

Validación e implementación de la metodología para la determinación de plomo total y migración en útiles escolares por espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito

Leidy Lorena Galeano Tirado

Trabajo de Grado para Optar al Título de Químico

Director

Luz Yolanda Vargas Fiallo

Magister en Química

Codirector

Bibiana Milena Herrera

Especialista en ingeniería ambiental

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Programa Académico

Bucaramanga

2023

Dedicatoria

A mi padre Danilo Galeano Ángulo, por su amor, paciencia, apoyo durante todos mis años de carrera y por su sentido del humor que me alegra la vida.

A mi madre Hilda Tirado Hernández, por ser la calma, la voz de aliento y el abrazo que siempre me hace sentir mejor.

A mi hermana Laura Yineth Galeano Tirado, por estar conmigo aconsejándome y llenándome de sonrisas.

A mi gatica Dafne Galeano por su ternura y locuras, por enseñarme ese amor que solo se puede sentir por una mascota.

Y a mí, por la dedicación, perseverancia y el optimismo, a pesar de que algunas veces las cosas se pusieron difíciles.

Agradecimientos

A Dios por su infinito amor y sabiduría.

A mi directora de proyecto de grado la profesora Luz Yolanda Vargas Fiallo, por haberme recibido en el laboratorio, por guiarme en la realización de mi trabajo, por su paciencia y por sus buenos consejos.

A mi codirectora Bibiana Herrera, por su colaboración en lo que necesité respecto a mi proyecto de grado y también por su ayuda en los momentos difíciles.

A Karina Pradilla, por ser una gran persona, por explicarme, ayudarme y darme ánimo para no rendirme.

A Natalia Gallo y a Mary por los buenos momentos en el laboratorio.

A todos los profesores de la carrera, por sus enseñanzas.

A mis amigos, a los que se fueron y a los que quedaron, gracias por compartir su tiempo conmigo, por los momentos de estudio y de alegrías.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	14
1.Planteamiento del problema y justificación.....	16
2.Objetivos	18
2.1 Objetivo general.....	18
2.2 Objetivos específicos	18
3.Marco teórico.....	19
3.1 Generalidades del plomo.....	19
3.2 Métodos para la determinación de plomo.....	19
3.2.1 Espectrofotometría de absorción atómica- horno de grafito.....	21
3.3 Validación de métodos analíticos	23
3.3.1 Linealidad	23
3.3.2 Límite de detección.....	24
3.3.3 Límite de cuantificación	24
3.3.4 Veracidad	24
3.3.5 Sesgo	24
3.3.6 Porcentaje de recuperación	24
3.3.7 Precisión.....	25
3.3.8 Repetibilidad	25
3.3.9 Precisión intermedia.....	25
3.3.10 Robustez.....	25

3.3.11 Incertidumbre.....	25
3.3.11.1 Tipos de distribuciones.....	27
3.4 Análisis estadístico.....	28
3.4.1 Análisis de varianza.....	28
3.4.2 Prueba t-Student.....	28
3.4.2 Prueba F (de Fisher).....	28
4. Metodología.....	29
4.1 Reactivos.....	29
4.2 Material de referencia certificado.....	29
4.3 Instrumentación de laboratorio.....	30
4.3.1 Materiales de laboratorio.....	30
4.3.2 Equipos.....	30
4.4 Material en estudio.....	31
4.4.1 Reducción del tamaño de las matrices.....	32
4.5 Revisión de procedimientos.....	32
4.5.1 EPA 3050-B.....	32
4.5.2 Digestión vía seca.....	32
4.6 Verificación de los reactivos.....	33
4.7 Validación.....	33
4.7.1 Optimización de variables instrumentales.....	33
4.7.1.1 Optimización de la temperatura de secado, calcinado y atomización.....	33
4.7.1.2 Concentración del modificador.....	33
4.7.2 Comparación de métodos para la extracción de plomo total en útiles escolares.....	33

4.7.3 Determinación de plomo total en útiles escolares.....	34
4.7.4 Figuras de mérito- Plomo total en útiles escolares	34
4.7.4.1 Intervalo de trabajo – linealidad	34
4.7.4.2 Límite de detección y cuantificación	35
4.7.4.3 Sesgo.....	35
4.7.4.4 % de Recuperación.	35
4.7.4.5 % de Recuperación de las matrices.....	35
4.7.4.6 Repetibilidad.....	35
4.7.4.7 Precisión intermedia.....	35
4.7.4.8 Robustez.....	36
4.7.4.9 Estimación de la incertidumbre..	36
4.7.4.10 Carta de control para útiles escolares.....	36
4.8 Migración de plomo en útiles escolares (simulando jugo gástrico).....	36
4.8.1 Procedimiento	37
4.9 Migración de plomo en útiles escolares (simulando piel grasa pH 4,9)	37
4.9.1 Preparación de la solución de sudor ácido artificial	37
4.9.2 Extracción	37
4.10 Migración de plomo en útiles escolares (piel seca pH 5,5)	38
5.Resultados y discusión.....	38
5.1 Verificación de los reactivos.....	38
5.2 Validación.....	38
5.2.1 Optimización de variables instrumentales	38
5.2.1.1 Concentración del modificador.....	39

