las mediciones tenemos una exactitud de  $\pm 1.5$  ppb

La precisión del método es de igual manera aceptable al lograr una reproducibilidad continua de datos y obteniendo un coeficiente de variación de 4.74%

#### 3.3.2 Límites de detección y cuantificación.

Al utilizar métodos instrumentales de análisis capaces de determinar cantidades trazas de analito se hace evidente la importancia de los métodos estadísticos para la evaluación y comparación de límites de detección (LOD) y cuantificación siendo el LOD de un analito en particular aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento diferente significativamente a la señal de ruido por lo tanto podemos definir el límite de detección como la concentración del analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco  $Y_b$ , más tres veces la desviación estándar del blanco  $S_b$  (Millar, 2002)

$$LOD = Y_b + 3S_b$$

El límite de detección encontrado para  $\text{Cd}^{2+}$  fue de 4,67 ppb para el  $\text{Pb}^{2+}$  fue de 5,33 ppb

El límite de cuantificación o determinación (LOQ) recibe un valor sugerido de:

$$LOQ = Y_b + 10S_b$$

El límite de cuantificación encontrado para  $\text{Cd}^{2+}$  fue de 37.21 ppb y para  $\text{Pb}^{2+}$  de 38.47 ppb

De acuerdo con OSHA los niveles máximos permitidos en sangre son menores a 1,5  $\mu\text{g dL}^{-1}$  para  $\text{Cd}^{2+}$  y de 25  $\mu\text{g dL}^{-1}$  para  $\text{Pb}^{2+}$

#### 4 CONCLUSIONES.

A nivel sanguíneo, la presencia del  $Pb^{2+}$  en relación al  $Cd^{2+}$  es más abundante, los valores entre macho y hembra no están muy alejados el uno del otro por lo que no podemos atribuir una afinidad del metal relacionada con el sexo del ave. En cuanto al  $Cd^{2+}$ , su presencia es un 95% más baja y de igual forma no hay distinción respecto al sexo del ave.

En cuanto a los tejidos, el corazón es el más afectado puesto que tiene la presencia de ambos metales, aunque la cantidad es menor que en el hígado.

El hígado tiene una concentración alta en  $Pb^{2+}$  como resultado de años de exposición, pues de su alimentación sólo podemos considerar una fracción y se designa como valor de ingesta la concentración obtenida en el buche.

De manera similar, en los humanos la cantidad de  $Pb^{2+}$  presente en sangre no tiene una distinción por edad o sexo, su presencia puede atribuirse a la contaminación ambiental, además del empleo de cerámica vidriada en la preparación de los alimentos y exposición a pinturas con plomo presentes en artículos de uso cotidiano, lápices, vajillas, ollas de barro, etc.

Se logró identificar cualitativa y cuantitativamente la presencia de los metales, por lo cual el método propuesto puede ser empleado con resultados confiables, cumpliéndose así unos de los objetivos principales de esta tesis.

Los resultados de este trabajo, de manera significativa demuestran altas concentraciones de metales pesados en la población de aves, tanto en sangre como en tejidos, así mismo el estudio realizado en el grupo humano muestra concentraciones dentro de las permisibles, más sin embargo mayores a lo considerado como ideal.

El análisis puede ser realizado de manera satisfactoria tanto en sangre entera como en suero sanguíneo, estadísticamente se comprobó el hecho de que son iguales, el tratar las muestras no es un requisito para realizar las determinaciones, más sin embargo en el caso de los tejidos el llevar a cabo una digestión tisular fue inevitable para de este modo obtener la respuesta voltamperométrica deseada de acuerdo a la literatura.

De acuerdo con la serie electromotriz, los metales en su forma iónica poseen un potencial de media onda determinado, por lo tanto este método puede aplicarse a metales con un potencial comprendido en un intervalo de -800 a -200 mV dado lo cual no es exclusivo de  $Pb^{2+}$  y  $Cd^{2+}$ , otros metales pueden ser de igual manera evaluados, teniendo en cuenta que deben contar con una diferencia de potencial suficiente para poder ser identificados.

El tiempo de depósito es un factor determinante para obtener una respuesta óptima, debe ser el necesario para permitir la formación de una doble capa eficiente y va en relación al área de la gota de mercurio.

