



**Casa abierta al tiempo**

**TITULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACION**

**Estudio bibliográfico: Efectos neurológicos de la concentración de plomo en sangre y comparación de métodos analíticos para su cuantificación empleando espectrometría de absorción atómica.**

**Proyecto Genérico:** Revisión de métodos de análisis en plomo.

**Etapa:** Diseño y desarrollo de formas farmacéuticas

**Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

**Alumna:** Moreno Vázquez Alma Delia

**Matricula:** 2173027446

**Vo. Bo. De los asesores respecto a los contenidos académico.**

---

Dr. Camilo Ríos Castañeda

Nombre y firma del asesor interno

No. Económico. 16190

---

Dra. Betzabeth Analí García Martínez

Nombre y firma del asesor externo

No. Económico. 43790

## Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	5
3. METODOLOGÍA .....	5
4. RESULTADOS Y META ALCANZADA.....	5
5. CONCLUSIONES .....	6
6. PERSPECTIVA.....	6
7. REFERENCIAS.....	7
8. ANEXO 1 Artículo de revisión: Efectos neurológicos de la concentración de plomo en sangre y comparación de métodos analíticos para su cuantificación empleando espectrometría de absorción atómica. ....	8
9. ANEXO 2 Protocolo de validación .....	36

## 1. INTRODUCCIÓN

El plomo es un metal pesado, de baja temperatura de fusión, anfótero, de color gris-azulado, que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre. En México, el uso de este metal en diversas industrias y actividades está regulado por la NOM-004-SSA1-2013 Limitaciones y especificaciones sanitarias para el uso de los compuestos de plomo<sup>1</sup>. Dentro de las actividades que mayormente emplean este metal son la industria minera, fundidoras, refinerías, en la producción de materiales industriales, pigmentos para pinturas, alfarería, cables, productos químicos y antidetonantes<sup>2</sup>. Es una sustancia tóxica que se acumula en el organismo y afecta a múltiples sistemas, como el neurológico, hematológico, gastrointestinal, cardiovascular y renal<sup>3</sup>. La exposición crónica comúnmente tiene efectos hematológicos, como anemia, o provoca trastornos neurológicos, así como cefalea, irritabilidad, letargo, convulsiones, debilidad muscular, ataxia, temblores y parálisis. La exposición aguda puede provocar trastornos gastrointestinales (anorexia, náuseas, vómitos, dolor abdominal), daño hepático y renal, hipertensión y trastornos neurológicos (malestar, somnolencia, encefalopatía) que pueden causar convulsiones y provocar la muerte<sup>4</sup>. La población infantil es especialmente vulnerable a los efectos neurotóxicos del plomo, e incluso los bajos niveles de exposición pueden causar daño neurológico grave y, en algunos casos, irreversible. Teniendo como consecuencia bajo desempeño del rendimiento escolar, presencia de discapacidades a nivel intelectual, distracción, hiperactividad, desorganización y menor capacidad para seguir instrucciones. Los síntomas pueden agravarse y provocar estupor y crisis convulsivas<sup>5,6</sup>. El estado nutricional en la intoxicación por plomo es fundamental, ya que la deficiencia de calcio, hierro y zinc en la dieta puede incrementar su absorción, retención y toxicidad del plomo y afectar el crecimiento<sup>7</sup>. Se calcula que cada año hasta 800 millones de niños a nivel mundial tienen niveles de plomo en la sangre iguales o superiores a 5 microgramos por decilitro ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )<sup>8</sup>.

En México, la contaminación por plomo es un problema de salud pública debido a que disminuye el nivel cognitivo en niños, teniendo un impacto negativo en la

educación, la productividad, el ingreso y oportunidades de la población. De acuerdo con una revisión bibliográfica realizada en 2014 por Caravanos<sup>9</sup>, se estimó que 15% de la población infantil mexicana desarrollará un coeficiente intelectual (CI) cinco puntos abajo de lo que hubiera alcanzado en ausencia a la exposición de plomo. Así mismo, un estudio realizado en 2019, el cual tuvo como objetivo determinar las concentraciones del metal en niños de 1 a 4 años, demostró que el 22% de la población estudiada presentó valores superiores al límite permisible en sangre en  $5\mu\text{g}/\text{dL}$ <sup>6,10</sup> Por lo que el seguimiento del contenido de plomo en sangre es un marcador importante en la intoxicación por plomo. De acuerdo con un estudio realizado en México en 2015, una de las principales causas de los aumentos de niveles del metal en sangre se debe al uso de vasijas de barro vidriado en donde se preparan y se sirven los alimentos. Se ha demostrado que la población que emplea este tipo de utensilios presenta un aumento de hasta el 60% de plomo en sangre en comparación con los que no usan<sup>11</sup>.

Existen diversos métodos de laboratorio para cuantificar las concentraciones de plomo en sangre, entre los que destacan la espectrometría de absorción atómica, la voltamperometría de redisolución anódica y la espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo. Siendo la primera de más importancia debido a su sensibilidad para la cuantificación de metales, permitiendo disminuir límites de detección y cuantificación a un rango de partes por billón (ppb), con una instrumentación relativamente sencilla y sin los esfuerzos y pérdidas de tiempo que conllevan las técnicas de extracción previa. Estos métodos difieren considerablemente en términos de capacidad analítica evaluados como límites de detección, precisión y exactitud; costos de adquisición y mantenimiento, infraestructura requerida en el laboratorio, reactivos e insumos; así como de sus requisitos técnicos tales como la preparación de la muestra, calibración y personal capacitado<sup>12</sup>

La elección del método se va a adecuar a las condiciones y los recursos del laboratorio que lo vaya a emplear. La sensibilidad del método es un factor importante durante la selección del método analítico, ya que en diversos países el límite de la concentración en sangre considerada de importancia clínica se ha ido reduciendo

progresivamente. En México hasta el 2017 de acuerdo con la NOM-199-SSA1-2000 se estipulaba una concentración mínima de 10 µg/dL. Actualmente la concentración mínima es de 5 µg/dL.<sup>10</sup> Esta modificación se debe a que diversos estudios han sugerido que no hay un umbral de concentración de plomo segura, es decir, una concentración en sangre la cual no se produzca efectos adversos para la salud<sup>13</sup>. Por lo tanto, realizar una revisión sobre el impacto que tiene las concentraciones de este metal en la salud; y de las técnicas para su determinación en sangre es de suma importancia.

## 2. OBJETIVOS

### **General**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre principales afecciones por contaminación de plomo y métodos utilizados para la cuantificación del metal en sangre.

### **Particulares:**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre los efectos de la concentración de plomo en sangre.
- Realizar una revisión bibliográfica sobre los métodos más utilizados para la determinación de plomo en sangre.
- Realizar una revisión bibliográfica sobre los métodos utilizados para la determinación de plomo en vasijas de barro.

## 3. METODOLOGÍA

El presente proyecto fue desarrollado a través de la búsqueda de artículos científicos, tesis, libros, normas mexicanas, guías y sitios web como bases de datos: *Scifinder*, *Redalyc*, Google académico, *Elsevier*, BidiUAM, utilizando palabras clave como: Plomo, sangre, horno de grafito, vasijas de barro vidriado, validación, método analítico, niños, intoxicación, utilizando datos estadísticos de pruebas realizadas en personas y animales.

## 4. RESULTADOS Y META ALCANZADA

Se recopilaron 150 artículos, de los cuales se utilizaron para este trabajo 88. Estos fueron utilizados para el desarrollo del anexo 1 del presente informe, el cual se

presenta como una revisión bibliográfica denominada *“Estudio bibliográfico: Efectos neurológicos de la concentración de plomo en sangre y comparación de métodos analíticos para su cuantificación empleando espectrometría de absorción atómica”*. Además de los objetivos propuestos y cumplidos, se propuso un *“Protocolo de validación del sistema y método para la cuantificación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica”* (anexo 2), siguiendo las buenas prácticas de laboratorio y diferentes guías de validación de métodos analíticos.

## 5. CONCLUSIONES

Actualmente, en México se tiene por normativa que la cifra mínima de plomo en sangre es de 5µg/dL. Sin embargo, se comprobó mediante la revisión bibliográfica presente en este informe, que a niveles por debajo de los permitidos aun provoca efectos tóxicos. Es importante resaltar que el medio de intoxicación puede provenir de diferentes lugares e incluso de espacios que se han visto afectados desde años anteriores, gracias a la bioacumulación y el paso de la cadena trófica. Se espera que el presente trabajo sea de gran aporte para demostrar el impacto que tiene sobre el ser humano y la importancia de evitar la utilización de objetos que estén fabricados con algún producto que contenga plomo como las vasijas de barro vidriado que son comunes en los pueblos de este país.

## 6. PERSPECTIVA

Con el presente trabajo se tiene el conocimiento sobre los efectos neurotóxicos que ocasiona el plomo, así como su distribución en el organismo y la importancia que esto tiene. Como resultado de la revisión se propone un programa de temperaturas para realizar la determinación de plomo, proponiendo que sean evaluadas experimentalmente y sean las indicadas para una optimización del método de espectroscopía de absorción atómica en horno de grafito; y se obtengan resultados precisos y reproducibles. Así mismo, se espera que la guía de validación de un método analítico elaborada sea de gran apoyo para proyectos experimentales futuros.

## 7. REFERENCIAS

1. Norma Oficial Mexicana. (2013). NOM-004-SSA1-2013, Salud ambiental. Limitaciones y especificaciones sanitarias para el uso de los compuestos de plomo. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5343154&fecha=02/05/2014](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5343154&fecha=02/05/2014)
2. Resumen de Salud Pública: Plomo. Plomo 2021. website: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs13.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs13.html). consultado el 15 de julio 2021)
3. Ramírez, AV (2013). El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *Anales de La Facultad de Medicina (Lima, Perú: 1990)*, 66 (1), 57.
4. Exposición al plomo, un importante problema de salud pública. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2010 (<http://www.who.int/ipcs/features/lead.pdf>, consultado el 15 de julio 2021)
5. Poma Pedro A. Intoxicación por plomo en humanos. An. Fac. med. [Internet]. 2008 Jun [citado 2021 Oct 08]; 69(2): 120-126.
6. Téllez-Rojo, M. M., Bautista-Arredondo, L. F., Trejo-Valdivia, B., Cantoral, A., Estrada-Sánchez, D., Kraiem, R., ... Tamayo-Ortiz, M. (2019). Reporte nacional de niveles de plomo en sangre y uso de barro vidriado en población infantil vulnerable. *Salud pública de México*, 61(6), 787-797.
7. Sanín, LH, González-Cossío, T., Romieu, I. y Hernández-Ávila, M. (1998). Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. *Salud Publica de México*, 40 (4), 359-368.
8. • Un tercio de los niños del mundo está intoxicado por plomo, según un nuevo análisis innovador. (n.d.). Retrieved October 9, 2021, from Unicef.org website: <https://www.unicef.org/es/comunicados-prensa/un-tercio-de-los-ni%C3%B1os-del-mundo-est%C3%A1-intoxicado-por-plomo-seg%C3%BAun-nuevo>.
9. Caravanos, J., Dowling, R., María Téllez-Rojo, M., Cantoral, A., Kobrosly, R., Estrada, D., Orjuela, M., Gualtero, S., Ericsson, B., Rivera, A. y Fuller, R. (2014). Niveles de Plomo en Sangre en México y su Implicación para la Carga Pediátrica de la Enfermedad. *Anales de Salud Global*, 80 (4), 1.
10. • Secretaría de Gobernación. Modificación de los numerales 3, 6.1, tabla 1, así como los numerales 1 y 1.1.10, del Apéndice A, de la Norma Oficial Mexicana NOM-199- SSA1-2000, Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente, publicada el 18 de octubre de 2002. México: Diario Oficial de la Federación, 30 de agosto de 2017. Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5495551&fecha=30/08/2017](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5495551&fecha=30/08/2017)»  
[http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5495551&fecha=30/08/2017](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5495551&fecha=30/08/2017)
11. Terrazas-Meraz, María Alejandra, Hernández-Cadena, Leticia, Rueda-Hernández, Gabriela E, Romano-Riquer, Sonia Patricia, Shamah-Levy, Teresa, Villalpando-Hernández, Salvador, Téllez-Rojo Solís, Martha Ma, & Hernández-Ávila, Mauricio. (2015). Uso de cerámica vidriada como fuente de exposición a plomo en niños indígenas de zonas marginadas de Oaxaca, México. *Salud Pública de México*, 57(3), 260-264.
12. Guía breve de métodos analíticos para determinar las concentraciones de plomo en la sangre (OMS, 2013). Obtenido el 15 de julio de 2021 del sitio web: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77917/9789243502137\\_spa.pdf;jsessionid=](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77917/9789243502137_spa.pdf;jsessionid=)
13. Morales J, Fuentes J, Bax V, Matta H. Niveles de plomo sanguíneo y factores asociados en niños residentes de un distrito del Callao Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, vol. 38, núm. 2, pp. 135-144, 2018 Sociedad Venezolana de Farmacología Clínica y Terapéutica

## 8. ANEXO 1 Revisión bibliográfica:

### Efectos neurológicos de la concentración de plomo en sangre y comparación de métodos analíticos para su cuantificación empleando espectrometría de absorción atómica.

#### Resumen

El plomo es un metal divalente que ha sido utilizado desde la antigüedad en pinturas, gasolinas, utensilios de cocina. Este metal posee un nivel de toxicidad alto debido a que puede acumularse en el organismo, y no existe un nivel en sangre donde no se presenten daños. La principal población vulnerable es neonatos e infantes menores a 5 años, ya que se encuentran desprotegidos debido a que su barrera hematoencefálica no ha terminado de desarrollarse.

En la actualidad, este metal se ve implicado en procesos de fabricación de vasijas de barro vidriado. Diversos estudios han demostrado que las personas que emplean estos objetos poseen niveles de plomo más elevados que aquellas personas que no las utilizan. Para realizar la cuantificación de este metal pesado, se utilizan diversas técnicas, siendo la espectrometría de absorción atómica la elegida mayormente por su alto nivel de detección, sensibilidad y bajo costo.

#### Palabras Clave

Plomo, Validación, Absorción atómica, Intoxicación en niños, Neurotoxicidad

#### Summary

Lead is a divalent metal that has been used since ancient times in paints, gasoline, utensils and has a high level of toxicity because it can accumulate in the body and there is no level where damage does not occur, mainly in children who are unprotected because their blood-brain barrier has not finished developing and therefore are more susceptible to exposure to this metal.

Currently, this metal is involved in the manufacturing processes of glazed clay pots and several studies have shown that people who have been using these objects have higher levels than people who have not used them. To detect these levels, several techniques are used, being atomic absorption spectrometry the one chosen mainly for its high level of detection and sensitivity.

#### Key words

Lead, Validation, Atomic absorption, Children intoxication, Neurotoxicity.



## **1. Origen del Plomo**

Los metales pesados son persistentes en la naturaleza, en su estado libre son poco solubles y poseen baja biodisponibilidad. Sin embargo, formando sales son altamente tóxicos, por lo que se han desarrollado regulaciones con la finalidad de disminuir su presencia en el ambiente<sup>1,2</sup>. El plomo (Pb) es un metal pesado divalente que se encuentra en la naturaleza como mezcla de 3 isótopos: 206, 207 y 208, es no biodegradable e insoluble en agua<sup>3,4,5,6</sup>, posee un color plateado con tonos azulados, es flexible, inelástico y se funde con facilidad, su forma más abundante es la sal de sulfuro<sup>6,7,8</sup>.

Se sabe que durante el imperio romano se incrementó el uso de plomo debido a su maleabilidad y su resistencia a la corrosión, lo cual lo hacen atractivo y apto para trabajos como vasijas, armas y tuberías<sup>9,10</sup>. También, su ingesta era recomendada como agente anticonceptivo, remedio para enfermedades en la piel y combatir las arrugas faciales. Hoy en día está documentado que puede provocar infertilidad y daños a nivel fetal debido a su alto nivel de toxicidad<sup>1,4,9,16</sup>.

### **1.1 Plomo en gasolina**

El uso de plomo en sus diferentes formas ha sido empleado en diversas industrias, entre ellas la industria de la gasolina. El metal se empleaba con el fin de eliminar la detonación en motores de combustión interna y así aumentar su octanaje, sin embargo, esto generaba peligrosos derivados del tetraetilo de plomo resultantes de su combustión<sup>12,13</sup>.

En 1993, en una planta en Nueva Jersey se presentaron casos de trabajadores enfermos y cinco de ellos murieron a causa del contacto con el tetraetilo de plomo, esto tuvo como resultado la prohibición de este compuesto en Nueva Jersey y Nueva York<sup>12</sup>. En México se presentó una reducción del tetraetilo de plomo en gasolinas durante el año 1986 y permaneció así hasta su prohibición total en 1997 como consecuencia de una iniciativa del Banco Mundial<sup>13</sup>.

### **1.2 Plomo en la industria del color**

El plomo es valioso por el color y la mejora que aporta, esto, se evidenció desde el imperio romano<sup>9,13</sup>. Así mismo, durante la época de los sesenta, en el hospital 2 de mayo se presentaron varias intoxicaciones por ingesta de plomo al comer “pan de yema”, un pan fabricado artesanalmente que fue coloreado con “amarillo de plomo y cromo” para dar un aspecto amarillo huevo<sup>14</sup>.

Otra industria en la que fue aprovechado es la cosmética, utilizado como colorante en polvos faciales, ungüentos oculares y colorantes blancos. En sus usos destaca el producto “Khol” que era una combinación de plomo, ceniza, cobre y almendras quemadas que se aplicaba alrededor de los ojos<sup>9,13,15</sup>. El acetato de plomo es una sal venenosa y altamente soluble que era utilizada comúnmente en colorantes en la industria textil y cosmética. Sin embargo, en enero del 2022 la FDA prohibió el uso como parte de su formulación<sup>2,11</sup>.

