

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**

**“ANÁLISIS DE METÁLES PESADOS EN ALIMENTOS  
USANDO EL MÉTODO DE DIGESTIÓN POR HORNO  
MICROONDAS EN LA EMPRESA: SGS DEL PERÚ  
S.A.C.”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTADO POR  
EFFIO SALDIVAR CLAUDIA**

**ASESOR**

**ING° CÉSAR GUTIERREZ CUBA**

**CALLAO – 2021**

**PERÚ**

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Effio Saldivar Claudia, the author of the work.

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to César Gutierrez Cuba, the advisor.

(Resolución N° 019-2021-CU del 20 de enero de 2021)

**ANEXO 1**

**ACTA N° 228 DE EXPOSICIÓN DEL TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA LA OBTENCIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO**

**LIBRO 02 FOLIO No. 35 ACTA N° 228 DE EXPOSICIÓN DEL INFORME DE TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO**

A los dos días del mes julio del año 2021, siendo las 16:00 horas, se reunieron, en la sala Link <https://meet.google.com/wmy-mbtp-qyq>, el **JURADO DE EXPOSICIÓN DEL INFORME DE TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL** para la obtención del título profesional de Ingeniero Químico de la Facultad de Ingeniería Química, conformado por los siguientes docentes ordinario de la Universidad Nacional del Callao:

Ing. <b>CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE</b>	: <b>Presidente</b>
Ing. <b>RICARDO RODRÍGUEZ VILCHEZ</b>	: <b>Secretario</b>
Ing. <b>JULIO CÉSAR CALDERÓN CRUZ</b>	: <b>Miembro</b>
Ing. <b>CÉSAR GUTIÉRREZ CUBA</b>	: <b>Asesor</b>

Se dio inicio al acto de exposición del informe de trabajo de suficiencia profesional del Bachiller **EFFIO SALDIVAR CLAUDIA**, quien habiendo cumplido con los requisitos para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico, sustenta el informe titulado "**ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN ALIMENTOS USANDO EL MÉTODO DE DIGESTIÓN POR HORNO MICROONDAS EN LA EMPRESA: SGS DEL PERÚ SAC**", cumpliendo con la sustentación en acto público, de manera no presencial a través de la Plataforma Virtual, en cumplimiento de la declaración de emergencia adoptada por el Poder Ejecutivo para afrontar la pandemia del Covid-19, a través del D.S. N° 044 2020-PCM y lo dispuesto en el DU N° 026-2020 y en concordancia con la Resolución del Consejo Directivo N°039-2020-SUNEDU-CD y la Resolución Viceministerial N° 085-2020-MINEDU, que aprueba las "Orientaciones para la continuidad del servicio educativo superior universitario";

Con el quórum reglamentario de ley, se dio inicio a la exposición de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos vigente. Luego de la exposición, y la absolución de las preguntas formuladas por el Jurado y efectuadas las deliberaciones pertinentes, acordó: Dar por **APROBADO** con la escala de calificación cualitativa **MUY BUENO** y calificación cuantitativa **17** la presente exposición, conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAC, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 245-2018- CU del 30 de Octubre del 2018

Se dio por cerrada la Sesión a las 17:30 horas del día 02 del mes de julio y año 2021.



**Presidente**



**Secretario**



**Miembro**



**Asesor**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

**FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA**

**DICTAMEN DE EXPOSICIÓN DEL TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**

DE: Dr. CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE

Presidente de Jurado Jurado de Exposición

PARA: Mg. Raymundo Carranza Noriega

Decano de la Facultad de Ingeniería Química

FECHA: 06 de julio del 2021

---

Mediante el presente documento tengo a bien informarle, los miembros del **JURADOS DE EXPOSICIÓN DEL INFORME DE TRABAJO DE SUFICIENCIA**, con fecha 2 de julio del 2021 a las 16:00 horas, se reunieron, en la sala Link <https://meet.google.com/wmy-mbtp-qyy>, para la exposición la señorita **EFFIO SALDIVAR CLAUDIA**, con Título del Trabajo de Suficiencia Profesional **“ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN ALIMENTOS USANDO EL METODO DE DIGESTION POR HORNO MICROONDAS EN LA EMPRESA SGS DEL PERU SAC”**; se acordó: Dar por **APROBADO** el Trabajo de Suficiencia Profesional; sugiere la continuación de los tramites correspondientes.

Es propicia la oportunidad para expresarle mi gran estima

Atentamente,



-----  
DR. ING. CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE

Presidente Jurado de Exposición

## PRÓLOGO DEL JURADO

El presente Trabajo de Suficiencia Profesional fue expuesto por la Bachiller **EFFIO SALDIVAR CLAUDIA** ante el Jurado de Exposición del Informe de Trabajo de Suficiencia Profesional conformado por los siguientes docentes ordinarios de la Universidad Nacional del Callao:

ING° ANCIETA DEXTRE CARLOS ALEJANDRO	Presidente
ING° RODRIGUEZ VILCHES RICARDO	Secretario
ING° CALDERÓN CRUZ JULIO CÉSAR	Vocal
ING° GUTIERREZ CUBA CÉSAR	Asesor

Tal como está asentado en el Libro de actas N° 02 Folio N° 35 y Acta N° 228 de fecha dos de julio del 2021, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la Modalidad de Titulación por Trabajo de Suficiencia Profesional, de conformidad conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Callao, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 245-2018-CU del 30 de octubre de 2018

# ÍNDICE

	Pag.
<b>I ASPECTOS GENERALES</b>	<b>6</b>
<u>1.1</u> Objetivo general	6
<u>1.2</u> Objetivo específico	6
<u>1.3</u> Organización de la empresa o institución	6
<b>II. FUNDAMENTACIÓN DE LA EXPERIENCIA</b>	<b>8</b>
<u>2.1</u> Marco Teórico	8
<u>2.1.1</u> Metales pesados	8
<u>2.1.2</u> Límites permisibles de toxicidad de metales pesados	15
<u>2.1.3</u> Métodos de digestión de metales pesados	19
<u>2.1.4</u> Reactivos para el Análisis de Digestión	32
<u>2.1.5</u> Preparación de la muestra	40
<u>2.1.6</u> Principio de digestión de muestras orgánicas	41
<u>2.1.7</u> Detección vía Espectrometría de Masas	44
<u>2.2.</u> Descripción de las actividades desarrolladas	56
<u>2.2.1</u> Preparación de Muestras Orgánicas	56
<u>2.2.2</u> Equipos, Materiales y Reactivos	57
<u>2.2.3</u> Limpieza de Materiales previo al análisis	61
<u>2.2.4</u> Programa de Digestión para Matrices Alimentarias	62
<u>2.2.5</u> Instrucción para la Digestión en el Equipo Ultrawave	65
<u>2.2.6</u> Trasvase de Muestra después de la Digestión	67
<u>2.2.7</u> Diagrama de Flujo para la Determinación de Metales por digestión Horno Microondas ver	68
<u>2.2.8</u> Preparación de Soluciones de Fortificación	68
<u>2.2.9</u> Aseguramiento de Calidad	70
<u>2.2.10</u> Lectura de las muestras por ICP MASAS	70
<u>2.2.11</u> Punto STC – estándar control	71
<u>2.2.12</u> Expresión de Resultados	71
<b>III. APORTES REALIZADOS</b>	<b>72</b>

<b>IV. EVALUACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>73</b>
<u>4.1</u> Prueba de consistencia de valores	73
<u>4.2</u> Prueba de Normalidad de Datos	79
<u>4.3</u> Homogeneidad Numérica	86
<u>4.4</u> Precisión del método	88
<u>4.5</u> Veracidad del método	92
<u>4.6</u> Linealidad	97
<u>4.7</u> Límite de detección del Método (LDM) y Limite de Cuantificación del Método (LCM)	100
<u>4.8</u> Incertidumbre	103
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>112</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>113</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>114</b>
<u>ANEXOS</u>	115

# ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pag</b>
<b>Tabla 1</b>	Niveles Máximos Permitidos en Arsénico 16
<b>Tabla 2</b>	Niveles Máximos Permitidos en Cadmio 17
<b>Tabla 3</b>	Niveles Máximos Permitidos en Plomo 18
<b>Tabla 4</b>	Niveles Máximos Permitidos en Mercurio 19
<b>Tabla 5</b>	Parámetros de digestión informados por los participantes del ensayo 43
<b>Tabla 6</b>	Isótopos recomendados, límites de detección instrumental e interferencias potenciales 46
<b>Tabla 7</b>	Instrumentos ICP–MS utilizados por los participantes del ensayo 47
<b>Tabla 8</b>	Ecuaciones para corrección de algunas interferencias isobáricas 53
<b>Tabla 9</b>	Formas de Preparación de Matrices Alimentarias 58
<b>Tabla 10</b>	Formas de Preparación de Matrices Alimentarias 59
<b>Tabla 11</b>	Formas de Preparación de Matrices Alimentarias 59
<b>Tabla 12</b>	Condiciones de Digestión en el Equipo Ultrawave 63
<b>Tabla 13</b>	Condiciones de Digestión en el Equipo Ultrawave (continuación) 64
<b>Tabla 14</b>	Preparación de Estándares de As, Cd y Pb 68
<b>Tabla 15</b>	Preparación del Estándar de Hg 69
<b>Tabla 16</b>	Fortificación de Estándares: Caso 1 69
<b>Tabla 17</b>	Fortificación de Estándares: Caso 2 69
<b>Tabla 18</b>	Aseguramiento de Calidad 70
<b>Tabla 19</b>	Curva de Calibración 70
<b>Tabla 20</b>	Datos de repetibilidad por cada Nivel de Arsénico 73
<b>Tabla 21</b>	Estadística de Mandel (nivel de significancia al 5%) 75
<b>Tabla 22</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 1 75
<b>Tabla 23</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 2 76
<b>Tabla 24</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 3 76
<b>Tabla 25</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 4 77

<b>Tabla 26</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 5	77
<b>Tabla 27</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 6	78
<b>Tabla 28</b>	Cálculo de h y k, NIVEL 7	78
<b>Tabla 29</b>	Resumen de Evaluación de la Consistencia de datos	79
<b>Tabla 30</b>	Nivel I de arsénico	80
<b>Tabla 31</b>	Nivel II de arsénico	81
<b>Tabla 32</b>	Nivel III de arsénico	82
<b>Tabla 33</b>	Nivel IV de arsénico	83
<b>Tabla 34</b>	Nivel VI de arsénico	84
<b>Tabla 35</b>	Nivel V de arsénico	85
<b>Tabla 36</b>	Nivel VII de arsénico	86
<b>Tabla 37</b>	Homogeneidad Numérica de los Niveles de Arsénico	88
<b>Tabla 38</b>	Análisis de varianza de un factor	89
<b>Tabla 39</b>	Cálculo de los valores de Precisión para Arsénico	90
<b>Tabla 40</b>	Recuperación según la Concentración Adicionada de Arsénico	93
<b>Tabla 41</b>	Promedio de recuperación según la Concentración Adicionada de Arsénico	94
<b>Tabla 42</b>	Análisis de Varianza para el analista A	95
<b>Tabla 43</b>	Análisis de Varianza para el analista B	96
<b>Tabla 44</b>	Análisis de Varianza para el analista C	97
<b>Tabla 45</b>	Curvas de Calibración del Analito Arsénico	98
<b>Tabla 46</b>	Regresión lineal	99
<b>Tabla 47</b>	Datos para el cálculo de LDM: Analista A	101
<b>Tabla 48</b>	Datos para el cálculo de LDM analista B	102
<b>Tabla 49</b>	Datos para el cálculo de LDM analista C	102
<b>Tabla 50</b>	Magnitudes para el cálculo de incertidumbre	104
<b>Tabla 51</b>	Incertidumbre según Niveles del Analito Arsénico	109
<b>Tabla 52</b>	Contribución Porcentual de las fuentes de Incertidumbres	110

# ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pag</b>
<b>Figura 1</b> Mapa de Procesos de la Empresa SGS del Perú SAC	7
<b>Figura 2</b> Microondas – Escala aproximada de Longitud de Onda	25
<b>Figura 3</b> Horno de Microondas para laboratorio	26
<b>Figura 4</b> Equipo Ultrawave Milestone	29
<b>Figura 5</b> Estante con Viales	30
<b>Figura 6</b> Sellado de Cámara de Reacción	31
<b>Figura 7</b> Grafica de Temperatura y Presión en ejecución Grafica de Temperatura y Presión en ejecución	31
<b>Figura 8</b> Apertura de la cámara de reacción	31
<b>Figura 9</b> Vaso de PTFM de 1 L	65
<b>Figura 10</b> Rack con muestras después de la digestión	67
<b>Figura 11</b> LRSDr vs Concentración Media de Arsénico (ug/Kg)	91
<b>Figura 12</b> LRSDR vs Concentración Media de Arsénico (ug/Kg)	92
<b>Figura 13</b> Regresión y Linealidad de las curvas de Arsénico	99
<b>Figura 14</b> Identificación de las fuentes de Incertidumbre (Diagrama de Ichikawa)	105
<b>Figura 15</b> Incertidumbre de la concentración de Arsénico (ug/Kg) en Aceite de Pescado	109
<b>Figura 16</b> Contribución Porcentual de las fuentes de Incertidumbre	111

# **I ASPECTOS GENERALES**

## **1.1 Objetivo general**

Conocer las actividades desarrolladas en el área de productos orgánicos durante el análisis de metales en alimentos usando el método de digestión por horno microondas.

## **1.2 Objetivo específico**

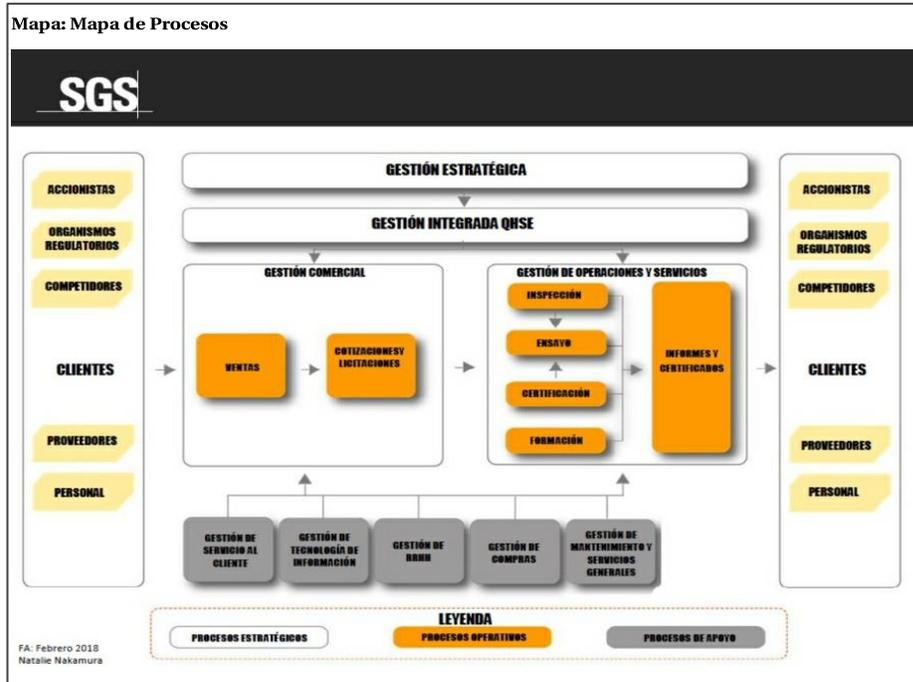
Realizar los programas de digestión de diversas matrices de alimentos según su naturaleza y contenido carbónico

## **1.3 Organización de la empresa o institución**

Dentro de la organización se establece el siguiente mapa de procesos, **ver Figura 1 (p. 7)**

Figura 1

Mapa de Procesos de la Empresa SGS del Perú SAC.



SGS del Perú, S.A.C.

## II. FUNDAMENTACIÓN DE LA EXPERIENCIA

### 2.1 Marco Teórico

#### 2.1.1 Metales pesados

Según la Tabla periódica, es un elemento químico con alta densidad (mayor a  $4 \text{ g/cm}^3$ ), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas. Algunos de estos elementos son: Aluminio (Al), Bario (Ba), Berilio (Be), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Estaño (Sn), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Plomo (Pb), Arsénico (As), Cromo (Cr), Molibdeno (Mo), Níquel (Ni), Plata (Ag), Selenio (Se), Talio (Tl), Vanadio (Va), Oro (Au) y Zinc (Zn) (Londoño y Muñoz – García, 2016, p. 147)

Los metales pesados se caracterizan por tener efecto bio-acumulativo y, en concentraciones superiores a las recomendadas causan daños en el sistema nervioso central y periférico, renal, hematopoyético y esquelético, así como efectos carcinogénicos; la gravedad de tales daños depende del grado y tiempo de exposición a dichos elementos. El agua puede contaminarse por metales de manera natural o a través de diferentes procesos de captación, tratamiento, almacenamiento y distribución, afectando su calidad en el punto final de consumo. Los bebederos de presión, que comúnmente son utilizados en lugares públicos, presentan reservorios y tuberías con aleaciones metálicas que pueden afectar la composición química del agua (Rodríguez, 2009, p. 24)

En los suelos que están sujetos a contaminación por metales pesados, sus contaminantes pueden entrar a las cadenas alimenticias a través de productores primarios, estos contaminantes biodisponibles pueden inducir el crecimiento y cambios reproductivos o bioquímicos en las plantas (Rodríguez, 2009, p.25 – 26)

Los metales pesados no pueden ser degradados o destruidos, pueden ser disueltos por agentes físicos, químicos y ser lixiviados. Algunos forman complejos solubles y son transportados y distribuidos a los ecosistemas hasta incorporarse en la cadena trófica (suelo, agua, plantas, semillas y forrajes), primordialmente aquellos procedentes de áreas contaminadas (Londoño y Muñoz – García, 2016, p. 147)

La inhalación y la ingesta de alimentos son dos de las causas más sobresaliente de contaminación. Los efectos tóxicos dependen del tipo de metal, de la concentración y en algunos casos de la edad de la población expuesta. Algunos estudios que evalúan la contaminación de metales pesados en alimentos, carne y leche, han encontrado cadmio, el mercurio, el plomo y el arsénico, son cuatro de los elementos que por su impacto en la salud y concentración deben ser cuidadosamente evaluados y monitoreados (Reyes, YC. Vergara, I., Torres, O.E., Díaz – Lagos, M., & Gonzales, 2016, p. 68)

**a) Arsénico.-** Es un elemento ampliamente distribuido en la atmósfera, en la hidrósfera y en la biósfera, el cual está presente en cuatro estados de oxidación As (V), As (III), As (0) y As (-III). Las especies formadas según el estado de

oxidación son variadas y pueden ser de origen inorgánico u orgánico. El As (III) puede provenir de la reducción biológica del As (V), y predomina en zonas cercanas a industrias con efluentes ricos en As (III), aguas geotermales y ambientes reductores (Reyes, YC. Vergara, I., Torres, O.E., Diaz-Lagos, M., & Gonzales, 2016, p. 69)

En la naturaleza se encuentra como mineral de cobalto, aunque regularmente está en la superficie de las rocas combinado con azufre o metales como Mn, Fe, Co, Ni, Ag o Sn. El principal mineral del arsénico es el FeAsS (arsenopirita) y se usa en tratamiento de maderas, productos agrícolas (pesticidas, herbicidas) bronceadores de piel, anticorrosivos, vidrio, cerámica, pinturas, pigmentos, medicamentos. En alimentación animal como factor de crecimiento, gases venenosos de uso militar, etc., (Londoño y Muñoz – García, 2016, p. 148)

Los síntomas agudos aparecen de tres a cinco días después de exposición a niveles elevados de arsénico, los síntomas incluyen incoordinación, ataxia, trascurridos unos pocos días cerdos y aves pueden aparecer paralizados, aunque seguirán comiendo y bebiendo, también hay ceguera y eritema cutáneo en animales albinos. Los terneros presentan síntomas gastrointestinales (Londoño y Muñoz–García, 2016, p. 148)

- b) Cadmio.**- El cadmio forma parte de la composición natural de algunas rocas y suelos y provoca una liberación al medio ambiente cercana a 25 000 toneladas.