5.2.2 Comparación de métodos para la extracción de plomo total en útiles escolares	39
5.2.3 Determinación de plomo total en útiles escolares.....	40
5.2.4 Linealidad	41
5.2.5 Límite de detección y cuantificación	44
5.2.6 Veracidad (sesgo y % de recuperación).....	47
5.2.7 Precisión (repetibilidad, precisión intermedia).....	51
5.2.8 Robustez.....	54
5.2.9 Estimación de la incertidumbre	58
5.2.9.1 u asociada a los equipos.....	59
5.2.9.2 u asociada a la trazabilidad	60
5.2.9.3 u asociada a la masa.....	60
5.2.10 Carta de control.....	62
5.3 Migración de Pb en útiles escolares como crayolas, vinilo, foami y plastilina	63
5.3.1 Migración a pH 1,2 (simulación-jugo gástrico).....	63
5.3.2 Migración a pH 4,9 (simulación sudor-piel grasa)	64
5.3.3 Migración a pH 5,5 (simulación sudor-piel seca).....	65
6.Conclusiones	67
7.Recomendaciones	68
Referencias bibliográficas.....	69

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 Límites de detección de Pb en $\mu\text{g/L}$	20
Tabla 2 Parámetros instrumentales para la determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito	22
Tabla 3 Equipos usados para llevar a cabo la metodología	30
Tabla 4 Matrices usadas para la determinación de plomo	31
Tabla 5 Comparación de los métodos empleados para la determinación de Pb	34
Tabla 6 Soluciones de la curva de calibración	34
Tabla 7 Matriz de experimentos para determinar la robustez.....	36
Tabla 8 Análisis de los reactivos para las metodologías analíticas	38
Tabla 9 Optimización de la señal de acuerdo con la concentración del modificador.....	39
Tabla 10 Comparación de los métodos (EPA 3050B e digestión vía seca).....	39
Tabla 11 Resultados de mg Pb/Kg en crayolas.....	40
Tabla 12 Resultados de mg Pb/Kg en vinilos	40
Tabla 13 Resultados de mg Pb/Kg en foami.....	40
Tabla 14 Resultados de mg Pb/Kg en plastilina	41
Tabla 15 Datos para la construcción de la curva de calibración.....	42
Tabla 16 Datos prueba t de student para linealidad	44
Tabla 17 Datos de la medición de 8 réplicas de un blanco de reactivos.....	44
Tabla 18 Límite de detección, cuantificación y desviación estándar.....	45
Tabla 19 Datos de fortificados a 1 ($\mu\text{g Pb/Kg}$).....	45

Tabla 20 Datos de fortificados a 2 ($\mu\text{g Pb/Kg}$).....	46
Tabla 21 Datos de las mediciones para calcular el sesgo	47
Tabla 22 Datos prueba t de student para el sesgo	47
Tabla 23 Datos para hallar el %Recuperación en tres niveles de concentración.....	48
Tabla 24 Datos para hallar el %Recuperación en las crayolas	49
Tabla 25 Datos para hallar el %Recuperación en los vinilos.....	49
Tabla 26 Datos para hallar el %Recuperación en el foami.....	50
Tabla 27 Datos para hallar el %Recuperación en la plastilina.....	50
Tabla 28 Análisis de varianza de los porcentajes de recuperación de cada una de las matrices (crayola, vinilo, foami y plastilina).....	51
Tabla 29 Datos para la repetibilidad	52
Tabla 30 Datos para la precisión intermedia.....	53
Tabla 31 Análisis de varianza de los datos de la precisión intermedia.....	53
Tabla 32 Prueba de Robustez de Younden y Steiner para las crayolas	54
Tabla 33 Robustez para las crayolas	54
Tabla 34 Prueba de Robustez de Younden y Steiner para los vinilos	55
Tabla 35 Robustez para los vinilos	55
Tabla 36 Prueba de Robustez de Younden y Steiner para foami.....	56
Tabla 37 Robustez para el foami	56
Tabla 38 Prueba de Robustez de Younden y Steiner para la plastilina	57
Tabla 39 Robustez para la plastilina	57
Tabla 40 Incertidumbre asociada a los equipos	59
Tabla 41 Incertidumbre asociada a la trazabilidad	60

Tabla 42 Incertidumbre asociada a la masa	60
Tabla 43 Incertidumbre final en términos absolutos.....	61
Tabla 44 Migración de plomo en crayolas a pH 1,2	63
Tabla 45 Migración de plomo en vinilos a pH 1,2	63
Tabla 46 Migración de plomo en foami a pH 1,2	63
Tabla 47 Migración de plomo en plastilina a pH 1,2.....	64
Tabla 48 Migración de plomo en crayolas a pH 4,9	64
Tabla 49 Migración de plomo en vinilos a pH 4,9	65
Tabla 50 Migración de plomo en foami a pH 4,9	65
Tabla 51 Migración de plomo en plastilina a pH 4,9.....	65
Tabla 52 Migración de plomo en crayolas a pH 5,5	65
Tabla 53 Migración de plomo en vinilos a pH 5,5	66
Tabla 54 Migración de plomo en foami a pH 5,5	66
Tabla 55 Migración de plomo en plastilina a pH 5,5.....	66

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 Sección transversal del horno de grafito. [Skoog et al., 1998].....	22
Figura 2 Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito, Agilent Technologies .	30
Figura 3 Crayolas	31
Figura 4 Vinilos	31
Figura 5 Plastilina	31
Figura 6 Foami	31
Figura 7 Curva de calibración de Pb.....	42
Figura 8 Diagrama de causa-efecto para la determinación de la concentración de plomo.....	58
Figura 9 Contribución de cada una de las componentes de la incertidumbre.....	61
Figura 10 Carta de control para útiles escolares	62

Resumen

Título: Validación e implementación de la metodología para la determinación de plomo total y migración en útiles escolares por espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito*