### **1.3 Plomo en el medio ambiente y contaminación ocupacional**

La contaminación por plomo en el ambiente está presente en el agua, en el aire y en el suelo siendo el resultado de una bioacumulación a nivel de la cadena trófica. En el aire, este metal se encuentra en forma de partículas finas emitidas por fuentes contaminantes como haluros, óxidos, sulfuros y carbonatos de plomo que son liberados en forma de gases, vapores o partículas sólidas que son capaces de estar presentes en suspensión, las más perjudiciales para la salud son las que poseen un menor diámetro pues tienen mayor accesibilidad al tracto respiratorio<sup>8</sup>. Las partículas <10 µg, y especialmente las <2.5 µg, pueden cruzar las defensas del sistema respiratorio y entrar en los pulmones<sup>17</sup>. De acuerdo con la NOM-026-SSA1-1993 sobre la calidad del aire, establece que “La concentración de plomo, como

contaminante atmosférico, no debe rebasar el valor permisible de 1.5 µg/m<sup>3</sup> en un periodo de tres meses promedio aritmético, como protección a la salud de la población susceptible<sup>8,17</sup>.

En general, plomo es un elemento pesado de lenta movilidad que puede permanecer como residuo en el suelo aproximadamente unos 740 a 5900 años<sup>2,5</sup>. Se ha demostrado mediante un estudio con isótopos, la identificación de plomo en secciones de fósiles de hielo encontrados en Groenlandia de hace 1500-2300 años<sup>9,13</sup>. Este metal es altamente bioacumulable tanto en un ser vivo como en el suelo y su transmisión puede darse a través de la cadena trófica<sup>1,4,9,11</sup>. Por otra parte, en el suelo, se presenta un incremento en temporada de lluvias a consecuencia de su sedimentación<sup>16</sup>. De acuerdo con la secretaría del medio ambiente en México, los niveles de plomo permitidos a nivel residencial son de 400 ppb mientras que a nivel industrial es de 800 ppb<sup>18</sup>. La disponibilidad del plomo en el suelo depende del pH, cuando este es neutro o alcalino hay un aumento en su absorción, mientras que un pH ácido la disminuye. Otro factor que influye en su disposición es la cantidad de materia orgánica y tipo de suelo, ya que cuando la materia orgánica es alta el metal no presenta movilidad causando que las raíces accedan difícilmente a este<sup>19,20</sup>.

La contaminación de plomo en agua es resultado de los desechos industriales no tratados, los cuales llegan al suelo y a su vez pueden llegar a los alimentos y por ende al ser humano<sup>4</sup>. Un estudio de suelo realizado en 2018 en Perú determinó que la contaminación encontrada en parques estaba por arriba de los límites permitidos, demostrando con ello que, la contaminación provenía de sedimentos transportados por el agua en épocas de inundaciones, por el desbordamiento del río Rimac depositando sedimentos que provenían de desechos tóxicos por fábricas hacia el río durante la época de avenida<sup>5</sup>.

Para combatir la contaminación ambiental por plomo, existen tratamientos que son costosos y que no siempre eliminan los contaminantes del suelo, entre ellos encontramos la reducción química, enjuague in situ, la solidificación, el tratamiento térmico y la electrocinética<sup>2</sup>. Una alternativa para el tratamiento de aguas y suelo es la fitorremediación, empleando plantas que mantienen un nivel de tolerancia alta a metales pesados como la *C. zizanooides*<sup>1</sup> y *H. annuus*. Estas son favorables para un tratamiento a los suelos contaminados mediante una fitoextracción del 10 al 25% del plomo en el suelo. Otra alternativa es el uso de un hongo formador de micorrizas arbusculares, que incrementa la fitoextracción significativamente<sup>2</sup>. Otros ejemplos de plantas bioacumuladoras de metales pesados son *Acacia farnesiana*, *Acacia macrantha*, *Acacia visco*, *Buddleja coriácea*, *Eucalyptus globulus*, *Myooporum laetum*, *Polepis racemosa* y *P. laevigatas*. También pueden emplearse agentes quelantes y la formación de complejos con los iones metálicos que pueden ser captados por plantas<sup>1,20</sup>.

#### **1.4 Plomo en vasijas de barro vidriado**

Una de las principales fuentes de plomo es el uso de la cerámica vidriada, la cual ha sido utilizada desde la antigua Grecia y es empleada en países de Latinoamérica, el norte de África y medio oriente. En América, el vidriado con plomo fue introducido por los españoles en el siglo XVI<sup>21</sup>. Actualmente en México el uso de vasijas de barro es una de las principales causas de aumento de plomo en sangre, ya que son empleados para preparar y servir alimentos tradicionalmente. Estos utensilios poseen un recubrimiento de esmalte elaborado a base de una mezcla de sílice y óxido de plomo que se funde y se aplica de forma líquida para ser horneado a bajas temperaturas (850-1000 °C), lo cual provoca que el plomo no alcance la temperatura de fusión para formar silicatos de plomo insolubles. El metal se queda fijo al esmalte y es liberado al estar en contacto con el agua o alimentos ácidos tales como: jitomate, café, chile y jugo de limón que aceleran el proceso de lixiviación del metal<sup>21,22,23</sup>. En 2017, un estudio en el cual dieron de beber limonada preparada en un recipiente de barro vidriado a ratas Wistar hembras, demostró un incremento de las concentraciones de plomo en sangre hasta 40 veces mayor que en la limonada preparada en un recipiente de vidrio<sup>23</sup>. Además, se ha demostrado que la población que

emplea este tipo de utensilios presenta un incremento de hasta el 37% de plomo en sangre en comparación con las personas que no los utilizan<sup>24</sup>. Un estudio más reciente reportó niveles de plomo elevados en sangre hasta del 26.5% de la población, la cual estuvo expuesta a barro vidriado tres meses antes de la toma de muestra, dando como resultado una diferencia significativa del 30.7% con respecto al 11.8% de personas que no estuvieron expuestas al barro vidriado<sup>25</sup>.

En México en el 2013 la secretaría de gobernación a través de la NOM-004-SSA-2013 la cual establece que *“Se prohíbe utilizar compuestos de plomo como ingrediente o materia prima en la fabricación de: pinturas, esmaltes, recubrimientos, tintas, alfarería vidriada, cerámica vidriada y porcelana, que sirvan para contener y procesar alimentos y/o bebidas; juguetes, lápices, plumas, colores para dibujar, plastilinas y otros artículos escolares; tintas, productos cosméticos, muebles y pinturas para exteriores e interiores de inmuebles habitacionales, oficinas, escuelas, guarderías, emulsiones y esmaltes domésticos; así como otros productos de consumo en cuya composición intervengan estos compuestos y que puedan estar en contacto con las personas”*. En contraste, actualmente los alfareros continúan con su uso pese a que se han presentado alternativas de esmaltes libres de plomo, sin embargo, estas propuestas no proporcionan el brillo llamativo a las piezas fabricadas<sup>12,26</sup>. Un estudio realizado entre el 2009 y 2012 tuvo como objetivo analizar el suelo de casas-talleres de alfareros, correlacionando las concentraciones en sangre y la pérdida del coeficiente intelectual (CI). Los resultados sugieren una pérdida de 7.13 a 8.84 puntos de CI en personas que habitaban suelos contaminados por el metal. Lo cual correlacionó con su incremento en sangre hasta 26.4 µg/dL en menores de 8 años<sup>7,13</sup>.

## **2. Importancia del plomo**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2021 incluyó al plomo en la lista de los diez productos químicos causantes de efectos tóxicos sobre la salud<sup>27</sup>. Los efectos dañinos por este metal se ven exacerbados con el aumento de su concentración en sangre, esto como resultado de su bioacumulación<sup>13</sup>. La OMS registró en el 2019 que la exposición al plomo provocó 900,000 defunciones en todo el mundo, debido a sus efectos a largo plazo. Actualmente, se considera que este metal puede generar daños inclusive a niveles mínimos<sup>28</sup>.

### **2.1 Toxicocinética**

El plomo puede ser absorbido por diferentes vías, como el sistema respiratorio, cutáneo y por vía oral. Posteriormente es fácilmente distribuido en los riñones, el hígado, el encéfalo y los huesos, ya que al ser un metal divalente es similar a otros elementos semejantes como el calcio y zinc, los cuales cumplen funciones importantes en el organismo. Un ejemplo es la sustitución de calcio en los sitios encargados de regular procesos intracelulares y siendo capaz de activar las fosfodiesterasas de calmodulina<sup>3,29</sup>. La calmodulina es una proteína que posee 4 sitios de unión a Ca<sup>2+</sup> y regula varios procesos a nivel de la glándula adrenal y cerebral<sup>30,31</sup>. El grado de toxicidad puede estar influenciado por el estado de nutrición, ejercicio, influencia hormonal y metabólica<sup>8,32,33</sup>. La Figura 1 muestra el modelo biológico de distribución de plomo en el organismo y vías de exposición.

Los huesos actúan como reservorio del plomo, por lo que este metal presenta un tiempo de vida media de 5 a 19 años. Sin embargo, la movilidad del metal depende de la etapa de vida en la que se encuentre la persona: embarazo, lactancia, menopausia, inmovilidad, senectud, toxicosis<sup>32</sup>. Se ha documentado que entre el 45 a 70% de plomo presente en los huesos puede regresar a la sangre<sup>3,11,33</sup>. Es importante destacar que plomo es capaz de atravesar la barrera placentaria y hematoencefálica lo cual aumenta la posibilidad de abortos espontáneos. Este metal puede ser detectado en el feto entre la semana 12 y 14 de gestación<sup>14,15</sup>.

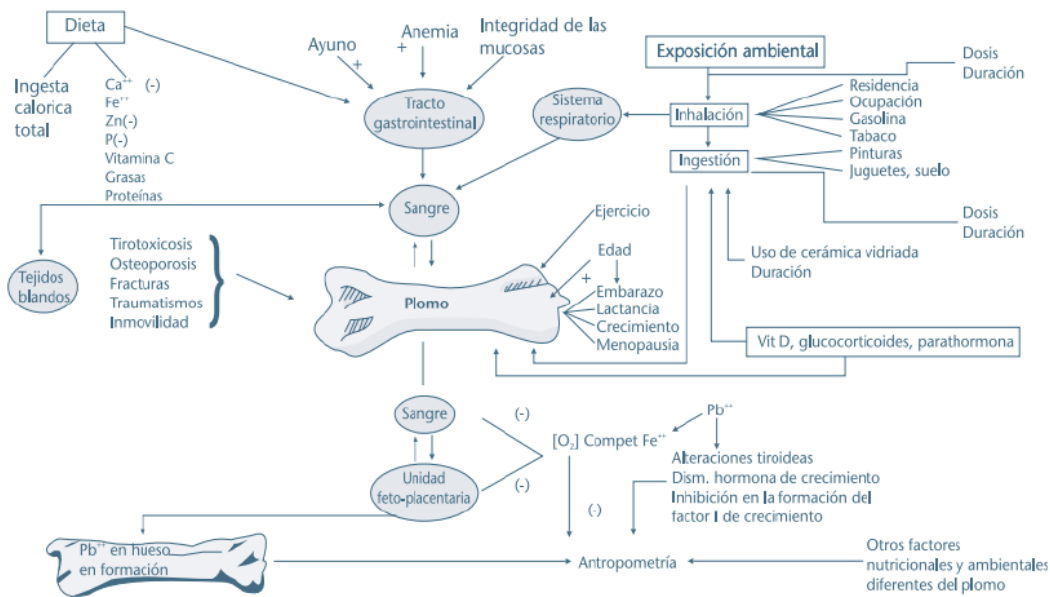


Fig. 1 Modelo biológico de la distribución de plomo<sup>33</sup> (Tomado de: Senín *et al.*, 1998).

Por otra parte, este metal posee una gran afinidad por los eritrocitos, y el 95% de la carga corporal de plomo (CCP) se une a ellos inhibiendo la síntesis de hemoglobina mediante la disminución de la fuerza de difusión, lo que provoca mayor permanencia del metal en el organismo<sup>12,13</sup>. Las principales dianas del plomo son sistemas enzimáticos de tipo “tiol” dependientes de zinc, entre las más importantes se encuentran la delta-aminolevulinico dehidrasa y la ferroquelatasa que intervienen en la síntesis del grupo hemo en la sangre<sup>6</sup>.

Otros aspectos toxicológicos en los que puede estar involucrado es la nefrotoxicidad y el aumento de la presión arterial, como consecuencia de su capacidad para producir radicales libres, así como al disminuir la producción de óxido nítrico y la expresión de la enzima guanilato ciclasa<sup>3,34,35</sup>.

Finalmente, el plomo puede ser excretado por diferentes vías, sin embargo, la principal ruta de eliminación es la orina en 80-90%; y en menor cantidad a través de la bilis, heces, la piel, cabello, sudor, dientes y leche materna<sup>13,16</sup>. La figura 2 muestra un esquema del porcentaje y vías de absorción del metal.

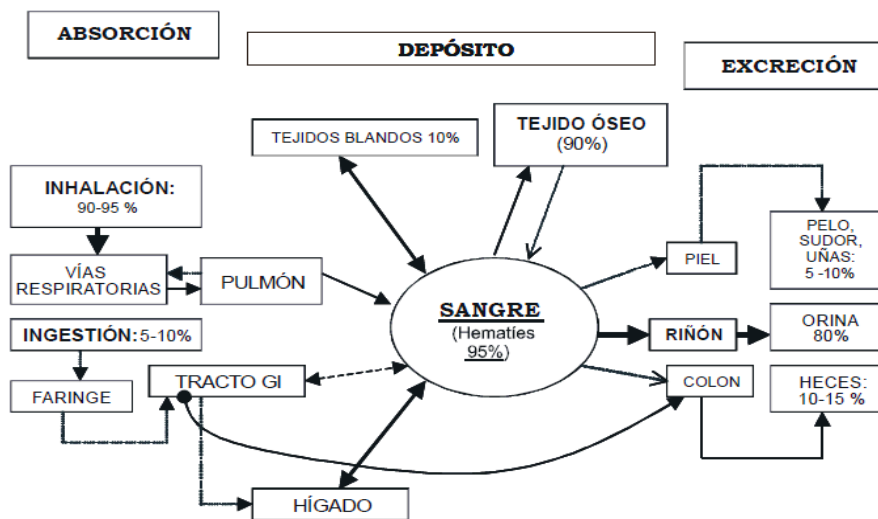


Fig. 2 Vías de absorción y excreción del plomo en el ser humano<sup>14</sup> (Tomado de: Ramírez, A, 2005).

## 2.2 Intoxicación en adultos: exposición ambiental y ocupacional

Las personas se ven expuestas al plomo por condiciones ambientales y/u ocupacionales mediante la inhalación de partículas que contienen este metal. Un ejemplo de ello son los depósitos mineros que a consecuencia del escurrimiento superficial del drenaje ácido y la dispersión de partículas por el viento son factores de riesgo ambiental y de salud pública<sup>6,12</sup>. La Tabla 1 muestra las diferentes vías de intoxicación por plomo en adultos.

Estudios han demostrado un impacto significativo por contaminación ocupacional y ambiental en el incremento en niveles de plomo en sangre, así como la relación que tiene con padecimientos como insuficiencia renal e hipertensión arterial. Adultos que padecen enfermedad renal poseen concentraciones de plomo en sangre más altas que la población sana, esto puede atribuirse a la pérdida completa de la función renal para excretarlo. Es importante señalar que el metal presenta dificultad para eliminarlo a través de la hemodiálisis<sup>35,36</sup>.

En el 2003 se demostraron niveles altos de plomo en sangre y orina en la población venezolana, producto de emisiones de automóviles que utilizaban aditivos con plomo<sup>36</sup>. En México en 2005, se determinó que despachadores de gasolina de ambos sexos en edad promedio de 23 años, presentaron valores del metal en sangre superiores a 10 µg/dl. De esta población muestreada el 45% eran mujeres, quienes pudieran presentar riesgo reproductivo debido a la intoxicación<sup>39</sup>. Un estudio realizado en el año 2018 demostró que las profesiones que tenían mayor exposición al metal pertenecían a trabajadores que se desempeñaban en la industria metalúrgica, soldadores, reparadores o recuperadores de acumuladores, mecánicos, pintores; predominando el sexo masculino y con valores de plomo en sangre entre 5 µg/dl – 89 µg/dl sobrepasando los límites de referencia<sup>6</sup>.