De otra parte, por vía antrópica las concentraciones en el ambiente pueden ser incrementadas considerablemente. Porque es un metal ampliamente utilizado en la industria y productos agrícolas, esto ha producido un progresivo aumento en su producción. El 5% del metal es reciclado y debido a su notable movilidad, provoca una importante contaminación ambiental (Reyes, YC. Vergara, I., Torres, O.E., Diaz – Lagos, M., & Gonzales, 2016, p. 68)

La población está expuesta al cadmio por diversas vías:

Oral, a través del agua y la ingesta de comida contaminada con este elemento (hojas de vegetales, granos, cereales, frutas, vísceras animales y pescado) (Nava – Ruíz & Méndez-Armenta 2011) En algunos países de Europa y Norte América la ingesta diaria de cadmio varía entre 10 y 40  $\mu\text{g}/\text{día}$ . La inhalación de partículas durante actividades industriales en personas laboralmente expuestas, donde la concentración de cadmio puede tener valores superiores a 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  El cigarrillo, cuyo nivel de cadmio está asociado al suelo donde crece el tabaco. Estudios realizados muestran que las concentraciones de cadmio en la sangre para no fumadores varían entre 0,4 a 1,0  $\mu\text{g}/\text{L}$ , mientras que en fumadores los valores varían entre 1,4 a 4  $\mu\text{g}/\text{L}$  Finalmente, por vía dérmica, aunque las concentraciones absorbidas son muy reducidas (Reyes, YC. Vergara, I., Torres, O.E., Diaz – Lagos, M., & Gonzales, 2016, p. 68)

Naturalmente no se encuentra en estado libre y la greenockita (sulfuro de

cadmio) es el único mineral de cadmio. Casi todo el que se produce es obtenido de la fundición y refinado de los minerales de Zinc. Estados Unidos, Canadá, México, Australia, Bélgica, Luxemburgo y República de Corea son productores importantes (Londoño y Muñoz-García, 2016, p. 148)

El cadmio se usa en pinturas, plásticos, pilas, baterías, abonos, soldaduras, asbestos, pigmentos, barras (reactores nucleares), farmacéutica, fotografía, vidrio, porcelana, etc. Para la mayoría de los seres vivos la principal fuente de exposición al cadmio son los alimentos y el agua, pequeñas partículas de cadmio son absorbidas por el aparato respiratorio, especialmente en trabajadores de la industria del cadmio y en personas expuestas al humo del tabaco. En animales, los rangos de absorción son muy diversos, pero más bajos que en humanos. Las especies con dieta vegetal son los de mayor acumulación de cadmio, debido a que los alimentos ricos en fibra como cereales, vegetales y papas contribuyen a una mayor exposición (Londoño y Muñoz – García, 2016, p. 148)

- c) Mercurio.-** El mercurio forma soluciones- amalgamas con otros metales (oro, plata, platino, uranio, cobre, plomo, sodio y potasio), se encuentra comúnmente como sulfuro, también como rojo de cinabrio, en menor abundancia metalcinabrio negro y el menos común cloruro de mercurio. La tensión superficial de mercurio líquido es de 484 dinas/cm, seis veces mayor que la del

agua en contacto con el aire, por consiguiente, no puede mojar la superficie con la cual esté en contacto. Se usa en empastes dentales, fabricación de pilas, lámparas fluorescentes, aparatos eléctricos (baterías, conmutadores), pinturas, catálisis, agricultura (fungicidas, pesticidas), productos farmacéuticos, pulpa, papel, cosméticos, cremas y jabones para la piel y drogas herbales, termómetros clínicos. Y en minería de oro, cobre, plata y carbón cientos de toneladas, por su facilidad de formar amalgamas y así extraerlos fácilmente (Londoño y Muñoz – García, 2016, p. 150)

Es un metal líquido a temperatura ambiente, que además de encontrarse en su estado elemental, se puede hallar como derivados inorgánicos y derivados orgánicos. El mercurio elemental es poco soluble y por lo tanto poco tóxico al ingerirse, pero puede emitir vapores tóxicos a cualquier temperatura y ocasionar intoxicaciones agudas y crónicas por su inhalación (Reyes, YC. Vergara, I., Torres, O.E., Diaz-Lagos, M., & Gonzales, 2016, p. 69)

Entre los metales pesados, el mercurio (Hg) es el contaminante ambiental y ocupacional (ejm. en el área odontológica, etc.,) más peligroso no solo por la gravedad de las enfermedades que causa sino por los efectos irreversibles que provoca en los seres humanos. El mercurio metálico es prácticamente inabsorbible por vía dérmica o digestiva, no obstante, los vapores de mercurio se absorben fácilmente a través de los pulmones (vía respiratoria), con niveles

de absorción de hasta un 80% – 90% del total de la dosis inhalada; por lo tanto, esta vía representa la forma más fácil de intoxicación mercurial debido a la elevada volatilidad de este metal. El mercurio se encuentra en el medio ambiente de diferentes formas físicas o químicas. El compuesto más tóxico es el metilmercurio; en la naturaleza el mercurio elemental y los compuestos de mercurio pueden convertirse en metilmercurio (Rodríguez, 2009, p. 31)

**d) Plomo.**- En la industria, los compuestos más importantes son óxidos y tetraetilo de plomo, forma aleaciones con estaño, cobre, arsénico, bismuto, cadmio y sodio.

El plomo se encuentra en metales de uranio y de torio, ya que proviene de la división radiactiva. Los minerales comerciales suelen contener poco plomo (3%), lo más común es que sea del (10%) Los minerales antes de fundirse pueden acumular hasta 40% o más de plomo. Se usa como aditivo antidetonante en la gasolina, baterías, en monitores de computadores y pantallas de televisión, joyería, latas de conserva, tintes para el pelo, grifería, pigmentos, aceites, cosmetología, aleaciones, cerámicas, municiones, soldaduras, plomadas, armamento, radiación atómica, insecticidas, etc., (Londoño y Muñoz-García, 2016, p. 149)

El plomo es un contaminante de múltiples fuentes, bien conocido por su toxicidad, de gran riesgo tanto para el medio ambiente como para la salud

humana. Los órganos que daña son los hematopoyéticos, el sistema nervioso, el sistema renal, y posiblemente el sistema reproductivo y el sistema inmune. La mayor parte del metal se acumula en las células sanguíneas, y los efectos letales se relacionan con las concentraciones en la circulación. Estos efectos adversos no solo se han descrito en los humanos sino también en varios vertebrados como peces y pájaros (S. Rodríguez, 2009, p. 29).

### **2.1.2 Límites permisibles de toxicidad de metales pesados**

La contaminación de los alimentos y piensos puede suponer un riesgo para el ser humano (y/o la salud animal). Además, en algunos casos pueden tener un impacto negativo en la calidad de los alimentos y piensos. Los alimentos y piensos pueden ser contaminados por varias causas y procedimientos.

Los niveles de los contaminantes presentes en los alimentos y piensos deben ser lo más bajos que razonablemente sea posible a través de buenas prácticas, como buenas prácticas agrícola (BPA) y buenas prácticas de fabricación (BPF) siguiendo una evaluación apropiada de riesgos (Codex STAN 193-1955, p. 3) **Ver tablas 1 (p. 16), 2 (p. 17), 3 (p. 18) y 4 (p. 19)**

**Tabla 1***Niveles Máximos Permitidos en Arsénico*

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/Kg	Partge del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Grasas y aceites comestibles	0,1	Todo el producto	Las normas correspondientes de Codex para productos son CODEX STAN 19-1981, CODEX STAN 33-1981, CODEX STAN 210-1999 y CODEX STAN 211-1999
Grasas para untar y mezclas de grasas para untar	0,1		La norma correspondiente de Codex para productos es CODEX STAN 256-2007
Aguas minerales naturales	0,01		La norma correspondiente de Codex para productos es CODEX STAN 108-1981 El NM es para arsénico inorgánico (As-in)
Arroz pulido	0,2	Todo el producto	Los países o importadores pueden decidir utilizar su propia selección al aplicar el NM para As-in en arroz analizando el total de arsénico (As-in) en el arroz. Si la concentración de As-in es inferior al NM de As-in no es necesario ningún ensayo ulterior y se determina que la muestra cumple el NM. Si la concentración de As-tot es superior al NM de As-in, se realizarán ensayos de seguimiento para determinar si la concentración de As-ines superior al NM
Sal, calidad alimentaria	0,5		La norma correspondiente de Codex para productos es CODEX STAN 150-1985

CODEX STAN 193 – 1995

**Tabla 2***Niveles Máximos Permitidos en Cadmio.*

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/Kg	Partge del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Hortalizas de hojas	0,2	Todo producto que se comercializa normalmente, después de eliminar las hojas claramente descompuestas o marchitas	El NM también es aplicable a las hortalizas de hojas brasicáceas
Hortalizas leguminosas	0,1	Producto entero que se consume- Las formas frescas se pueden consumir como vainas enteras o como el producto sin vaina	
Legumbres	0,1	Todo el producto	El NM no es aplicable a la soya (seca)
Raíces y tubérculos	0,1	Todo el producto después de eliminar las puntas. Eliminar el suelo adherente (p. ej. Enjuagádola con agua corriente o cepillando suavemente el producto seco) Patatas (papa), patatas peladas	El NM no es aplicable al apio nabo
Hortalizas de tallos y brotes	0,1	Todo el producto que se comercializa después de eliminar las partes claramente descompuestas o marchitas Ruibarbo: brotes de hojas sólo Alcachofa: la cabeza solamente Apios y espárragos: eliminar el suelo adherente	
Cereales en grano	0,1	Todo el producto	El NM no es aplicable al trigo sarraceno, cañihua, quinua, trigo y arroz
Arroz pulido	0,4	Todo el producto	
Trigo	0,2	Todo el producto	El NM se aplica al trigo blando, trigo duro, espelta y escanda

CODEX STAN 193 – 1995

**Tabla 3***Niveles Máximos Permitidos en Plomo*

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/Kg	Partge del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Grasas y aceites comestibles	0,1	Todo el producto como se prepara la distribución al mayoreo o al menudeo	Las normas correspondientes del Codex para productos con CODEX STAN 19-1981, CODEX STAN 33-1981, CODEX STAN 210-1999 y CODEX STAN 211-1999
Grasas para untar y mezclas de grasas para untar	0,1		La norma correspondiente del Codex para productos en CODEX STAN 256-2007
Leche	0,02	Todo el producto	La leche es secreción mamaria normal de animales mamíferos obtenida de una o más ordeñas sin adición ni extracción, destinada al consumo como leche líquida o para ulterior elaboración
Productos lácteos secundarios	0,02	Todo el producto	El NM se aplica a los alimentos tal como se consumen
Preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes	0,01	Todo el producto	La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 72-1981 El NM se aplica a los preparados para lactantes tal como se consumen
Pescado	0,3	Todo el producto (en general después de la extracción del tracto digestivo)	
Aguas minerales naturales	0,01		Las normas correspondientes del Codex para productos es CODEX STAN 150-1985
Sal, calidad alimentaria	2		Las normas correspondientes del Codex para productos es CODEX STAN 150-1985
Vino	0,2		

CODEX STAN 193 – 1995

**Tabla 4**

*Niveles Máximos Permitidos en Mercurio*

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) mg/Kg	Partge del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Aguas minerales naturales	0,001		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 108-1981
Sal, calidad alimentaria	0,1		La norma correspondiente del Codex para productos es CODEX STAN 150-1985

CODEX STAN 193 – 1995

**2.1.3 Métodos de digestión de metales pesados**

Los principales aspectos y requisitos en la destrucción de materiales orgánicos, para la determinación de los componentes metálicos son (Calvo, 1984, p. 11):

- a) La oxidación. Debe ser realizada en un periodo de tiempo razonable sin peligro y sin necesidad de mucha atención o aparatos especiales.
- b) La recuperación del metal, Debe ser adecuada:
  - 1) Sin volatilización
  - 2) Que no ocurra retención en las paredes del recipiente
  - 3) La reacción no debe producir una disolución incompleta del metal, ni formar especies que interfieran en las reacciones de separación y determinación.
- c) El recipiente no debe introducir contaminación
- d) Debe existir la posibilidad de usar muestras grandes

e) Se debe aplicar una variedad de materiales.

La destrucción de la materia orgánica puede realizarse mediante los siguientes métodos:

a) **Método de Incinerado en Seco (Dry Ashing).**- El método de incinerado en seco de la materia orgánica consiste en descomponer la materia a altas temperaturas en presencia de oxígeno atmosférico. En el procedimiento típico la muestra es pesada en un crisol limpio de sílice o platino, cubierto con un plato de cristalización, y secado bajo una lámpara hasta que el agua se haya evaporado y la muestra tome una apariencia quebradiza y frágil. Luego la muestra es colocada en una mufla generalmente a 500°C hasta completar el incinerado. Después que la muestra se ha enfriado se disuelve con un ácido mineral diluido (Calvo, 1984, p. 17)

Las pérdidas por volatilización son serias para Hg y Se, por lo que para las determinaciones de estos elementos no es recomendable el método en seco. Se ha reportado que ciertos elementos como As, Br, Cd, Cr, Fe, Pb, U y Zn pueden volatilizarse durante el incinerado en seco y bajo determinadas condiciones experimentales (Calvo, 1984, p. 17)

Pérdidas reportadas durante el incinerado en seco (Calvo, 1984, p. 24):

1) **Arsénico.**- Se han encontrado pérdidas en muestras de sangre; puede volatilizarse como un compuesto desconocido a 56°C

- 2) **Boro.**- Se volatiliza con vapor de soluciones acidas.
- 3) **Cadmio.**- Volátil, posiblemente como cloruro, o metal, entre 400°C y 500°C
- 4) **Cromo.**- Se volatiliza como cloruro de cromilo a temperaturas bajas en condiciones oxidantes.
- 5) **Cobre.**- Volátil como compuestos porfirínicos o porfínicos cuando se queman muestras de petróleo. Se volatiliza de vinagre, posiblemente como acetato de cobre a temperaturas bajas. Se reduce a metal, el cual no se disuelve con HCl
- 6) **Hierro.**- Volátil como cloruro férrico a 450°C, y como compuestos de porfínicos cuando se queman muestras de petróleo. Cuando se incineran materiales con una proporción alta de P: Fe, se forma un compuesto, el cual es resistente a la disolución y a la hidrólisis, causando resultados bajos.
- 7) **Plomo.**- Se volatiliza en muestras de sangre o petróleo, a menos que esté presente sulfato.
- 8) **Mercurio.**- Volátil como metal a temperaturas menores de 450°C
- 9) **Níquel.**- Cuando se queman muestras de petróleo se volatiliza como compuestos.
- 10) **Fósforo.**- Volátil como uno de los oxiácidos, especialmente cuando esté presente sulfato, excepto en la presencia de un exceso de Mg
- 11) **Vanadio.**- Volátil como compuestos de "porphyrin" al quemar muestras de

petróleo y como cloruro a temperaturas menores de 450°C

**12) Zinc.-** Volátil como cloruro a menos de 450°C

**b) Vía Húmeda – Horno Microondas.-** La mineralización de la muestra también se puede hacer por vía húmeda en  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  con utilización de radiación electro termal (microondas), porque se reduce el tiempo necesario para la digestión de las muestras, además de presentar menor peligro de contaminación y de pérdida de muestra y condiciones de laboratorio más reproducibles. Básicamente, la técnica consiste en una digestión ácida en recipientes cerrados a los que se somete a un campo electromagnético oscilatorio generado por un horno microondas. Los ácidos utilizados y las etapas de tiempo y potencia dentro de dicho horno son muy variables en función del tipo de materia a digerir (Jiménez, 2017, p. 61)

Teoría del Calentamiento con Microondas, el incremento de la temperatura de las soluciones puede producirse por rotación del momento dipolar o por conducción iónica.

Rotación del momento dipolar.- Cumpliendo con la ley de Coulomb, el momento dipolar del agua o de otras sustancias polares se alinea con el campo magnético de la radiación; al variar en forma alterna el campo magnético de la microonda se produce la rotación del momento dipolar del agua o de la

sustancia polar en su intento de seguir el campo magnético, esto produce fricciones entre las moléculas (Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p. 2–29)

Momento dipolar de algunas moléculas en fase gaseosa:

HCl-1,08; H<sub>2</sub>S<sup>-</sup> 1,10; HF<sup>-</sup> 1,82; H<sub>2</sub>O<sup>-</sup> 1,87; CH<sub>3</sub>Cl<sup>-</sup> 1,87; HNO<sub>3</sub><sup>-</sup> 2,17

**2) Conductión iónica.**- En ausencia de campo eléctrico, los iones están distribuidos en forma de una nube simétrica; en presencia de un campo eléctrico, la nube iónica se distorsiona electroforéticamente, dicho de otra forma, los cationes se dirigen hacia el sitio cargado negativamente del campo eléctrico de la microonda, los aniones experimentan un desplazamiento hacia la región positiva del campo eléctrico, y dado que el campo eléctrico de la microonda es alterno, se producen desplazamientos continuos que producen fricciones entre los iones (Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p. 2 – 30)

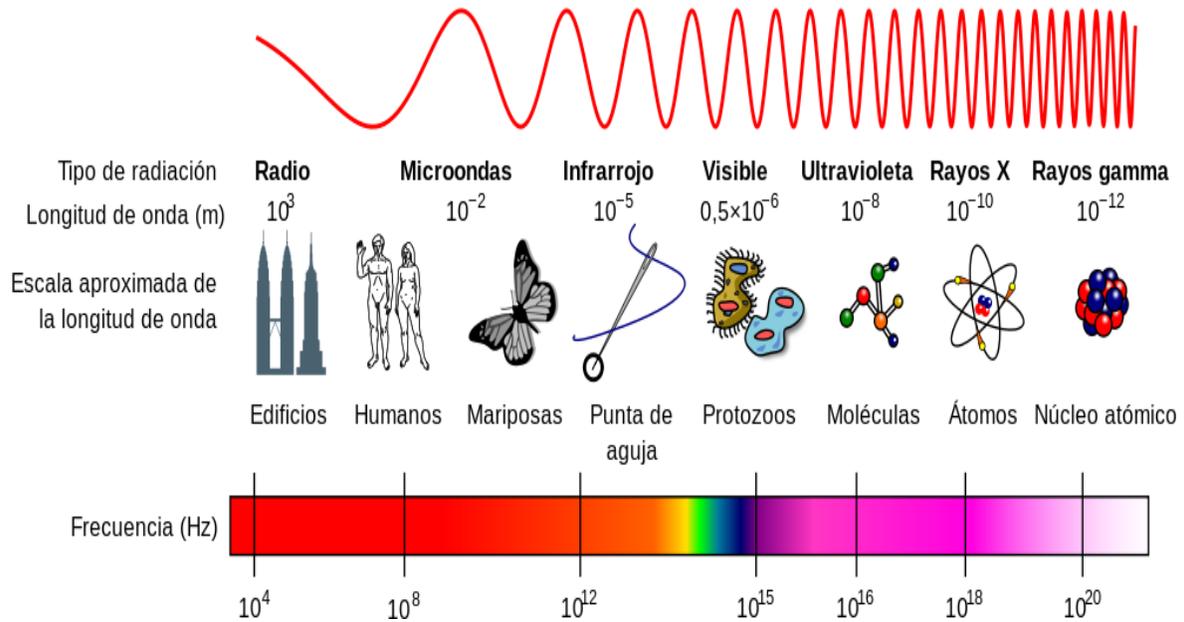
Las fricciones que ocurren en ambos mecanismos producen incrementos rápidos y eficientes de temperatura en la solución. Con frecuencia el agua es el componente mayoritario presente en los procesos de digestión, por tal motivo, la rotación del momento dipolar del agua es la que generalmente contribuye más al incremento de temperatura. Cualquier compuesto que posea un dipolo importante, o alguna especie iónica, puede interactuar con las microondas, y así se incrementa la temperatura. La concentración de las

especies que interactúan con las microondas es el factor más importante en el calentamiento de la mezcla sometida al proceso de digestión (Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p.2 – 30)

El espectro de microondas va de 300 a 300 000 MHz **ver figura 2 (ver p. 25)** Los Hornos de microondas de laboratorio y los domésticos, generalmente emiten energía de 2 450 MHz. En los últimos años se han optimizado la tecnología de microondas para los equipos de laboratorio. Actualmente se producen instrumentos comerciales de excelentes características para disolver y descomponer muestras (Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p.2 – 31)

**Figura 2**

*Microondas – Escala aproximada de Longitud de Onda*



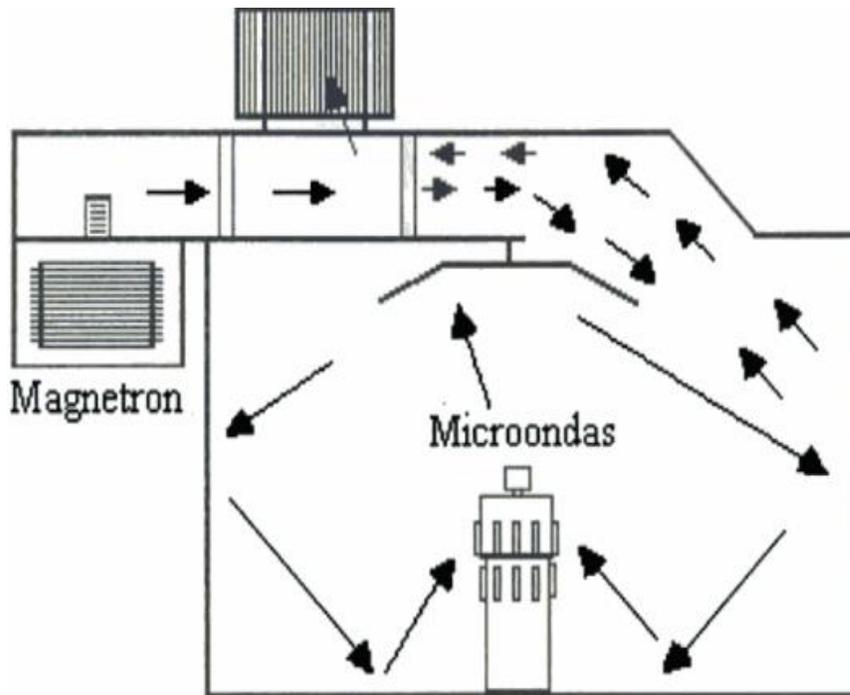
//pedroalberto.mex.tl/1617933

**b) Horno de microondas.-** Es un método fisicoquímico de digestión a presión utilizado para mineralizar el material de la muestra y preparar una disolución de medida que contenga los elementos que se van a determinar **ver Figura 3 (p. 26)** Este procedimiento mantendrá una relación con el contenido total de elementos en función de los reactivos y los procedimientos de determinación utilizados. Se homogeniza la muestra evitando su contaminación. Posteriormente se digiere con ácido nítrico (en ocasiones, con la adición de

otros ácidos) a alta temperatura y presión en un vial cerrado, aplicando un calentamiento convencional o mediante microondas (EN 13805:2014, p. 6)

**Figura 3**

*Horno de Microondas para laboratorio.*



(Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p.2 – 32)

Los sistemas de calentamiento basados en microondas deben disponer de un sistema de medida de la temperatura. La temperatura de la disolución de digestión puede medirse de forma interna y/o externa. Se obtienen valores fiables de medida de la temperatura, por ejemplo, mediante sensores introducidos dentro del vial de presión. Cuando se utiliza un sensor de infrarrojos

para medir la temperatura del vial, debe confirmarse mediante consulta al fabricante que la temperatura que aparece en pantalla corresponde a la temperatura de la disolución en el vial de presión (EN 13805:2014, p. 7)

Si la temperatura de digestión supera los 230°C, el uso de cuarzo supone una ventaja. Para la determinación de mercurio y otros elementos, que se adsorben con facilidad sobre las superficies rugosas (por ejemplo, de antimonio), se recomienda el uso de cuarzo (EN 13805:2014, p. 8)

#### 1) Poder de Transporte De Energía de un Horno Microondas

- Se puede medir por la capacidad para calentar  $1\ 000 \pm 2$  ml de agua colocada en un vaso de polipropileno de 1 L, a una temperatura inicial ( $T_i$ ) de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  Para efectuar la evaluación, remueva de la cavidad del instrumento la tornamesa, las guías y los vasos. Ajuste el flujo de aire al mínimo, programe el instrumento para una corrida de 120 s al 100% de poder de salida, mida la temperatura inicial ( $T_i$ ) con precisión de  $0,05^\circ\text{C}$ , coloque el vaso en la esquina delantera derecha del instrumento tomando en cuenta que el equipo está frente al operador, caliente el agua durante el tiempo programado, Al finalizar el ciclo retire el vaso de la cavidad, agite para homogenizar la energía calorífica, mida la temperatura final ( $T_f$ ) con precisión de  $0,05^\circ\text{C}$  (Villegas, Acereto y Vargas, 2006, p. 2 – 34)

- 2) Equipo de digestión Ultrawave- Milestone Tecnología de Cámara de Reacción Única.
- 3) El Ultrawave se basa en el SRC (Cámara de reacción única) tecnología de cámara, inventada (Patentes pendientes) por Hito hace varios años **ver figura 4 (ver p. 29)** La tecnología SRC alcanza extraordinarias capacidades de rendimiento combinando el calentamiento por microondas con alta presión. Reactor que actúa simultáneamente como microondas, cavidad y vaso. La cámara de reacción está sellada, presurizada, calentada, enfriada, ventilada y abierta a través de un terminal de control de pantalla táctil delicado. Cargando un rack de muestras en la cámara es el único manual.
- 4) La operación en un proceso completamente automatizado. Las superficies exteriores del recipiente de acero inoxidable permanecen a Temperatura ambiente en todo el microondas (Milestone Ultrabook).