Autor: Leidy Lorena Galeano Tirado**

Palabras Clave: Validación, plomo, horno de grafito

El plomo es uno de los metales más tóxicos presentes en la corteza terrestre. Su uso continuo ha dado paso a una alta contaminación ambiental que ha conllevado entre otras cosas, a problemas de salud en los seres humanos, principalmente en niños y adolescentes. Por lo tanto, como un primer paso en la búsqueda de herramientas para controlar la exposición a este metal, el presente trabajo se enfocó en la validación de una metodología para la determinación de plomo total y migración en útiles escolares, según los lineamientos de la norma NTC ISO/IEC 17025:2017. Asimismo, el desarrollo de la metodología consistió en analizar muestras de útiles escolares (crayolas, vinilos, foami y plastilina) soportado en las normas NTC 71-3:2016, UNI EN ISO 105-E04 y los hallazgos de Melo & Silva (2008) y Azcue & Mudroch (1994). Para este fin, se emplearon materiales certificados, blancos de matriz y blancos de reactivos con los cuales se determinaron las figuras de mérito y la estimación de la incertidumbre. Finalmente, con los resultados de los análisis estadísticos, se adquirió la evidencia objetiva para declarar que el método usado para la determinación de plomo total en útiles escolares, por espectrofotometría de absorción atómica - horno de grafito es apto, y adicionalmente, se contribuyó con información para la determinación de la migración de plomo en dichas matrices.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Química. Director: Luz Yolanda Vargas Fiallo. Magister en Química. Codirector: Bibiana Milena Herrera Agudelo. Especialista en ingeniería ambiental.

Abstract

Title: Validation and implementation of the methodology for the determination of total lead and migration in school supplies by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry (GFAAS)*

Author(s): Leidy Lorena Galeano Tirado**

Key Words: Lead, Validation, Graphite Furnace

Description: Lead is one of the most toxic metals in nature, coming from the earth's crust. Its continuous use in human activities has led to high pollution, causing health issues in the population, predominantly in kids and young people. Therefore, in the search for tools to control exposure to this metal, this research focused on validating a methodology for the determination of total lead and its migration in school supplies, according to the guidelines of the NTC ISO/IEC 17025:2017 standard. In addition, the analysis of samples of school supplies (crayons, vinyl, foam, and plasticine) was made based on the NTC 71-3:2016, UNI EN ISO 105-E04 standards, supported by the contributions of Melo & Silva (2008), and Azcue & Mudroch (1994). For this purpose, certified materials, matrix blanks, and reagent blanks were used, from which the merit figures and the uncertainty estimation were determined. The statistical analysis results showed objective evidence to establish that the method used for determining total lead in school supplies, by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry, is suitable. Additionally, these analyses contributed information for determining lead migration in the matrices studied.

* Degree work

** Science Faculty. Chemistry School. Chemistry. Director: Luz Yolanda Vargas Fiallo. M.Sc in Chemistry. Co-director: Bibiana Milena Herrera Agudelo. Environmental engineering specialist.

Introducción

A nivel mundial se imponen políticas para proteger a la comunidad de sustancias que son nocivas para la salud humana; y a partir de ello se han expedido normas que deben cumplir las industrias, en donde se establecen los límites permisibles para las sustancias con componentes tóxicos en artículos que se usan cotidianamente dando un énfasis primordial en la manufactura y elaboración de productos para niños. De esta forma en los útiles escolares, los controles están centrados en los metales pesados como el plomo, debido a que este metal afecta varios órganos que se traducen en daños neurológicos, renales, hematológicos y en muchas ocasiones problemas de aprendizaje. En Colombia el control de plomo se rige por la ley 2041 de 2020 en donde se expide la prohibición del uso de todos los productos sólidos diseñados para su utilización por los niños que supere un contenido de 90 mg Pb/kg. Para los productores de útiles escolares es difícil llevar a cabo la verificación de dicho límite, ya que el país no cuenta con laboratorios que estén acreditados para brindar los servicios como la determinación de plomo total y su migración. A su vez, para controlar la calidad en la producción de estos útiles escolares bajo la reglamentación establecida por la OMS, se requiere una metodología validada que permita cuantificar el contenido de plomo tanto en materias primas como en productos terminados.

A raíz de lo anteriormente mencionado el Laboratorio Químico de Consultas Industriales de la Universidad Industrial de Santander, asignó los controles de calidad de algunos materiales de uso escolar (plastilina, foami, vinilos y crayolas), creando una regla de decisión con base en la ley propuesta para una declaración de conformidad, siguiendo los lineamientos de la norma NTC ISO/IEC 17025:2017 y la validación de la metodología para la cuantificación de plomo total y migración de metales basándose en las normas EPA 3050 B, NTC 71-3:2016, UNI EN ISO 105-

E04, así como en las publicaciones de Melo & Silva (2008) y Azcue & Mudroch (1994), con sus respectivas modificaciones.

1.Planteamiento del problema y justificación

El plomo es uno de los elementos más tóxicos para la salud humana. Los niños y adolescentes que se exponen a niveles altos de plomo pueden padecer problemas cognitivos, de aprendizaje, comportamiento y una tasa lenta de crecimiento. Por esto, en todo el mundo se controla de manera estricta el contenido de plomo en artículos que tengan gran contacto con niños y adolescentes como son los útiles escolares [Ozbek et al., 2015]. En Colombia a través de la ley 2041 del 2020 se garantiza el derecho de las personas a desarrollarse en un ambiente libre de plomo. Esta ley expide la prohibición del uso de todos los productos sólidos diseñados para su utilización por los niños que supere los 90 mg Pb/Kg [Ley 2041 de 2020]. Así mismo, la migración de este elemento está regulada por normas, en Colombia se rige por NTC 71-3: 2016 en la cual se establecen los requisitos a partir de las siguientes categorías:

- Categoría I: Materiales secos, quebradizos, similares al polvo o flexibles
- Categoría II: Materiales líquidos o pegajosos
- Categoría III: Materiales raspados

Para la primera categoría el límite de migración es 13,5 mg Pb/kg; para la segunda es 3,4 mg Pb/kg y para la tercera es 160 mg Pb/kg [NTC 71-3: 2016]. En consecuencia, desde el punto de vista de la salud humana es muy importante la determinación de las concentraciones de este elemento en distintas matrices, de manera que se hace imprescindible el desarrollo de un método para la determinación de plomo, que permita un análisis confiable y de fácil acceso a la comunidad.