**Tabla 1. Fuentes de intoxicación por plomo en adultos<sup>14</sup>. (Obtenido de: Ramírez, A, 2005)**

Ocupacional	Ambiental	Abusos de sustancias	Otras
<b>Plomería</b>	Casas pintadas con pinturas de plomo	Sustancias ilegales: marihuana, cocaína, meta-anfetamina	Suplementos vitamínicos
<b>Metalurgia de plomo</b>	Agua potable contaminada	Licores caseros	Proyectiles alojados en el cuerpo
<b>Minería de plomo</b>	Polvos de suelos cercanos a fundiciones	Olores de gasolina	Pesca: pesos de plomo
<b>Soldadores</b>	Puertos o autovías		Reparadores de carros
<b>Construcción civil</b>	Grifos de venta de gasolinas con plomo		
<b>Industria cerámica</b>			
<b>Manufactura caucho.</b>			
<b>Manufactura de vidrio</b>			
<b>Reparación de buques</b>			
<b>Cortadores de metal</b>			
<b>Manufactura de plásticos</b>			
<b>Manufactura de baterías</b>			

### 2.3 Intoxicación en niños

Los niños son más susceptibles a la intoxicación por plomo ya que poseen una tasa de absorción intestinal mayor, de entre 5 a 10 veces más que la de un adulto. Además, la absorción puede ser incrementada si el intestino se encuentra vacío o si existe una deficiencia de hierro, zinc y calcio. El exceso del metal puede ser almacenado hasta en un 70% en sus huesos<sup>32,40</sup>

Otro factor importante que considerar en infantes es su alta frecuencia respiratoria, por lo que tienen la capacidad de respirar más volumen por kilo de aire contaminado. Plomo posee un efecto neurotóxico que, si bien afecta a los adultos, este tiene un mayor impacto en el feto y en los niños, ya que son más vulnerables debido a que la barrera hematoencefálica en neonatos se termina de formar después de los 6 meses de nacimiento y termina su maduración entre los 10 y 11 años<sup>39</sup>. A nivel periférico, plomo es acumulado en el espacio Endo neuronal de los nervios periféricos, causando aumento en la presión y daño axonal; lo que causa fatiga, dolor de cabeza, problemas para dormir, irritabilidad, convulsiones, mareos, ataxia y afecta la habilidad cognitiva<sup>34</sup>. Está bien documentado que

a niveles bajos (incluso menores a los límites permitidos) los niños presentan una disminución en el CI, anemia, cambios de comportamiento, disminución de la capacidad de concentración, aumento de las conductas antisociales y un menor rendimiento escolar. Se sugiere que los efectos neurológicos y conductuales asociados al plomo son irreversibles<sup>27</sup>.

Los efectos neurotóxicos alteran la transmisión y plasticidad sináptica, la modificación de expresión génica, interrupción directa luego de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) o competencia con sitios de unión de iones fisiológicos en las proteínas. Estos mecanismos coinciden con las nuevas causas descubiertas de trastornos neurológicos como el trastorno del espectro autista (TEA), esquizofrenia y la enfermedad de Alzheimer (EA). Así mismo, se ha demostrado la relación de la intoxicación con plomo y la pérdida de memoria. Se ha sugerido que la exposición al metal modifica la respuesta de la neurotransmisión glutamatérgica, la cual impide una inhibición reversible de la corriente del canal de calcio activado por N-metil-D-aspartato (NMDA) mediante el bloqueo del receptor de N-metil-aspartato (NMDAR), evitando la entrada de  $Ca^{2+}$  a la neurona postsináptica mediante la competencia con zinc por el sitio de unión; llevando el sistema nervioso del feto a un estado de excitación glutamatérgica en las neuronas del hipocampo, que están relacionadas con funciones cognitivas y neuroconductuales<sup>40,41,42</sup>.

Diversos estudios (ver Tabla 2.) estudian la presencia de plomo en ratas, niños, adolescentes, neonatos e incluso en leche materna, destacando que se encuentran por arriba de los valores de referencia. Esto a consecuencia de la exposición al metal por la vía ocupacional, alimenticia, o transmitida a través de la madre durante el embarazo. Por otro lado, se estima que el 99% de niños afectados por la exposición al plomo viven en países bajos y de medianos ingresos<sup>43</sup>. Un estudio en México en el año 2017 demostró que el lugar de residencia es un marcador para niveles elevados de plomo, ya que se obtuvo una concentración de intoxicación al nacimiento  $>5\mu\text{g/dL}$  en el 14.7% de la población estudiada; este porcentaje es aún mayor (22.2%) en la población más marginada del estado de Morelos, en donde se observó deficiencias nutricionales de micronutrientes, condiciones que favorecen la asimilación gastrointestinal del plomo y potencian su efecto tóxico<sup>23</sup>. Actualmente en México, la NOM-199-SSA1-2000, "Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente" establece que los niveles mínimos de plomo en sangre en niños, mujeres embarazadas y en periodo de lactancia es de  $5\mu\text{g/dL}$ . En contraste los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en Estados Unidos establece un valor de  $3.5\mu\text{g/dL}$ <sup>44</sup>.

**Tabla 2. Revisión bibliográfica de estudios con valores significativos por intoxicación con plomo.**

Año y lugar	Población	Muestra	Objetivo	Resultados	Ref.
<b>1998-2008 México</b>	Niños	Sangre	Establecer las concentraciones de plomo (Pb) en sangre en niños de edad escolar de 1998 y 2008, así como su asociación con factores de riesgo. Se concluye, la disminución de niveles de plomo en sangre a lo largo de 10 años debido al cambio en diferentes factores como el lugar de residencia, la edad, el género, el agua, y las actividades diarias. Así mismo, este hallazgo se atribuye gran parte a la eliminación del plomo en la gasolina.	Se encontró diferencia significativa de plomo en sangre ( $p=0.006$ ) de acuerdo con la toma de agua embotellada ( $8.20 \pm 2.16 \mu\text{g/dL}$ ) a comparación de los que no la tomaron ( $9.81 \pm 3.12 \mu\text{g/dL}$ ) Con relación al año, se obtuvieron niveles séricos de $9.6 \pm 3.0 \mu\text{g/dL}$ en 1998 y de $4.5 \pm 4.8 \mu\text{g/dL}$ (rango de 3.3 a 53.7) en 2008, lo que mostró una disminución de 2.1 veces en nivel de Pb atribuible a un mejor control ambiental e industrial.	[45]
<b>2004-2005 Perú</b>	Neonatos	Sangre de cordón	Determinar los niveles de plomo en sangre de los recién nacidos (RN) de menos de 12 horas de vida, en la	El 75.3% de la población en estudio presentó valores de $6.0$ a $10 \mu\text{g/dL}$ y el 20% $10 \mu\text{g/dL}$ .	[42]

		umbilical	ciudad de La Oroya. Se concluye que 1 de cada 4 recién nacidos poseen niveles mayores a los permitidos y se encuentran en riesgo de sufrir efectos dañinos a su salud debido a la exposición prenatal al plomo.		
<b>2004-2006 Colombia</b>	Niños	Sangre  Examen físico de aprendizaje a-je	Determinar la correlación que existe entre el nivel de plomo en sangre de niños en edad escolar y sus habilidades cognitivas superiores involucradas en su aprendizaje académico en la enseñanza primaria en el municipio Centro Habana. Se concluye, que existe posible asociación entre los niveles de plomo en sangre y el aprendizaje, la conducta y la atención de los educandos. Así como daños producidos en niveles de plomo en sangre que se consideraban hasta hace poco tiempo, como seguros.	El 46.2% de la población en estudio presentó niveles de Pb mayor a 10 µg/dL, de los cuales el 67.7% presentaron problemas de aprendizaje.	[46]
<b>2009-2012 México</b>	Casa-taller Niños	Suelo	Determinar si los hijos de alfareros que han sido expuestos a plomo en sus casas-talleres presentan un CI disminuido. Se concluye que la población en estudio son una población en riesgo y es necesario desarrollar programas de vigilancia epidemiológica para cuidar de la salud de los alfareros y sus familias.	Concentración promedio de plomo en suelo: 1098.4 ppm; y en sangre: 26.4 µg/dL en menores de 8 años. La pérdida de puntos de CI estimada fue 7.13 y 8.84	[21]
<b>2010-2012 Perú</b>	Mujeres embarazadas	Leche materna	Determinar la presencia y nivel de plomo en leche materna de madres de recién nacidos. Se observó la presencia de una cantidad importante de madres, aparentemente no expuestas, con leche materna contaminada con plomo una población.	Se determinó que el 37% de las muestras presentaron una concentración de plomo en un rango de 5.0-9.9 ng/g.	[47]
<b>2011-2012 Perú</b>	Neonatos	Sangre de cordón umbilical	Determinar el nivel de plomo en sangre de cordón umbilical de recién nacidos hijos de mujeres primerizas residentes de la zona norte de Lima Perú. Se concluye una alta frecuencia de neonatos contaminados con plomo en hijos de madres primigestas residentes de la zona norte de Lima. Así mismo, se observa niveles tóxicos de plomo en recién nacidos cuyas madres tuvieron mayor tiempo de residencia en estos en ciertas regiones específicas.	Se determinó que el 30% tenían valores considerados de riesgo (>3.0 µg/dL) y el 16% con niveles tóxicos (>5 µg/dL)	[41]
<b>2011-2016 Perú</b>	Niños	Sangre	Clasificar los niveles de plomo sanguíneo y conocer los factores asociados a niveles elevados de plomo sanguíneo en niños residentes de un distrito del Callao. Se concluye que existe un alto índice de niños con niveles altos de plomo sanguíneo y los factores asociados son: sexo masculino, edad, capacitación de los padres respecto a los daños que ocasiona la exposición al plomo, lugar de residencia, hábitos de ingesta de tierra, contaminación en juguetes.	Se determinaron valores de plomo en sangre mayores al valor de referencia. -18.1% de los niños <5 µg/dL -54 % entre 5 y 10 µg/dL -27.4% ≥10 µg/dL en niños menores de 10 años	[43]
<b>2012</b>		Laberinto	Analizar los efectos de la	Se observó un impacto	[48]

<b>México</b>	Ratas Wistar	acuático	administración subaguda del plomo sobre el aprendizaje y memoria de ratas adultas Los resultados demuestran que el plomo no afecta el aprendizaje, pero si la memoria en los grupos que fueren expuestos a una mayor concentración del metal.	significativo en la memoria al exponerlas a concentraciones de acetato de plomo de 125, 250 y 500 ppm. Además, en los dos últimos grupos se evidenció daño celular en neuronas con respecto al grupo control.	
<b>2012-2013 Colombia</b>	Adolescente	Sangre	Describir los hallazgos sociodemográficos y clínicos de los casos encontrados en menores de 17 años con concentraciones de plomo por exposición ambiental en Bogotá.	El 93.7% de las muestras de sangre se encontraron contaminadas con Pb, de las cuales el 37.5% mostraron valores superiores al valor de referencia.	[49]
<b>2016 Venezuela</b>	Niños y adultos	Orina	Evaluar la función renal y niveles urinarios de cadmio y plomo en niños expuestos al humo de tabaco ambiental en una comunidad del municipio Naguanagua (Carabobo, Venezuela). Se demostró una correlación positiva de los valores absolutos de los marcadores nefrotóxicos al haber una exposición al humo de tabaco; además, se estableció que es importante considerar el grupo etario durante la interpretación de los resultados ya que se la excreción del plomo va a variar de acuerdo con la edad; se ha descrito que los niños menores de 2 años retienen el 34% del plomo absorbido en comparación con un adulto 1%.	Se determinó que niños expuestos al humo de tabaco presentan mayor concentración de plomo en orina que los niños que no se vieron expuestos ( $p < 0,05$ ) entre los índices $\beta$ -2 microglobulina/Creatinina $\beta$ 2M/Cr y Albumina/creatinina A/Cr en ambos géneros y grupos etarios.	[50]
<b>2021 México</b>	Niños	Sangre	Describir la posible exposición a metales en el sector ladrillero de México y sus efectos en salud; así como las intervenciones en diferentes sectores del país. Se concluye que las zonas ladrilleras presentan altos niveles de contaminación con metales. Se requiere de información que refleje la exposición a mezclas de sustancias tóxicas en trabajadores, familias y población aledaña a estas zonas.	Se detectó que los niveles de Pb en sangre de la población muestreada en los estados de: San Luís Potosí (2.80-16.60 $\mu$ g/dL), Querétaro (3.0-8.0 $\mu$ g/dL), Durango (2.0-7.0 $\mu$ g/dL) y Zacatecas (5.0-45.0 $\mu$ g/dL) se encontraron por encima del valor de referencia.	[51]

### 3. Métodos de cuantificación de plomo

Existen diversos métodos analíticos para cuantificar las concentraciones de plomo en sangre, entre los que destacan, la espectrometría de absorción atómica, la voltamperometría de redisolución anódica y la espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo; siendo la primera de importancia debido a su sensibilidad para la cuantificación de metales a niveles de partes por billón (ppb), con una instrumentación relativamente sencilla y sin los esfuerzos y pérdidas de tiempo que conllevan las técnicas de extracción previa (ver Tabla 3). Estos métodos difieren considerablemente en términos de capacidad analítica evaluados como límites de detección, precisión y exactitud; costos de adquisición y mantenimiento, infraestructura requerida en el laboratorio, reactivos e insumos; así como de sus requisitos técnicos tales como la preparación de la muestra, calibración y personal capacitado. La elección del método se va a adecuar a las condiciones y los recursos del laboratorio que lo vaya a emplear. La sensibilidad del método es un factor importante durante la elección del método analítico<sup>52</sup>.



Tabla 3. cuadro comparativo de métodos de detección de plomo<sup>52</sup> (Tomada de: Guía OMS, 2013).

Método	Ventajas	Limitaciones
<b>Espectrometría de absorción atómica por llama</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere solo conocimientos básicos de laboratorio</li> <li>• Prueba rápida</li> <li>• Tamaño reducido de la muestra con la copa de Delves (50–100 µL)</li> <li>• Bajo precio y bajos costos de funcionamiento</li> <li>• Relativamente pocas interferencias</li> <li>• Interfaz robusta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Límite de detección relativamente alto (~10 µg/dL)</li> <li>• Tiempo necesario para la preconcentración o digestión de la muestra si no se utiliza la cubeta de Delves</li> <li>• Se necesitan muestras de gran tamaño para los métodos de nebulización</li> <li>• No se puede dejar el equipo funcionando sin supervisión</li> </ul>
<b>Espectrometría de absorción atómica por horno de grafito</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Límite de detección adecuado (&lt;1–2 µg/dL)</li> <li>• Tamaño reducido de la muestra</li> <li>• Precio y costos de funcionamiento moderados</li> <li>• Moderada capacidad para analizar múltiples elementos</li> <li>• Relativamente pocas interferencias (aunque más que con la espectrometría de absorción atómica por llama)</li> <li>• Ampliamente utilizada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La prueba lleva más tiempo</li> <li>• Requiere experiencia de laboratorio (más que con la espectrometría de absorción atómica por llama)</li> <li>• Mayor potencial de interferencia espectral que con la espectrometría de absorción atómica por llama</li> </ul>
<b>Voltamperometría de redisolución anódica en el laboratorio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Buen límite de detección (2-3 µg/dL)</li> <li>• Precio y costos de funcionamiento bajos</li> <li>• Rapidez</li> <li>• Tamaño reducido de la muestra (~100 µL)</li> <li>• Equipo relativamente simple</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Requiere experiencia de laboratorio (similar a la espectrometría de absorción atómica por horno de grafito)</li> <li>• Requiere pretratamiento de la muestra</li> <li>• Algunos factores pueden afectar la medición (por ejemplo, la presencia de cobre)</li> <li>• Hay cada vez menos proveedores</li> </ul> <p><b>Voltamperometría de redisolución anódica portátil</b></p>
<b>Voltamperometría de redisolución anódica portátil</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Portátil; permite la medición en el lugar de la consulta</li> <li>• Fácil de usar; no requiere personal de laboratorio especializado</li> <li>• El precio y los costos de funcionamiento son muy bajos</li> <li>• El límite de detección es razonablemente bueno para un dispositivo portátil (3,3 µg/dL)</li> <li>• Es un método rápido</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No es tan precisa como otros métodos</li> <li>• Permite determinar niveles solo de hasta 65 µg/dL</li> <li>• Los niveles superiores a 8 µg/dL se deben confirmar mediante un método de laboratorio</li> </ul>
<b>Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Límite de detección excelente (~0,1 µg/dL)</li> <li>• Rapidez</li> <li>• Tamaño reducido de la muestra (50–100 µL)</li> <li>• Relativamente pocas interferencias espectrales, bien conocidas</li> <li>• Permite mediciones isotópicas</li> <li>• Método económico si se procesan grandes cantidades de muestras</li> <li>• Capacidad para investigar más de un elemento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Precio y costos de funcionamiento elevados</li> <li>• Requiere operadores altamente especializados</li> </ul>

### 3.1 Voltamperometría de redisolución anódica

Es una potente técnica analítica de amplio espectro, económica y amigable con el medio ambiente para la detección de metales traza, ya que posee una alta sensibilidad y reproducibilidad. Se basa en la preconcentración del analito, mediante su reducción en una película delgada sobre el electrodo de trabajo. Adicionalmente, el potencial se vuelve más positivo y oxida la especie en la solución. La corriente medida durante la oxidación es proporcional a la cantidad de analito que fue depositada<sup>53</sup>.

#### 3.1.1 Dispositivo anódico de laboratorio

Esta técnica se utiliza para medir diferentes elementos, pero es comúnmente utilizada para la detección de plomo en sangre. Requiere plomo en forma de catión  $Pb^{2+}$  acuoso libre y no en complejos, mide concentraciones entre 1 a 100 µg/dL, pero su reproducibilidad es mayor cuando se utilizan concentraciones de plomo en sangre mayores a 10 µg/dL<sup>52</sup>. Los resultados de esta técnica se ven afectados cuando existe la presencia de algún otro metal, el uso de reactivos que formen complejos con

el plomo y alteren su potencial reductor, así como la presencia de quelantes o las concentraciones de cobre elevadas ya que estas pueden generar picos falsos o formación de complejos<sup>52</sup>.

### 3.1.2 Dispositivo portátil

Este dispositivo fue comercializado en 1997 como “LeadCare” y actualmente es utilizado para medir concentraciones de plomo en sangre sin asistencia médica. El rango de concentraciones en el cual se trabaja es de 3.3-65µg/dL. Es de fácil uso y su tiempo de análisis es de alrededor de tres minutos, utilizando 50 µl de sangre capilar. Sin embargo, una de las principales desventajas es el gran número de falsos positivos o negativos obtenidos durante el empleo de la técnica <sup>52</sup>.