Es una cámara de reacción de acero inoxidable de 1 L revestida con teflón, que sirve como cavidad de microondas y recipiente de reacción. Las muestras se pesan en viales y se agregan reactivos adecuados. Los viales se colocan en un estante, que se introduce automáticamente en la cámara de reacción. La cámara está sellada y presurizada con gas inerte, que actúa físicamente como un tapón para los viales, evitando la ebullición de las soluciones y evitando la contaminación

cruzada. Una vez finalizado el funcionamiento del microondas, un dispositivo de refrigeración incorporado reduce rápidamente la temperatura.

#### **Figura 4**

*Equipo Ultrawave Milestone*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

#### **a) Secuencia de Funcionamiento (Milestone)**

- 1) Cargando, en el núcleo de Ultrawave hay un recipiente de reacción revestido con TFM. Las muestras se pesan en viales y se añaden reactivos adecuados. El estante con viales se baja automáticamente a la cámara de reacción **ver figura 5 (p. 30)**

**Figura 5**

*Estante con Viales*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

- 2) Cierre y presurización, la cámara esta sellada y presurizada con gas inerte ( $N_2$ ), que actúa físicamente como un tapón para los viales, evitando la ebullición de las soluciones y evitando la contaminación cruzada **ver figura 6 (ver p. 31)**
- 3) Calefacción y enfriamiento, se aplica energía de microondas, con todas las muestras a las mismas condiciones de temperatura y presión. Al final de la ejecución de microondas, un dispositivo de enfriamiento reduce rápidamente la temperatura de las soluciones **ver figura 7 (ver p. 31)**

**Figura 6**

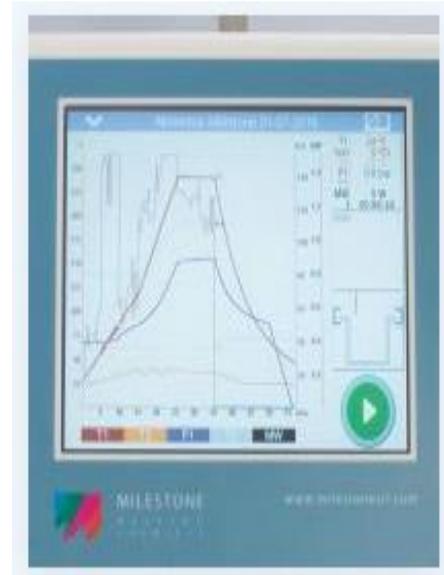
*Sellado de Cámara de Reacción.*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Figura 7**

*Grafica de Temperatura y Presión en ejecución.*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

- 4) Liberación de presión y apertura, todo el bastidor se levanta automáticamente para facilitar la eliminación de los viales de la solución. Como ayuda visual para el usuario, el color del logotipo retroiluminado indica el estado del proceso **ver figura 8**

**Figura 8**

*Apertura de la cámara de reacción.*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

### **2.1.3 Reactivos para el Análisis de Digestión**

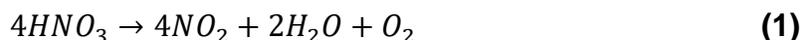
La concentración de elementos traza en el agua y en los reactivos utilizados debe ser lo suficientemente baja como para no afectar a los resultados de la determinación.

- a) **Ácido nítrico**.- fracción en masa no inferior al 65% (w/w) y densidad de aproximadamente  $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/ml}$

El ácido Nítrico se halla en la atmósfera luego de las tormentas eléctricas. El Ácido nítrico puro es un líquido viscoso, incoloro e inodoro, se descompone lentamente por la acción de la luz, adoptando una coloración amarilla por el  $\text{NO}_2$  que se produce en la reacción. En el aire húmedo despide humos blancos. Su punto de fusión es de  $-43^\circ\text{C}$  y su punto de ebullición es de  $83^\circ\text{C}$  pero a esa temperatura se acentúa su descomposición. Es soluble en agua en cualquier proporción y cantidad y su densidad es de 1,5 g/ml A menudo, distintas impurezas lo colorean de amarillo–marrón. A temperatura ambiente libera humos rojos o amarillos (ECURED.CU/Ácido Nítrico, 2010)

El ácido nítrico concentrado tiñe la piel humana de amarillo al contacto, debido a una reacción con la Cisteína presente en la queratina de la piel.

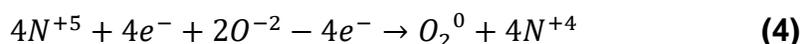
Se descompone con calentamiento:



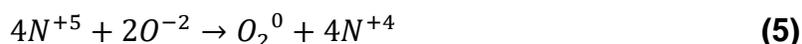
En esta descomposición se verifica una oxidación – reducción



Igualando cargas:

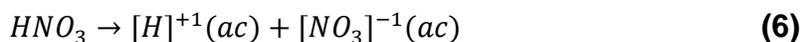


Eliminando electrones:



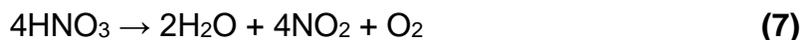
Quedando los coeficientes de la **ecuación (1)**

El nitrógeno pasa de pentavalente en el ácido nítrico a tetravalente en el dióxido de nitrógeno reduciéndose, y el oxígeno pasa de combinado a libre oxidándose. Esta descomposición la produce más lentamente la luz por eso, el ácido nítrico debe guardarse en frascos esmerilados. Los vapores rutilantes se disuelven en el ácido comunicándole a la misma coloración Rojo Pardo. Es un ácido monoprótico: Solo forma sales neutras **ecuación (4)**:



**1) Propiedades Físicas.**- El ácido nítrico reactivo de laboratorio contiene solo 68 por ciento de HNO<sub>3</sub> en peso. Esta concentración corresponde a la mezcla en ebullición constante de HNO<sub>3</sub> con agua, que tiene una presión atmosférica de 68,4 por ciento en peso, que hierve a 121,9°C

El ácido nítrico anhidro puro (100 por ciento) es un líquido incoloro con una densidad de 1 522 Kg/m<sup>3</sup> a 25°C Se solidifica a -41,6°C para formar cristales blancos y hierve a 86°C Al hervir en luz, incluso a temperatura ambiente, hay una descomposición parcial con la formación de dióxido de nitrógeno después de la reacción:



Lo que significa que el ácido nítrico anhidro debe almacenarse por debajo de 0°C para evitar la descomposición. El dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ) permanece disuelto en el ácido nítrico, colorándolo de amarillo o rojo a temperaturas más altas. Mientras que el ácido puro tiende a desprender humos blancos cuando se expone al aire. El ácido con dióxido de nitrógeno disuelto emite vapores de color marrón rojizo, lo que lleva al nombre común de «ácido rojo fumante» o «ácido nítrico fumante».

El ácido nítrico es miscible con agua en todas las proporciones y la destilación proporciona un azeótropo con una concentración de 68% de  $\text{HNO}_3$  y una temperatura de ebullición de 120,5°C a 1 atm. Se conocen dos hidratos sólidos: el monohidrato ( $\text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) y el trihidrato ( $\text{HNO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Los óxidos de nitrógeno ( $\text{NO}_x$ ) son solubles en ácido nítrico. Esta propiedad influye más o menos en todas las características físicas dependiendo de la concentración de los óxidos. Estos incluyen principalmente la presión de vapor por encima del líquido y la temperatura de ebullición, así como el color mencionado anteriormente.

El ácido nítrico está sujeto a descomposición térmica o ligera con una concentración creciente. Esto puede dar lugar a variaciones no despreciables en la presión de vapor por encima del líquido. En general los

óxidos de nitrógeno producidos se disuelven parcial o completamente en el ácido.

**2) Propiedades químicas.**- El ácido nítrico se forma mediante la reacción de pentóxido de di nitrógeno ( $N_2O_3$ ) y dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) con agua. Si la solución contiene más del 86 por ciento de ácido nítrico, se lo denomina ácido nítrico fumante. El ácido nítrico fumante se caracteriza como ácido nítrico fumante blanco y ácido nítrico fumante rojo, dependiendo de la cantidad de dióxido de nitrógeno presente (acidonitrico.info, 2019)

Es un ácido fuerte, monobásico, un poderoso agente oxidante que también nitrata muchos compuestos orgánicos, y un ácido monoprótico porque solo hay una disociación.

Es un ácido incoloro y energético, además de ser un líquido soluble en agua y ataca a todos los metales, excepto al oro y al platino. Es un ácido fuerte, oxidante, corrosivo y altamente tóxico. También se le denomina agua fuerte. Si cae entra en contacto sobre la piel se torna amarillo y en cantidades elevadas elimina el tejido.

**b) Ácido clorhídrico.**- W no inferior al 30% y aproximadamente  $\rho(HCl) = 1,15 \text{ g/ml}$

Este compuesto se puede encontrar como gas licuado, donde se conoce como Cloruro de Hidrógeno, o como soluciones acuosas de diferentes concentraciones, que corresponden al ácido propiamente dicho. A temperatura

ambiente, el Cloruro de Hidrógeno es un gas incoloro o ligeramente amarillo con olor fuerte. En contacto con el aire, el gas forma vapores densos de color blanco debido a la condensación con la humedad atmosférica. El vapor es corrosivo y, a concentraciones superiores a 5 ppm, puede causar irritación. La forma acuosa, comúnmente conocida como Ácido Muriático o Clorhídrico es un líquido sin olor a bajas concentraciones y humeante y de olor fuerte para concentraciones altas)

Está disponible comercialmente como un gas Anhidro o en forma de soluciones acuosas (Ácido Clorhídrico). El Ácido Clorhídrico comercial contiene entre 33% y 37% de Cloruro de Hidrógeno en agua. Las soluciones acuosas son generalmente incoloras, pero pueden generar ligero color azul o amarillo a causa de trazas de Hierro, Cloro e impurezas orgánicas.

Químicamente, el ácido clorhídrico es un ácido de tipo monoprótico, es decir, que solamente libera un protón ( $H^+$ ). Cuando se encuentra en disolución acuosa, dicho ion se enlaza a una molécula de  $H_2O$ , dando lugar a la producción de un ion de oxonio ( $H_3O^+$ ) (Méndez, 2013), siguiendo la reacción:



Junto al oxonio, también se da la formación de otro ion, el cloruro ( $Cl^-$ ) Por lo que el ácido clorhídrico puede ser utilizado en las preparaciones de sales de

cloruros. El HCl es un ácido considerado fuerte, pues cuando se encuentra en agua, sufre una disociación completa.

Su disolución saturada a 0°C tiene una concentración de 37% y una densidad es de 1,19 g/cm<sup>3</sup>. Por el calor y las chispas eléctricas se disocia. Es muy soluble en el agua y al disolverse desprende gran cantidad de calor. El ácido clorhídrico posee las propiedades químicas características de los ácidos. Estas propiedades se deben a la presencia de los átomos de hidrógeno en la molécula del ácido.

Este tipo de ácidos, poseen una constante de disociación de tipo ácida ( $K_a$ ), la cual nos da referencia del nivel que posee en cuando a la disociación en agua se refiere. Para un ácido como es el HCl, la  $K_a$  cuenta con un valor bastante alto. De todos los ácidos fuertes similares al HCl que existen, es éste el único que no participa o no produce reacciones de tipo rédox. Así podemos decir, que es un ácido fuerte no muy peligroso para trabajar con él, si lo comparamos con los demás, además las soluciones de HCl que cuentan con unas concentraciones medias suelen ser altamente estables, consiguiéndose mantener con el tiempo, por lo que se pueden preparar y conservar para una posterior utilización. Todo esto, junto con que se puede conseguir como reactivo en estado puro, hacen que el HCl sea un magnifico reactivo para acidificar, así como un valorante ácido estupendo en procesos volumétricos. Se usa mucho

en análisis químico para volumetrías y para la digestión de diversas muestras analíticas. También se usa para la disolución de algunos metales.

Tiene numerosos usos, debido a que es un ácido fuerte económico y volátil. Su uso más común es el de la eliminación de los restos de caliza, proceso en el cual se libera  $\text{CO}_2$  y agua tras la formación de cloruro cálcico. En la rama de la química orgánica, el HCl, viene usado a veces para sintetizar ácidos orgánicos. Aplicación importante para el HCl es también la participación para regenerar resinas con un intercambio iónico.

- c) Agua Resistencia específica > 18 megohmio-cm, Agua Ultrapura. Usada para procedimiento que requieren de máxima exactitud y precisión; tales como espectrometría atómica, fotometría de llama, enzimología, gas en la sangre, soluciones buffer de referencia y reconstitución de materiales liofilizados usados como estándares. El agua Tipo I, debe seleccionarse siempre que en la prueba sea esencial un nivel mínimo de componentes ionizados o cuando se preparan soluciones para análisis de rastreo de metales.

**1) Tratamiento de agua para obtener agua de alta pureza (ASTM, 1193: 2001)**

El agua ultrapura (tipo I), no se puede obtener con un solo proceso de purificación, es necesario la combinación de más de uno de ellos, para lograr la calidad deseada de acuerdo con sus características fisicoquímicas.

Como complemento se requiere de un tratamiento continuo y reiterativo

para preservar e incrementar su calidad. Ejemplo: Esto se puede lograr, filtrando el agua de la red de suministro en filtros de sedimentos y de carbón activado, para eliminar partículas y el cloro residual. Esta agua pasa a una unidad de osmosis inversa donde se eliminan las sales disueltas con una eficiencia de un (95% a 98%) La remoción de sales por una membrana de osmosis inversa no es suficiente si el agua que se pretende es de calidad I, II, III, por lo que el producto de la osmosis pasa a un lecho mixto de resinas catiónicas/aniónicas, mezcladas entre sí en forma tal que los equivalentes de cada resina son los mismos. El agua que sale de este lecho de resinas mixtas no necesariamente cumple con las referencias de calidad y es conveniente reciclar y pasar continuamente el agua a través de la resina mixta. Esto no solo incrementa en cada paso su calidad, sino que también el agua almacenada pierde sus cualidades, por lo que el reciclado continuo es muy conveniente. Cuando el agua producto no se emplea continuamente y se almacena por períodos, disminuye su calidad fisicoquímica. Esta configuración produce agua de óptima calidad en sus parámetros fisicoquímicos.

### **2.1.5 Preparación de la muestra**

Las muestras se preparan siguiendo las prácticas internas normales del laboratorio. Se evita en todo lo posible la contaminación con los elementos que se

van a determinar (por ejemplo, cuando se va a determinar cromo y níquel, no debe utilizarse equipamiento de acero inoxidable para la preparación de la muestra). La preparación de la muestra debe asegurar que el material de partida para la porción para análisis sea homogéneo (EN 13804:2013 p. 3)

Los alimentos con alto contenido de materia orgánica, al mezclar con los ácidos se deben cuidar evitar que no se produzcan pérdidas por salpicaduras y que se dañen los viales de digestión. Si los materiales no pueden mezclarse con agua, como por ejemplo los materiales grasos, no se añade agua. En las muestras con alcohol es imprescindible eliminar completamente el alcohol después de transferir la muestra al vial de digestión y antes de la adición del ácido, mediante un calentamiento suave, por ejemplo, en el baño de ultrasonidos termostatzado a una temperatura de 60°C. Al hacerlo, debe asegurarse de que no se producen pérdidas de los elementos que se van a determinar (EN 13804:2013 p. 8 – 9, 6.3.1)

#### **2.1.6 Principio de digestión de muestras orgánicas**

Los alimentos se mineralizan (se digieren) en recipientes cerrados con ácido nítrico a una temperatura y presión elevadas mediante calentamiento convencional o asistido por microondas. La muestra mineralizada se diluye con agua a un volumen definido para producir la solución de ensayo. Las muestras de ensayo pueden estar secas o húmedas.

**a) Condiciones en la Digestión a Presión.**- Se adapta el peso de la muestra a la capacidad del vial de digestión y al aumento máximo permisible de presión; al hacerlo, se sigue la información proporcionada por el fabricante por motivos de seguridad. El peso máximo de muestra depende del contenido de agua y del contenido de carbono de la muestra (EN 13804:2013 p. 8, 6.3.1)

En el caso de las muestras ricas en carbono, como los productos alimenticios ricos en hidratos de carbono y grasas, puede digerirse como norma un máximo de 200 mg (con una precisión de miligramos) de masa fresca. Si el contenido de carbono es inferior, la masa de muestra puede aumentarse hasta 3 g de masa fresca o 4 ml de producto líquido.

La **tabla 5 (Ver p. 43)** enumera los tipos de digestores de presión y/o microondas, y sus respectivos programas.

**Tabla 5***Parámetros de digestión informados por los participantes del ensayo*

N° Lab.	Principio de digestión	Fabricante	Modelo	Material del recipiente	Paso 1		Paso 2		Paso 3		Paso 4	
					Tiempo Min	Programa	Tiempo Min	Programa	Tiempo Min	Programa	Tiempo Min	Programa
1	Presión	MLS GmbH	microPrep A 1 200	Quartz	3	700 W	9	700 W	4	1 000 W	14	1 000 W
2	Microonda	CEM	Mars 5	PFA	20	0-600 W	10	600 W	-	-	-	-
3	Microonda	CEM	Mars 5	Quartz	5	100°C 0-600 W	5	130°C 600 W	15	160°C 600 W	5	180°C 600 W
4	Presión	Anton Paar	Multiwave 3 000	TFM	15	0-1 400 W	20	1 400 W	20	Frío	-	-
5	Microonda	CEM	Mars 5	TFM	22	0-200°C 1 200 W	10	200°C 1 200 W	-	Enfriar a temperatura ambiente	-	-
6	Microonda	CEM	Mars 5	TFM	20	0-160°C 0-600 W	20	160°C 600 W	-	-	-	-
7	Microonda	CEM	Mars Xpress	TFM	30	180°C	15	180°C	10	Enfriamiento	-	-
8	Microonda	CEM	Mars 5	TFM	20	0-190°C 0-1 200 W	5	190°C 1 200 W	-	-	-	-
9	Presión	Anton Paar	High pressure asher	Quartz	15	0-1 400 W	20	1 400 W	20	Frío	-	-
10	Presión	Anton Paar	High pressure asher	Quartz	20	20°C-90°C	10	90°C	20	90°C-150°C	30	150°C-180°C
11	Presión	Perkin Elmer	Multiwave	Quartz	2	0-500 W	5	500 W	2	500-1 000 W	20	1 000 W
12	Microonda	Milestone	Ethos Plus	Quartz	15	20-200°C 0-1000 W	25	200°C 1 000 W	20	Enfriamiento	-	-
13	Microonda	Milestone	Ethos T.C.	TFM	1	500 W	1	0 W	2,5	500 W	10	700 W

Norma AOAC 2006.03

## **21.7 Detección vía Espectrometría de Masas**

La técnica de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS, del nombre en inglés Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), es una variante de las técnicas de análisis por espectrometría de masas. Las ventajas principales de esta técnica radican en la alta precisión, bajos límites de detección y bajo coste económico, analizando la mayoría de los elementos e isótopos presentes en la tabla periódica de manera simultánea en no más de un par de minutos. Es por lo tanto una técnica ideal en el análisis de aguas, lixiviados de rocas y minerales, alimentos etc. Además, desde los últimos años la utilización del LASER acoplado al ICP-MS, permite el análisis de elementos trazas y tierras raras en minerales, fósiles, metales, semiconductores, etc., en un área de muestra de hasta 50 µm. La técnica de ICP-MS combina dos propiedades analíticas que la convierten en un potente instrumento en el campo del análisis de trazas multielemental (Fernández-Ruiz 2004)

La solución de ensayo, obtenida por digestión a presión, se transfiere al sistema de introducción de muestras del instrumento ICP-MS y se nebuliza, y el aerosol se transfiere a un plasma de argón de alta frecuencia acoplado inductivamente. La alta temperatura del plasma se utiliza para secar el aerosol y para atomizar y ionizar los elementos. Los iones se extraen del plasma mediante el conjunto compuesto por el muestreador y los tubos cónicos y se llevan a un

espectrómetro de masa por vacío, donde los iones se separan por su relación masa/carga ( $m/z$ ) y se determinan mediante un conteo de impulsos y/o un detector analógico.