Por lo expuesto anteriormente, el Laboratorio Químico de Consultas Industriales llevó a cabo la validación de la determinación de plomo total y migración en útiles escolares (crayolas, vinilos, foami y plastilina) por Espectrofotometría de Absorción Atómica-Horno de Grafito, dando cumplimiento a los parámetros descritos en la ley 2041 de 2020 y la resolución 686 del 2018, que obliga a los productores de esos artículos a trabajar con insumos en lo posible libres de este contaminante.

2.Objetivos

2.1 Objetivo general

Validar la metodología para la determinación de plomo total y su migración en útiles escolares como crayolas, vinilos, foami y plastilina, llevada a cabo en el laboratorio Químico de Consultas Industriales teniendo en cuenta las normativas legales vigentes.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar los parámetros estadísticos para el correcto desarrollo de la validación del método.
- ✓ Identificar y evaluar todas las posibles fuentes de incertidumbre asociadas a la validación del método para obtener su estimación global.
- ✓ Aplicar controles de calidad para el aseguramiento analítico del método y así brindar resultados confiables bajo los lineamientos de la NTC-ISO-IEC 17025 de 2017.

3.Marco teórico

3.1 Generalidades del plomo

Desde la antigüedad los metales han sido los tóxicos más conocidos y en la naturaleza se encuentran aislados o en forma de minerales. Entre dichos metales se destaca el plomo, con propiedades únicas como su alta maleabilidad, ductilidad, resistencia a la corrosión, bajo punto de fusión y suavidad. Las propiedades mencionadas han hecho que el plomo sea usado en distintas industrias, como la cerámica, los plásticos, automotriz etc. A su vez, esto ha ocasionado un aumento de plomo en el medio ambiente y los sistemas biológicos [Flora et al., 2012]. Este aumento es peligroso, puesto que el plomo no es necesario para el cuerpo humano en ninguna función fisiológica, por el contrario, interfiere en distintos procesos bioquímicos y es tóxico incluso a bajos niveles de exposición. Dicha toxicidad es representativa especialmente en los niños, porque ellos absorben y retienen mayores cantidades de plomo en sus cuerpos, lo que hace mayor el potencial de daño [Sanders et al., 2013]. Por lo mismo, es indispensable que los artículos que sean manipulados por niños como son los útiles escolares, sean regulados y cumplan con un nivel mínimo de plomo que no sea riesgoso para la salud.

3.2 Métodos para la determinación de plomo

Múltiples técnicas instrumentales pueden usarse para la determinación de metales. Escoger la técnica adecuada depende de ciertos aspectos como la sensibilidad requerida, características del analito, preparación de la muestra, costos etc. En la tabla 1 se evidencia la sensibilidad de ciertas técnicas respecto al plomo [Skoog et al., 2015].

Tabla 1*Límites de detección de Pb en $\mu\text{g/L}$*

Elemento ($\mu\text{g/mL}$)	AAS	GFAAS	AES	ICP-OES	ICP-MS
Pb	5	0,2	200	1	0,007

AAS: Espectroscopia de absorción atómica

GFAAS: Espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito

AES: Espectroscopía de emisión atómica

ICP-OES: Espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente

ICP-MS: Espectrometría masas por plasma acoplado inductivamente

Como se observa en la tabla 1, la espectrofotometría de absorción atómica es altamente sensible. Esta técnica es eficiente y precisa para el análisis de elementos trazas, además, es capaz de cuantificar aproximadamente 70 elementos con resultados confiables incluso en matrices complejas [Castellanos et al., 2018]. Tiene como principio la absorción de radiación de una longitud de onda específica. Esta radiación es absorbida por átomos de un elemento, los cuales poseen niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponde a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de luz absorbida es proporcional a la cantidad de átomos del elemento [Beaty et al., 1993].

Como se mencionó anteriormente, la espectrofotometría de absorción atómica es eficiente para la cuantificación de elementos metálicos en solución. Para llevar a cabo el análisis cuantitativo se hace uso de soluciones de concentración conocida y consecutivamente se realiza el estudio de una

muestra de concentración desconocida, donde es fundamental que este valor se encuentre dentro de los límites de la curva de calibración. Experimentalmente, para efectuar dicho análisis las partículas necesitan ser atomizadas. Cuando el compuesto es atomizado, la fuente de radiación produce ondas que atraviesan la sustancia y luego se reciben en el detector [Van Loon et al., 2012].

Esto puede resumirse en tres pasos,

1. Atomización
2. Radiación al elemento vaporizado
3. Detección de la absorción

La atomización se puede realizar mediante tres procesos diferentes: espectrofotometría de absorción atómica de llama, espectrofotometría de absorción atómica de generación de vapor químico y espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito [Ferreira et al., 2018]. Se describirá esta última puesto que será el método empleado para la determinación de plomo en útiles escolares.