### 3.2 Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo

Esta técnica permite la detección de la mayoría de los elementos de la tabla periódica que tengan un potencial de ionización menor al del argón a concentraciones muy bajas. Se fundamenta en la atomización e ionización de los átomos que se desean analizar. La muestra en su estado líquido es transportada mediante un nebulizador donde es atomizada y es transformada en aerosol por medio de la acción del argón. Posteriormente, el aerosol es conducido a la zona de ionización que consiste en un plasma, el cual puede alcanzar temperaturas de hasta 8000 °K al someter un flujo de argón a la acción de un campo magnético oscilante inducido por una corriente de alta frecuencia. Finalmente, los iones se extraen del plasma y se hacen pasar por un espectrómetro de masas, en el cual se evalúa la abundancia de la muestra separando sobre la base de su relación masa/carga<sup>53,54,55</sup>.

### 3.3 Espectrometría de absorción atómica en llama (EEA)

Esta técnica utiliza una mezcla de acetileno y aire u óxido nitroso para atomizar los metales en un rango de temperaturas entre 2000-3000°C. El límite de detección va a depender del proceso y método de preparación de las muestras.<sup>52</sup>

- Método de la cubeta de Delves: Permite analizar muestras de 50-100 µl con un límite de detección entre 10-30 µg/dl.
- Métodos de nebulización: Permite analizar muestras de mayor concentración con un límite de detección de 100 µg/dl.

El analito pasa por una serie de etapas, desde la disolución inicial hasta llegar a transformarse en vapor atómico, las cuales se describen en la tabla 4. Durante el desarrollo de esta técnica se emplea un nebulizador para generar niebla a partir de la solución del analito; y por evaporación del solvente cerca de la base de la llama, se obtienen pequeñas partículas sólidas las que son fundidas y vaporizadas disociándose de sus moléculas constituyentes para producir átomos en su estado basal. Los átomos libres pueden ser excitados por la fuente de radiación. Para esta técnica se emplea lámparas de deuterio y EDTA para eliminar interferencias en el medio de disolución a una longitud de onda de 217nm <sup>56</sup>.

**Tabla 4. Etapas de procesamiento de la muestra durante la técnica de EEA en llama (Tomado de Guijarro, 2020)<sup>7</sup>.**

ETAPAS	ESTADO DE MUESTRA	OBSERVACIONES
	M+ + A- Disolución	Muestra inicial en disolución
Nebulización	M+ + A- Aerosol	La muestra es aspirada como fino aerosol hasta la llama
Desolvación	MA Sólido	En la llama se elimina el disolvente y quedan partículas sólidas
Licuefacción	MA Líquido	Al aplicar más calor se produce licuefacción de las partículas de la muestra

Vaporización	MA Gas	El calor adicional vaporiza la muestra. El elemento de interés sigue formando moléculas
Atomización	M0 + A 0 Gas	Aplicando más energía calorífica se produce la disociación en átomos individuales (átomos en estado fundamental). En esta etapa se determina la cantidad de radiación absorbida
Excitación	M+ Gas	átomos en estado excitado tras la absorción de energía
Ionización	M+ + e- Gas	

### 3.4 Espectrometría de absorción atómica de horno de grafito

Este método se fundamenta en la cantidad de luz absorbida o transmitida por los átomos libres a una longitud de onda específica para cada elemento que se desee estudiar. La cantidad de luz absorbida se correlaciona generalmente, pero no exclusivamente, de manera lineal con la concentración del analito<sup>53</sup>. La longitud de onda empleada para la cuantificación de plomo es de 283.3 nm, emitida por una lámpara de cátodo hueco. Se presenta una colisión de electrones que provoca la emisión de un espectro característico<sup>57</sup>.

Una de las ventajas del empleo de esta técnica es el volumen requerido de la muestra entre 2 a 20  $\mu\text{L}$  es dispensada en el interior del tubo de grafito; la cual es sometida a un programa de incremento de temperatura, hasta conseguir la atomización de la muestra. Normalmente el ciclo de temperaturas se realiza en cinco etapas: secado, pirolisis, atomización, limpieza y enfriamiento<sup>57</sup>.

#### 3.4.1 Proceso de secado y pirolisis o calcinado

Durante el proceso de secado, el objetivo es secar la muestra por lo que es calentada a una temperatura inferior a la de ebullición del solvente, comúnmente entre 80 a 120°C con el propósito de evaporar el disolvente, evitando salpicaduras<sup>56,57</sup>. Mientras que en la etapa de calcinado, la temperatura es incrementada con el propósito de eliminar la mayor parte de materia orgánica de la muestra, sin llegar a una temperatura que produzca pérdidas del analito, la muestra se incinera y cualquier constituyente se volatiliza. El rango de temperatura empleadas durante este proceso se encuentra entre 450-900°C<sup>56,57</sup>.

#### 3.4.2 Proceso de atomización

Esta fase se caracteriza por generar átomos en su estado fundamental en forma de vapor en la trayectoria del haz luminoso del instrumento. Se puede realizar mediante una llama, como se mencionó anteriormente, o una fuente electroquímica como es el caso al emplear el horno de grafito. El propósito de esta etapa es producir vapor atómico del analito y permitir la absorción de energía. La temperatura de esta etapa está en función del elemento que se esté analizando<sup>56,57</sup>.

Generalmente se emplea un tiempo de rampa de 0 s, y en menos de 1 s la muestra pasa de una temperatura de 20°C a 1800°C desnaturalizando una gran cantidad de moléculas. Este proceso es mantenido durante 3 a 5 s y no existe flujo de gas. Durante este periodo el equipo realiza las lecturas, excitando los átomos por medio de lámparas y registrando los valores de manera simultánea<sup>57</sup>. Cuando mejor sea la separación de los elementos contaminantes del analito mejor será la atomización y la determinación estará más libre de interferencias<sup>57</sup>.

#### 3.4.3 Proceso de limpieza y enfriamiento

En la etapa de limpieza se alcanzan con temperaturas superiores a la temperatura de atomización, en un rango de 1800-2800°C. Esto con la finalidad de eliminar interferencias o efecto de arrastre en las

siguientes lecturas<sup>57</sup>. Mientras que en la etapa de enfriamiento se deja el tubo de grafito a temperatura ambiente y preparado para la siguiente muestra<sup>58</sup>.

### 3.5 Modificadores de matriz

El modificador de matriz transforma las propiedades conocidas del metal y permite el uso de temperaturas más altas, por lo tanto, hay un flujo térmico más eficaz, lo cual mejora la separación de los materiales asociados durante el procesamiento de la muestra, y reduce las interferencias espectrales y químicas (ver Tabla 5)<sup>58, 59</sup>. El uso de mezclas de modificadores, como la de paladio (Pd) y nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ ), es recomendado comúnmente para las determinaciones en horno de grafito. La tabla 6 resume los resultados obtenidos durante la evaluación de seis modificadores de matriz para realizar la cuantificación de Pb pelo y uñas: Pd +  $Mg(NO_3)_2$ , Pd,  $NH_4H_2PO_4$  y Pd +  $NH_4H_2PO_4$ ,  $Mg(NO_3)$  y  $NH_4H_2PO_4$  +  $Mg(NO_3)$ . Siendo estos dos últimos los que proporcionan una mayor estabilidad del metal<sup>60</sup>. Por otra parte, la Norma Oficial Mexicana NOM-199-SSA1-2000 sugiere utilizar como modificador de matriz una solución que contenga 0.2 g. de fosfato dibásico de amonio  $(NH_4)_2HPO_4$ , 0.5 ml de Tritón X-100 y 0.2 ml de ácido nítrico ultrapuro por cada 100mL de solución<sup>61</sup>.

**Tabla 5. Efectos buscados de los modificadores de matriz**<sup>59</sup>

<b>Sobre el analito</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Estabilización térmica de analitos volátiles</li> <li>→ Isoformación de varias especies del analito</li> <li>→ Incremento de la volatilidad del analito</li> <li>→ Asistencia en la etapa de limpieza</li> <li>→ Especiación in situ</li> </ul>
<b>Sobre la matriz</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Incremento de la velocidad del interferente</li> <li>→ Transformación de especies menos dañinas</li> <li>→ Estabilización térmica del interferente</li> <li>→ Facilitar el quemado de matrices orgánicas</li> <li>→ Facilitar el contacto entre muestra y atomizado</li> </ul>
<b>Sobre la superficie del atomizador</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Distribución espacial y temporal del analito</li> <li>→ Porosidad y reactividad del grafito</li> </ul>
<b>Sobre la fase gaseosa</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Modificación de la composición de la fase gaseosa de ciertos componentes activos por la inducción de un gas alterno, oxigenación previa de la superficie de grafito, gases generados in situ</li> </ul>
<b>Sobre las características analíticas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Características metrológicas del procedimiento</li> <li>→ Características de ejecución</li> </ul>

**Tabla 6. Comparación de modificadores de matriz para una solución de plomo**<sup>60</sup>

Modificador	Observaciones
$Pd + Mg(NO_3)_2$	Se considera un modificador universal +Estabiliza térmicamente al analito y elimina los interferentes iónicos clorados durante la pirolisis -Necesita ser estudiados sobre su capacidad de estabilizar al analito y su acción sobre la absorción de fondo producida por la materia orgánica
$Pd$	-No fue adecuado para este estudio ya que no fue capaz de estabilizar al analito a altas temperaturas
$NH_4H_2PO_4$	+ Tiene la capacidad de mantener la estabilidad del analito hasta una temperatura de 1000°C durante la etapa de pirolisis
$Pd + NH_4H_2PO_4$	-No fue adecuado para este estudio ya que no fue capaz de estabilizar al analito a altas temperaturas
$Mg(NO_3)$	+ Presenta mejor capacidad de estabilizar al analito hasta los 1100°C + Efecto esperado en la señal de background
$NH_4H_2PO_4$ + $Mg(NO_3)$	+ Presenta mejor capacidad de estabilizar al analito hasta los 1100°C + Efecto esperado en la señal de background

### 3.5.1 Interferencias espectrales

Son interferencias que se originan por alguna señal alterada de la longitud de onda de radiación electromagnética seleccionada y su origen puede variar<sup>57,58,62</sup>. Las interferencias espectrales pueden ser clasificados en tres:

- I. Traslapamiento de líneas atómicas:** Es un suceso difícil, sin embargo, ocurre cuando otra especie atómica que no se está analizando absorbe la radiación incidente. Este problema se manifiesta por aumento de la señal ruido que disminuye el desempeño analítico. El potencial observado para la emisión interferente se incrementa con la longitud de onda<sup>57</sup>.
- II. Dispersión de partículas:** Cuando la solución aspirada hacia el quemador tiene un gran número de sólidos disueltos, es probable que se tenga este tipo de interferencia, debido a que las etapas del procesamiento de la muestra al analizarlas no ocurran en forma completa<sup>58,63</sup>.
- III. Traslapamiento de bandas moleculares:** De las interferencias existentes, es la más importante y se origina de la absorción de fondo. Existe una atenuación no específica de luz en la longitud de onda del analito, debido a una falsa absorbancia a consecuencia de la existencia de productos resultantes de la quema de la matriz del analito; y para ello es empleado los modificadores de matriz<sup>57,58,62</sup>.

### 3.5.2 Interferencias no espectrales

Este tipo de interferencias pueden dar origen a lecturas mayores o menores a los valores esperados; y son el resultado de la complejidad de la matriz, la cual puede dificultar la formación de átomos libres del analito. A continuación, se mencionan algunas alternativas para corregir estas interferencias.

- I. Uso de método de adición de estándar:** En este método, se adiciona una cantidad conocida de analito a una alícuota de la muestra. Se determinan los valores de absorbancia de la muestra adicionada y de la muestra sin adicionar. Se grafican los resultados y se extrapolan para absorbancia 0. Se determina el contenido de analito en la muestra original. El mayor problema de este método es que se debe asumir que los componentes de la matriz afectan la formación de átomos libres del analito de la misma manera que afectan a los que se encuentran presentes en la matriz adicionada. Desafortunadamente, esta afirmación frecuentemente no es válida<sup>57</sup>.
- II. Superficie del tubo de grafito:** La naturaleza de la superficie del tubo de grafito es susceptible a ciertos tipos de interferencias no espectrales, especialmente a la formación de carburos. Algunos elementos tienden a formar carburos no volátiles que interactúan con la superficie del tubo de grafito. Para reducir esta tendencia se usan superficies de grafito más densas, que se logran mediante revestimiento pirolítico<sup>57</sup>.
- III. Plataforma L'vov:** El uso de plataformas permitió alcanzar temperaturas de atomización más altas, lo que favorece la formación de átomos libres y mejora la sensibilidad analítica<sup>57</sup>.
- IV. Máximo poder de atomización:** Un calentamiento rápido incrementa la temperatura de la atmósfera del tubo de manera más rápida, y el analito se volatiliza en una atmósfera más caliente. Lo cual permite tener una mayor energía para atomizar la muestra y, por lo tanto, un aumento de la cantidad de átomos libres que mejora la sensibilidad de la técnica. Sin embargo, se debe tener cuidado ya que cuando se usa un máximo de potencia, no se alcanza el equilibrio de la temperatura entre la atmósfera del tubo y la pared de este<sup>57</sup>.

Otro aspecto importante, que es influenciado por el uso del modificador de matriz, es el tiempo de mantenimiento de la temperatura propuesta para cada una de las etapas de procesamiento. En la tabla

7 se muestra las diferentes temperaturas y tiempos utilizados dependiendo del tipo de modificador de matriz.

Tabla 7. Condiciones empleadas de análisis con espectrómetro de absorción atómica de horno de grafito						
Tipo de muestra	Concentración (µg/mL)	Etapas: T (°C)	t de rampa (s)	t de mantenimiento (s)	Modificador de matriz	Ref.
Residuos de arma de fuego	20, 40, 60, 80, 100	S: 140	5	40	Fosfato de amonio (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) al 10%	[58]
		P: 8500	5	30		
		A: 1800	0	3		
		L: 2200	5	5		
		E:20	1	10		
Orina	20, 30	1° Prueba	S/E	S/E	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> al 10%	[64]
		S: 120				
		P: 500				
		A/L:2300	2° Prueba			
		S:120				
		P: 300				
		A/L: 2000	3° Prueba			
		S: 120				
		P: 700				
A/L: 2500						
Sangre	0.2, 0.4, 0.8	1° Prueba	10	10	-Octil-fenoxi-polietoxietanol (Tritón X-100) al 0.1% -NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Pirrolidinditio-carbamato de amonio (APDC)	[65]
		S: 110				
		P: 800				
		A: 1700	0	3		
		L: 2600	1	3		
		2° Prueba	10	10		
		S: 200				
		P: 850				
		A: 1700	0	3		
		L: 2600	1	3		
Sangre	25, 50, 75, 100, 125, 250	S: 80, 110	20, 20	4, 1	-Tritón X-100 y NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - APDC	[66]
		P:550	15	30		
		P:900	15	30		
		A: 1200	4	0		
		L: 2600	10	30		
Sangre	0, 5, 10, 20, 30, 40	P: 900	S/E	S/E	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> al 10%	[67]
		A: 2000				
Muestras certificadas de carbón	20 µg/L	S: 90, 150	10	15	Sin modificador de matriz	[68]
		P: 700	10	20		
		A: 1700	0	5		
		S: 2100	1	3		
Agua	20, 40, 60, 80 µg/L	S: 110	10	10	-NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O en 100 mL	[69]
		P: 800	10	10		
		A: 1700	0	3		
		L:2500	1	3		

S: secado; P: pirolisis; A: atomización; S: secado; L: limpieza; T: temperatura; Ref.: referencia

#### 4. Importancia de la validación de un método espectrofotometría de absorción atómica

La validación es el proceso que nos permite confirmar que un método analítico es adecuado para su uso, mediante estudios objetivos de laboratorio, que demuestren que se han cumplido los requisitos del método para su aplicación prevista, y evidencié resultados precisos y exactos<sup>4,70,71</sup>. La validación deberá realizarse cuando sea un método nuevo (método no normalizado, diseñado/desarrollado por el laboratorio), un método normalizado usado fuera de su ámbito de aplicación, ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados, o cuándo se realice la transferencia de tecnología. Además, el personal deberá ser capacitado y evaluado para demostrar que es competente. Por otra parte, es importante destacar que, durante el cambio de alguna variable crítica para el método, se deberá considerar realizar una verificación o revalidación del método; mientras que los métodos normalizados no se validan, solo se verifican (validación parcial)<sup>72,73</sup>. La Figura 3 muestra un esquema para

determinar que procedimiento se debe llevar a cabo dependiendo de las modificaciones realizadas al procedimiento<sup>72</sup>.