Instrumentación. - Espectrómetro de masa con plasma de argón acoplado inductivamente que opera en un rango de masa de 5 amu a 240 amu. Al usar los ajustes de rutina, el espectrómetro de masas debe ser capaz de tener una resolución de un ancho de pico de 1 amu con una altura de pico del 5% o más (resolución 300) y tener una sensibilidad para alcanzar los límites de detección señalados en la **tabla 6 (Ver p. 46)**

Es posible utilizar espectrómetros de masas con reacciones adicionales o células de colisión para reducir la influencia de los iones poliatómicos. También se pueden usar espectrómetros de masas de campo sectorial, que permiten la separación de los iones poliatómicos mediante el uso de ajustes de alta resolución (Norma AOAC.2006.03, v.2016)

Un instrumento ICP-MS que tenga un sistema de nebulización con una bomba peristáltica de baja pulsación debe estar equipado con un controlador de flujo de masa para el gas nebulizador. Suministro de gas argón de pureza mínima del 99,99%. Los instrumentos utilizados en el método de ensayo se muestran en la **tabla 7 (Ver p. 47)**

**Tabla 6**

*Isótopos recomendados, límites de detección instrumental e interferencias potenciales.*

Elemento	Isótopo	Límite de detección instrumental $\mu\text{g/L}$	Interferencias por iones isobáricos o doblemente cargados.	Posibles interferencias por iones poliatómicos en función de la resolución de masas.	
				300	1000
As	75	0,5		ArCl <sup>+</sup> , KAr <sup>+</sup> , CaCl <sup>+</sup> , KS <sup>+</sup> , CaS <sup>+</sup> , CoO <sup>+</sup> , CoNH <sup>+</sup> , NiN <sup>+</sup> , NiNH <sup>+</sup>	
Au	197	Patrón internacional		TaO <sup>+</sup> , HfOH <sup>+</sup> , WOH <sup>+</sup>	
Cd	111	0,5		MbO <sup>+</sup> , MbOH <sup>+</sup> , AsAr <sup>+</sup> , SeCl <sup>+</sup> , SeS <sup>+</sup> , BrS <sup>+</sup> , ZnAr <sup>+</sup>	MbO <sup>+</sup> , MbOH <sup>+</sup>
	114	0,2	Sn <sup>+</sup>	MbO <sup>+</sup> , MbOH <sup>+</sup> , SeCl <sup>+</sup> , SeS <sup>+</sup> , SeAr <sup>+</sup> , BrCl <sup>+</sup> , BrS <sup>+</sup>	MbO <sup>+</sup> , MbOH <sup>+</sup>
Hg	200	1		HgH <sup>+</sup> , WO <sup>+</sup> , WOH <sup>+</sup>	HgH <sup>+</sup>
	202	0,2		HgH <sup>+</sup> , WO <sup>+</sup>	HgH <sup>+</sup>
Lu	175	Patrón internacional		BaCl <sup>+</sup> , BaAr <sup>+</sup> , CeCl <sup>+</sup> , LaAr <sup>+</sup>	
Pb	206	0,3		RhRh <sup>+</sup>	
	207	0,3		PbH <sup>+</sup> , IrO <sup>+</sup>	PbH <sup>+</sup>
	208	0,2		PbH <sup>+</sup> , HgC <sup>+</sup> , PtO <sup>+</sup>	PbH <sup>+</sup>
Rh	103	Norma interna		Pb <sup>2+</sup> , CuAr <sup>+</sup> , SrO <sup>+</sup> , SiOH <sup>+</sup> , SrNH <sup>+</sup>	SrO <sup>+</sup>
				KrOH <sup>+</sup> , ZnCl <sup>+</sup>	

Norma AOAC 2006.03

- a) **Determinación de Metales Pesados.**- Las operaciones de preparación de muestras van a ir en función del tipo de muestra que se considere (sólida o líquida). Para la mayoría de las muestras sólidas es necesario la disolución siendo una de las operaciones más comunes en laboratorios de química analítica. Se utilizan ácidos minerales fuerte para la digestión de la muestra. Se

combinan de forma apropiada. Generalmente se realiza en cápsulas que resisten los incrementos de presión, temperatura y el ataque de los ácidos. Un método alternativo es la fusión de la muestra con álcalis seguido por la disolución en un ácido diluido. Este método es eficaz en la digestión de minerales refractarios y minerales de mena (Fernandez – Ruiz, 2004).

**Tabla 7**

*Instrumentos ICP-MS utilizados por los participantes del ensayo*

<b>Nº de Laboratorio</b>	<b>Fabricante de instrumentos ICP-MS</b>	<b>Célula de reacción/colisión utilizada</b>	<b>Cálculos de corrección utilizados</b>
1	Thermo Electron, X Series	No	No
2	Perkin Elmer, ELAN 900	No	No
3	Perkin Elmer, ELAN 6000	No	No
4	Thermo Finnigan, Element2	No	No
5	Agilent, 7500C	No	No
6	Finnigan, MAT Element	No	No
7	Thermo Electron, X Series II	No	Sí
8	Micromass, Platform	Sí	No
9	Hewlett Packard, 4 500	No	No
10	PerkinElmer, ELAN 6 000	No	No
11	PerkinElmer, ELAN 6 000	No	No
12	Thermo Electron, PQ ExCell	No	No
13	PerkinElmer, ELAN 6 000	No	No

Norma AOAC 2006.03

La alta sensibilidad del ICP–MS y el amplio rango de elementos trazas que se incorporan en la mayoría de los protocolos, requiere un gran cuidado para evitar la contaminación durante la preparación de la muestra.

La contaminación puede proceder de:

- Molienda
- Ambiente en el laboratorio y aparatos de digestión
- Ácidos usados durante la preparación.

**1) Aspectos generales de ICP–MS.** - La correlación entre la concentración del elemento y la tasa de conteo medida es lineal en algunos órdenes de magnitud. Por lo tanto, se pueden utilizar las funciones de calibración lineal. El rango de concentración de la linealidad debe verificarse regularmente para cada elemento. Los instrumentos ICP–MS con capacidades de detector dual, que tienen un rango lineal extendido, necesitan adicionalmente una verificación regular del factor de calibración cruzada de los dos detectores.

**2) Ajustes del instrumento.** - Se deben usar los parámetros del instrumento descritos en el manual de operación del fabricante. Por lo general, se debe elegir una potencia de plasma de 1 100 – 1 500 W. Al utilizar tiempos de integración, más cortos o largos, en el isótopo, la sensibilidad, en cierta

medida, puede verse influenciada. Generalmente, se deben realizar mediciones repetidas de cada solución.

**3) Procedimientos de ajuste para el instrumento ICP-MS.**- Antes de comenzar las mediciones de rutina, se debe realizar el siguiente procedimiento de ajuste: El instrumento ICP-MS debe calentarse, como mínimo de 20 – 30 minutos, en modo funcionamiento completo. Se debe verificar la resolución de la masa, la calibración de la masa, la sensibilidad y la estabilidad del sistema mediante el uso de una solución de optimización adecuada. Con esta solución, se ajusta diariamente el instrumento ICP-MS para alcanzar las señales iónicas máximas y bajas tasas de óxido (por ejemplo, < 2%) así como bajas tasas de iones de doble carga (por ejemplo, < 2%). Si se utiliza un instrumento celular de colisión o reacción, el caudal de los gases celulares debe optimizarse para garantizar una reducción suficiente de las interferencias poliatómicas. Si se usa un espectrómetro de masas de alta resolución, se debe verificar la calibración y la sensibilidad de la masa para cada rango de resolución utilizado. Verifique los tiempos de alimentación y lavado de la muestra con respecto a la longitud del tubo. Si se esperan grandes diferencias en la concentración de las soluciones de ensayo, los tiempos de alimentación y de lavado de la muestra deben

prolongarse. El Hg es un elemento que necesita tiempos de lavado mayores después de analizar altas concentraciones.

**4) Interferencias generales.** - Diferentes tipos de interferencias pueden influir en los resultados obtenidos por las mediciones de ICP-MS. Las interferencias no espectrales son causadas, por ejemplo, por la viscosidad y la cantidad de matriz de la solución de ensayo. Las altas cantidades de sal pueden provocar efectos de deposición, especialmente en el sistema cónico. Generalmente, el nivel de sal en la solución de ensayo no debe exceder del 0,2%. Algunos de los efectos de interferencia no espectral se pueden corregir mediante el uso de patrones internos. Los efectos de memoria en el sistema de entrega de muestras pueden influir en los resultados de las muestras analizadas después de la medición de altas concentraciones. Las concentraciones de Hg especialmente altas requieren tiempos de lavado prolongados y control de las operaciones en blanco. El nivel en blanco de Hg debe mantenerse constante antes de iniciar o continuar las mediciones. En las mediciones de ICP-MS, las interferencias espectrales son de gran importancia; las más importantes se señalan en la **Tabla 6 (ver p. 46)** Los límites de detección varían de un instrumento a otro y están influenciados por factores tales como la resolución de la masa del

instrumento y la matriz, las condiciones de trabajo y el entorno del laboratorio.

El instrumento utilizado para la determinación de ICP–MS debe ser capaz de alcanzar los límites de detección instrumental señalados en la **Tabla 6 (ver p. 46)** sobre la base de soluciones patrones puros y los ajustes del instrumento utilizados para la medición de rutina. El cálculo del límite de detección se basa en 3 x desviación estándar de la solución en blanco ( $n > 20$ )

**5) Interferencias isobáricas.**- Estas interferencias son causadas por la baja resolución de los instrumentos ICP-MS, por ejemplo,  $^{114}\text{Cd}$  y  $^{114}\text{Sn}$  muestran dicha interferencia, que puede corregirse mediante el uso de fórmulas de corrección (ejemplo en la **Tabla 6, ver p. 46**) El factor de corrección se basa en las abundancias naturales de los isótopos. Generalmente, las fórmulas de corrección de interferencia se incluyen en el software del instrumento ICP–MS

Ejemplo de cálculo del factor de corrección. - Para la interferencia de  $^{114}\text{Sn}$  en la determinación de  $^{114}\text{Cd}$ . Basada en la medición de  $^{118}\text{Sn}$ , 0,65% de abundancia de  $^{114}\text{Sn}$  y 24.22 =% de abundancia de  $^{118}\text{Sn}$ :

$$(0,65 \cdot ^{114}\text{Sn}) / (24,22 \cdot ^{118}\text{Sn}) = 0,02684 \quad (9)$$

**6) Interferencias poliatómicas.** - Estas interferencias son causadas por el gas plasma, los reactivos y la matriz presentes en el plasma. Los ejemplos se señalan en la **tabla 6 (ver p. 46)** La cantidad de este tipo de interferencia está fuertemente influenciada por los ajustes de plasma del instrumento (por ejemplo, la relación de óxido) y el tipo y cantidad de matriz presente. Las correcciones pueden realizarse por factores matemáticos o por mediciones del efecto de influencia del elemento interferente **ver tabla 8 (p. 53)** La mayoría de las interferencias poliatómicas se pueden resolver mediante el uso de un espectrómetro de masas ICP de sector de campo con una resolución de masa de hasta 10 000

**7) Preparación de soluciones de calibración y soluciones de ensayo para la medición de ICP-MS.**- Todas las soluciones que se medirán mediante ICP-MS, durante las operaciones de rutina, deben contener un patrón interno o un conjunto de patrones internos. La concentración de los patrones internos debe ser igual en todas las soluciones. Para determinar el Hg, debe agregarse Au para estabilizar el Hg y minimizar los efectos de memoria en el tubo y durante la nebulización. La solución de ensayo obtenida por digestión a presión debe analizarse después de la dilución a un volumen conocido.

**Tabla 8**

*Ecuaciones para corrección de algunas interferencias isobáricas.*

<b>Isótopo</b>	<b>Corrección recomendada</b>
<sup>15</sup> As	$-3,127 \times ({}^{77}\text{Se} + 0,3220 \times {}^{78}\text{Se})$ Alternativamente: $-3,127 \times ({}^{77}\text{Se} - 0,826 \times {}^{82}\text{Se})$
<sup>114</sup> Cd	$-0,02683 \times {}^{118}\text{Sn}$

Norma AOAC 2006.03

- 8) Calibración del instrumento ICP-MS.**- Para fines de calibración, se debe usar como mínimo tres concentraciones diferentes. Mida el blanco de reactivo patrón y luego las soluciones de calibración. De acuerdo con el manual del instrumento, calcule la función de calibración. Si es necesario, se debe tener en cuenta diferentes relaciones de isótopos entre las soluciones de calibración y las soluciones de ensayo.
- 9) Análisis de las soluciones de ensayo.**- Después de la calibración del instrumento, se puede analizar las soluciones de ensayo. Las muestras obtenidas por digestión a presión deben diluirse antes de la medición para evitar la interferencia por altas concentraciones de elementos de la matriz. Si el volumen final de la solución digerida es de 20 ml – 30 ml, se recomienda una dilución por un factor de 5 – 10 para la medición de ICP-MS. En pequeños intervalos adecuados (por ejemplo, después de 5 o 10 muestras), debe verificarse regularmente la solución en blanco y una solución de calibración.

La recuperación de la solución de calibración debe estar dentro del 10%. Para altas concentraciones de Hg, se debe aplicar tiempos de lavado prolongados. El nivel en blanco para Hg debe verificarse regularmente a fin de detectar cualesquier efectos de memoria o lavado. El sistema debe ser ensayado para los tiempos de lavado utilizando el patrón de calibración más alto. Se recomienda mediciones de control en blanco después de altas tasas de conteo de estos elementos para verificar el efecto de memoria.

**10) Control de los efectos de la matriz.**- La cantidad de matriz presente en la solución de ensayo que se analizará puede crear efectos de matriz más o menos significativos en comparación con los patrones de elementos múltiples puros. Para verificar los efectos de la matriz, se agrega una cantidad conocida del patrón de elementos múltiples a la solución de ensayo. Ejemplo: de acuerdo con la preparación de las soluciones de ensayo, pipetee exactamente 2 ml de muestra de ensayo en un recipiente de muestra y agregue exactamente 7 ml de agua y 1 ml de Solución de Calibración 3. Luego agregue 0,1 ml de solución patrón interna y mezcle. La muestra no agregada se prepara de la misma manera utilizando 1 ml de agua en lugar de la solución de calibración. Las concentraciones halladas por adición del patrón no deben exceder del 10% de la concentración

agregada. En caso de mayores diferencias, los efectos de la matriz deben compensarse con una calibración con adición de patrones.

**11) Calibración con adición de patrones.**- Una calibración con adición de patrones debe consistir por lo menos en tres puntos, de los cuales dos son adiciones patrón. La concentración del patrón más alto debe ser de tres a cinco veces la concentración de la solución de la muestra. La concentración del patrón inferior debe ser la mitad del patrón más alto, es decir, 100%, 200% y 400% de la concentración inicial en la muestra de ensayo. La solución de ensayo no enriquecida se utiliza como el nivel más bajo en la curva de calibración. La regresión lineal a través de estos puntos cruza el eje de concentración negativo. El valor absoluto de este punto es la concentración del elemento en la solución de la muestra.

**12) Cálculo.**- El cálculo de la concentración generalmente se realiza automáticamente mediante el software del instrumento ICP-MS. Se realizan los siguientes pasos para cada elemento: las tasas de conteo se corrigen de acuerdo con las funciones de corrección elegidas; las tasas de conteo se miden en el blanco de reactivo patrón; y las soluciones de calibración y ensayo se normalizan en las tasas de conteo del patrón interno. Luego se calcula la función de calibración. Mediante el uso de las

tasas de conteo, se calcula la función de calibración y el factor de dilución de las concentraciones de los elementos.

El contenido,  $W$ , como fracción de masa, del elemento que se determinará en mg/Kg de la muestra se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$W = \frac{a \times V \times F}{m \times 1\,000} \quad (10)$$

En donde:

**a** : Es el contenido ( $\mu\text{g/l}$ ) del elemento de la solución de ensayo

**V** : Es el volumen (ml) de la solución de digestión después de completar el volumen

**F** : Es el factor de dilución de la solución de ensayo

**M** : Es la masa de la porción de ensayo (g)

## **22. Descripción de las actividades desarrolladas**

Durante el ensayo de metales se realizaron las siguientes actividades:

### **22.1 Preparación de Muestras Orgánicas**

Las muestras de alimentos se tratan habitualmente igual que antes de su consumo (se lavan, se pelan, se retiran las partes no comestibles). Además de los tratamientos que se acaban de mencionar, las muestras no deberían someterse a un procesamiento adicional (es decir, no deben hervirse, vaporizarse, freírse,

calentarse o someterse a tratamientos similares). Pueden realizarse algunos tratamientos diferentes, como el secado, para evitar el deterioro de la muestra. En particular, debe considerarse detalladamente la posible pérdida o transformación de analitos en los análisis de especiación. Finalmente, la muestra necesita homogenizarse (por ejemplo, por trituración) para obtener una porción de análisis homogénea. Debe evitarse al máximo la contaminación y la pérdida no controlada de líquido, por ejemplo, durante las operaciones de trituración y corte.

A continuación, se presenta el **Tabla 9 (ver p. 58), Tabla 10 y Tabla 11 (ver p. 59)**, donde se resumen las formas de preparación para diferentes matrices alimentarias:

## **2.2.2 Equipos, Materiales y Reactivos**

Durante las actividades de análisis de metales pesados por digestión vía Horno Microondas, se contemplan los siguientes puntos:

**Tabla 9***Formas de Preparación de Matrices Alimentarias*

Producto Alimenticio	Preparación de la Muestra
Leche	Se agita bien
Queso	Se retira la cubierta de cera, de manteca, o de color. La corteza comestible no debe retirarse.
Huevos	Se retira la cascara
Carne del musculo de animales de sangre caliente, hígado y riñones.	Se retira la parte de las muestras que no se van a consumir, como los huesos, los tendones, el tejido conectivo y la materia grasa. Los riñones se homogenizan enteros, ya que algunos elementos pueden no distribuirse de forma equilibrada en el tejido del riñón.
Salchichas	Se retiran las partes no comestibles, como la piel sintética.
Pescado fresco	Se enjuaga el pescado con agua. Cuando se corta, debería prestar atención en no dañar la pared abdominal para evitar la contaminación del musculo con el contenido de los intestinos. Se homogeneiza solamente el musculo, sin piel ni raspas. Las especies de pescado que normalmente se consumen con espinas y piel (escamas), como las sardinas, las anchoas, los espadines y los chanquetes, deben homogeneizarse enteros. Esto debe reflejarse claramente en el protocolo analítico

Norma Española ENN13805

**Tabla 10***Formas de Preparación de Matrices Alimentarias*

Producto Alimenticio	Preparación de la Muestra
Pescado enlatado	Se separa el pescado de la fase líquida del producto, en la medida de lo posible. Cuando todo el contenido de la lata se destina al consumo, se homogeneiza el contenido entero de la lata. El tracto digestivo visible de los crustáceos debe retirarse antes del análisis.
Mariscos, crustáceos y moluscos	La parte comestible preparada a partir de la muestra de laboratorio debería quedar limpia de fragmentos de la concha o de partes de exoesqueleto. Si se investiga la parte comestible de cefalópodos, deben retirarse de forma cuantitativa todas las partes de los intestinos (hepatopáncreas). En los cangrejos, solo debe utilizarse la carne del músculo de las extremidades.
Cereales	Debe separarse el grano de la paja. En caso sea necesario, debería triturarse la muestra hasta partículas de un tamaño lo suficientemente pequeño como para obtener una porción de análisis homogénea.
Legumbres, semillas oleaginosas, frutos secos	Se retiran las partes dañadas o sucias. Se retiran las cáscaras de los frutos secos. Las legumbres se pueden pelar si esa es la costumbre.

Norma Española ENN13805

**Tabla 11***Formas de Preparación de Matrices Alimentarias*

Producto Alimenticio	Preparación de la Muestra
Patatas	Se retiran brotes y se enjuaga con agua para retirar la tierra. Se pelan y se lavan con agua.
Vegetales con hojas	Se retiran las partes sucias, marchitas, en descomposición o deterioradas, o se lavan si resulta práctico.
Brotes de vegetales	Se retiran las hojas sucias, marchitas, en descomposición o deterioradas. Se retiran los tallos si no se destinan al consumo. Se enjuaga la muestra. Deben pelarse las muestras en las que la piel no se destina al consumo (por ejemplo: las cebollas, el colirrábano)
Raíces Vegetales	Se retiran la parte superior, las puntas, las partes sucias y deterioradas y se enjuagan con agua. Las muestras en las que la piel no se destina al consumo (por ejemplo, la remolacha roja) deben pelarse o rasparse antes de enjuagar.