3.2.1 Espectrofotometría de absorción atómica- horno de grafito

En esta técnica el tratamiento de la muestra hasta la atomización comprende las siguientes etapas: secado, calcinado y atomización. Para el secado, cuando la muestra es inyectada en el tubo de grafito, se calienta a una temperatura un poco inferior al punto de ebullición del solvente con el objetivo de la evaporación de este. El siguiente paso es el calcinado por incremento de la temperatura, buscando remover la mayor cantidad de materia orgánica de la muestra sin pérdida de analito. Durante la calcinación los materiales refractarios permanecen inalterados. Por último, la atomización. En esta etapa el horno se calienta rápidamente a altas temperaturas para que se evaporen los residuos del paso de calcinación. Este proceso lleva a la formación de átomos libres en el camino óptico. Mientras mejor sea la atomización la determinación estará más libre de

interferencias. De igual forma, los espectrofotómetros de absorción atómica cuentan con dispositivos de corrección de fondo e interferencias, la mayoría basados en el efecto Zeeman. [Tüzen et al., 2003].

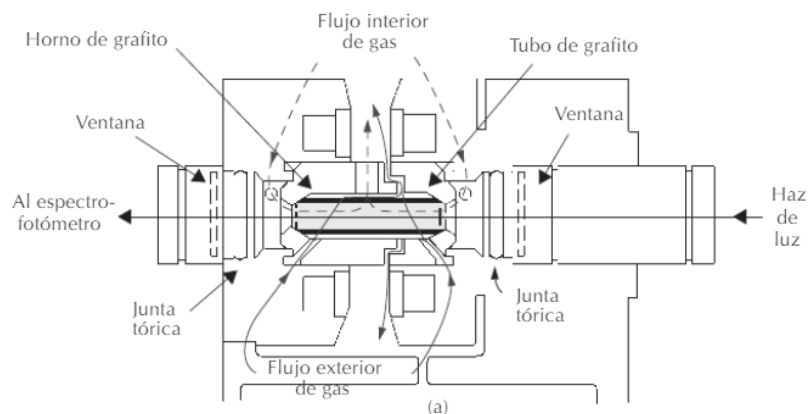
Tabla 2

Parámetros instrumentales para la determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito

Volumen de muestra inyectada	10 -100 microlitros
Temperatura de secado	85-120 °C
Temperatura de calcinación	700-800 °C
Temperatura de atomización	2100-2800 °C

Figura 1

Sección transversal del horno de grafito. [Skoog et al., 1998]



La figura 1 es una sección longitudinal de un atomizador horno de grafito. Este se alinea enfrente de la rendija de entrada al monocromador. La atomización sucede en el tubo de grafito que está abierto en los extremos y en la mitad tiene un orificio donde se introduce la muestra. El tubo de grafito está fijado por un par de contactos eléctricos que están ubicados en los extremos del tubo. Por otro lado, se tienen dos corrientes de gas inerte. La externa evita la entrada de aire exterior y la interna, además de impedir la entrada de aire sirve para arrastrar los vapores generados por la matriz durante los dos primeros estadios de calentamiento [Skoog et al., 1998].

3.3 Validación de métodos analíticos

En los laboratorios de análisis químico los resultados de los diferentes ensayos demandan un alto grado de confianza respecto a la veracidad y precisión, de manera que se satisfagan los requisitos para dicho análisis y, además, se tenga certeza de la fiabilidad del método.

Así, según la Organización Internacional de Normalización (ISO), el laboratorio debe demostrar sus capacidades analíticas para los métodos normalizados y no normalizados. De ahí, que cuando se realiza una validación el objetivo es demostrar que un método es adecuado para el propósito definido [Perelonia et al., 2021]. Dicha validación se lleva a cabo a través de la determinación de figuras de mérito y estimación de la incertidumbre, conceptos que se definen como indicadores cuantitativos del desempeño y alcance de las técnicas, y que se expondrán a continuación [Ribeiro et al., 2008]:

3.3.1 Linealidad

Capacidad de un método de análisis dentro de un rango dado, para obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra [European medicines agency, 1995].

3.3.2 Límite de detección

Es la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado. Es importante diferenciar entre el límite de detección del instrumento y el límite de detección del método. El primero puede basarse en el análisis de un blanco de reactivo que se somete directamente al equipo. El segundo se basa en el análisis de muestras que fueron sometidas al mismo proceso de medición que las muestras de ensayo. El más útil para la validación es el límite de detección del método [Morillas et al., 2016].

3.3.3 Límite de cuantificación

Es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión y veracidad. Indica el nivel más bajo para el rango de medición [UNODC, 2010].

3.3.4 Veracidad

Es una expresión de la proximidad de la media de un número infinito de resultados a un valor de referencia. Puesto que no es posible realizar un número infinito de mediciones, no se puede medir la veracidad. No obstante, se puede realizar una evaluación práctica de la veracidad. Por lo general, esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de 'sesgo' [Morillas et al., 2016].

3.3.5 Sesgo

El sesgo se define como la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado [ISO Guide 3435-1, 2006].

3.3.6 Porcentaje de recuperación

La recuperación hace referencia a la relación entre la cantidad medida de analito y la cantidad conocida o añadida a la muestra, expresada como porcentaje; es decir, la recuperación hace referencia a la estimación del error sistemático [Suarez et al., 2009].

3.3.7 Precisión

Refleja la medida en que los valores de ensayos analíticos repetidos que se llevan a cabo sobre una muestra son semejantes entre sí [Armenteros et al., 2010].

3.3.8 Repetibilidad

Refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo en un período corto [Castillo et al., 1996].

3.3.9 Precisión intermedia

Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medición, el mismo lugar y mediciones repetidas del mismo objeto u objetos similares durante un periodo amplio de tiempo, pero que puede incluir otras condiciones que involucren variaciones [VIM, 2012].