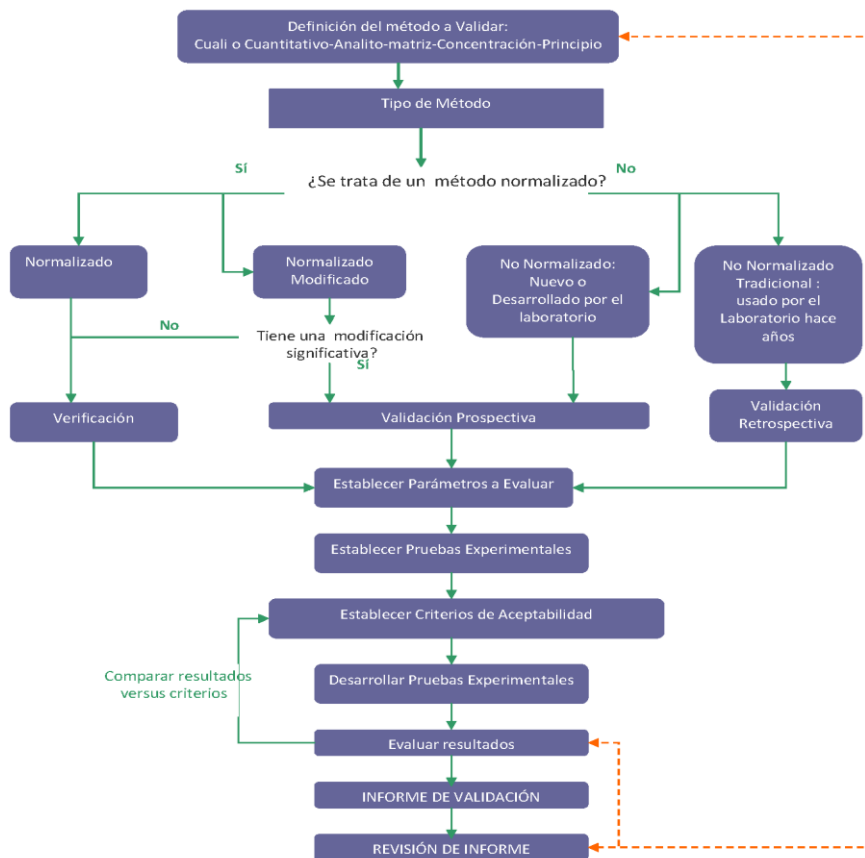


Fig 3. Esquema para determinar si el método analítico requiere una validación, revalidación o verificación (Obtenido de: Guía de validación Chile, 2010) <sup>63</sup>.

#### 4.1 Parámetros de evaluación en la validación de un método analítico

Las características de desempeño analítico a evaluar, durante la validación de un método, dependerá del objetivo de su uso (ver Tabla 8); así como del origen del método, como lo indica la Tabla 9. En este apartado se describirá cual es objetivo de cada uno de los parámetros mencionados en dichas tablas

Tabla 8. Características de desempeño que deberán ser evaluados de acuerdo con el objetivo de uso del método analítico (Obtenida de USP 31)<sup>75</sup>.

Características de desempeño analítico	Categoría I de valoración (Producto terminado, graneles, conservante)	Categoría II		Categoría III de valoración (características de desempeño, disolución)	Categoría IV de valoración (prueba de identificación)
		Prueba de límite cuantitativa (impurezas en fármacos)	Prueba de límite cualitativa (metales pesados, etc.)		
<b>Exactitud</b>		SÍ	*	*	NO
<b>Precisión</b>	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
<b>Especificidad</b>	SÍ	SÍ	SÍ	*	SÍ
<b>Límite de detección</b>	NO	NO	SÍ	*	NO
<b>Límite de cuantificación</b>	NO	SÍ	NO	*	NO
<b>Linealidad</b>	SÍ	SÍ	NO	*	NO
<b>Intervalo</b>	SÍ	SÍ	*	*	NO

\*Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza de la prueba específica

Tabla 8. Parámetros requeridos de acuerdo con el origen del método analítico: nuevo, modificado o normalizado<sup>63</sup>.

Parámetros que evaluar	Características	Método cualitativo	Método cuantitativo		Nuevo
			Normalizado	Modificado	
<b>Selectividad</b>	Identificación del analito. Interferencia de matriz	SI	NO	SÍ	SÍ
<b>Linealidad</b>	Rango lineal	NO	SI	SÍ	SÍ
<b>Sensibilidad</b>	Pendiente	NO	SÍ O NO	SÍ	SÍ
<b>Limites</b>	Críticos (LC). Detección (LOD) Cuantificación (LOQ)	SI	SÍ O NO	SÍ	SÍ
<b>Precisión</b>	Repetibilidad Reproducibilidad	NO	SÍ	SÍ	SÍ
<b>Veracidad</b>	Sesgo (s) Recuperación (R)	NO	SÍ O NO	SÍ O NO	SÍ
<b>Robustez</b>	Test de Youden y Steiner	NO	NO	SÍ O NO	SÍ
<b>Aplicabilidad</b>		SI	SÍ	SÍ	SÍ

#### 4.1.1 Linealidad

La linealidad es la capacidad de un método de analítico, dentro de un intervalo, de dar una respuesta proporcional a la cantidad del analito<sup>63</sup>. Esta prueba involucra una serie de muestras de concentración conocida de las cuales sus valores de las pruebas reportados son comparados con los valores asignados (teóricos). La linealidad es obtenida al trazar la mejor línea recta que toque la mayor cantidad de puntos<sup>76</sup>. En la tabla 9 se muestra una comparación del parámetro de linealidad.

Tabla 9. Comparación del parámetro de linealidad de acuerdo con diversas guías consultadas

Guía	Indicaciones	Parámetros
<b>EMA [76]</b>	Se deben preparar soluciones patrón en 5 niveles de concentración (se puede hacer con 4 como mínimo) En el caso que desee hacerse con más de 5 niveles, no existe restricción alguna.	-Pendiente deseable es de 1,00 -Ordenada al origen de 0 Comparar la desviación estándar o el porcentaje (%) de error para cada dilución con el error permitido para la prueba. El sesgo (desviación) y % de error obtenidos experimentalmente deben ser menores a los permitidos por el fabricante o los establecidos en el protocolo de validación del método.
<b>Guía práctica de Chile [63]</b>	Se establece cada día con una cierta cantidad de valores formados por un blanco y los patrones de trabajos de valor teórico conocido, que cubran el intervalo de trabajo. Se recomienda abarcar desde valores cercanos al cero y valores superiores al límite máximo permitido al valor de interés. El número de puntos a analizar deberá ser establecido por el analista, aunque generalmente se utiliza un mínimo de 4 valores.	-Si "r" tiene un valor cercano a uno 1, esto significa que existe correlación con una probabilidad elevada. -Para una curva de calibración o trabajo el coeficiente de correlación obtenido debe ser mayor o igual a 0.999, aunque para el caso de trazas se admite un valor igual o mayor que 0.99
<b>OMS [72]</b>	Analizar una muestra como blanco y 6 concentraciones distintas del analito de interés	-Coeficiente de correlación (r) elevado, del 0.99. Sin embargo, este criterio no basta para demostrar que existe una relación lineal, por lo que cabe considerar que se puede utilizar un método que no permita establecer un coeficiente de correlación tan alto como el 0,99 pero permita cumplir los fines previstos.
<b>Colegio nacional de QFBs de México [70]</b>	Preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración de la solución de referencia, ya sea por dilución o por pesadas independientes. La concentración central debe representar el 100% en la muestra procesada para su medición	$r^2 \geq 0.98$ $IC_{\beta_1}$ No debe incluir el cero



#### 4.1.2 Precisión

Este ensayo nos permite conocer el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, indicando el grado de reproducibilidad y repetibilidad donde se involucra el error de medición que es efecto de dos componentes <sup>75,76</sup>. La precisión depende de la concentración y debe medirse con concentraciones diferentes dentro del rango aceptado, normalmente en la parte baja, media y alta de éste<sup>72</sup>.

- **El error aleatorio:** se relaciona con la variación imprescindible entre lecturas sucesivas, obtenidas de experimentos bajo condiciones idénticas y pueden deberse a un conjunto de causas que se relaciona con la precisión del procedimiento de medición. Estos errores difieren en cualquier sentido del valor medio y afectan la reproducibilidad<sup>75</sup>.

- **El error sistemático:** Se relaciona con la veracidad del procedimiento de medición al presentarse una variación que se produce de igual modo en todas las mediciones que se realizan de una magnitud. Existen errores positivos y negativos, la suma de todos ellos se conoce como error sistemático total o sesgo de la medición y pueden originarse por un defecto del instrumento, por el operador o el proceso de medición<sup>75</sup>.

##### 4.1.2.1 Repetibilidad

Esta prueba tiene como objetivo demostrar la precisión de un método analítico, que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones dentro de intervalos cortos de tiempo<sup>63</sup>. En la tabla 10 se muestra una comparación del parámetro de repetibilidad.

Tabla 10. Comparación del parámetro de repetibilidad de acuerdo con diversas guías consultadas

Guía	Indicaciones	Parámetros
EMA [75]	Realizar el examen de un material (muestras de pacientes, muestras control, etc.) de valor conocido o no, analizado por lo menos 20 veces en forma continua, llamado intraserial o intracorrída o 20 veces en el transcurso del día (24 h) llamado intradía.	Los resultados en la corrida intraserial o en la intradía tendrán menor precisión que la interserial, por lo tanto, el criterio de aceptación es diferente. - <u>Precisión intraserial o intradía:</u> La desviación estándar obtenida debe ser igual o menor a $\frac{1}{4}$ del error total permitido esto es: DE intraserial o DE intradía $\leq 0,25$ ET (error total permitido) - <u>Para la precisión interserial:</u> la desviación estándar debe ser de $\frac{1}{3}$ o menor del error total, esto es: DE interserial $\leq 0,33$ ET (error total permitido).
Guía práctica de Chile [63]	Se puede determinar registrando mínimo 6 mediciones de un analito en un material de referencia bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo).	Calcular la Desviación Estándar (DE) y el porcentaje de coeficiente de variación (CVr%).  -CVr% obtenido debe ser $< (CV_h\%/2)$
OMS [71]	Analizar al menos 10 réplicas de una muestra de composición conocida con una concentración de 1.25 a 2 veces el nivel del límite de detección.	Una precisión aceptable en el nivel inferior de concentración es del 20%.
Colegio nacional de QFBs de México [70]	-Preparar 6 soluciones a la concentración del analito de referencia bajo las mismas condiciones. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones.	Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo analítico, al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje. <i>Criterios de aceptación:</i> -IC( $\mu$ ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo: - 98-102% método cromatográfico - 98-102% método volumétrico - 97-103% método químico o espectrofotométrico - 95-105% método microbiológico -CV del porcentaje de recobro: - No mayor de 2% en método cromatográfico - No mayor de 2% en método volumétrico

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- No mayor de 3% en método químico o espectrofotométrico</li> <li>- No mayor de 5% en método microbiológico</li> <li>- No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra.</li> </ul>
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 4.1.2.2 Reproducibilidad

Es un ensayo que se realiza bajo condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método en ítem idénticos de análisis en condiciones diferentes ya sea de laboratorio, diferentes operadores, usando distintos equipos, entre otros<sup>63</sup>.

##### 4.1.2.2.1 Tolerancia

Es la reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación bajo la influencia de factores externos del método<sup>74</sup>. La variabilidad puede ser causada por

- Variaciones de día a día
- De analista a analista
- De laboratorio a laboratorio
- De instrumento a instrumento
- De columna cromatográfica a columna cromatográfica
- De estuche de reactivos a estuche de reactivos
- Inestabilidad de los reactivos analíticos<sup>75</sup>.

##### 4.1.2.3 Precisión intermedia

Es la coincidencia en los resultados del mismo laboratorio, pero en días distintos con analistas y equipo diferentes (según corresponda)<sup>75</sup>. La FDA recomienda un mínimo de 2 días distintos con analistas diferentes.

Criterios de aceptación:

- Realizar la prueba-F, los resultados intra-laboratorios no deben ser estadísticamente distintos.
- Típicamente, alrededor de 2 veces las o el CV% de la repetibilidad. Sin embargo, una diferencia estadística puede no ser significativa (consideración práctica). Necesidad de evaluar la aptitud para la indicación de los métodos<sup>75</sup>. En la tabla 11 se muestra una comparación de este parámetro.

**Tabla 11. Comparación del parámetro de precisión intermedia de acuerdo con diversas guías consultadas**

Guía	Indicaciones	Parámetros
EMA [76]	Utilizar 20 valores obtenidos uno cada día de la misma muestra de un paciente o bien obtenidos de una curva de un programa de control de calidad interno de 20 días diferentes y del mismo lote (interserial o intercorrida). En ambos casos se debe calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje.	Los resultados en la corrida intraserial o en la intradía tendrán menor precisión que la interserial, por lo tanto, el criterio de aceptabilidad debe ser diferentes. - <u>Precisión intraserial o intradía</u> : La desviación estándar obtenida debe ser igual o menor a $\frac{1}{4}$ del error total permitido esto es: DE intraserial o DE intradía $\leq 0,25$ ET (error total permitido) - <u>Precisión interserial</u> : La desviación estándar debe ser de $\frac{1}{3}$ o menor del error total, esto es: DE interserial $\leq 0,33$ ET (error total permitido) Una mayor desviación estándar implica un mayor coeficiente de variación y por lo tanto una mayor precisión del método analítico
Guía práctica de Chile [63]	-Reproducibilidad intralaboratorio (Ri) (precisión dentro de un laboratorio), se sugiere realizar 3 mediciones de un Material de Referencia (MRC o material control) una vez por	Calcular la desviación estándar (SRi) y el porcentaje de coeficiente de variación (CVRi%).

	<p>cada semana o el comportamiento de la curva de calibración en 3 días distintos.</p> <p>-También, se puede determinar registrando a lo menos 10 mediciones en días distintos, o en un mismo día cambiando a lo menos una condición analítica (ejemplo: operador, aparato, reactivos y largo intervalo de tiempo) de un analito en un Material de Referencia.</p>	<p>-Precisión Interlaboratorio <math>CV_R\% &lt; CV_h</math></p> <p>-Precisión Intralaboratorio <math>CV_R\% &lt; (2 CV_h\%/3)</math></p>
<b>OMS [72]</b>	Analizar al menos 10 réplicas de muestra de composición conocida con una concentración de 1. 25 a 2 veces el nivel del límite de detección	Una precisión aceptable en el nivel inferior de concentración es del 20%. Con concentraciones más altas la precisión debe ser mayor
<b>Colegio nacional de QFBs de México [70]</b>	<p><u>1. Precisión</u> Establecer los factores ajenos al equipo (diferentes equipos, lotes de reactivos) que se presentan al reproducir el método en otras condiciones de uso. Fijar 2 condiciones de uso y analizar la muestra por triplicado a cada condición. Reportar el contenido/potencia/valoración del analito en todas las muestras.</p> <p><u>2. Precisión intermedia</u> Analizar por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100% (para contenido/potencia/valoración) o una muestra cuyo contenido este incluido en el intervalo lineal de concentración de linealidad de método (para impurezas) en dos días diferentes y por dos analistas diferentes.</p>	<p><u>1. Precisión</u> Calcular y, S y CV del contenido/potencia/valoración</p> <p>-CV ≤ 2% métodos cromatográficos y volumétricos -CV ≤ 3% para métodos químicos o espectrofotométricos -CV ≤ 5% para métodos biológicos No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra.</p> <p><u>2. Precisión intermedia</u> Reportar el contenido/potencia/valoración del analito de todas las muestras. Calcular <math>\hat{y}</math>, S, CV del contenido/potencia/valoración, utilizando todos los resultados obtenidos. <i>Criterios de aceptación:</i> - CV ≤ 2% para métodos cromatográficos y volumétricos - CV ≤ 3% para métodos químicos o espectrofotométricos - CV ≤ 5% para métodos biológicos No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra.</p>

#### 4.1.3 Especificidad/selectividad/ sensibilidad

Mide la capacidad del método para identificar/cuantificar los analitos en presencia de otras sustancias, endógenas o exógenas comúnmente puede incluir impurezas, degradantes, matriz, exigidas por el método. La especificidad depende de la concentración y debe determinarse el margen de error de calibración en su nivel más bajo. La validación debe garantizar el buen funcionamiento del método, y que éste distingue los efectos de las impurezas, las sustancias que reaccionan entre sí, etc., que podrían estar presentes en la matriz<sup>72,76</sup>. Las pruebas se realizan agregando impurezas o sometiendo al analito a condiciones forzadas como: calor, luz, humedad (85%), hidrólisis ácida y alcalina, oxidación e incluso someterla a condiciones de temperatura y concentración<sup>75</sup>.

En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración.

Se calcula como:

$$m = \frac{\sum X_i Y_i - (\sum X_i \sum Y_i / n)}{\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n)}$$

##### 4.1.3.1 Límite de detección y Límite de cuantificación (LDQ)

El límite de detección (LOD) es la menor cantidad de analito que puede detectarse de manera confiable en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones del experimento indicadas<sup>75</sup>. Concentración o cantidad real del analito presente en el material objeto de

análisis que llevará, con una probabilidad (1-β), a la conclusión de que la concentración o cantidad del analito es mayor en el material analizado que en el material testigo<sup>63</sup>.

La ICH recomienda que cuando hay ruido de fondo, el cálculo del LD puede realizarse con un valor con el cual la relación entre señal y ruido (S/R) es 2:1 o 3:1<sup>77</sup>.

#### Ejemplos de pruebas

- Pruebas de comparación del color (metales pesados)
- Métodos TLC (impurezas comunes)
- Métodos de precipitación (prueba de plomo en la monografía sobre óxido de zinc)

Mientras que, el límite de cuantificación es la menor cantidad de analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del experimento establecidas<sup>71</sup>. Una característica del funcionamiento del método que suele expresarse como señal del valor (verdadero) de la medición que producirá estimaciones con una desviación estándar relativa (RSD) generalmente de 10 % (o 6 %) <sup>63</sup>. En la tabla 12 se muestra una comparación del parámetro de límite de detección y de cuantificación.