Norma Española ENN13805

### **a) Equipos de Protección Personal**

- 1) Mandil manga larga, pantalón antiácido y zapatos de seguridad con punta de acero y lentes de seguridad
- 2) Guantes de nitrilo
- 3) Respirador de media cara
- 4) Cartuchos para vapores orgánicos y/o inorgánicos
- 5) Careta facial de policarbonato (contra impacto y ácido)
- 6) Campanas de extracción
- 7) Guantes anticorte

### **b) Equipos**

- 1) Balanza Analítica con una precisión de 0,1 mg
- 2) Balanza de Precisión con una precisión de 0,01 g
- 3) Horno de Microondas
- 4) Espectrómetro con Plasma acoplado inductivamente con detector de masas.
- 5) Campana Extractora
- 6) Agitador de Tubos
- 7) Equipo de Ultrasonido (desgasificador)

### **c) Materiales**

- 1) Micropipetas 1 000 ul graduada en 1 ul

- 2) Micropipetas 5 ml graduada en 0,01 ml
- 3) Gradillas
- 4) Matraces volumétricos de: 10 ml, 20 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 500 ml y 1 000 ml.
- 5) Dispensadores de 10 ml
- 6) Tubos graduados de 50 ml
- 7) Tubos descartables de plástico o vidrio, capacidad aprox. 15 ml
- 8) Tubos de ensayo de cuarzo o pírex (13,5 cm de alto x 1,4 cm de diámetro interno)
- 9) Tubos de ensayo de PTFE (13,5 cm de alto x 1,4 cm de diámetro interno)
- 10) Papel toalla

**d) Reactivos**

- 1) Ácido Clorhídrico Fumante Concentrado
- 2) Ácido Nítrico para Trazas Concentrado
- 3) Agua Tipo I.
- 4) Soluciones Estándares de 1 000 mg/Kg: Arsénico, Cadmio, Mercurio y Plomo

### **2.2.3 Limpieza de Materiales previo al análisis**

Antes de iniciar el análisis se debe asegurar la limpieza de los materiales que intervienen en la digestión para evitar contaminaciones, de la siguiente forma:

- a) Lavar con solución detergente de primer uso, enjuagar con agua desionizada, luego remojar el material al menos cuatro horas en solución de HNO<sub>3</sub> para trazas al 10% y luego enjuagar con agua Tipo 1.
- c) **Lavado de tubos de Ultrawave.**- Agregar aproximadamente 10 ml de HNO<sub>3</sub> para trazas al 10%, dejar reposar por una hora y enjuagar con agua Tipo 1.
- d) Lavar las tapas con solución HNO<sub>3</sub> para trazas al 10%, reposar por una hora y enjuagar con agua Tipo 1.
- e) Lavar las pipetas, matraces y todo material de vidrio a usar para este proceso como se indica en el diagrama de flujo.

## **224 Programa de Digestión para Matrices Alimentarias**

El peso para considerar por cada Matriz depende de la capacidad del Vial de digestión (40 ml y 15 ml)

El peso máximo para considerar dentro de la Cámara única de Reacción debe ser máximo 6 g Si las matrices son ricas en carbono, como los productos alimenticios ricos en hidratos de carbono y grasas, puede digerirse como norma un máximo de 300 mg. Si el contenido de carbono es inferior, la masa de la muestra puede aumentarse hasta 2 g de masa fresca ver **tabla 12 (p. 63) y 13 (p. 64)**

**Tabla 12***Condiciones de Digestión en el Equipo Ultrawave*

Producto	Peso (mg)	Rotor-tubo ultrawave	V1 (ml)	Sensores			Reactivos	Secuencia	Potencia	Ramp	Hold (mantener)	Presión máxima
				T1	T2	P						
HARINA DE PESCADO	500	12	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
HARINA DE POTA	400	15	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS	1000	6	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS: CONGELADOS	1000	6	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS FILETE DE ANCHOAS	1000	6	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
VERDURAS( CON MENOS DE 50% AGUA APROX)	1000	6	20	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
MANTECA DE CACAO/ ACEITE DE PESCADO	500	10	10	215[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 3 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 0.5 ml	2	1500	-	35	
							H <sub>2</sub> O 0.5 ml	3	-	-	-	

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 13***Condiciones de Digestión en el Equipo Ultrawave (continuación)*

Producto	Peso (mg)	Rotor-tubo ultrawave	V1 (ml)	Sensores			Reactivos	Secuencia	Potencia	Ramp	Hold (mantener)	Presión máxima
				T1	T2	P						
AZUCAR	500	10	10	205[]	70[]	SI	HNO <sub>3</sub> 3 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 0.5 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
FIDEOS	500	10	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
GOMA DE TARA, TARA EN POLVO	500	10	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
MEZCLA DE CEREALES	500	10	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
HOJUELA DE AVENA	500	10	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
FRUTAS (Manzana, plátano, lúcuma, chirimoya)	500	10	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	
HOLANTAO	2000	3	20	205[]	70[]	NO	HNO <sub>3</sub> 6 ml	1	1500	30	-	130
							HCl 1 ml	2	1500	-	20	
								3	-	-	-	

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

### 2.2.5 Instrucción para la Digestión en el Equipo Ultrawave

- a) Prender el chiller y el equipo Ultrawave (automáticamente cargara el software Easy Control).
- b) Retirar el vaso de 1 L que se encuentra en el equipo
- c) Agregar la mezcla de 130 ml H<sub>2</sub>O + 5 ml HNO<sub>3</sub> (**ver figura 9**):

#### Figura 9

Vaso de PTFM de 1 litro.



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

- d) Colocar el vaso en el equipo y asegurarse de colocar el o-ring
- e) Pesar secuencialmente la muestra en los viales de vidrio, cuarzo o de teflón y adicionar los reactivos según **tabla 12 (p. 63) y 13 (p. 64)**, adicionar primero el HNO<sub>3</sub> realizando una previa homogenización usando el agitador de tubos, reposar por 20 minutos, luego de que la muestra haya dejado de reaccionar con el ácido nítrico agregar el ácido clorhídrico según **tabla 12 (p.**

**63) y 13 (p. 64)**, y esperar 20 minutos de reposo antes de digestar en el equipo Ultrawave

- f)** Tapar los viales con las tapas de TFM
- g)** Colocar las muestras secuencialmente en el rotor de 15 posiciones del Ultrawave.
- h)** Mover la cubierta frontal y suspender el rack de muestra
- i)** Colocar la herramienta para nivelar el rack
- j)** Ir a "System" y presionar el icono "Down", el vaso bajara en dos tiempos retirar la herramienta y presionar nuevamente el icono "Down" para completar el cerrado.
- k)** Cerrar las abrazaderas de metal y ajustar hasta que se encuentren encima del tornillo de bloqueo.
- l)** Cerrar el pistón de seguridad.
- m)** Abrir la llave de control de presión de Nitrógeno hasta alcanzar una presión de 40 bar
- n)** Cerrar la llave de control de presión de Nitrógeno
- o)** Elegir el programa con el que se va a trabajar y clic en "Start"
- p)** Automáticamente, al final del programa, empezara el enfriamiento y se liberara la presión residual en los vasos
- q)** Cuando el icono "OK" aparece, esto significa que el programa está completo y la unidad esta lista para abrir
- r)** La temperatura de apertura del sistema debe ser a 30°C

- s) Presionar el botón para abrir el pistón de seguridad (se activará cuando la presión en el sistema sea baja igual a 0,1 bar)
- t) Girar el tornillo de bloqueo, abrir las abrazaderas de metal y pulse el botón en el software “Up” (esperar hasta que se liberen los gases de digestión mediante los extractores del equipo)
- u) Presionar nuevamente “Up” para retirar por completo el vaso
- v) Colocar el plato de muestra y remover el rack
- w) El tiempo de espera para trasvasar las muestras es de 20 min, debido a la concentración de gases nitrosos durante la digestión **(ver figura 10)**

**Figura 10**

*Rack con muestras después de la digestión*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

### **2.2.6 Trasvase de Muestra después de la Digestión**

Trasvasar a matraz volumétrico según el volumen indicado (V1) en el **cuadro 1** con agua Tipo I y enrazar.

Para muestras que serán leídas vía ICP MASAS, luego de haber llevado a volumen final (v1) se realizara una dilución 5x de la siguiente forma:

En un matraz volumétrico de 10 ml se añade 4ml de agua tipo I aproximadamente, adicionar 2 ml de la muestra que ha sido enrasada al volumen (v1) según el **cuadro 1** y enrasar a con agua Tipo I

### **2.2.7 Diagrama de Flujo para la Determinación de Metales por digestión Horno Microondas**

Ver Anexo 4 p. 66

### **2.2.8 Preparación de Soluciones de Fortificación**

- a) Para la determinación de Arsénico, Cadmio, Plomo.-** De las Soluciones Estándares de 1 000 mg/l de Arsénico, Cadmio, Plomo preparar una solución intermedia de Concentración 100 mg/l según **tabla 14**

**Tabla 14**

*Preparación de Estándares de As, Cd y Pb*

<b>Elementos</b>	<b>Concentración 1 (mg/L)</b>	<b>Alícuota a tomar a Matraz volumétrico de 50 ml</b>	<b>Concentración 2 (mg/L)</b>
As, Cd y Pb	1 000	5	100
Elementos	Concentración 2 (mg/L)	Alícuota a tomar a Matraz volumétrico de 100 ml	Concentración 3 (mg/L)
As, Cd y Pb	100	5	5

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

- b) Preparación de la solución de Hg de 1 mg/L según **tabla 15** (Ver p. 69):**

**Tabla 15***Preparación del Estándar de Hg*

Elementos	Concentración 1 (mg/L)	Alícuota a tomar a Matraz volumétrico de 50 ml	Concentración 2 (mg/l)
Hg	1 000	5	100
Elementos	Concentración 2 (mg/L)	Alícuota a tomar a Matraz volumétrico de 50 ml	Concentración 3 (mg/L)
Hg	100	5	10
Elementos	Concentración 2 (mg/L)	Alícuota a tomar a Matraz volumétrico de 50 ml	Concentración 3 (mg/L)
Hg	10	5	1

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

c) La fortificación en el caso 1 se realiza según **tabla 16**:

**Tabla 16***Fortificación de Estándares: Caso 1*

Analito	Alícuota a tomar (ml)	concentración (ug/ml)
As, Cd y Pb	0,1	5
Hg	0,2	1

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

d) Para el caso 2 de nivel de Cadmio >2,5 mg/Kg o Mercurio > 1 mg/Kg se realizará la siguiente fortificación según **tabla 17**:

**Tabla 17***Fortificación de Estándares: Caso 2*

Analito	Alícuota a tomar (ml)	Concentración (ug/ml)
As, Cd y Pb	0,2 ml	5
Hg	0,3 ml	1

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

## 2.2.9 Aseguramiento de Calidad

Los parámetros de control de calidad de resultados se basan en la **tabla**

**18**

**Tabla 18**

*Aseguramiento de Calidad*

Producto	Parámetros de control	Código (*)	Frecuencia	Monitoreo	Criterio
Matrices Alimentarias	Blanco de proceso	BK	En cada batch cada 20 determinaciones (2 blancos)	Gráfico de Blancos	≤ Límite de detección
	Repetibilidad	REP	Al 10% de las determinaciones en cada ensayo	En el CCLAS	≤ LRSDr
	Muestra Fortificada (As, Cd, Hg y Pb)	RECUP_ICP_MS	En cada batch cada 20 determinaciones	Gráfico de % de Recuperación	80 a 110%
	Solución Estándar de Control	STC_MS	En cada batch cada 20 determinaciones	En el CCLAS	En el CCLAS

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

## 2.2.10 Lectura de las muestras por ICP MASAS

Se envía las muestras al laboratorio de Medio ambiente ICP–MS para su lectura junto con la curva de calibración ver **tabla 19**:

**Tabla 19**

*Curva de Calibración*

Analito	Puntos de Calibración (ug/l)								
	ST0	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8
As	0			1	2	5	10	25	50
Cd	0	0,3	0,5	1	2	5	10	25	
Hg	0			1	2,5	5			
Pb	0		0,5	1	2	5	10	25	50

Laboratorio de Productos Orgánicos- SGS del Perú.

### 2.2.11 Punto STC – estándar control

La preparación del Estándar de Control de Curva es a partir de una solución estándar de Arsénico, Cadmio, Plomo y Mercurio los cuales deberán ser de otro Lote o Marca al preparado en la curva calibración.

El valor de la concentración del STC para As, Cd y Pb es de 5 ug/L y para Hg es 2 ug/L

### 2.2.12 Expresión de Resultados

Cálculo del analito de interés, Cadmio (mg/Kg)

$$Cd \left( \frac{mg}{kg} \right) = \frac{(POICP_{MS17\_CONCM_{Cd}} - POICP_{MS17\_BKP_{Cd}}) * (POICP_{MS17\_VOL1} * POICP_{MS17\_VOL2_{Cd}})}{POICP_{MS17\_P_{MTRA}} * POICP_{MS17\_ALICUOT_{Cd}} * 1000} * POICP_{MS17\_DIL\_LECT}$$

(11)

Donde:

<b>POICP<sub>MS17_P<sub>MTRA</sub></sub></b>	:	Peso de Muestra (g)
<b>POICP<sub>MS17_VOL1</sub></b>	:	Volumen de la muestra (ml)
<b>POICP<sub>MS17_DIL<sub>LECT</sub></sub></b>	:	Factor de dilución de la muestra
<b>POICP<sub>MS17_CONCM<sub>Cd</sub></sub></b>	:	Concentración de la muestra para el analito Cadmio (ug/L)
<b>POICP<sub>MS17_BKP<sub>Cd</sub></sub></b>	:	Concentración del blanco para el analito Cadmio (ug/L)
<b>POICP<sub>MS17_ALICUOT<sub>Cd</sub></sub></b>	:	Alícuota de la muestra para el analito Cadmio (ml)
<b>POICP<sub>MS17_VOL2<sub>Cd</sub></sub></b>	::	Volumen de la alícuota para el analito Cadmio (ml)

### III. APORTES REALIZADOS

Implementación del método de Arsénico en Aceite de Pescado modificado y validado según la Norma: *AOAC Official Method 2013.06 Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead in Foods – Modificado y Validado.*

- 1) **Objetivo.**- Establecer los parámetros de la validación del método de ensayo en la matriz de aceite de pescado.
- 2) **Alcance.**- Las matrices de aceite de pescado para determinación de Arsénico en un rango de trabajo de 186,5 ug/Kg a 40 791,5 ug/Kg

La validación de un método de ensayo establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características técnicas de dicho método cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de los resultados analíticos.

## IV. EVALUACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Recolección de datos: Se realizaron 5 réplicas (A, B, C, D, E) por cada analista para determinar su repetibilidad y ver cuáles son los valores rezagados.

Se establecieron siete niveles de precisión para tres analistas, **ver tabla 20**:

**Tabla 20**

*Datos de repetibilidad por cada Nivel de Arsénico*

Nivel 1 / ug/Kg		ARSÉNICO				
Analista	A	B	C	D	E	
1	169,7	184,4	199,4	207,9	209,6	
2	175,9	177,9	180,3	186,2	217,7	
3	167,4	169,3	176,7	187,4	187,6	
Nivel 2 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	481,4	554,8	516,6	586,7	555,8	
2	533,0	491,7	474,8	505,4	514,5	
3	554,1	530,1	480,1	491,5	485,5	
Nivel 3 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	1114,1	1110,0	1165,8	1232,6	1193,8	
2	1298,7	1136,8	1108,6	1259,9	1182,5	
3	1043,4	1093,0	1160,8	1179,9	1186,7	
Nivel 4 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	5292,2	5396,3	5494,0	5593,4	5574,0	
2	5657,9	5980,7	5494,2	5288,4	5595,3	
3	5814,7	5114,7	5351,0	5106,4	5512,1	
Nivel 5 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	10603,2	11102,1	11160,7	11260,8	11693,5	
2	10427,0	10336,1	10228,4	11449,0	11243,1	
3	10722,3	10809,3	10969,1	10987,4	11459,9	
Nivel 6 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	19150,0	18907,0	20179,5	17865,5	18967,9	
2	18998,5	19261,2	18658,3	18443,0	17956,7	
3	18313,0	19290,7	18159,0	17669,7	18457,1	
Nivel 7 / ug/Kg		A	B	C	D	E
1	39172,7	41629,3	40079,4	40951,2	41073,2	
2	39536,0	40268,5	42418,2	42710,0	43079,4	
3	39628,5	39655,4	39905,1	40555,2	41210,0	

Laboratorio de Productos Orgánicos SGS del Perú SAC

### 4.1 Prueba de consistencia de valores

Para identificar la presencia de analistas o valores individuales que parecen ser inconsistentes con todos los demás laboratorios o valores se presentan dos enfoques:

En caso de que el método de ensayo o norma indique requisitos previos para los resultados, antes de aplicar las técnicas estadística h y k de Mandel se debe verificar el cumplimiento respectivo, correspondiente a los límites de h para 5% de nivel significancia indicadas en el **anexo 3**

**Estadística usada: Prueba de consistencia h y k de Mandel**

En este caso definimos la Hipótesis nula (Ho) y la Hipótesis alterna (H):

**Ho** : Los datos son Consistentes, H: Los datos no son consistentes.

Regla de decisión:

$$h_{cal} < h_{critico}$$

$$K_{cal} < k_{critico}$$

$$h_{ij} = \frac{\overline{y_{ij}} - \overline{y_j}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p_j} (\overline{y_{ij}} - \overline{y_j})^2}{(p_j - 1)}}} \quad (12)$$

Donde:

$$y_{ij} = \textit{Promedio General}$$

$$y_j = \textit{Promedio por analista}$$

$$P_j = \textit{Numero de analistas}$$

$$k_{ij} = \frac{s_{ij} \sqrt{p_j}}{\sqrt{\sum s^2_{ij}}} \quad (13)$$

Donde:

$$s_{ij} = \text{Desviación estandar de cada analista}$$

Para un nivel de significancia al 5% los valores de h y k de Mandel se definen según **tabla 21**:

**Tabla 21**

*Estadística de Mandel (nivel de significancia al 5%)*

h crítico al 95% de confianza	k crítico al 95% de confianza
1,15	1,40

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

Cálculo de los valores de h y k de Mandel para el nivel 1 al 7 de Arsénico ver **tablas 22 (p. 75), 23 y 24 (p. 76), 25 y 26 (p. 77), 27 y 28 (p. 78)**, respectivamente:

**Tabla 22**

*Cálculo de h y k, NIVEL 1*

Analista	Datos de Arsénico Nivel 1 (ug/Kg)					$y_j$	s	$s^2$	$y_{ij}$
1	169,7	184,4	199,4	207,9	209,6	194,2	16,9	287,0	
2	175,9	177,9	180,3	186,2	217,7	187,6	17,3	298,1	186,5
3	167,4	169,3	176,7	187,4	187,6	177,7	9,6	92,4	

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	h	K
1	7,71	59,39	0,93	1,13
2	1,11	1,22	0,13	1,15
3	8,81	77,67	1,06	0,64
Sumatoria		138,292		
Denominador de h		8		
Denominador de k		15,03		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 23**

Cálculo de h y k, NIVEL 2

Analista	Datos de Arsénico Nivel 2 (ug/kg)					$y_j$	$s$	$s^2$	$y_{ij}$
1	481,4	554,8	516,6	586,7	555,8	539,1	40,7	1656,7	
2	533,0	491,7	474,8	505,4	514,5	503,9	22,1	489,3	517,1
3	554,1	530,1	480,1	491,5	485,5	508,3	32,3	1042,5	

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	h	K
1	21,99	483,71	1,15	1,25
2	13,19	173,89	0,69	0,68
3	8,81	77,56	0,46	0,99
Sumatoria		735,152		
Denominador de h		19,17		
Denominador de k		32,60		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

**Tabla 24**

Cálculo de h y k, NIVEL 3

Analista	Datos de Arsénico Nivel 3 (ug/kg)					$y_j$	$s$	$s^2$	$y_{ij}$
1	1114,1	1110	1165,8	1232,6	1194	1163,3	52,4	2750,1	
2	1298,7	1136,8	1108,6	1259,9	1183	1197,3	80,5	6486,9	1164,4
3	1043,4	1093	1160,8	1179,9	1187	1132,8	62,2	3871,0	

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	h	K
1	1,18	1,39	0,04	0,79
2	32,86	1079,78	1,02	1,22
3	31,68	1003,62	0,98	0,94
Sumatoria		2 084,794		
Denominador de h		32,29		
Denominador de k		66,10		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 25***Cálculo de h y k, NIVEL 4*

Analista	Datos de Arsénico Nivel 4 (ug/kg)					$y_j$	$s$	$s^2$	$y_{ij}$
1	5292,2	5396,3	5494	5593,4	5574	5470,0	126,2	15916,0	
2	5657,9	5980,7	5494,2	5288,4	5595	5603,3	253,2	64135,2	5484,4
3	5814,7	5114,7	5351	5106,4	5512	5379,8	296,9	88124,1	

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	$h$	$K$
1	14,37	206,59	0,13	0,53
2	118,95	14 148,31	1,06	1,07
3	104,57	10 935,58	0,93	1,25
Sumatoria		25 290,484		
Denominador de h		112,45		
Denominador de k		236,77		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 26***Cálculo de h y k, NIVEL 5*