3.3.10 Robustez

Es una medida de la capacidad que tiene el método analítico de permanecer inalterado por pequeñas variaciones en el procedimiento. Con ello, se puede inferir que variables son más significativas a la hora de realizar las medidas y, por lo tanto, deben ser controladas [Rodríguez et al., 2012].

3.3.11 Incertidumbre

Por otro lado, para llevar a cabo la validación de un método es importante realizar el cálculo de la estimación de la *incertidumbre*, esta es un parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando (expresión cuantitativa de una magnitud particular). Como primer paso para la

estimación de la incertidumbre se identifican todas las posibles fuentes de errores presentes en el método, tales como: la definición incompleta del mesurando, el muestreo, efectos de matriz e interferencias, condiciones ambientales, incertidumbres de equipos máxicos o volumétricos, valores de referencia y variaciones aleatorias [Williams et al., 2016], teniendo en cuenta que para la estimación de la incertidumbre se distinguen dos métodos principales,

Evaluación Tipo A: método de evaluación de la incertidumbre mediante análisis estadístico de series de observaciones

$$u(x_i) = s / n^{1/2} \quad (1)$$

$u(x_i)$ es la incertidumbre estándar de la media, para n repeticiones.

Evaluación Tipo B: método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de series de observaciones

$$u(x_i) = U/k \quad (2)$$

Donde U es la incertidumbre expandida e.g. de un certificado, y k el factor de cobertura [Hechavarría et al., 2017].

Cabe resaltar, que para poder calcular la desviación típica correspondiente a la estimación de la incertidumbre tipo B se tiene que decidir cuál es la distribución de frecuencias que siguen los resultados si se pudiesen hacer medidas repetidas del mesurando [Arderiu et al., 2002].

3.3.11.1 Tipos de distribuciones. Distribución normal: Los resultados de una medición repetida afectada por una o más magnitudes que varían aleatoriamente, generalmente siguen una distribución normal. También la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal.

Distribución rectangular: Cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad. Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica sobre tolerancias de un instrumento. Generalmente, cuando solo hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada, lo más conservador es suponer una distribución rectangular.

Distribución triangular: Si además del conocimiento de los límites superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular [Schmid et al., 2000].

Cálculo según distribución normal

Se emplea la ecuación número 2.

Cálculo según distribución rectangular:

$$u(x_i) = (a/2) / 3^{1/2} \quad (3)$$

Con $a = a_+ - a_-$; los límites superior e inferior respectivamente.

Cálculo según distribución triangular:

$$u(x_i) = (a/2) / 6^{1/2} \quad (4)$$

Con $a = a_+ - a_-$; los límites superior e inferior respectivamente [JCGM 100, 2008].

De igual forma, el resultado de la combinación de las contribuciones de todas las fuentes es la incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$, la cual es una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada de la suma de cada componente de la incertidumbre al cuadrado [Williams et al., 2016].

$$U_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} \quad (5)$$

Y finalmente, la incertidumbre expandida, con un factor de cobertura del 95%, estará dada por la ecuación:

$$U = 2 U_c \quad (6)$$

3.4 Análisis estadístico

3.4.1 Análisis de varianza

Una prueba análisis de varianza es un tipo de prueba estadística que se usa para determinar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre dos o más grupos categóricos al probar las diferencias de medias usando la varianza [Connelly, 2021].

3.4.2 Prueba t-Student

En la prueba t, se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de la experiencia analítica, y este valor posteriormente se compara con el llamado valor crítico, este valor crítico se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad. Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, el t calculado debería ser inferior al t crítico [Duffau et al., 2010].

3.4.2 Prueba F (de Fisher)

Prueba en la que el estadístico utilizado sigue una distribución F si la hipótesis nula no puede ser rechazada. En estadística aplicada se prueban muchas hipótesis mediante el test F, entre ellas: La hipótesis nula H_0 , donde se dice que las medias de múltiples poblaciones normalmente distribuidas

y con la misma desviación estándar son iguales. Y la hipótesis de que las desviaciones estándar de dos poblaciones normalmente distribuidas son iguales [Duffau et al., 2010].

4. Metodología

4.1 Reactivos

Para la realización de este trabajo se usaron los siguientes reactivos:

- ✓ Agua tipo II.
- ✓ Ácido nítrico concentrado: Merck
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado: Merck
- ✓ Ácido orto-fosfórico 85%: Riedel – de Haën
- ✓ Hidróxido de sodio: Merck
- ✓ Peróxido de hidrógeno 30%: Merck
- ✓ Cloruro de sodio: Sigma & Aldrich
- ✓ L-Histidina monoclorhídrica monohidratada: Merck
- ✓ Dihidrógeno fosfato de sodio monohidratado: Merck

4.2 Material de referencia certificado

Como material de referencia certificado se utilizó una solución de plomo de 987 mg/Kg, marca Merck, el cual cuenta con una garantía de su pureza e incertidumbre.

4.3 Instrumentación de laboratorio

4.3.1 Materiales de laboratorio

Se emplearon los siguientes materiales de laboratorio: balones aforados de 50 mL, tubos falcon, probetas de 25 y 50 mL, micropipetas de 10-100 μ L y de 100-1000 μ L, marca Thermo Scientific, vasos de precipitado de 100 mL, crisoles, varillas de agitación, embudos, papel filtro Whatman No. 41.

4.3.2 Equipos

Tabla 3

Equipos usados para llevar a cabo la metodología

Nombre del equipo	Balanza analítica	Espectrofotómetro de absorción atómica-horno de grafito	pHmetro	Agitadora de incubación	Mufla
Marca	Mettler Toledo	Agilent Technologies	HACH	Benchmark Scientific	E & Q
Modelo	ML2014/01	AA240 FS-GTA 120	HQ40D Multi/2 Channels	Incu-Shaker	No identificado

Figura 2

Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito, Agilent Technologies







Imágenes tomadas por el autor.