#### Ejemplos de valoraciones cuantitativas

- Métodos de valoración volumétrica (agua)
- Métodos HPLC/GC (pureza cromatográfica)
- Métodos gravimétricos (pérdida por secado)

**Tabla 12. Comparación del parámetro de límite de detección y de cuantificación de acuerdo con diversas guías consultadas**

Guía	Indicaciones	Parámetros
<b>Guía práctica de Chile [63]</b>	<p>Analizar un mínimo de 3 testigo reactivos, 3 blancos de matriz y 3 muestras o estándares de concentración conocida del analito de interés.</p> <p>1. <b>LOD</b> Se recomienda para su cálculo a lo menos 6 mediciones de blanco matriz, testigo reactivo o concentración estimada cercana al blanco.</p> <p>2. <b>LOQ</b> Se recomienda para su cálculo a lo menos seis mediciones de blanco matriz, testigo reactivo o concentración estimada cercana al blanco</p> <p>3. <b>LC</b> Se recomienda para su cálculo a lo menos seis mediciones de blanco matriz o testigo reactivo</p>	<p>1. <b>LOD</b> <i>Criterio de aceptación:</i> Se deben comparar las lecturas (señales de medición) obtenidas para cada caso, y observar si existen variaciones entre los testigos reactivos, blancos de matrices y estándares o muestras con analito. Si se encuentran diferencias significativas deberán ser identificadas y en lo posible eliminadas. <math>LOD = 2 t (1-\alpha;v) \times So</math> Sí: <math>t (0.05, \infty) \rightarrow 1,645</math> <math>LOD = 3,29 \times So</math> <math>LOD = 3,29So</math>, cuando la incertidumbre del valor medio (esperado) del material testigo es insignificante, <math>\alpha=\beta = 0,05</math> y el valor estimado tiene una distribución normal con una varianza constante conocida. -Un criterio de aceptación adecuado es <math>LC &lt; LOD &lt; LMP</math>. En general también se sugiere, para un <math>LMP &gt; 0,1</math> ppm un <math>LOD &lt; 1/10</math> LMP y para un <math>LMP &lt; 1/5</math> LMP.</p> <p>2. El LOQ se calcula mediante la siguiente fórmula: <math>LOQ = 10 So</math> Un criterio de aceptación adecuado es <math>LC &lt; LOD &lt; LOQ</math>, 0,1 ppm un <math>LOQ &lt; 1/5</math> LMP y para un <math>LMP &lt; 2/5</math> LMP.</p> <p>3. <b>LC</b> <math>LC = t (1-\alpha; v) \times So</math> Sí: <math>t (0.05, \infty) \rightarrow 1,645</math> <math>LC = 1,645 \times So</math> Donde: <math>t = t</math>-Student <math>1-\alpha =</math> probabilidad <math>b = v</math> Grados de libertad <math>So =</math> Desviación estándar de las lecturas del blanco matriz o testigo reactivo.</p>

		Un resultado inferior al LC que determine la decisión “no detectado” no deberá interpretarse como demostración de que el analito está ausente. No se recomienda notificar tal resultado como “cero” o como < LOD. Deberá hacerse constar en todos los casos el valor estimado y su incertidumbre.
<b>Colegio nacional de QFBs de México [70]</b>	<p>Se establecen diferentes indicaciones para su determinación dependiendo las condiciones.</p> <p>1. <u>LD con base en la señal de ruido</u> Se aplica en métodos que utilizan instrumentos para medir la respuesta analítica y presentan una señal de ruido basal. Determinar la respuesta de blancos (reactivos. Placebos analíticos, etc.) y la respuesta de muestras analíticas (analitos, placebos adicionados, etc.) en un intervalo del analito que incluya la especificación de la prueba de impureza limite. Determinar la cantidad del analito que genere una respuesta con respecto al blanco en una proporción de 3 a 1, lo que corresponde a la concentración asociada al límite de detección.</p> <p>1. <u>LD con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos:</u> Se aplica tanto a métodos instrumentales como no instrumentales. Preparar 3 concentraciones de la sustancia de interés (analito, placebos, etc.) a valores menores o que incluya la especificación de la prueba de impurezas limite, ya sea por dilución o pesada independiente del analito. Simultáneamente preparar 5 blancos.</p> <p>Se establecen diferentes indicaciones para su determinación dependiendo las condiciones.</p> <p>1. <u>LC Señal de ruido</u> Se aplica en métodos que utilizan instrumentos para medir la respuesta analítica y presentan una señal de ruido basal. Determinar la señal de blancos (reactivos. Placebos analíticos, etc.) y la señal de muestras analíticas (analitos, placebos adicionados, etc.) a concentraciones conocidas del analito, inferiores o que incluya la especificación del contenido / valoración de la prueba de impurezas. Determinar la cantidad del analito cuya señal sea similar o mayor al blanco en una proporción de 10 a 1, lo que corresponde a la concentración asociada al límite de detección. Verificar que dicha cantidad corresponda al límite de cuantificación, evaluando la exactitud y repetibilidad del valor estimado.</p> <p>2. <u>LC con base en la curva de calibración y desviación estándar de los blancos.</u> Se aplica tanto a métodos instrumentales como no instrumentales. Preparar 3 concentraciones de la sustancia de interés (analito, placebos, etc.) a valores menores o que incluya la especificación de contenido/ valoración de la prueba de impurezas, ya sea por dilución o pesada independiente del analito. Simultáneamente, preparar 5 blancos</p>	<p>1. <u>LD con base en la señal de ruido</u> El valor estimado LD debe ser verificado utilizando el procedimiento de la señal de ruido.</p> <p>2. <u>LD con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos:</u> Medir las respuestas analíticas. Para la curva de calibración, sin incluir los blancos, calcular <math>b_1</math>, <math>r^2</math> e <math>IC(\beta_1)</math>. Para los blancos, calcular <math>S_b</math> de los blancos. Calcular el límite de detección: <math>LD = (3.3 \times S_b) / b_1</math> El valor estimado LD debe ser verificado utilizando el procedimiento de la señal de ruido</p> <p><i>Criterio de aceptación:</i> -<math>r^2 \geq 0.98</math> -<math>IC(\beta_1)</math>, no debe incluir el cero. -El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas limite. Cualquier otro criterio de aceptación deberá ser justificado.</p> <p>3. <u>LC Señal de ruido</u> El LC debe ser menor a la especificación del contenido/ valoración de la prueba de impurezas.</p> <p>4. <u>LC con base en la curva de calibración y la desviación estándar de los blancos</u> <math>b_1</math>, <math>r^2</math> e <math>IC(\beta_1)</math>. Para los blancos, calcular <math>S_b</math> de los blancos. Calcular el límite de cuantificación: <math>LD = (10 \times S_b) / b_1</math> Evaluar la exactitud y Repetibilidad del valor estimado del límite de cuantificación. <i>Criterio de aceptación:</i> <math>r^2 \geq 0.98</math> <math>IC(\beta_1)</math>, no debe incluir el cero. El LC debe ser menor a la especificación del contenido/ valoración de la prueba de impurezas. Cualquier otro criterio de aceptación deberá ser justificado.</p>

#### 4.1.4 Veracidad o Exactitud

Es la proximidad entre el resultado obtenido y el valor real (valor de la media aritmética y el valor aceptado o de referencia). La exactitud debe establecerse en todo el intervalo especificado para el método analítico. Se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático, también llamado “sesgo” o “desviación”; que puede expresarse como un valor absoluto o relativo al valor verdadero<sup>74,76</sup>.

Calculado como el porcentaje de analito recuperado o por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real<sup>75</sup>. En la tabla 13 se presenta una comparación del parámetro de exactitud de acuerdo con las guías consultadas.

### Maneras de determinar la exactitud

- Prueba de un Estándar de Referencia
- Mezcla con excipientes (placebo con una cantidad agregada conocida)
- Agregado de estándar (muestra con cantidad agregada conocida)
- Se deduce a partir de los datos de especificidad y linealidad.
- Comparación con un método reconocido como exacto (método de referencia)

**Tabla 13. Comparación del parámetro de exactitud de acuerdo con diversas guías consultadas**

Guía	Indicaciones	Parámetros
EMA [76]	Se puede utilizar material de referencia certificado, un material de referencia (MR) o un calibrador de valor conocido. El material se somete a examen 10 veces y se estima la concentración media del analito y con el valor obtenido se puede determinar el porcentaje de recuperación	$\% \text{ recuperación} = \left( \frac{\text{Valor obtenido}}{\text{Valor de referencia}} \right) (100)$ <p>El porcentaje de recuperación tiene que ser igual o lo más cercano a 100. Valores menores indican menor cantidad recuperada del analito cuantificado y a mayor porcentaje mayor cantidad del analito recuperado. El criterio de aceptación es que el valor sea menor o igual al reportado por el fabricante del instrumento</p>
Guía práctica de Chile [63]	<p><u>1. Sesgo (S)</u> Para determinar el sesgo puede utilizarse material de referencia, material fortificado, material control, material ensayo de aptitud: Para este fin, se debe medir un analito de concentración conocido y se determina la diferencia en valor absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido</p> <p><u>2. Recuperación (R)</u> Se recomienda realizar a lo menos 6 mediciones de cada uno en lo posible en tres niveles. Se debe considerar al elegir estos niveles el rango de la curva de calibración del método, el LOD y el LMP establecido. De manera que los niveles seleccionados permitan entregar la mejor información posible respecto a la capacidad de recuperación del método, en cuanto a estos valores críticos</p>	<p>1. Una diferencia sistemática importante en relación con el valor de referencia aceptado se refleja en un mayor valor del sesgo, cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método.</p> $S = X - X_a$ <p>Donde: s= sesgo X = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas. Xa = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado. Para evaluar el sesgo, se debe realizar la prueba t, en la cual el tobs &lt; t crit: Usualmente se trabaja con un valor de 0,05</p> <p>2. <u>Recuperación</u></p> $R = \left( \frac{C_e - C_0}{C_a} \right)$ $\%R = [R] \times 100$ <p>Siendo: R= Recuperación Ce = es la concentración de analito de la muestra enriquecida. C0 = es la concentración de analito medida en la muestra sin adicionar. Ca = es la concentración de analito adicionado a la muestra enriquecida. -Del porcentaje de recuperación 98-102% Realizar prueba de t el porcentaje de seguridad deseado ( 1-α) para un error α de 0,05, es decir con un 95% de confianza.</p>
Colegio nacional de QFBs de México [70]	<p>A) <u>Conociendo los componentes de la muestra se preparará el placebo analítico.</u> A la cantidad de placebo analito equivalente a una muestra analítica por sextuplicado, se adicionará la cantidad de analito correspondiente al 100% de este en la muestra. Seleccionar dos niveles superior e inferior de la cantidad por sextuplicado, se adicionará la cantidad de analito correspondiente al 100% de este en la muestra. El mismo analista analizara los placebos adicionados utilizando de referencia la sustancia empleada en la adición al placebo analítico en las mismas condiciones. Determinar la cantidad recuperada del analito.</p> <p>B) <u>Si no se conocen los componentes de la muestra, con el método se determina el contenido del analito</u> Se preparan 6 muestras adicionadas del analito hasta</p>	<p>Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo analítico, al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Calcular <math>\hat{y}</math>, S, CV e IC(<math>\mu</math>) del porcentaje de recobro. Criterios de aceptación: IC(<math>\mu</math>) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 98-102% método cromatográfico</li> <li>- 98-102% método volumétrico</li> <li>- 97-103% método químico o espectrofotométrico</li> <li>- 95-105% método microbiológico</li> </ul> <p>CV del porcentaje de recobro:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- No mayor de 2% en método cromatográfico</li> <li>- No mayor de 2% en método volumétrico</li> </ul>

	completar el 100% de éste en la muestra. Las muestras adicionadas se analizan usando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra. Determinar la cantidad recuperada del analito. La adición del analito debe ser en las primeras etapas del método.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No mayor de 3% en método químico o espectrofotométrico</li> <li>- No mayor de 5% en método microbiológico</li> <li>- No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra.</li> </ul>
<b>FEUM [76]</b>	La exactitud debe evaluarse empleando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración que cubran el intervalo especificado (como por ej., tres concentraciones/ tres repeticiones completas del método).	La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación obtenido a partir de la valoración de una cantidad agregada conocida de analito en la muestra, o como la diferencia entre la media y el valor aceptado como verdadero junto con los intervalos de confianza

#### 4.1.5 Robustez

La robustez de un método analítico es una medida de su capacidad de no verse afectado por factores internos del método; variaciones pequeñas, pero deliberadas, en los parámetros del método (Analistas, equipos, reactivos, pH, temperatura, tiempo de reacción, estabilidad de la muestra, etc.) y proporciona una indicación de su confiabilidad. Un método de ensayo es más robusto entre menos se vean afectados sus resultados frente a una modificación de las condiciones analíticas <sup>74,75,76</sup>.

**Tabla 14. Comparación del parámetro de robustez de acuerdo con diversas guías consultadas**

Guía	Indicaciones	Parámetros
<b>Guía práctica de Chile [63]</b>	Se deben identificar aquellos factores del método que posiblemente afectarían los resultados finales obtenidos a través de este. (pH, temperatura, composición etc.) Los factores para estudiar no deben ser necesariamente siete; puede considerarse un número menor de variables. Esto no afectará el balance del diseño del experimento, pero es importante considerar que siempre se den llevar a cabo las ocho pruebas de ensayo indicado.	Se aplica la prueba de Youden y Steiner
<b>Guía de España [73]</b>	Identificar las variables que podrían tener un efecto significativo en el desempeño del método. Establecer experimentos (analizando MR o muestras de ensayo) para supervisar el efecto en los resultados de la medida cambiando de forma sistemática las variables. Evaluado más efectivamente utilizando diseños de experimentos. Por ejemplo: 7 parámetros se pueden estudiar en 8 experimentos utilizando un diseño de experimentos Plackett Burma	Determinar el efecto de cada cambio de condición en los resultados de la medida. Clasificar las variables según el mayor efecto sobre el desempeño del método. Realizar pruebas de significación para determinar si los efectos observados son estadísticamente significativos.
<b>Colegio nacional de QFBs de México [70]</b>	Metodología. Establecer los factores instrumentales (temperatura, presión de la columna) y/o no instrumentales (pH de fases) relacionados al método y sean críticos. En condiciones normales y distintas de operación, analizar la muestra por triplicado.	Reportar el contenido/potencia/valoración del analito en la muestra de condiciones normal y distintas, expresadas como %. Calcular $\hat{y}_0$ , $\hat{y}_1$ , di. <i>Criterios de aceptación:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- di <math>\leq</math> 2% métodos cromatográficos y volumétricos</li> <li>- di <math>\leq</math> 3% para métodos químicos o espectrofotométricos</li> <li>- di <math>\leq</math> 5% para métodos biológicos</li> </ul> No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra.
<b>FEUM [74]</b>	La robustez de un método analítico se determina mediante el análisis de alícuotas a partir de lotes homogéneos empleando condiciones operativas y ambientales diferentes pero que están dentro de los parámetros especificados en la valoración	El grado de reproducibilidad de los resultados del ensayo es luego determinado como una función de las variables de la valoración. Esta reproducibilidad puede compararse con la precisión de la valoración bajo condiciones normales para obtener de una medida de la robustez del método analítico

## 5. Conclusión

El plomo ha demostrado ser un metal altamente tóxico que afecta a gran parte de la población que ha sido intoxicada por él, siendo un metal que ocasiona daños incluso a niveles que son considerados mínimos y dentro de un rango aceptable. Es importante destacar que su detección temprana es valiosa pues los niños son los más afectados e inclusive las mujeres gestantes pueden llegar a transmitirlo al feto, causando un impacto en su desarrollo futuro.

La presencia de este metal en la vida diaria está muy presente y podemos considerarlo como un enemigo silencioso que incluso sus síntomas han sido normalizados o aunados a otras causas pues no es común la determinación de este metal en estudios de rutina. La concientización hacia empresas y personal que manipula dicho metal, así como la utilización de objetos que son contaminados mediante procesos de fabricación pueden ser un factor para una disminución de la intoxicación, así como prevenir el riesgo de las distintas enfermedades que provoca.

Por otro lado, el tener métodos confiables y reproducibles, para el análisis de este metal pesado es primordial para la correlación de sus efectos adversos hacia la población, por lo que conocer y aplicar cada uno de los parámetros de desempeño necesarios para una validación, beneficia para una correcta aplicación de la norma, así como para realizar estudios en diferentes muestras biológicas de la población.