Analista	Datos de Arsénico Nivel 5 (ug/kg)					$y_j$	$s$	$s^2$	$y_{ij}$
1	10 603,2	11 102,1	11 161	11 260,8	11 694	11 164,1	389,9	152 019,9	
2	1 042,7	10 336,1	10 228	11 449,0	11 243	10 736,7	565,4	319 643,9	10 963,5
3	10 722,3	10 809,3	10 969	10 987,4	11 460	10 989,6	285,3	81 391,1	

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	$h$	$K$
1	200,60	40 240,36	0,93	0,91
2	226,74	5 1411,03	1,06	1,32
3	26,14	683,30	0,12	0,66
Sumatoria		92 334,687		
Denominador de h		214,87		
Denominador de k		429,36		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 27**Cálculo de *h* y *k*, NIVEL 6

Analista	Datos de Arsénico Nivel 6 (ug/kg)				$y_j$	<i>s</i>	$s^2$	$y_{ij}$
1	1 9150	1 8907	20 180	178 65,5	18 968	19 014,0	823,0	677 378,2
2	18 998,5	19 261,2	18 658	18 443,0	17 957	18 663,5	504,4	254 421,0
3	1 8313	19 290,7	18 159	17 669,7	18 457	18 377,9	590,2	348 288,2

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	<i>h</i>	<i>K</i>
1	328,84	108 135,75	1,03	1,26
2	21,60	466,56	0,07	0,77
3	307,24	94 396,42	0,96	0,90
Sumatoria		202 998,723		
Denominador de <i>h</i>		318,59		
Denominador de <i>k</i>		653,22		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 28**Cálculo de *h* y *k*, NIVEL 7

Analista	Datos de Arsénico Nivel 7				$y_j$	<i>s</i>	$s^2$	$y_{ij}$
1	39 172,7	41 629,3	40 079	40 951,2	41 073	40 581,2	963,5	928 288,3
2	39 536,0	40 268,5	42 418	42 710,0	43 079	41 602,4	1 590,8	2 530 783,6
3	39 628,5	39 655,4	39 905	40 555,2	41 210	40 190,8	681,2	464 003,7

Analista	$(y_{ij} - y_j)$	$(y_{ij} - y_j)^2$	<i>h</i>	<i>K</i>
1	210,31	44 231,700	0,29	0,84
2	810,95	657 634,500	1,11	1,39
3	600,63	360 760,400	0,82	0,60
Sumatoria		1 062 626,595		
Denominador de <i>h</i>		728,910		
Denominador de <i>k</i>		1 143,540		

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

Como el *h* y *k* calculado al 95% de confianza es menor a los valores críticos y tablas al 95% de confianza, para todos los niveles de concentración de

los analitos estudiados, podemos afirmar que los datos obtenidos por el laboratorio para todos los niveles de concentración de los analitos estudiados son consistentes **ver tabla 29:**

**Tabla 29**

*Resumen de Evaluación de la Consistencia de datos*

Nivel	Analistas	$h_{AJ}$ calculado	$k_{AJ}$ calculado	$h$ crítico al 95% de confianza	$k$ crítico al 95% de confianza	Evaluación de la Consistencia al 95 % de confianza
1	1	0,93	1,13	1,15	1,40	Consistente
	2	0,13	1,15			Consistente
	3	1,06	0,64			Consistente
2	1	1,15	1,25	1,15	1,40	Consistente
	2	0,69	0,68			Consistente
	3	0,46	0,99			Consistente
3	1	0,04	0,79	1,15	1,40	Consistente
	2	1,02	1,22			Consistente
	3	0,98	0,94			Consistente
4	1	0,13	0,53	1,15	1,40	Consistente
	2	1,06	1,07			Consistente
	3	0,93	1,25			Consistente
5	1	0,93	0,91	1,15	1,40	Consistente
	2	1,06	1,32			Consistente
	3	0,12	0,66			Consistente
6	1	1,03	1,26	1,15	1,40	Consistente
	2	0,07	0,77			Consistente
	3	0,96	0,90			Consistente
7	1	0,29	0,84	1,15	1,40	Consistente
	2	1,11	1,39			Consistente
	3	0,82	0,60			Consistente

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

#### **4.2 Prueba de Normalidad de Datos**

Una forma de comprobar si los datos generados siguen una Distribución Normal es empleando la Prueba de Anderson–Darling Normality Test. Esta

prueba se aplica a datos provenientes de una muestra aleatoria y se emplea los residuales (RESI1)

**Ho** : Hipótesis Nula

La muestra aleatoria tiene una distribución normal

**Ha** : Hipótesis Alterna

La muestra aleatoria no tiene una distribución normal

El cálculo de residuales para los niveles 1 al 7 de Arsénico se muestran en las **tablas 30, 31 (p. 81), 32 (p. 82), 33 (p. 83), 34 (p. 84), 35 (p. 85) y 36 (p. 86)**, donde  $p_{value} > 0,05$  por lo tanto se aprueba la Hipótesis nula donde la muestra aleatoria tiene una distribución normal.

**Tabla 30**

*Nivel I de arsénico*

Analista	Arsénico ug/Kg	RESI1
1	169,7	-24,500
	184,4	-9,800
	199,4	5,200
	207,9	13,700
	209,6	15,400
	175,9	-11,700
2	177,9	-9,700
	180,3	-7,300
	186,2	-1,400
	217,7	30,100
	167,4	-10,280
3	169,3	-8,380
	176,7	-0,980
	187,4	9,720
	187,6	9,920
P_VALUE:		0,357

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

**Tabla 31***Nivel II de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RESI1</b>
	481,4	-57,660
	554,8	15,740
1	516,6	-22,460
	586,7	47,640
	555,8	16,740
	533,0	29,120
	491,7	-12,180
2	474,8	-29,080
	505,4	1,520
	514,5	10,620
	554,1	45,840
	530,1	21,840
3	480,1	-28,160
	491,5	-16,760
	485,5	-22,760
	481,4	-57,660
	P_VALUE:	0,665

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

**Tabla 32***Nivel III de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RESI1</b>
	1114,1	-49,160
	1110,0	-53,260
1	1165,8	2,540
	1232,6	69,340
	1193,8	30,540
	1298,7	101,400
	1136,8	-60,500
2	1108,6	-88,700
	1259,9	62,600
	1182,5	-14,800
	1043,4	-89,360
	1093,0	-39,760
3	1160,8	28,040
	1179,9	47,140
	1186,7	53,940
	P_VALUE:	0,454

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 33***Nivel IV de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RES11</b>
	5292,2	-177,780
	5396,3	-73,680
1	5494,0	24,020
	5593,4	123,420
	5574,0	104,020
	5657,9	54,600
	5980,7	377,400
2	5494,2	-109,100
	5288,4	-314,900
	5595,3	-8,000
	5814,7	434,920
	5114,7	-265,080
3	5351,0	-28,780
	5106,4	-273,380
	5512,1	132,320
	P_VALUE:	0,631

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 34***Nivel VI de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RESI1</b>
	19150,0	136,020
	18907,0	-106,980
1	20179,5	1 165,520
	17865,5	-1148,480
	18967,9	-46,080
	18998,5	334,960
	19261,2	597,660
2	18658,3	-5,240
	18443,0	-220,540
	17956,7	-706,840
	18313,0	-64,900
	19290,7	912,800
3	18159,0	-218,900
	17669,7	-708,200
	18457,1	79,200
	P_VALUE:	0,494

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 35***Nivel V de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RESI1</b>
	10603,2	-560,860
	11102,1	-61,960
1	11160,7	-3,360
	11260,8	96,740
	11693,5	529,440
	10427,0	-309,720
	10336,1	-400,620
2	10228,4	-508,320
	11449,0	712,280
	11243,1	506,380
	10722,3	-267,300
	10809,3	-180,300
3	10969,1	-20,500
	10987,4	-2,200
	11459,9	470,300
	P_VALUE:	0,318

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 36***Nivel VII de arsénico*

<b>Analista</b>	<b>Arsénico ug/Kg</b>	<b>RESI1</b>
	39 172,7	-1 408,460
	41 629,3	1 048,140
1	40 079,4	-501,760
	40 951,2	370,040
	41 073,2	492,040
	39 536,0	-2 066,420
	40 268,5	-1 333,920
2	42 418,2	815,780
	42 710,0	1 107,580
	43 079,4	1 476,980
	39 628,5	-562,340
	39 655,4	-535,440
3	39 905,1	-285,740
	40 555,2	364,360
	41 210,0	1 019,160
P_VALUE:		0,399

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

### 4.3 Homogeneidad Numérica

El cálculo de la homogeneidad numérica se realizará con la prueba estadístico de Bartlett, donde las hipótesis serán:

**Hipótesis Nula:****Ho** : Existe homogeneidad de varianzas**Hipótesis Alterna:****Ha** : La menos una varianza es diferente de las demás.

## Test estadístico

Prueba de Bartlett: consiste en calcular una estadística cuya distribución muestral es aproximadamente, chi cuadrado con  $p-1$  grados de libertad cuando las muestras aleatorias provienen de poblaciones normales independientes. El estadístico de la prueba es:

$$\chi_0^2 = 2.3026 \frac{q}{C} \quad (14)$$

Donde los valores de  $q$  y  $C$  se calculan de la siguiente manera:

$$q = \left( \sum_{i=1}^p n_i - p \right) \log_{10} S_p^2 - \sum_{i=1}^p (n_i - 1) \log_{10} S_i^2 \quad (15)$$

$$S_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^p (n_i - 1) S_i^2}{\sum_{i=1}^p n_i - p} \quad (16)$$

$$C = \frac{1}{3(p-1)} + \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \left[ \frac{1}{n_i - 1} - \frac{1}{\sum_{i=1}^p n_i - p} \right] \quad (17)$$

Siendo:

- $S_i^2$**  : Es la varianza muestral de la  $i$  – ésima población.
- $n_i$**  : Número de resultados de ensayo obtenidos en un analista en un nivel (es decir por celda)
- $P$**  : Número de analistas que participan en el experimento.

Los valores de  $X^2_{\text{calculado}}$  para cada nivel de Arsénico se muestran en la **tabla 37**, donde se concluye que hay homogeneidad de varianzas.

**Tabla 37**

*Homogeneidad Numérica de los Niveles de Arsénico*

Producto	Analito	Nivel	$X^2_{\text{Calculado}}$	$X^2_{\text{Crítico}}$	Evaluación
Aceite de pescado	Arsénico	I	1,354	5,99	Homogéneo
		II	1,264		Homogéneo
		III	0,680		Homogéneo
		IV	2,420		Homogéneo
		V	1,656		Homogéneo
		VI	0,929		Homogéneo
		VII	2,587		Homogéneo

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

#### 4.4 Precisión del método

La medición de la precisión generalmente es expresada en términos de imprecisión o calculada como una desviación estándar de los resultados de ensayo. Una mayor desviación estándar refleja una menor precisión.

Se determinaron mediante el estadístico ANOVA de un factor para el Nivel 1 de Arsénico **ver tabla 38 (p. 89)**:

Realizando los cálculos:

Varianza entre grupos:

$$Sd * Sd = 345,730667$$

Varianza dentro de los grupos:

$$Sr * Sr = 225,847333$$

**Tabla 38***Análisis de varianza de un factor*

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	971,0	194,2	287,045
Fila 2	5	938,0	187,6	298,060
Fila 3	5	888,4	177,68	92,437

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	691,4613333	2	345,730667	1,530815802	0,255773385	3,88529383
Dentro de los grupos	2710,168	12	225,847333			
Total	3401,629333	14				
Total	1,476746667	29				

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

La desviación estándar entre analistas:

$$S_L^2 = S_r^2 + S_d^2 \quad (18)$$

$$S_L^2 = 23,97666667$$

La desviación estándar de reproducibilidad:

$$S_R = \sqrt{S_L^2 + S_r^2} = 15,8058217$$

Desviación Estándar Relativa:

$$RSD = \frac{s}{m} * 100 \quad (19)$$

Desviación estándar Relativa de Reproducibilidad:

$$RSD_R = \frac{SR}{m} * 100 \quad (20)$$

Desviación estándar Relativa de Repetibilidad:

$$RSD_r = \frac{sr}{m} * 100 \quad (21)$$

Realizando el cálculo para los demás niveles, se resume en la **tabla 39**:

**Tabla 39**

*Cálculo de los valores de Precisión para Arsénico*

Analito	Nivel	m ug/Kg	Sr ug/Kg	SR ug/Kg	r ug/Kg	R ug/Kg	RSDr %	RSDR %	LRSDr %	LRSDR %
Arsénico	I	186,5	15,028	15,806	42,079	44,256	8,06	8,48	22,56	23,73
	II	517,1	32,601	34,898	91,283	97,713	6,30	6,75	17,65	18,90
	III	1164,4	66,101	67,364	185,083	188,619	5,68	5,79	15,89	16,20
	IV	5484,4	236,767	239,775	662,947	671,370	4,32	4,37	12,09	12,24
	V	10963,5	429,362	440,055	1202,213	1232,155	3,92	4,01	10,97	11,24
	VI	18685,1	653,220	665,474	1829,015	1863,328	3,50	3,56	9,79	9,97
	VII	40791,5	1143,544	1255,972	3201,922	3516,723	2,80	3,08	7,85	8,62

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

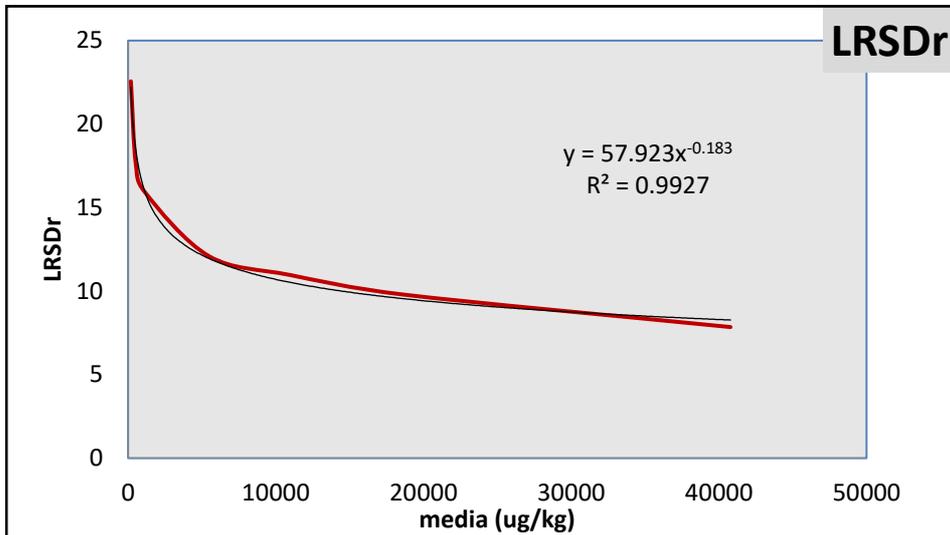
Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

La ecuación del límite de desviación estándar Relativa de Repetibilidad

(ver Figura 11 p. 91), se define:

**Figura 11**

*LRSDr vs Concentración Media de Arsénico (ug/kg)*



$$LRSDr (\%) = 57.923 * x^{-0.183} \quad (22)$$

Donde:

**x** : Concentración Media de Arsénico (ug/Kg)

La ecuación del límite de desviación estándar Relativa de Reproducibilidad (**ver figura 12 p. 92**), se define:

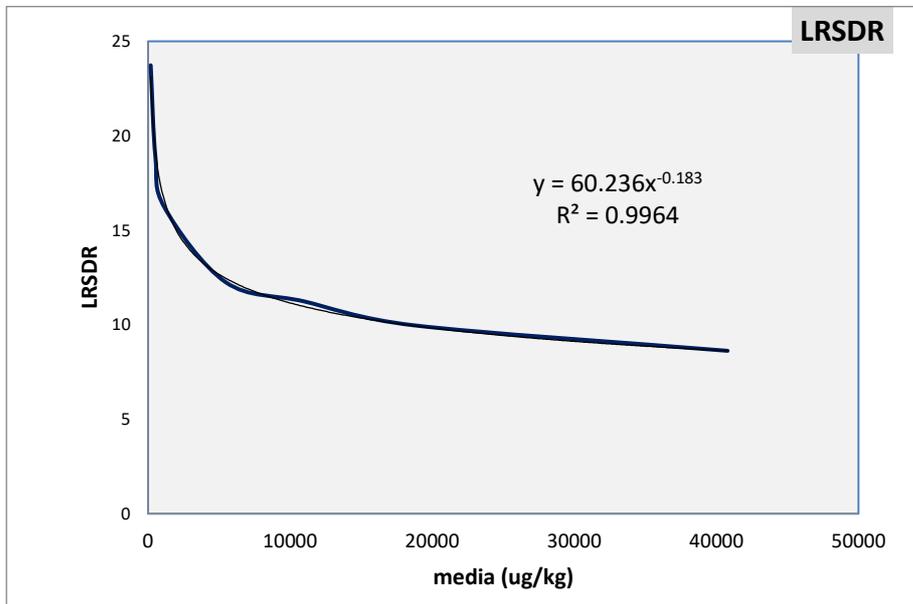
$$LRSDR = 60.236 * x^{-0.183} \quad (23)$$

Donde:

**x** : Concentración Media de Arsénico (ug/Kg)

**Figura 12**

*LRSDR vs Concentración Media de Arsénico (ug/kg).*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

#### **4.5 Veracidad del método**

La veracidad del método se realizó por Recuperación de los analitos:

- a) Porcentaje de Recuperación: A través de la cantidad de analito adicionado, se determina el porcentaje de recuperación en base a la cantidad de analito encontrado al finalizar el ensayo:

$$\%R = \frac{C_2}{C_1} * 100 \quad (24)$$

Donde:

**C2** : Concentración encontrada de analito

**C1** : Concentración adicionada

Se realizaron cuatro niveles de recuperación para el analito arsénico, **ver**

**tabla 40:**

**Tabla 40**

*Recuperación según la Concentración Adicionada de Arsénico*

Analista	Nivel	Concentración adicionada (ug/Kg)	% Recuperación				
A	I	200	103	103	108	100	102
	II	500	98	101	105	93	101
	III	1000	109	100	100	106	102
	IV	2 0000	106	108	103	103	104
B	I	200	95	102	103	98	103
	II	500	99	102	100	104	100
	III	1 000	105	101	97	100	100
	IV	20 000	98	97	95	99	103
C	I	200	97	101	100	98	105
	II	500	103	104	110	83	102
	III	1 000	110	109	100	86	97
	IV	20 000	110	83	107	104	109

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

El promedio de la recuperación por nivel de arsénico (**ver Tabla 41 p. 94**) cumple el rango de recuperación de 80% a 110% definido en el **cuadro 3** de aseguramiento de calidad.

ANOVA para comparar más de dos medias

La evaluación del porcentaje de recuperación se realizó mediante el Test Estadístico ANOVA de un factor.

Hipótesis:

Hipótesis Nula:

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 \quad (25)$$

**Tabla 41***Promedio de recuperación según la Concentración Adicionada de Arsénico*

Analista	Producto	Nivel	Analito	Promedio	RANGO DE % RECUPERACIÓN
A		I	Arsénico	103,0	80 --110%
		II		99,7	
		III		103,3	
		IV		105,1	
B	Aceite de pescado	I	100,2		
		II	101,0		
		III	100,5		
		IV	98,6		
C		I	100,3		
		II	100,5		
		III	100,4		
		IV	102,8		

Laboratorio de Productos Orgánicos- SGS del Perú

Hipótesis Alternativa:

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \quad (26)$$

Donde:

$\mu$  : Media de %de recuperación de cada nivel

**TEST ESTADÍSTICO: ANOVA de un factor**

El ANOVA utiliza la prueba F para determinar si la variabilidad entre las medias de los grupos es mayor que la variabilidad de las observaciones dentro de los grupos.

Regla de decisión:

Si  $F_{\text{calculado}}$  es menor que  $F_{\text{critico}}$  no hay diferencias significativas.

El cálculo de la ANOVA para el promedio de recuperación por nivel de arsénico para el analista A, B y C se presenta en las **tablas 42 y 43 (ver p. 96) y 44 (ver p. 97)** respectivamente.

**Tabla 42**

*Análisis de Varianza para el analista A*

Análisis de varianza de un factor RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Fila 1	5	514,79	102,958	9,09877		
Fila 2	5	498,4	99,68	19,2293		
Fila 3	5	516,71	103,342	14,49372		
Fila 4	5	525,45	105,09	5,0696		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	76,465015	3	25,488338	2,1288452	0,13668113	3,2388715
Dentro de los grupos	191,56556	16	11,972848			
Total	268,030575	19				

Software Minitab V.16

F Calculado	<	F Crítico
2,1288452		3,2388715

Se concluye que no hay diferencias significativas entre la media de recuperación por nivel de arsénico para el analista A

**Tabla 43***Análisis de Varianza para el analista B*

Análisis de varianza de un factor							
RESUMEN							
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza			
Fila 1	5	501,02	100,204	13,73008			
Fila 2	5	504,96	100,992	5,04352			
Fila 3	5	502,44	100,488	7,17072			
Fila 4	5	493,16	98,632	9,09652			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones		Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos		15,55142	3	5,1838067	0,5917446	0,6293355	3,2388715
Dentro de los grupos		140,16336	16	8,76021			
Total		155,71478	19				

Software Minitab V.16

F Calculado < F crítico  
 0,5917446 < 3,2388715

Se concluye que no hay diferencias significativas entre la media de recuperación por nivel de arsénico para el analista B.

Se concluye que no hay diferencias significativas entre la media de recuperación por nivel de arsénico para el analista C

Mediante el estadístico ANOVA de un factor se evaluó que los porcentajes de recuperación en los distintos niveles de concentración para cada analito son

equivalentes y se encuentra dentro del rango del 80% al 110% por lo tanto el método es veraz.