4.4 Material en estudio

Las matrices crayolas, vinilos, foami y plastilina se adquirieron en diferentes papelerías cerca de la universidad (UIS) y del centro de Bucaramanga, para tener un mayor rango de estudio.

Tabla 4

Matrices usadas para la determinación de plomo

<p>Figura 3 <i>Crayolas</i></p> 	<p>Crayolas</p> <p>Descripción: barras hechas de cera, carboncillo, tiza u otros como materiales que se presenta en diferentes colores y que sirve para colorear.</p>
<p>Figura 4 <i>Vinilos</i></p> 	<p>Vinilos</p> <p>Descripción: pintura fabricada con pigmentos aglutinados con goma arábica, destaca por su flexibilidad y miscibilidad.</p>
<p>Figura 5 <i>Plastilina</i></p> 	<p>Plastilina</p> <p>Descripción: Pasta moldeable que emplean los niños para hacer figuras.</p>
<p>Figura 6 <i>Foami</i></p> 	<p>Foami</p> <p>Descripción: es un material hecho a partir de un tipo de plástico ligero y poroso. Posee una textura espumosa y flexible.</p>

Figuras tomadas de: <https://acortar.link/uq3X33>
<https://acortar.link/sDAm3H>
<https://acortar.link/OjJqKQ>

4.4.1 Reducción del tamaño de las matrices

Para garantizar un área superficial aceptable, se llevó a cabo la reducción de tamaño con elementos cortopunzantes como tijeras y bisturí.

4.5 Revisión de procedimientos

Para la metodología se realizó una revisión de normas y procedimientos validados, a continuación, se describirán.

4.5.1 EPA 3050-B

Se pesaron 0,5 g de cada una de las muestras y se transfirieron a vasos de precipitados de 100 mL, a los que se les adicionó 10 mL de HNO₃. Después de colocarlas en una placa de calentamiento, las muestras se calentaron a 95±5 °C durante 10 minutos. Cuando enfriaron, se agregaron 5 mL adicionales de HNO₃ y se evaporaron a 95±5 °C durante 30 minutos más. Luego, las muestras se volvieron a enfriar y se agregaron 2 g de agua tipo II y 3 g de H₂O₂ al 30 %. A continuación, las muestras se colocaron en la placa de calentamiento durante 2 horas más a 95±5 °C. Posteriormente, las muestras se enfriaron, cada una recibió 5 mL de HCl y 10 g de agua tipo II y luego se recalentaron a 95±5 °C hasta reducción de volumen (aproximadamente 3 mL). Finalmente, los digestatos fueron filtrados y se lavaron con 25 g de agua tipo II, colocándolos en recipientes de plástico.

4.5.2 Digestión vía seca

Se pesaron 0,5 g de cada una de las muestras, luego se transfirieron a crisoles. Los recipientes se ubicaron en la mufla y se calentaron gradualmente (50 °C cada 30 min) desde temperatura ambiente hasta 550 °C y se calcinaron durante 4 horas hasta obtener cenizas blancas. Luego se apagó la mufla y se esperó hasta llegar a temperatura ambiente para sacar los crisoles y

agregarles 5 mL de HNO₃ concentrado por las paredes. Para finalizar los digestatos se filtraron y se lavaron con 25 g de agua tipo II, colocándolos en recipientes de plástico.

4.6 Verificación de los reactivos

Todos los reactivos utilizados son de grado analítico, aun así, en esta etapa se determinó la posible contaminación de estos, tomando 2 mL de cada uno para posteriormente leer sus absorbancias en el equipo de absorción atómica-horno de grafito (Agilent Technologies).

4.7 Validación

Para la validación de la metodología se llevó a cabo un análisis de las variables instrumentales, las figuras de mérito y la estimación de la incertidumbre.

4.7.1 Optimización de variables instrumentales

4.7.1.1 Optimización de la temperatura de secado, calcinado y atomización. Se realizó la optimización de las temperaturas conforme a las recomendaciones establecidas por el fabricante, garantizando así un buen desempeño del equipo al momento de analizar las muestras.

4.7.1.2 Concentración del modificador. Se prepararon soluciones de 15 µg/Kg de Pb y se les adicionó la misma cantidad de modificador (ácido orto-fosfórico) a diferentes concentraciones: 500 µg/Kg; 1000 µg/Kg; 2000 µg/Kg, para posteriormente leer sus absorbancias en el equipo de absorción atómica-horno de grafito.

4.7.2 Comparación de métodos para la extracción de plomo total en útiles escolares

Se llevo a cabo el tratamiento de las muestras como se observa en la tabla 5.

Tabla 5*Comparación de los métodos empleados para la determinación de Pb*

Método	Muestra sin fortificar	Muestra fortificada	Metodología
EPA 3050B	0,5 g crayola amarilla	0,5 g crayola amarilla + 20 $\mu\text{g Pb/Kg}$.	Numeral 4.5.1
Digestión vía seca	0,5 g crayola amarilla	0,5 g crayola amarilla + 20 $\mu\text{g Pb/Kg}$.	Numeral 4.5.2

Como se observará más adelante, de acuerdo con los resultados se encontró que el método apto para llevar a cabo las digestiones de las muestras es el de digestión vía seca, de modo que todos los análisis se ejecutaran en base a esta metodología.