## 6. Referencias

1. De la Cruz López, C. A., Ramos Arcos, S. A., & Martínez, S. L. (2018). Efecto de la adición de ácidos orgánicos sobre la bioacumulación de Plomo, Talio y Vanadio en *Chrysopogon zizanioides* creciendo sobre suelos contaminados de un relleno sanitario. *Nova Scientia*, 10(21), 403-422.
2. García Ávila, C., Villada Sierra, L. A., & Robayo Gómez, J. (2018). Evaluación de la adaptación de *Helianthus annuus* en asociación con hongos micorrízicos en suelos contaminados con plomo. (Spanish). *Cuaderno Activa*, 10, 93-111.
3. Sabath, E., & Robles-Osorio, M. L. (2012). Medio ambiente y riñón: nefrotoxicidad por metales pesados. *Nefrología*, 32(3), 279-286.
4. Palomino Amorín, C. C., Téllez Monzón, L., & Visitación Figueroa, L. (2018). Identificación de los sitios de unión del plomo en la superficie del adsorbente de residuos de pelos de la industria curtiembre / Identification of lead union sites on the hair adsorbent surface of the curtiembre industry. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(1), 77-90.
5. Tello, L., Jave, J., & Guerrero, J. (2018). Análisis De Cuantificación De Plomo en Suelos De Parques Recreacionales De La Ciudad De Lima - Perú. *Ecología Aplicada*, 17(1), 1-12.
6. Bueno, T. P., Novas, A. J., Padrón, H. D., Guerra, C. C., & Rodríguez, L. V. (2021). Evaluación biológica de la exposición laboral al plomo. *Revista Cubana de Salud Pública*, 47(1), 1-12.
7. Norma Oficial Mexicana. (2013). NOM-004-SSA1-2013, Salud ambiental. Limitaciones y especificaciones sanitarias para el uso de los compuestos de plomo. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5343154&fecha=02/05/2014](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5343154&fecha=02/05/2014)
8. Rodríguez Rey, A., Cuéllar Luna, L., Maldonado Cantillo, G., & Suardiaz Espinosa, M. E. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 251-271.
9. Robles-Osorio, M. L., & Sabath, E. (2014). [Brief history of lead poisoning: from Egyptian civilization to the Renaissance]. *Revista de investigación clínica; Órgano Del Hospital de Enfermedades de La Nutrición*, 66(1), 88-91.
10. Castro, N. P. P., Rojas, W. M., Gari, N. E. P., & Cuadro, J. A. D. (2013). Revisión de las implicaciones ocupacionales por exposición al plomo. *Informador técnico*, 77(2).
11. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil, Isabel, Alobera Gracia, Miguel Ángel, Canto Pingarrón, Mariano del, & Blanco Jerez, Luis. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(2), 151-157.
12. Caravanos, J., Dowling, R., María Téllez-Rojo, M., Cantoral, A., Kobrosly, R., Estrada, D., Orjuela, M., Gualtero, S., Ericsson, B., Rivera, A. y Fuller, R. (2014). Niveles de Plomo en Sangre en México y su Implicación para la Carga Pediátrica de la Enfermedad. *Anales de Salud Global*, 80 (4), 1.
13. Cortez-Lugo, M., Téllez-Rojo, M. M., Gómez-Dantés, H., & Hernández-Ávila, M. (2003). Tendencia de los niveles de plomo en la atmósfera de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México: 1988-1998. *salud pública de México*, 45, 196-202.
14. Ramírez, Augusto V. (2005). El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *Anales de la Facultad de Medicina*, 66(1), 57-70.



15. Guerra Rodríguez, GL (2020). *Determinación de la concentración de plomo por el método espectrofotometría de absorción atómica en cosméticos para el área de los ojos (sombros), que se comercializan en el Distrito Metropolitano de Quito* . Quito: UCE.
16. Gallegos, W., Vega, M. y Noriega, P. (2012). Espectroscopía de absorción atómica con llama y su aplicación para la determinación de plomo y control de productos cosméticos. *La granja* , 15 (1), 19.
17. Astete, J., Cáceres, W., Gastañaga, DC, Lucero, M., Sagastizabal, I., Oblitas, T., & Pari, J. (nd). Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros . Org.Pe.
18. Norma Oficial Mexicana. (2004). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. [https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat\\_ssa1-2004.pdf](https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf)
19. Vázquez, J., Sangurima, C., & Álvarez-Vera, M. (2019). Concentraciones de plomo (Pb) en cultivos de lechuga (*Lactuca sativa*) en Azuay, Ecuador. (Spanish). *Scientia Agropecuaria*, 10(3), 423–427. 3
20. Manuel Duarte-Zaragoza, V., Sabrina Pérez-Hernández, V., Hernández-Acosta, E., & Villanueva-Morales, A. (2020). Estudio exploratorio de la acumulación de plomo y cobre en *Prosopis laevigata* en depósitos mineros. (Spanish). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 7(2), 1–7.
21. Estrada-Sánchez, D., Ericsson, B., Juárez-Pérez, C. A., Aguilar-Madrid, G., Hernández, L., Gualtero, S., & Caravanas, J. (2017). Pérdida de coeficiente intelectual en hijos de alfareros mexicanos. *Revista Médica Del IMSS*, 55(3), 292–299.
22. Secretaria de Salud, S. (SF). Ollas y jarritos de barro sin plomo. Gob.Mx. Recuperado el 7 de abril de 2022, de <https://www.gob.mx/salud/articulos/ollas-y-jarritos-de-barro-sin-plomo>
23. Araceli Diaz-Ruiz, Luis Antonio Tristán-López, Karen Itzel Medrano-Gómez, Juan Alejandro Torres-Domínguez, Camilo Ríos & Sergio Montes (2017) Cerámica de barro vidriado y exposición al plomo en México: Evidencia experimental actual, *Neurociencia Nutricional*, 20:9 , 513-518.
24. Romieu I, Palazuelos E, Hernández Ávila M, Ríos C, Muñoz I, Jiménez C, Cahero G. Fuentes de exposición al plomo en la Ciudad de México. *Perspectiva de salud ambiental*. 1994 abril; 102 (4): 384-9.
25. María Téllez-Rojo, M., Bautista-Arredondo, L. F., Trejo-Valdivia, B., Tamayo-Ortiz, M., Estrada-Sánchez, D., Kraiem, R., Pantic, I., Mercado-García, A., Romero-Martínez, M., Shamah-Levy, T., Fuller, R., & Cantoral, A. (2020). Análisis de la distribución nacional de intoxicación por plomo en niños de 1 a 4 años. Implicaciones para la política pública en México. *Salud Pública de México*, 62(6), 627–636.
26. Norma Oficial Mexicana. (2013). PROY-NOM-004-SSA1-2013, Salud ambiental. Limitaciones y especificaciones sanitarias para el uso y comercialización de los compuestos de plomo en productos de consumo. Gob.Mx. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5302353&fecha=13/06/2013](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5302353&fecha=13/06/2013)
27. Intoxicación por plomo. (Dakota del Norte.). Quién.int. Recuperado el 6 de abril de 2022, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
28. Seguridad química: intoxicación por plomo. Ginebra. Organización Mundial de la salud, 2021. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/chemical-safety-lead-poisoning> Consultado el: 15 de julio 2021.
29. Goldstein, GW (1993). Evidencia de que el plomo actúa como sustituto del calcio en el metabolismo de segundos mensajeros. *Neuro Toxicología* , 14 (2-3), 97-102.
30. Ulloa de la Serna, Rita María. (1988). Regulación de fosfodiesterasa y quinasas de proteínas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
31. *Estudios básicos de las interacciones del sistema Calmodulina-péptidos para el desarrollo de biofármacos*. (2018, noviembre 1). Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM | Departamento de Bioquímica.
32. Sanín, L. H., González-Cossío, T., Romieu, I., & Hernández-Ávila, M. (1998). Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. *Salud pública de México*, 40, 359-368.
33. Anaya, J. M. (n.d.). Remodelado óseo Osteoporosis y artritis reumatoidea. In *Acta Médica Colombiana* (Vol. 18).
34. Jm, R.-C., Ruíz-Mejía R, Mc, G.-A., My, V.-V., García-Nava M, & Mateos-Toledo. (2016). Medicina Interna de México. In *Med Int Méx* (Vol. 32, Issue 5).
35. Martínez Ortiz, M., Juárez Lira, A., & López Sánchez, N. (2018). Describir la presión arterial en pacientes de la comunidad de Boxasni Cadereyta de Montes Querétaro, por exposición a plomo en el periodo de enero a junio del 2013. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(4), 368–373.
36. Soderland, P., Lovekar, S., Weiner, D. E., Brooks, D. R. y Kaufman, J. S. (2010). Enfermedad renal crónica asociada con toxinas ambientales y exposiciones. *Avances en la enfermedad renal crónica*, 17(3), 254–264.
37. Bueno-Brito, C., Sánchez-Ramos, A., Armenta-Solís, A., González-Vera, E., & Bueno, C. (nd). *Contenido de plomo y manganeso en despachadores de gasolina*. Redalyc.Org.
38. Poma, Pedro A. (2008). Intoxicación por plomo en humanos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 69(2), 120-126.
39. Llop, S., Porta, M., Martínez, MD, Aguinalde, X., Fernández, MF, Fernández-Somoano, A., Casas, M., Vrijheid, M., Ayerdi, M., Tardón, A., & Ballester, F. (2013). Estudio de la evolución de la exposición a plomo en la población infantil española en los últimos 20 años. ¿Un ejemplo no reconocido de «salud en todas las políticas»? *Gaceta sanitaria*, 27 (2), 149 155.
40. Carmona, A., Roudeau, S. y Ortega, R. (2021). Mecanismos moleculares de la neurotoxicidad de los metales ambientales: un enfoque en las interacciones de los metales con la estructura y función de las sinapsis. En *Tóxicos* (Vol. 9, Número 9). MDPI.

41. Guillén-Mendoza, D., Escate-Lazo, F., Rivera-Abbiati, F., & Guillén-Pinto, D. (2013). Plomo en Sangre De Cordón Umbilical De Neonatos Nacidos en Un Hospital Del Norte De Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30(2), 224–228.
42. Pebe, Godofredo, Villa, Hugo, Escat, Luis, & Cervantes, Gonzalo. (2008). Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de La Oroya, 2004-2005. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25(4), 355-360.
43. Morales, J., Fuentes-Rivera, J., Bax, V., & Matta, H. H. (2018). Niveles de plomo sanguíneo y factores asociados en niños residentes de un distrito del Callao. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(2), 135–144.
44. Nivel de plomo en la sangre de los niños: lo que los padres deben saber. (Dakota del Norte.). HealthyChildren.Org. Recuperado el 13 de abril de 2022, de <https://www.healthychildren.org/Spanish/safety-prevention/all-around/Paginas/blood-lead-levels-in-children-what-parents-need-to-know.aspx>
45. Santos-Guzmán, J., Madrigal-Ávila, C., Hernández-Hernández, J. A., Mejía-Velázquez, G., Eraña-Rojas, I. E., Elizondo-Montemayor, L., & Villela, L. (2014). Una década de monitoreo de plomo en sangre en niños escolares del área metropolitana de Monterrey, NL. *Salud Pública de México*, 56(6), 592–602.
46. Valera, A. M., Valdés, J. A., Caridad Cumbá Abreu, Sánchez, Y. G., Peña, O. S., & Quintana, L. A. (2009). Efectos del plomo sobre el aprendizaje en educandos del municipio Centro Habana, 2004-2006. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 47(2), 1–7.
47. Guillen-Mendoza, D., Bellomo, S., Torres, N., Lazo, E., & Guillen-Pinto, D. (2017). Determinación de plomo en leche materna de madres lactantes en nueve distritos de la ciudad de Lima, Perú. *Acta Médica Peruana*, 34(2), 90–94.
48. Nava-Ruiz, C., Méndez-Armenta, M., & Castañeda, C. R. (2012). Efecto del plomo sobre aprendizaje y memoria de ratas adultas, en un modelo subagudo. *Archivos de Neurociencias*, 17(2), 89–95.
49. Geney Celis, C. A., Barbosa Devia, M. Z., Del Pilar Díaz Gómez, A., Pérez Castiblanco, D. M., Osorio García, S. D., & González Álvarez, Y. C. (2016). Menores de 17 años con concentraciones de plomo por exposición ambiental en Bogotá. *Universitas Médica*, 57(2), 182–192.
50. Palencia, A., Romero, G., Figueredo, A., Barrades, O., Álvarez, Y., Acosta, H., & González, M. (2018). Función Renal, Niveles Urinarios De Cadmio Y Plomo en Niños Del Municipio De Naguanagua (Estado Carabobo, Venezuela), Expuestos al Humo De Tabaco Ambiental. *Archivos de Medicina* (1657-320X), 18(2), 255–269.
51. Berumen-Rodríguez, A. A., Pérez-Vázquez, F. J., Díaz-Barriga, F., Márquez-Mireles, L. E., & Flores-Ramírez, R. (2020). Untitled. *Salud Publica de México*, 63(1, ene-feb), 100–108.
52. Guía breve de métodos analíticos para determinar las concentraciones de plomo en la sangre (OMS, 2013). Obtenido el 15 de julio de 2021 del sitio web Who.int: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77917/9789243502137\\_spa.pdf;jsessionid=B8913014D4F7FD8086D6BD32B70510D7?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77917/9789243502137_spa.pdf;jsessionid=B8913014D4F7FD8086D6BD32B70510D7?sequence=1)
53. Romero-Bonilla, Hugo Ítalo, Vera-Infante, Thalía Gabriela, Redrovan-Pesantez, Felipe Fernando, Jumbo-Sari, Jennifer del Cisne, & Pesantez, Freddis Franco. (2019). Aplicación de voltamperometría de redisolución anódica para la determinación de antimonio. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(3), 293-304.
54. Laboratorio Nacional de Investigaciones en Forense Nuclear. (Dakota del Norte.). Gob.mx. Recuperado el 20 de abril de 2022, de [https://inin.gob.mx/mini\\_sitios/tercer\\_plano.cfm?cve\\_area=LAFON&codigo\\_opc=180003003](https://inin.gob.mx/mini_sitios/tercer_plano.cfm?cve_area=LAFON&codigo_opc=180003003)
55. Espectrometría de Masas de Plasma (ICP-MS). (Dakota del Norte.). Ubu.es. Recuperado el 20 de abril de 2022, de <https://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico-tecnicos/espectrometria/espectrometria-de-masas-de-plasma-icp-ms>
56. Guijarro, NM (2020). Análisis instrumental: Espectrometría de Absorción Atómica (EAA) . Upv.Es. Recuperado el 3 de mayo de 2022 de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/138418/Mart%C3%ADnez%20-%20An%C3%A1lisis%20Instrumental.%20Espectrometr%C3%ADa%20de%20Absorci%C3%B3n%20At%C3%B3mica%20%28EAA%29.pdf?sequence=1>
57. Mañay, N., Clavijo, G., & Díaz, Y. L. (n.d.). *Absorción atómica con horno de grafito*. Edu.Uy. Retrieved April 20, 2022, from <http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/02ba23e6cc083af03bfc55ac63a98a0c>
58. Cortes Cervantes, J., I. (2013) Aplicación de la espectrofotometría de absorción atómica en el laboratorio de química forense. Facultad de estudios superiores zaragoza. Recuperado el 10 de octubre de 2021 de [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_cortes\\_cervantes.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_cortes_cervantes.pdf)
59. *Universidad de los andes facultad de ciencias departamento de química postgrado interdisciplinario en química aplicada Mérida Venezuela*. (Dakota del Norte). Ula.Ve. Recuperado el 22 de agosto de 2022, de <http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/31890.pdf>
60. Andrea, G., Zenteno, V., María, D., Báez Contreras, E., Báez, E., & Santiago, C. (nd). *Memoria para optar al título de químico*. Uchile.Cl. Recuperado el 23 de agosto de 2022, de [https://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2008/valdebenito\\_g/sources/valdebenito\\_g.pdf](https://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2008/valdebenito_g/sources/valdebenito_g.pdf)
61. Norma Oficial Mexicana. (2000). NOM-199-SSA1-2000, Salud Ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterio para proteger la salud de la población expuesta no ocupacional. Gob.mx. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=751988&fecha=18/10/2002](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=751988&fecha=18/10/2002)
62. Facultad de ciencias químicas. Lectura 9, Espectrometría de absorción atómica. Recuperado el 19 de Abril de 2022, de [https://llamados.ancap.com.uy/docs\\_concursos/ARCHIVOS/2%20LLAMADOS%20FINALIZADOS/2011/REF%2022\\_2011%20TECNICO%20LABORATORIO%20LUBRICANTES/MATERIAL%20DE%20ESTUDIO/ESPECTROMETRIA.PDF](https://llamados.ancap.com.uy/docs_concursos/ARCHIVOS/2%20LLAMADOS%20FINALIZADOS/2011/REF%2022_2011%20TECNICO%20LABORATORIO%20LUBRICANTES/MATERIAL%20DE%20ESTUDIO/ESPECTROMETRIA.PDF)

63. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos" Instituto de salud pública. Chile (2010). Ispch.cl. Recuperado el 26 de abril de 2022, de [https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2010/12/guia\\_tecnica\\_1\\_validacion\\_de\\_metodos.pdf](https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2010/12/guia_tecnica_1_validacion_de_metodos.pdf)
64. De Palacios, N., Sánchez R., Gómez G. P., Modificación de la matriz para determinación de plomo en orina por espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito. Departamento de química Universidad del valle. Recuperado el 10 de octubre de 2021 de <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/handle/10893/4940/MODIFICACION%20DE%20LA%20MATRIZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
65. Mta, /., y Mb-011, /.. (Dakota del Norte.). Determinación de plomo en sangre -Método de cámara de grafito Espectrofotometría de absorción atómica. Insst.Es. Recuperado el 20 de abril de 2022, de [https://www.insst.es/documents/94886/359017/MB\\_011\\_R92.pdf/e77e2c91-c886-46f1-a950-798194110e68](https://www.insst.es/documents/94886/359017/MB_011_R92.pdf/e77e2c91-c886-46f1-a950-798194110e68)
66. Del Pilar, T., & Guerrero, C. (2016). *Determinación de niveles sanguíneos de Plomo en una muestra de niños mediante espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito.*
67. Molina, Laura, & Morales, Alexis, & Luna, José Rafael, & Rondón, Carlos, & Salazar, José Gregorio, & García, María Ysabel, & Di Bernardo, María Luisa, & Carrero, Pablo, & Peña, Jesús, & Hernández, Yajaira (2007). Determinación y estandarización de plomo en sangre en operarios de estaciones de servicio del Estado Mérida. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 41 (2),229-236.
68. Gallindo Borges, D. L., da Silva, A. F., José Curtius, A., Welz, B., & Heitmann, U. (2006). Determination of lead in coal using direct solid sampling and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 154(1-2), 101-107.
69. Robledo Vélez, L. M., Castaño Puerta, A. (2012). Validación de la metodología para el análisis de los metales cadmio y plomo en agua tratada por absorción atómica con horno de grafito en el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la universidad tecnológica de Pereira. Universidad tecnológica de Pereira. Recuperado el 10 de octubre de 2021 de <https://core.ac.uk/download/pdf/71397149.pdf>
70. Peres, J. (2013). *Guía de Validación de métodos analíticos editada por QFB de México.* [https://www.academia.edu/4513278/Guia\\_de\\_Validacion\\_de\\_metodos\\_analiticos\\_editada\\_por\\_QFB\\_de\\_Mexico](https://www.academia.edu/4513278/Guia_de_Validacion_de_metodos_analiticos_editada_por_QFB_de_Mexico)
71. Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC). *Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos (2010).* Unodc.org. Recuperado el 26 de abril de 2022, de [https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation\\_Manual\\_STNAR41\\_Ebook\\_S.pdf](https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf)
72. "Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
73. *Página 447 - FARMACOPEA.* (s/f). Gov.ar. Recuperado el 28 de abril de 2022, de [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip\\_pages/Farmacopea\\_Vol\\_1/files/assets/basic-html/page440.html](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_1/files/assets/basic-html/page440.html)
74. Validación de métodos analíticos. Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico Anexo 3 informe 36, 2002. Paho.org. Recuperado el 26 de abril de 2022, de [https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13\\_Modulo\\_VALIDACION\\_de\\_Metodos\\_Fisicoqcos.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13_Modulo_VALIDACION_de_Metodos_Fisicoqcos.pdf)
75. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico (2017). Org.mx. Recuperado el 26 de abril de 2022, de [https://www.ema.org.mx/descargas\\_portalV2/guias\\_tecnicas/Guias\\_Tecnicas\\_CLINICOS/CLINICOS\\_Validacion-Verificacion.pdf](https://www.ema.org.mx/descargas_portalV2/guias_tecnicas/Guias_Tecnicas_CLINICOS/CLINICOS_Validacion-Verificacion.pdf)
76. EMA. (2018, 17 de septiembre). ICH Q2(R2) Validación de procedimientos analíticos. Agencia Europea de Medicamentos. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures>
77. Bueno-Zabala, K. A., Pérez-Vidal, A., & Torres-Lozada, P. (2014). Identificación de peligros químicos en cuencas de abastecimiento de agua como instrumento para la evaluación del riesgo. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 13(24), 59-75.