**Tabla 44**

*Análisis de Varianza para el analista C*

Análisis de varianza de un factor						
<b>RESUMEN</b>						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Fila 1	5	501,48	100,296	10,72738		
Fila 2	5	502,37	100,474	103,39073		
Fila 3	5	501,81	100,362	93,93572		
Fila 4	5	513,80	102,760	121,69485		
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	21,3701	3	7,1233667	0,0864096	0,96647549	3,2388715
Dentro de los grupos	1 318,99472	16	82,43717			
Total	1 340,36482	19				

Software Minitab V.16

F Calculado	<	F critico
0,0864096		3,2388715

#### 4.6 Linealidad

La linealidad es la capacidad de un método de análisis para producir resultados que son directamente o por una transformación matemática definida, proporcionales a la concentración del compuesto en estudio, dentro de un intervalo de concentraciones establecidas.

Preparación de la curva: De una solución stock de As (100 ug/L) se preparan cuatro primeros puntos de la curva 0,1 y 2, 5 ug/L

De una solución stock de As (500ug/L) se preparan 3 últimos puntos de la curva 10, 25 y 50 ug/L

Modelo Estadístico:

$$Y = \alpha + \beta x + \varepsilon \quad (27)$$

Donde:

$\alpha$  : Intercepto

$\beta$  : Pendiente

$\varepsilon$  : Efecto aleatorio del error

Antes de evaluar estadísticamente la linealidad se realiza una evaluación gráfica de la linealidad de las curvas de calibración aceptando las que tengan un coeficiente de correlación mayor o igual a 0,995, **ver tabla 46 (p. 99)**

Realizando el cálculo mediante el Software Minitab V.16, se hallan los coeficientes de la ecuación lineal y su gráfica **ver tabla 45 y 46 (p. 99)**

**Tabla 45**

*Curvas de Calibración del Analito Arsénico*

Concentración Arsénico ug/L	Intensidad				
	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5
0	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000
1	20,417	20,834	24,375	21,250	25,208
2	50,208	50,000	41,250	44,166	46,250
5	136,876	125,834	130,626	130,834	125,834
10	237,085	249,794	243,544	238,960	235,210
25	585,012	618,139	587,929	607,721	606,679
50	1 266,723	1 225,886	1 200,885	1 234,845	1 244,637

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 46**

*Regresión lineal*

---

The regression equation is                    Intensidad (uma) = - 1,92 + 24,6 As(ug/L)

---

Predictor	Coef.	SE Coef.	T	P
Constant	-1,924	2,5990	-0,74	0,4640
C1	24,6115	0,1205	204,20	0,0000

---

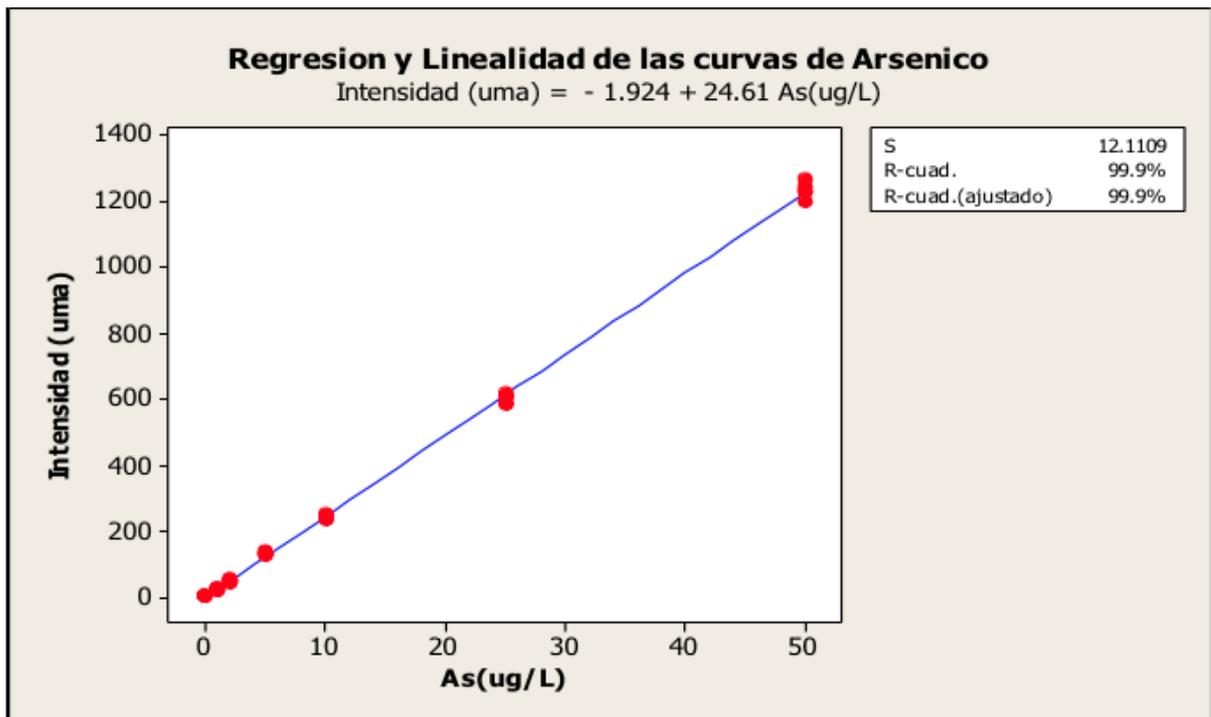
S=12.1109      R-Sq = 99,9%      R-Sq (adj) = 99,9%

---

Software Minitab V.16

**Figura 13**

*Regresión y Linealidad de las curvas de Arsénico.*



Software Minitab V.16

#### 4.7 Límite de detección del Método (LDM) y Límite de Cuantificación del Método (LCM)

El límite de detección es la menor cantidad de un analito cuya señal puede distinguirse de la del ruido, se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. El límite de cuantificación se puede definir como la cantidad más pequeña de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el instrumento. (EURACHEM – Guide the fitness for purpose of analytical methods)

**LDM** : Es la concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud.

**LCM** : Es la menor cantidad de un analito en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. (EURACHEM- Guide the fitness for purpose of analytical methods)

**Límite de detección Instrumental (LDI) : se realiza la prueba solo en blancos de reactivo.**

$$LDI = 3 * S_{blancos} \quad (28)$$

Donde:

$$S_{blancos} = \text{Desviación estándar de blancos}$$

Límite de detección del método (LDM)

$$LDM = k * S_{BKfortificado} \quad (29)$$

Donde:  $S_{bkforticado} =$

*Desviación estandar de blancos de los blancos fortificados*

*k = es el valor de t student para n – 1 grados de libertad = 6*

*t = 3,14 al 99% de confianza*

Límite de cuantificación del método (LCM)

$$LCM = k * S_{bkfortificados} \quad (30)$$

LCM : Limite de cuantificación del método

$S_{bkforticado} =$  *Desviación estandar de blancos de los blancos fortificados*

*k = Para el LCM expresar  $k' = 10$  para el 99% de confianza*

Según los datos de concentración de blancos (ug/L), se halla la consistencia de los datos en las **tablas 47 y 48, 49 (Ver p. 102):**

**Tabla 47**

*Datos para el cálculo de LDM: Analista A*

DATOS	ug/L	h cal
BK.fort 1	0,609292	0,19
BK.fort 2	0,500163	1,47
BK.fort 3	0,562293	0,74
BK.fort 4	0,717277	1,06
BK.fort 5	0,590702	0,41
BK.fort 6	0,740528	1,33
BK.fort 7	0,661834	0,42
DESV. STD	0,086000	
PROM 1	0,626000	
LDM 1	0,895000	
RSD % (1)	<b>14,00000</b>	> 10%
h tabla al 5%	<b>1,71000</b>	

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

**Tabla 48***Datos para el cálculo de LDM analista B*

DATOS	ug/L	h cal
BK.fort 1	0,554256	0,84
BK.fort 2	0,784532	1,85
BK.fort 3	0,779872	1,79
BK.fort 4	0,777149	1,76
BK.fort 5	0,721591	1,11
BK.fort 6	0,733032	1,25
BK.fort 7	0,515358	1,29
DESV. STD	0,113000	
PROM 2	0,695000	
LDM 2	1,033000	
RSD % (2)	<b>16,21000</b>	> 10%
h tabla al 5%	<b>1,71000</b>	

Laboratorio de Productos Orgánicos- SGS del Perú

**Tabla 49***Datos para el cálculo de LDM analista C*

DATOS	ug/L	h cal
BK.fort 1	0,973019	4,05
BK.fort 2	0,802871	2,06
BK.fort 3	0,92305	3,46
BK.fort 4	0,763169	1,60
BK.fort 5	0,812524	2,17
BK.fort 6	0,916659	3,39
BK.fort 7	0,755775	1,51
DESV. STD	0,087000	
PROM 3	0,850000	
LDM 3	1,109000	
RSD % (3)	<b>10,200000</b>	> 10%
h tabla al 5%	<b>1,710000</b>	

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

Si la desviación estándar relativa (RSD) del análisis de las siete alícuotas es menor a 10%, la concentración de la solución empleada para determinar el límite de detección del método para el analito en estudio puede ser inapropiadamente alto para dicha determinación, lo que podría originar, luego de los cálculos, un valor de LDM irreal y muy bajo.

Realizando los cálculos para hallar el LDM y LCM según las **ecuaciones 28, 29 y 30**:

PROMESDIO BK, FORT	0,724
DESV. STD PROMEDIO	0,095
LDM	0,30 ug/L
LCM	0,95 ug/L

---

LDM		
LD=	<b>0,30</b>	ug/L
Masa =	0,30	G
FD=	50	
LDM=	<b>0,05</b>	(mg/Kg)

---



---

LCM		
LC	<b>0,95</b>	ug/L
Masa =	0,30	g
FD =	50	
LCM =	<b>0,16</b>	(mg/Kg)

---

#### 4.8 Incertidumbre

La determinación de la Incertidumbre por Componentes se divide en:

#### 4.8.1. Mensurando (magnitud que se pretende medir)

Determinación del contenido de Arsénico

#### 4.8.2. Método de Ensayo

AOAC Official Method 2013.06 Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead in Foods

#### 4.8.3. Identificación de las fuentes de incertidumbre

Para el cálculo del analito Arsénico ver las fuentes de incertidumbre en la **figura 14 (ver p. 105)**:

##### 4.8.1. Modelo físico/ Magnitudes de entrada

Las magnitudes de entrada para el ensayo para la determinación del analito arsénico se detallan en la **tabla 50**:

**Tabla 50**

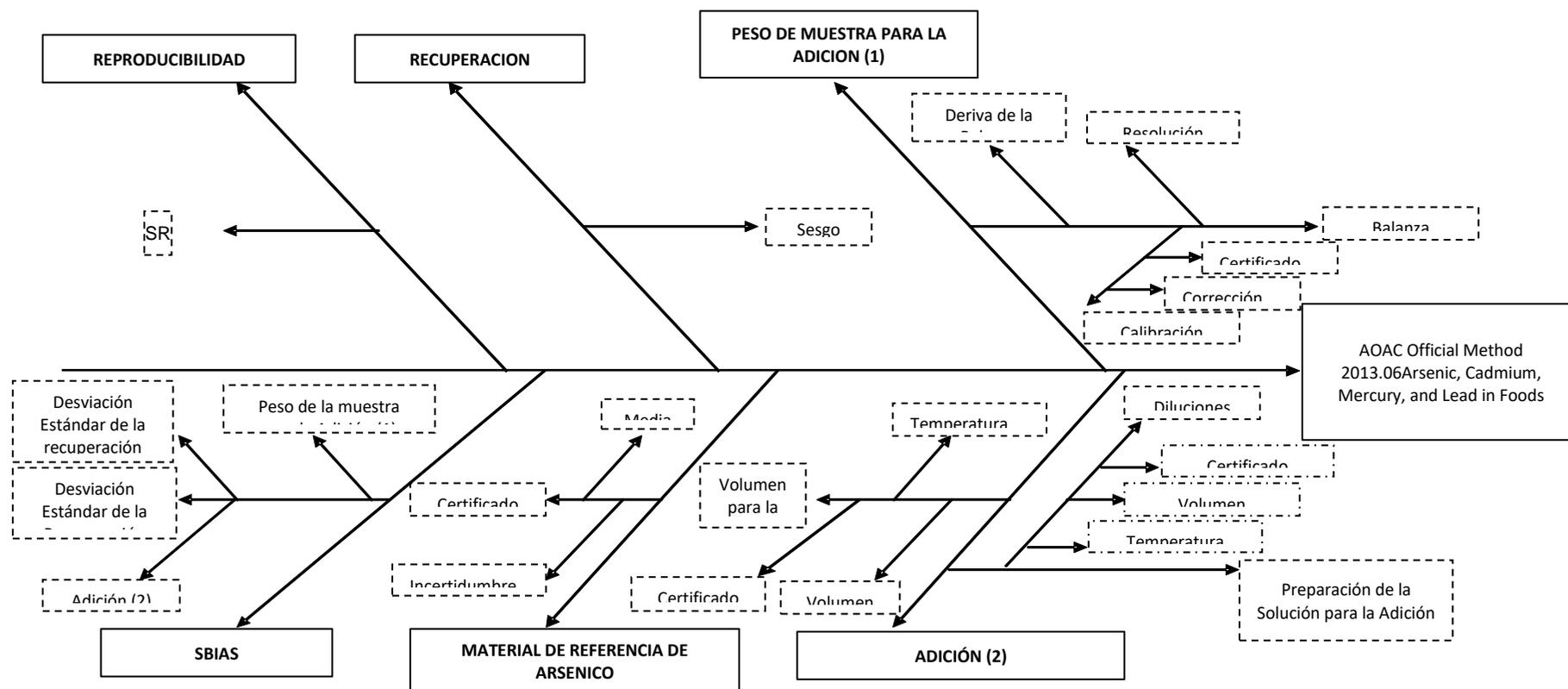
*Magnitudes para el cálculo de Incertidumbre*

Paso	Descripción	Magnitud de entrada
1	SR	
2	Sesgo de la Recuperación	Rec – 100
3	Desviación de la Recuperación Experimental	Sbias
4	Masa de la Muestra	M
5	Material de Referencia de 1 000 mg/Kg	MR
6	Volumen de Material de Referencia de 1 000 mg/L	VMR
7	Volumen de 100 ml	V1
8	Volumen de Alícuota 1	Alic1
9	Volumen de 100 ml	V2
10	Volumen de Alícuota 2	Alic2

Laboratorio de Productos Orgánicos- SGS del Perú

**FIGURA 14**

*Identificación de las fuentes de Incertidumbre (Diagrama de Ichikawa)*



Laboratorio de Productos Orgánicos SGS del Perú

#### 4.8.2. Modelo Matemático

Se detalla los siguientes modelos matemáticos para la determinación de la incertidumbre:

$$u_{As(\frac{ug}{kg})} = \sqrt{(u_{SR})^2 + (u_{bias})^2} \quad (31)$$

$$u_{bias} = \sqrt{u_{sesgo}^2 + u_{CMR}^2 + \left(\frac{S_{rec\%}}{\sqrt{n}}\right)^2} \quad (32)$$

$$u_{CMR} = \sqrt{(u_M)^2 + (u_{MR})^2 + (u_{VMR})^2 + (u_{V1})^2 + (u_{alic1})^2 + (u_{V2})^2 + (u_{alic2})^2} \quad (33)$$

Donde:

- As** : Contenido de Arsénico de la muestra original. ug/Kg
- Usr** : Reproducibilidad del Método (Desviación Estándar de Reproducibilidad)
- Ubias** : Incertidumbre de la Desviación de la Recuperación Experimental
- uSesgo** : Diferencia entre la Media de la Recuperación experimental y la Teoría (Rec – 100)
- C<sub>MR</sub>** : Concentración Adicionada del Material de Referencia
- Srec** : Desviación de la Recuperación Experimental
- N** : Número de datos que se tiene del Porcentaje de Recuperación
- uM** : Masa de la muestra original en donde se contaminó, g
- u MR** : Incertidumbre del Material de Referencia de 1 000 mg/L
- uV MR** : Incertidumbre del Volumen del material de Referencia Tomado de 1 000 mg/l para preparar la solución de 100 mg/L

- uV1** : Incertidumbre del Volumen a cuál se diluyo para preparar la solución de 100 mg/L
- uAlic 1** ; Incertidumbre del Volumen del material de Referencia Tomado de la solución de 100 mg/L para preparar la solución de 5 mg/L
- uV2** : Incertidumbre del Volumen a cuál se diluyo la Alic dos para preparar la solución de 5 mg/L
- uAlic 2** Incertidumbre del Volumen tomado de la Solución de 5 mg/L para la adición

#### 4.8.3. Estimación de la Incertidumbre estándar de los componentes de la Incertidumbre

Para ello se estimará la incertidumbre estándar de cada factor que contribuye en la incertidumbre del método.

#### 4.8.4. Incertidumbre combinada

$$\frac{u_{As(\frac{ug}{kg})}}{As(\frac{ug}{kg})} = \sqrt{\frac{(u_{SR})^2}{As(\frac{ug}{kg})} + u_{bias}^2} \quad (34)$$

Donde:

- As** : Contenido de Arsénico de la muestra original (ug/kg)
- u<sub>SR</sub>** : Reproducibilidad del Método (desviación estándar de reproducibilidad)
- u<sub>bias</sub>** : Incertidumbre de la desviación de la recuperación Experimental

#### 4.8.5. Incertidumbre Expandida del método

A partir de la incertidumbre combinada se obtendrá la incertidumbre expandida:

$$U_{\text{Arsénico}} = 2 * u_{\text{Arsénico}} \quad (35)$$

Donde:

**U** <sub>Arsénico</sub> : Incertidumbre expandida de Arsénico

**K** : Factor de cobertura, a un nivel de confianza de 95% equivale a 2

**u** <sub>Arsénico</sub> : Incertidumbre combinada de Arsénico

Incertidumbre del método:

$$u = -3E-07x^2 + 0,1203x + 26,901 \quad (36)$$

$$\text{Concentración de Arsénico (ug/kg)} \pm U_{\text{Arsénico (ug/kg)}}$$

Con el promedio obtenido para cada nivel de arsénico según la ecuación de precisión del método, se determina la Incertidumbre. **Ver tabla 51 (p. 109):**

**Tabla 51**

*Incertidumbre según Niveles del Analito Arsénico*

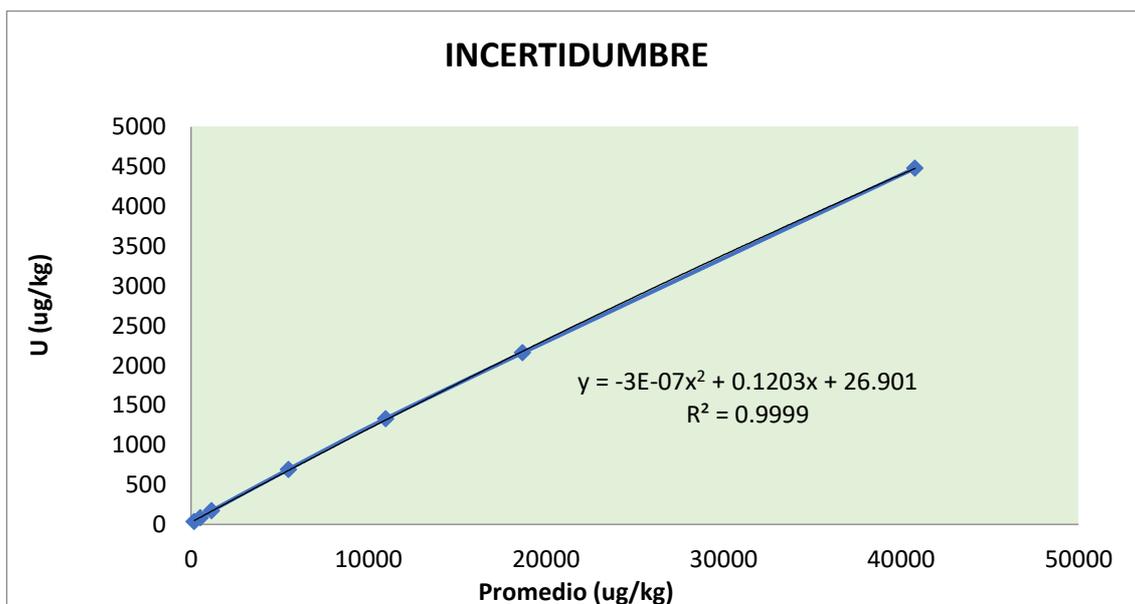
Aceite de pescado	
PROMEDIO (ug/kg)	± U (ug/kg)
186,5	35,9
517,1	84,2
1 164,4	171,4
<b>Arsénico</b> 5 484,4	692,0
10 963,5	1 330,1
18 685,1	2 158,8
40 791,5	4 480,9
<b>Ecuación</b>	$u = -3E-07 x^2 + 0,1203x + 26,901$

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

De los datos obtenidos de la **tabla 39 (ver p. 90)**, se procede a realizar la gráfica de Incertidumbre vs. Promedio para el analito arsénico, **ver figura 15**

**Figura 15**

*Incertidumbre de la concentración de Arsénico (ug/kg) en Aceite de Pescado*



Software Minitab V.16

Las fuentes de incertidumbre contribuyen de forma porcentual **ver tabla**

**52:**

**Tabla 52**

*Contribución Porcentual de las fuentes de Incertidumbres*

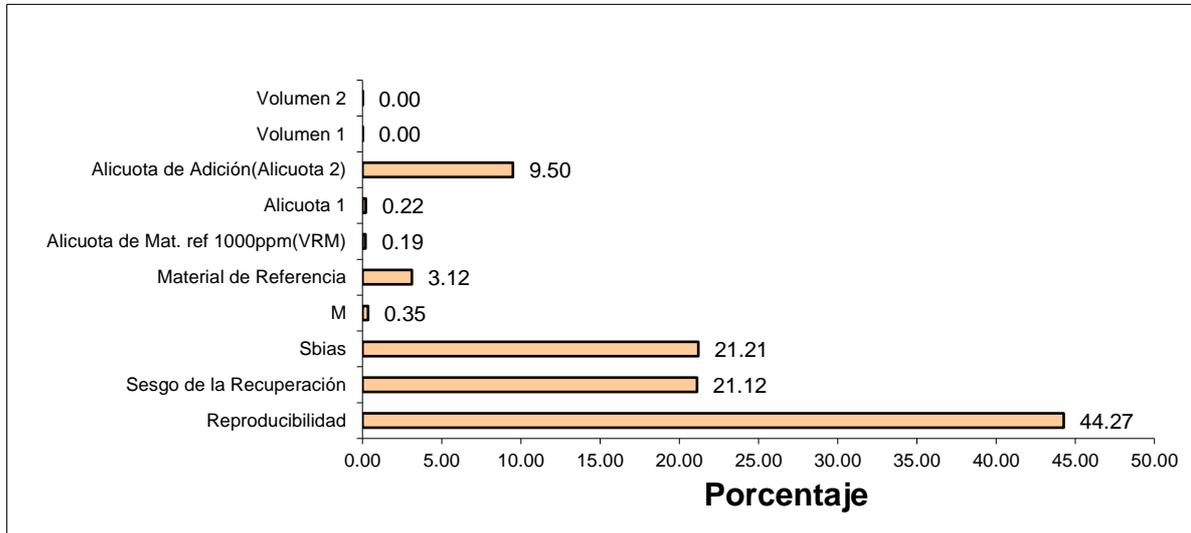
<b>Magnitud de Entrada</b>	<b>Porcentaje %</b>	<b>u(x)/Valor</b>
Reproducibilidad	44,27	0,05785
Sesgo de la Recuperación	21,12	0,02760
Sbias	21,21	0,02772
M	0,35	0,00045
Material de Referencia	3,12	0,00408
Alícuota de Mat. ref 1 000 ppm (VRM)	0,19	0,00025
Alícuota 1	0,22	0,00029
Alícuota de Adición (Alícuota 2)	9,50	0,01242
Volumen 1	0,00	0,00001
Volumen 2	0,00	0,00001
<b>Suma</b>		<b>0,13067</b>

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

En la **figura 16 (ver p. 111)** observamos que la magnitud de entrada con mayor porcentaje es la reproducibilidad que contribuye en un 44,27% al cálculo de la incertidumbre.