El método sugerido presenta como inconveniente y es el uso de mercurio como electrodo de trabajo, aunque las cantidades empleadas no son elevadas la toxicidad del mercurio es significativa, por lo que el tratamiento de los residuos es importante.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Bard, A.J. "Electrochemical Methods", 2º Ed John Wiley & Sons, Inc, pp 261 – 300, 2001

BAS 100B/W Instruction Manual, "Electrochemical workstation, Bioanalytical Systems" pp 3-29, 1993

Brainina Kh, "Electroanalytical Stripping Methods, John Wiley and Sons, pp 120, 1993

Casarett & Doull, "Manual de toxicología", Mc Graw Hill 5ºEd, pp 671 – 679, 1986

Charlot, Gaston "Curso de Analítica General" Ed. Masson et Cie Editeurs, Paris VI 1975

Correia, Paulo "A fast procedure for the simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry" Atomic Spectroscopy, pp 222 -226, 2003

Correia, Paulo "Silver as internal standard for simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry" Journal of Analytical Atomic Spectrometry, pp 917 – 922, 2004

Diario Oficial de la Federación, Jueves 14 de Agosto de 2003, primera sección pp 35–48

Enciclopedia electrónica Encarta 2002, Microsoft Software ®

Harris, Daniel C. "Análisis Químico Cuantitativo", Grupo Editorial Iberoamericana, 3º Ed, pp 466 – 474, 1992

Hein, Morris "Química", Grupo editorial Iberoamericana, pp 504 – 507, 1992

Holcombe, David et al. "The fitness for purpose of Analytical Methods; A laboratory guide to method validation and related topics", Eurachem Working Group, pp 5 – 30, 1998

Jagner, Daniel et al, "Simultaneous determination of Cadmium and Lead in whole Blood and in serum by Computerized potentiometric stripping analysis" *Analytical Chemistry*, pp 1406 – 1410, 1981

Kabir, Khayrul "Anodic stripping voltammetry at thin mercury film electrode for trace analysis an environmental and biological studies" *Journal of Bangladesh Chemical Society*, pp 1 – 12, 2002

Leninger, Albert; "Bioquímica", Ediciones Omega, pp 190, 216 – 218, 1980

Letkeman, Peter; "Computer – Modelling of Metal Speciation in Human Blood Serum", *Journal of Chemical Education*, pp 165 – 170, 1996

Meites, Louis *Polarographic Techniques*, Interscience Publishers, 2º Ed, 1967

Millar, J.N. "Estadística y Quimiometría para Química Analítica" 4º Ed., Prentice Hall, pp 13 – 25, 2002

Montante et al, *Estudio Geoquímico de metales traza en una laguna artificial de aguas residuales*, Tesis para obtener el grado de maestro en Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, 1998

Skoog, Douglas, "Química Analítica" Mc Graw Hill, Apéndice 4 pp. A6 – A7, 2000

Valenta, P. "New potentialities in ultra trace analysis with differential pulse anodic stripping voltammetry" *Journal of Applied Electrochemistry* (on line), Enero 2002

White, M. A. "A comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry with electrothermal atomic absorption spectrophotometry for the determination of trace elements in blood and urine from non-occupational exposed populations" *Journal of trace elements in Medicine and Biology*, pp 93 – 101, 1999

## ANEXO 1: ELECTROQUÍMICA

### *1. Voltamperometría y polarografía.*

La cuantificación a nivel de trazas en muestras complejas de origen industrial, clínico o ambiental representa una tarea prioritaria de la química analítica moderna. Dichos elementos, si bien están en baja concentración, se acumulan en los seres vivos, de ahí la importancia de su evaluación. Los límites de toxicidad en seres humanos están siendo constantemente redefinidos lo cual origina el desarrollo de nuevas y más sensibles técnicas de análisis.

La voltamperometría es una técnica electroquímica 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 potencial en función del tiempo (ej. rampa lineal, onda cuadrada, etc.) y se observa el gráfico resultante de corriente vs. 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.

A la corriente que resulta de la reacción electroquímica se la denomina corriente faradaica y se buscan condiciones donde ésta es proporcional a la concentración. La corriente faradaica de reducción (catódica) tiene, por convención en electroanálisis, signo positivo y la corriente de oxidación (anódica) signo negativo.

Si la medición voltamperométrica se hace usando un electrodo de gota de mercurio, la técnica se denomina polarografía. Las gotas de mercurio exponen una superficie limpia, reproducible y de área definida a la solución. La curva corriente vs. potencial deberá reflejar cambios en la concentración de especies en solución y no en la naturaleza de la superficie