## 9. ANEXO 2: Protocolo de validación

### Protocolo de validación del sistema para el método de cuantificación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica

Emisión:

Revisión:

Aprobación:

Versión: 00

#### Resumen

El método para la cuantificación de plomo es un método no farmacopeico, por lo que se requiere optimizar el método y realizar su validación. Se consideran los siguientes parámetros para la validación del sistema por el método de cuantificación de plomo: linealidad (sistema), precisión (sistema, y precisión intermedia), exactitud, especificidad y robustez; considerando los requerimientos vigentes de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), la Guía de Validación de métodos analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), la Conferencia internacional sobre armonización Q2-R1 (ICH), Reglamento Técnico de Centroamérica (RTCA) 11.03.39:06 y de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) Resolución –RE N° 899, de mayo 29, 2003.

La validación exitosa del método se demostrará mediante el cumplimiento de los criterios de aceptación establecidos, por lo que los resultados deben ser reproducibles y confiables para la cuantificación de plomo.

#### Objetivo

Demostrar que el método de cuantificación de plomo en muestras biológicas por espectrofotometría de absorción atómica es adecuado y confiable bajo condiciones específicas, a través de evidencia documentada generada de la evaluación de datos experimentales.

#### Alcance

Para fines de este protocolo solo considerará la validación del método para la cuantificación de Pb en muestras biológicas. Considerando como muestras biológicas: plasma

La validación del método para la cuantificación de plomo contenido en una forma farmacéutica será completada con un tercer protocolo de validación.

#### Responsabilidades

- \* Es responsabilidad del jefe del laboratorio proveer insumos, supervisar que el presente protocolo sea cumplido, así como revisar y autorizar el reporte de validación.
- \* Es responsabilidades de los asesores revisar y autorizar el presente protocolo, así como el reporte de validación.
- \* Es responsabilidad del analista ejecutar las pruebas de validación y realizar la evaluación de los resultados cumpliendo lo descrito en este protocolo. Deberá generar el reporte de validación.

**Elaboró**

**Revisó**

**Autorizó**

Alma Delia Moreno Vázquez

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda

Analista

Jefe de laboratorio de farmacia

Jefe de Laboratorio  
Neuroquímica

**APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE VALIDACIÓN**

**IDENTIFICACIÓN DEL METODO DE ENSAYO VALIDADO**

**Nombre completo del método:** Protocolo de validación del sistema para el método de cuantificación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica

**Tipo de método:** Cualitativo  Cuantitativo   
Normalizado  Normalizado modificado  No normalizado  Nuevo

**Analito:**  
**Unidades:**  
**Matriz (o matrices):**

**Responsable de validación:**  
**Firma:**  
**Fecha:**

**Identificación de materiales, insumos o equipos empleados**

**Equipos:**

**Soluciones estándares y/o patrones involucrados:**

**Materiales de referencia:**

**Materiales de referencia certificados:**

**1. Definiciones**

- 1.1. NA. No aplica
- 1.2. r: Coeficiente de correlación
- 1.3. r<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación
- 1.4. Valor P: Medida de significancia estadística
- 1.5. Linealidad: capacidad (dentro de un rango dado) para obtener pruebas resultados que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra.
- 1.6. Exactitud: expresa la cercanía del acuerdo entre el valor que se acepta como un valor de referencia aceptado y el valor encontrado
- 1.7. Precisión: expresa la cercanía del grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas a partir de muestreos múltiples de una muestra homogénea en las condiciones prescritas.
- 1.8. Precisión intermedia: expresa variaciones dentro de los laboratorios: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos, etc.
- 1.9. Matriz biológica, al material de origen biológico en el cual se encuentra la sustancia de interés
- 1.10. Precisión, al grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto, se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad

**2. Parámetros de validación**

**Pruebas realizadas:**

Selectividad  Linealidad  Exactitud/veracidad  Sensibilidad   
Presión  Límites

Otros:

### 3. Resultados de las pruebas experimentales realizadas

#### 3.1 Linealidad del sistema

<b>Descripción:</b> <b>A) Solución patrón de Pb 1000 ppm</b> Tomar una alícuota de 100uL del estándar de Pb y aforar con ácido nítrico al 5% en un matraz de 10mL <b>B) Solución intermedia de Pb 10 ppm</b> Tomar una alícuota de 100uL de la solución patrón de Pb 1000ppm y aforar con ácido nítrico al 5% en un matraz de 10mL <b>C) Modificador de matriz</b> En un matraz de 100mL agregar 0.2g de NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 0.5mL de Triton X-100 y 0.2 mL de HNO <sub>3</sub> al 65%
<b>Tipo de calibración:</b> Calibración Externa <input type="radio"/> Calibración Externa con estándar interno (SI) <input type="radio"/> Calibración con matriz <input type="radio"/> Calibración con matriz y estándar interno (SI) <input type="radio"/>

#### 3.1.1 Linealidad del método. Efecto de la matriz biológica

<b>Descripción:</b> Este procedimiento fue realizado siguiendo lo establecido NOM-177-SSA1-2013 numeral 9 "Criterios y requisitos para el análisis de muestras biológicas de un estudio de biodisponibilidad o bioequivalencia". Para realizar la validación del método utilizado para la cuantificación de plomo en muestras biológicas, se empleará el método de adición de estándar y se seleccionó como peor caso de matriz biológica plasma, debido que esta no se sometió a un proceso de digestión a diferencia de las muestras de cerebro e hígado que son sometidas a una digestión ácida. Se empleó como disolvente plasma humano. -Prepara la solución stock de Pb como se indica en el inciso A) del punto 3.1 -Realizar la curva de calibración por triplicado como indica el inciso B) del punto 3.1 Agregando un punto más de calibración, equivalente 200% del contenido de plomo (80 ppb; alícuota de solución stock 800 µL) y sustituyendo la solución de HNO <sub>3</sub> 0.2% utilizada como disolvente por plasma humano. -Blanco  Se empleará como blanco plasma, al cual no se le haya adicionado solución estándar. Leer por triplicado. Para estimar el % de recobro de las muestras deberá restar la cantidad de plomo obtenida en el blanco.
<b>Tipo de calibración:</b> Calibración Externa <input type="radio"/> Calibración Externa con estándar interno (SI) <input type="radio"/> Calibración con matriz <input type="radio"/> Calibración con matriz y estándar interno (SI) <input type="radio"/>

**Procedimiento:**

Evaluar la preparación de 5 concentraciones conocidas (50, 100, 150, 300, 450) ppb por triplicado para realizar una curva de calibración. Transferir alícuotas de la solución stock de plomo (10ppm), mezclar y llevar a volumen con una solución de ácido nítrico al 20% como se indica en las **tablas 2 y 3**. Analizar a una longitud de onda de 283.3 nm y programar la siguiente rampa de temperatura en el equipo de absorción atómica.

**Rampa de temperatura para EEA**

Temperatura °C	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de mantenimiento (s)
100	15	30
700	10	20
1800	0	5
2100	1	3

**Tabla 1. Concentraciones stock**

Concentración de plomo (ppb)	alícuota de solución stock de plomo (µL)	Volumen total (mL)	Numero de replicas
50	50	5	3
100	100		3
150	150		3
300	300		3
450	450		3

**Tabla 2. Soluciones de trabajo para analizar en el espectrómetro de absorción.**

Solución	Modificador de matriz (µL)	Sangre	Agua	So. Trab. 50	Sol. Trab 100	Sol. Trab 150	Sol. Trab 300	Sol. Trab 450
Blanco	800	100	100					
5	800	100		100				
10	800	100			100			
15	800	100				100		
30	800	100					100	
45	800	100						100

**Resultados y criterios**

Reportar el valor de la pendiente, intercepto,  $r$ ,  $r^2$  y representar gráficamente la relación de la respuesta obtenida frente a la concentración real en ppb, para cada linealidad por separado. Los datos de concentración recuperada de la curva de calibración deben estar dentro del 15% de la concentración nominal en cada nivel de concentración, excepto para el límite inferior de cuantificación, ya que puede ser menor o igual que el 20%. Al menos el 75% de las concentraciones de la curva de calibración con un mínimo de 6 puntos deben cumplir con este criterio.

Del total de las curvas evaluadas, al menos el 50% de cada nivel de concentración debe cumplir con el criterio del 15% de la concentración nominal y 20% para el límite inferior de cuantificación.

	Resultado	Criterio
$r^2$		$r \geq 0.99$ .
IC ( $\beta_1$ )		Debe incluir la unidad
IC ( $\beta_0$ )		Debe incluir el 0
CV <sub>V/x</sub> % recobro		- No mayor de 2% en método es cromatográfico - No mayor de 2% en método volumétrico

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- No mayor de 3% en método químico o espectrofotométrico</li> <li>- No mayor de 5% en método microbiológico</li> <li>- No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra.</li> </ul>
<b>IC (<math>\mu</math>) del % de recobro</b>		Debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % recobro se incluya en el intervalo <ul style="list-style-type: none"> <li>- 98-102% método cromatográfico</li> <li>- 98-102% método volumétrico</li> <li>- 97-103% método químico o espectrofotométrico</li> <li>- 95-105% método microbiológico</li> </ul>
<b>CV del % de recobro</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- No mayor de 2% en método cromatográfico</li> <li>- No mayor de 2% en método volumétrico</li> <li>- No mayor de 3% en método químico o espectrofotométrico</li> <li>- No mayor de 5% en método microbiológico</li> <li>- No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra.</li> </ul>
<b>Cumplimiento:</b> Cumple <input type="radio"/> No cumple <input type="radio"/>		

### 3.2 Sensibilidad

<b>Procedimiento:</b> Realizar la curva de calibración establecida en la linealidad del método 3.1.1		
<b>Resultados:</b> Se considera que, a mayor pendiente, mayor sensibilidad y que mientras más pequeño sea el coeficiente de variación de la pendiente mayor será la linealidad.		
	<b>Valor obtenido</b>	<b>Criterio de aceptación</b>
Pendiente (m)		coeficientes de variación de la pendiente mayores que el 5.0 % indican falta de linealidad
Concentración característica		
<b>Cumplimiento:</b> Cumple <input type="radio"/> No cumple <input type="radio"/>		

### 3.3 Selectividad, Limites

<b>Procedimiento:</b> Realizar 10 ensayos de medición de una matriz de muestra en un nivel de concentración cercano al LOD esperado. De acuerdo con la siguiente tabla.				
Nivel	Alícuota de solución stock de plomo ( $\mu$ L)	Volumen total (mL) plasma	Número de replicas	Concentración aproximada de plomo (ppb)
LC	50	5	3	5
Testigo reactivo	50		3	5
Blanco matriz	50		3	5
<b>Resultados:</b> determinar la desviación estándar de las concentraciones obtenidas ( $S_o$ ), calcular el valor de LOD como $LOD = 3,29 \times S_o$ .				
	<b>Valor obtenido</b>	<b>Criterio de aceptación</b>		
Limite critico (LC)				
Límite de detección (LOD)				
Límite de cuantificación (LOQ)				
<b>Cumplimiento:</b> Cumple <input type="radio"/> No cumple <input type="radio"/>				



### 3.4 Exactitud/veracidad

**Procedimiento:** Determinar este parámetro con los resultados obtenidos de la linealidad 1.1, calcular el porcentaje de recobro siguiendo para cada uno de los niveles con la siguiente formula:

$$\%Recobro = \frac{mg \text{ de plomo recuperados}}{mg \text{ de plomo adicionados}} \times 100$$

**Resultados:**  
 El porcentaje individual deberá estar entre 95% a 105 % del rango de la cantidad adicionada  
 El porcentaje general deberá encontrarse ente el 97% a 103 % de la cantidad adicionada.  
 El %RSD no debe ser mayor a 5.0% para plomo.

	Valor obtenido	Criterio de aceptación
Recobro %		95% a 105 % del rango de la cantidad adicionada
Recobro general %		el 97% a 103 % de la cantidad adicionada
% RSD		no debe ser mayor a 5.0% para plomo
t-Student (t)		P= 0.05
Interferencias conocidas		Correcciones a interferencias:

**Cumplimiento:** Cumple  No cumple

### 3.5 Reproducibilidad

Nivel/concentraciones (unidades ppb)	R	%R	t <sub>obs</sub>	Criterios de aceptación
5				98-102% métodos cromatográficos
12				
25				
35				

**Cumplimiento:** Cumple  No cumple

### 3.6. Precisión

#### 3.6.1. Precisión en condiciones de repetibilidad

**Procedimiento:** Preparar como puntos controles límite inferior de cuantificación (LC: 5ppb), muestra control bajo (MCB: 12 ppb), muestra control medio (MCM:25 ppb) y muestra control alta (MCA: 35 ppb) como a continuación se describe:

Nivel	Alícuota de solución stock de plomo (µL)	Volumen total (mL) plasma	Número de replicas	Concentración aproximada de plomo (ppb)
LC	50	5	3	5
MCB	120		3	12
MCM	250		3	25
MCA	350		3	35

**Resultados:** Calcular la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración 1.1

Nivel/concentración (unidades ppb)	SD <sub>r</sub>	%CV	Criterios de aceptación
5			No mayor a 20%
12			No mayor al 15%
25			No mayor al 15%
35			No mayor al 15%

**Cumplimiento:** Cumple  No cumple

### 3.6.1. Precisión en condiciones de reproducibilidad

**Procedimiento:** Analizar por quintuplicado las muestras control (LIC, MCB, MCM y MCA) en tres corridas analíticas diferentes y en al menos 2 días.

Nivel	Alícuota de solución stock de plomo (µL)	Volumen total (mL) plasma	Número de replicas	Concentración aproximada de plomo (ppb)
LC	50	5	3	5
MCB	120		3	12
MCM	250		3	25
MCA	350		3	35

**Resultados:** Calcular la concentración recuperada interpolando la respuesta analítica en la curva de calibración 1.1

Nivel/concentración (unidades)	SD <sub>r</sub>	%CV	Criterios de aceptación
5			No mayor a 20%
12			No mayor al 15%
25			No mayor al 20%
35			No mayor al 20%

	Valor obtenido (unidades)	Criterios de aceptación
Precisión del método %SDR		
<b>Cumplimiento:</b>	Cumple <input type="radio"/>	No cumple <input type="radio"/>

### 3.7 Estabilidad

<b>Descripción:</b>		
<b>Procedimiento:</b>		
<b>Resultados:</b>		
	Valor obtenido	Criterio de aceptación
<b>Cumplimiento:</b>	Cumple <input type="radio"/>	No cumple <input type="radio"/>

### 4. Control de cambios

Número de cambio	Realizó	Descripción del cambio
1ª Edición	Alma Delia Moreno Vázquez	Emisión original

### 5. Referencias

Guía de validación de métodos analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México.

Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria Resolución (ANVISA)

International conference on harmonization validation of analytic procedures (ICH Q2-R)

NOM-177-SSA1-2013, que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable.

Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos que deben sujetarse los terceros autorizados, centros de investigación o instituciones hospitalarias que realicen pruebas de biocomparabilidad.

Castillo Aguilar, Beatriz, & González Hernández, Rolando. (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia*, 30(1).