**Figura 16**

*Contribución Porcentual de las fuentes de Incertidumbre*



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú

## V. CONCLUSIONES

- 1) Durante las actividades desarrolladas en el área de productos tales como la preparación de las muestras de alimentos para la determinación de metales pesados, los cambios físicos significativos como calentamiento de la muestra o desprendimiento de la grasa durante el licuado interfieren en la etapa de pesado y posterior digestión de la muestra, por ello al iniciar el análisis se debe conocer la naturaleza del alimento como contenido de agua, grasa y/o materia seca. Luego en el lavado de materiales para el análisis de metales pesados en alimentos se debe considerar el tiempo de reposo de 4 horas como mínimo en solución de Ácido Nítrico al 10%v/v luego el enjuague con agua TIPO I, esto debe quedar registrado para su seguimiento dentro del turno de trabajo.
- 2) Los programas de digestión del equipo Horno Microondas "ULTRAWAVE", se realizan en base a la naturaleza de la muestra y su contenido carbónico, en alimentos como harinas, frutas y verduras la temperatura de digestión es de 200°C. En el caso de alimentos con alto contenido carbónico como aceites, grasas y cacao se trabajan con una temperatura de digestión de 215°C. Durante la validación del método de ensayo para análisis de Arsénico en Aceite de Pescado, se modificó la temperatura de digestión considerando un valor de 215°C y un tiempo de digestión de 65 minutos, asegurando así tener el mayor poder oxidante del reactivo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- 1) Antes de iniciar la actividad a realizar el usuario deberá tener en cuenta considerar los peligros de Trabajos en caliente e Instalaciones y equipos eléctricos en su APR (análisis preliminar de riesgos)
- 2) No colocar materiales inflamables cerca del horno microondas
- 3) Seguir siempre la metodología de digestión para evitar que durante el proceso de análisis haya una digestión incompleta, pérdida de muestra, etc.
- 4) Trabajar ordenadamente durante el pesado de la muestra, digestión y trasvase de cada una de ellas haciendo uso de una gradilla enumerada.
- 5) Informar inmediatamente al Supervisor, o persona encargada en el caso de detectarse cualquier anomalía antes, durante o después de los análisis.
- 6) Se recomienda el uso de material de Acero inoxidable y Mortero de Agatha.
- 7) Al iniciar la jornada de trabajo debemos ordenar y verificar el estado de los materiales y reactivos a emplear durante el análisis.
- 8) Se debe agitar vigorosamente cada frasco contenedor de Aceite de Pescado debido a que el producto puede contener sedimentos.
- 9) Durante el pesado de las muestras se recomienda usar material de PTFE (politetrafluoroetileno) o Cuarzo exentos de trazas de metales.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

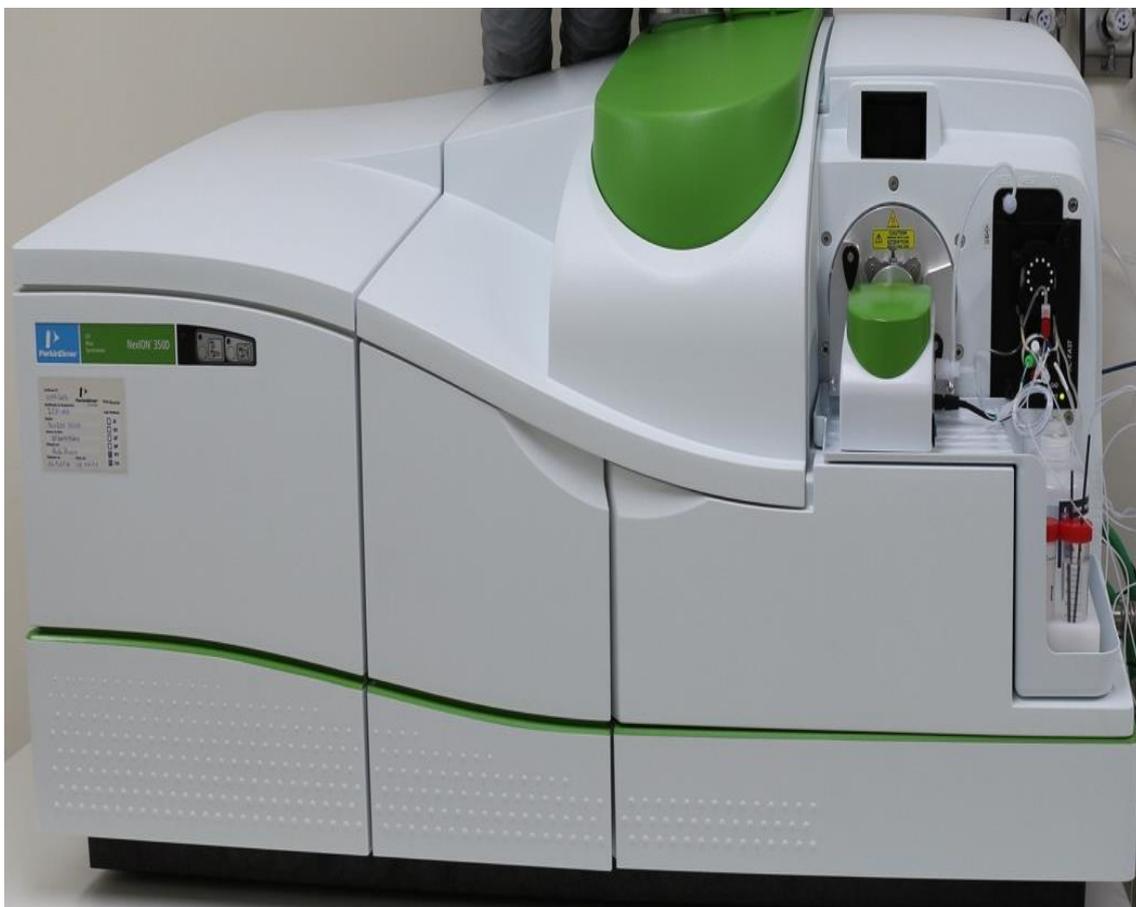
- Milestone SRL (2010), "Application Book Ultrawave" – Milestone Italy año 2010
- Milestone SRL (2010), "User Manual" – Milestone Italy, año 2010
- CODEX STAN (1995). "Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y Piensos", 193-1995 Pág. 40}
- Norma Española (2013), UNE-EN 13804, "Productos Alimenticios, Determinación de elementos y sus especies químicas, Consideraciones generales y requisitos específicos", AENOR 2013
- Norma Española (2015), UNE-EN 13805, "Productos Alimenticios, Determinación de elementos traza, Digestión bajo presión". AENOR 2015
- EURACHEM (2000). "QUANTIFYING UNCERTAINTY IN ANALYTICAL MEASUREMENT SECOND EDITION QUAN", EUROLAB 2000
- Fernández- Ruiz, R. (2004). Las Técnicas de Plasma-Masas (ICP-MS). Página Principal Dr. Ramon Fernández-Ruiz, recuperado de <http://ramontxrf.260mb.net/icpms.html>
- Cervantes, Pedro Alberto (2019). Microondas. Mex.Tl. recuperado de [http://pedroalberto.mex.tl/1617933\\_MICROONDAS.html](http://pedroalberto.mex.tl/1617933_MICROONDAS.html), 2019
- Adolfo Pon Juan y Blanco (2010). Ácido Nítrico. Ecu Red. Recuperado de [https://www.ecured.cu/%C3%81cido\\_n%C3%ADtrico#Propiedades\\_f.C3.ADsicas](https://www.ecured.cu/%C3%81cido_n%C3%ADtrico#Propiedades_f.C3.ADsicas), 2010
- Jiménez Ballesta, Raimundo (2017). Introducción a la contaminación de suelos. Editorial Mundi-Prensa. 2017
- Wilbert Adolfo Villegas Casares, Pablo Oscar Acereto Escoffie, Mimi Elizabeth Vargas Quiñones (2006). Análisis Ultravioleta-Visible. Editorial Departamento General de Desarrollo Académico. UADY 2006
- Soledad Rodríguez, Beatriz Elena (2009). La contaminación Ambiental y sus consecuencias toxicológicas. 2009. Editorial Lulu
- Londoño-Franco, Luis Fernando. Londoño-Muñoz, Paula Tatiana. Muñoz-García, Fabian Gerardo (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Vol. 14, N°2 (145-153) Julio -diciembre 2016
- Calvo Díaz, Francisco (1984). Destrucción y disolución de la materia orgánica. Editorial EUNED Universidad Estatal a Distancia 1984
- Yulieth C. Reyes, Inés Vergara, Omar E. Torres, Mercedes Díaz, Edgar E. González (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en Salud, Ambiente y Seguridad Alimentaria. Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo, Vol.16 N°3, Julio- diciembre 2016 pp.66-88
- Méndez, Ángeles (2013). Ácido Clorhídrico. La guía. Recuperado de <https://quimica.laguia2000.com/gases/acido-clorhidrico> 2013

## **ANEXOS**

- ANEXO 1** : Equipo Perkin Elmer Nexion 300D para análisis vía ICP MASAS
- ANEXO 2** : Equipo de Digestión Ultrawave Marca Milestone
- ANEXO 3** : Tabla de Indicadora de h y k de Mandel al 5% de significancia
- ANEXO 4** : Diagrama de flujo para la determinación de metales por digestión Horno Microondas
- ANEXO 5** : Puntos críticos del método – Acciones correctivas

## ANEXO 1

Equipo Perkin Elmer Nexion 300D para análisis vía ICP MASAS



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

## ANEXO 2

Equipo de Digestión Ultrawave Marca Milestone



Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

### ANEXO 3

**TABLA 2: INDICADORES PARA LAS ESTADÍSTICAS DE  $h$  Y  $k$  DE MANDEL EN EL NIVEL DE SIGNIFICACIÓN DE 5%**

$p$	$h$	$k$								
		$n$								
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	1,15	1,65	1,53	1,45	1,40	1,37	1,34	1,32	1,30	1,29
4	1,42	1,76	1,59	1,50	1,44	1,40	1,37	1,35	1,33	1,31
5	1,57	1,81	1,62	1,53	1,46	1,42	1,39	1,36	1,34	1,32
6	1,66	1,85	1,64	1,54	1,48	1,43	1,40	1,37	1,35	1,33
7	1,71	1,87	1,66	1,55	1,49	1,44	1,41	1,38	1,36	1,34
8	1,75	1,88	1,67	1,56	1,50	1,45	1,41	1,38	1,36	1,34
9	1,78	1,90	1,68	1,57	1,50	1,45	1,42	1,39	1,36	1,35
10	1,80	1,90	1,68	1,57	1,50	1,46	1,42	1,39	1,37	1,35
11	1,82	1,91	1,69	1,58	1,51	1,46	1,42	1,39	1,37	1,35
12	1,83	1,92	1,69	1,58	1,51	1,46	1,42	1,40	1,37	1,35
13	1,84	1,92	1,69	1,58	1,51	1,46	1,43	1,40	1,37	1,35
14	1,85	1,92	1,70	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,37	1,35
15	1,86	1,93	1,70	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
16	1,86	1,93	1,70	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
17	1,87	1,93	1,70	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
18	1,88	1,93	1,71	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
19	1,88	1,93	1,71	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
20	1,89	1,94	1,71	1,59	1,52	1,47	1,43	1,40	1,38	1,36
21	1,89	1,94	1,71	1,60	1,52	1,47	1,44	1,41	1,38	1,36
22	1,89	1,94	1,71	1,60	1,52	1,47	1,44	1,41	1,38	1,36
23	1,90	1,94	1,71	1,60	1,52	1,47	1,44	1,41	1,38	1,36
24	1,90	1,94	1,71	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
25	1,90	1,94	1,71	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
26	1,90	1,94	1,71	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
27	1,91	1,94	1,71	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
28	1,91	1,94	1,71	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
29	1,91	1,94	1,72	1,60	1,53	1,48	1,44	1,41	1,38	1,36
30	1,91	1,94	1,72	1,60	1,53	1,48	1,44	1,40	1,38	1,36

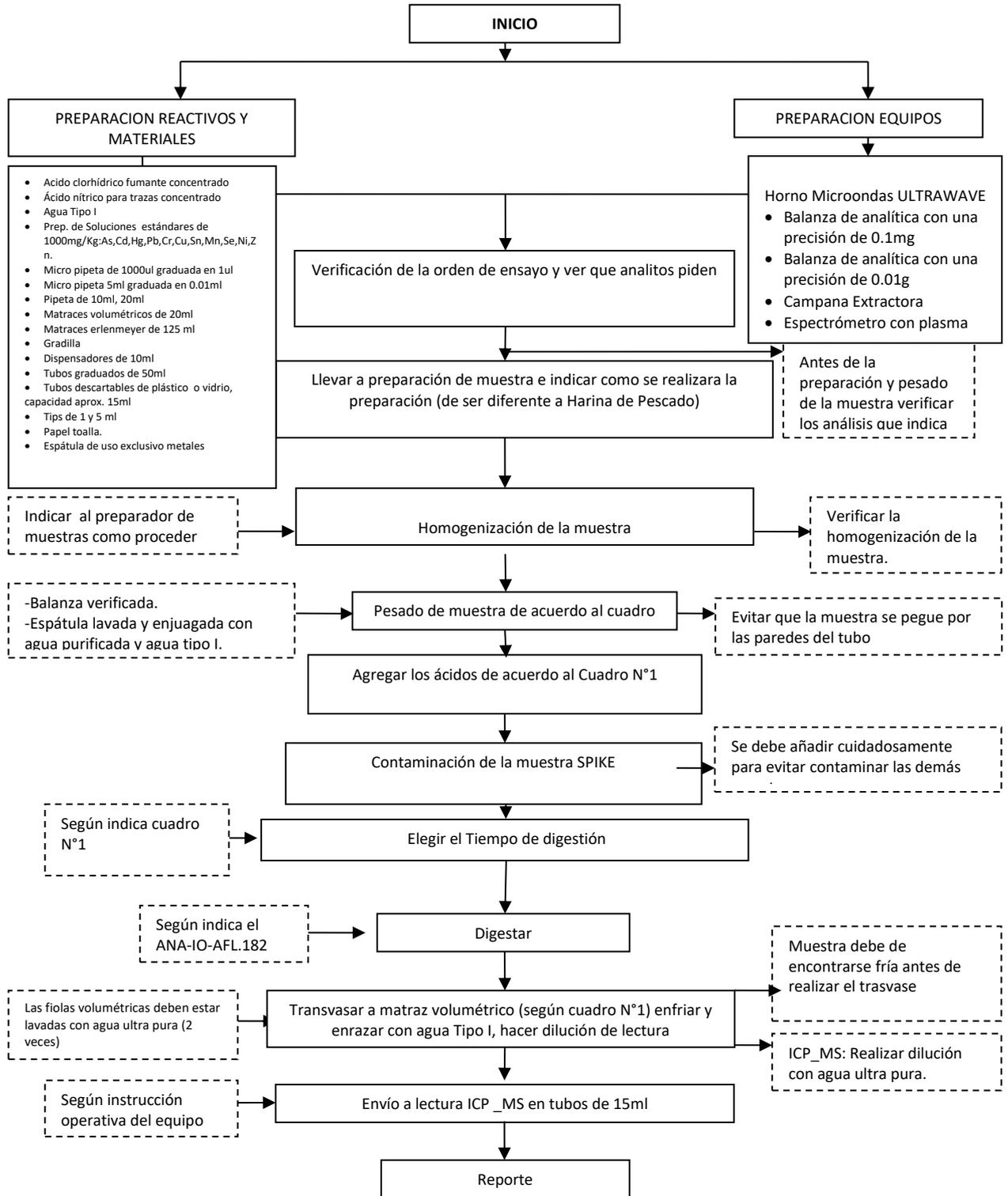
$p$  = número de laboratorios en un determinado nivel  
 $n$  = número de duplicados dentro de cada laboratorio en ese nivel

NOTA - Proporcionada por el Dr. J. Mandel y publicada con su autorización.

Laboratorio de Productos Orgánicos – SGS del Perú.

## ANEXO 4

### Diagrama de Flujo para el Método



## ANEXO 5

### Puntos Críticos del Método y Acciones Correctivas

N°	Puntos críticos	Que pasaría	Como evitar	Acciones a tomar
1	Lavado de materiales con agua TIPO I	Muestra podría ser contaminada, resultados Password 2021 no confiables	Lavando espátula antes de uso.	Antes y después de pesar cada tipo de muestra lavar la espátula
2	Preparación de equipos (Balanza verificada)	Equipos trabajando fuera del rango de trabajo. Peso incorrecto, error por defecto	Verificación de balanza antes de pesado con pesas que estén calibradas	Antes de iniciar labores revisar que verificación haya sido realizada a primera hora
3	Verificación de la orden de ensayo	Se contaminaría con analitos que no piden en el ensayo	Verificar la orden anticipadamente	Contaminar nuevamente el SPK de la muestra
4 y 5	Preparación y Homogenización de las muestras	Ocasionaría una mala digestión y por lo tanto no se tendría resultados erróneos	Verificando la muestra antes de proceder a pesar	Mandar nuevamente a preparar las muestras
6	Pesado de Muestra	Resultados erróneos. Contaminación de la muestra Posicionamiento incorrecto en el rotor	Pesando con cuidado la muestra para evitar que quede pegada en la pared del tubo Pesar secuencialmente de acuerdo al orden del LABATCH haciendo uso de la lectora de barras.	Agregando el ácido nítrico de trazas por los bordes del tubo Pesar Nuevamente la muestra
7	Contaminación de la muestra (SPK)	No se cumpliría un parámetro de control de calidad para calcular la recuperación en el proceso.  Se debe contaminar alejado de las muestras para evitar contaminarlas, y después que reaccione para evitar que se vaya en los vapores	Verificando la adición de cada analito al añadir a la muestra.  Mantener apartada las muestras y el blanco.	Si no contaminamos proceder a pesar nuevamente la muestra.  Pesar nuevamente la muestra sino hemos alejado las muestras y el blanco
8	Trasvase a volumen final	Se tendría resultados erróneos ya que se perdería muestra al no trasvasar correctamente al volumen final	Trasvasar cuidadosamente la muestra. Llevar al volumen final según el cuadro N°2	Realizar nuevamente el proceso de pesado y digestión de la muestra
9	Toma de alícuota y dilución de muestra	Resultados erróneos, Contaminación de la muestra	Tomando con cuidado la alícuota del BK (muestra), seguido la muestra y finalmente el SPK, siempre llevando un orden y cambiando de tips	Desechar el tubo, y tomar nuevamente la alícuota con cuidado
10	Envío a lectura a ICP_MS	Cruce de muestras	Verificando la rotulación de los tubos según el orden en el CCLASS para evitar confusiones en la lectura	Reordenar la gradilla según el correcto orden