4.7.3 Determinación de plomo total en útiles escolares

Para cada una de las matrices y a su vez para cada color (amarillo, azul y rojo), se pesó por triplicado 0,5 g de muestra y se ejecutó el método de digestión vía seca, para finalmente leer sus absorbancias en el equipo de absorción atómica-horno de grafito.

4.7.4 Figuras de mérito- Plomo total en útiles escolares

4.7.4.1 Intervalo de trabajo – linealidad. A partir del MRC (987 mg Pb/Kg) se preparó una solución stock de 1 mg/Kg con la que se realizó la curva de calibración.

Solución stock: Se tomaron 0,1013 g del MRC y se llevó a un peso 100 g con agua tipo II.

Tabla 6*Soluciones de la curva de calibración*

Concentración ($\mu\text{g Pb/Kg}$)	Peso alícuota (g)	Peso final solución (g)
2,000	0,2000	100
4,000	0,4000	100
8,000	0,8000	100
12,000	1,2000	100
20,000	2,0000	100
24,000	2,4000	100
30,000	3,0000	100

A cada solución se adicionó la misma cantidad de ácido orto-fosfórico a una concentración de 2000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

4.7.4.2 Límite de detección y cuantificación. Se midieron 8 réplicas de blanco de reactivos en el equipo de absorción atómica- horno de grafito. Adicionalmente, para hallar el límite de cuantificación experimental se fortificaron blancos de reactivos a 1 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$ y 2 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$ y se leyeron sus absorbancias.

4.7.4.3 Sesgo. Se ejecutaron en un mismo día 6 mediciones de un material de referencia a una concentración de 15 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$.

4.7.4.4 % de Recuperación. Se fortificó un blanco de matriz en tres niveles de concentración: rango bajo (2 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$), rango medio (15 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$) y rango alto (27 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$). Esto, con el objetivo de ejecutar 7 mediciones para cada fortificado (una medición por día).

4.7.4.5 % de Recuperación de las matrices. Se pesaron por triplicado 0,5 g de cada una de las muestras y se fortificaron a 20 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$, de la misma forma, se pesaron por triplicado 0,5 g de cada una de las muestras sin fortificar. A continuación, se llevó a cabo el procedimiento digestión vía seca y finalmente se realizaron las lecturas de absorbancia en el equipo.

4.7.4.6 Repetibilidad. Se efectuaron 7 mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo) de un blanco de matriz fortificado a una concentración de 10 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$.

4.7.4.7 Precisión intermedia. Se realizaron mediciones durante 7 días no consecutivos de 7 réplicas (por día) de un blanco de matriz fortificado a una concentración de 10 $\mu\text{g Pb}/\text{Kg}$. El factor de precisión intermedia fue el tiempo. Todos los demás factores se mantuvieron constantes (mismo analista, mismo equipo).

4.7.4.8 Robustez. Se hicieron 8 análisis para determinar el efecto de las siguientes variables: temperatura, peso de la muestra, volumen de ácido nítrico y cantidad de agua tipo II. Para establecer los 8 análisis se generó una matriz con combinaciones de un valor alto y un valor bajo de cada variable. En la tabla 7 se observa la matriz de experimentos.

Tabla 7

Matriz de experimentos para determinar la robustez

Tipo	Condición variable			Prueba							
	Clave	Valor alto X	Valor bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A, a	600	550	600	600	600	600	550	550	550	550
Peso muestra, g	B, b	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,500	1,000	0,500	0,500	0,500
Volumen ácido nítrico, MI	C, c	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5
Cantidad de agua tipo II, g	D, d	27	25	30	30	25	25	25	25	30	30

4.7.4.9 Estimación de la incertidumbre. Para la estimación de la incertidumbre se identificaron las fuentes de incertidumbre globales y se procedió a cuantificar su efecto sobre el resultado final.

4.7.4.10 Carta de control para útiles escolares. Se empleó un material de referencia obtenido de unas pruebas inter-laboratorio a una concentración de 15 µg Pb /Kg y se monitoreó durante un intervalo de 10 días, es decir se realizó una medición por día.

4.8 Migración de plomo en útiles escolares (simulando jugo gástrico)

El plomo soluble se extrajo de los útiles escolares usando las condiciones que simulan el material cuando está en contacto con los jugos gástricos durante un lapso después de la ingesta.

4.8.1 Procedimiento

Se pesaron 0,5 g de cada una de las muestras (por triplicado) y se les adicionó 15 g de HCl 0,07 M. La solución se mantuvo a temperatura ambiente. Se emplearon recipientes de 60 mL. Luego se procedió a ajustar el pH. Para esto, se agitó suavemente la mezcla, se dejó reposar durante 5 minutos y se midió el pH. Si el valor del pH se encontraba dentro del intervalo 1.10 a 1.20 se continuaba con el proceso de migración, pero si el pH era superior a 1.20 se añadía gota a gota la disolución de 6 mol/L de HCl mientras se mezclaba hasta que el pH se encontrara dentro del intervalo mencionado. Posteriormente, se cerró el recipiente y se agitó la mezcla a (37 ± 2) °C durante 60 min a una velocidad de (150 ± 10) revoluciones $\cdot\text{min}^{-1}$. Se detuvo la agitación y se dejó reposar el recipiente durante 60 min adicionales a (37 ± 2) °C. Finalmente se filtraron las disoluciones y se tomó la misma cantidad para todas las réplicas (13 g).

4.9 Migración de plomo en útiles escolares (simulando piel grasa pH 4,9)

Se estudió el método UNI EN ISO 105-E04 Standard-textiles- Colour fastness test – Colour fastness to acid perspiration [ISO, 2008].

4.9.1 Preparación de la solución de sudor ácido artificial

Se pesaron 0,5 g de L-Histidina monoclorhídrica monohidratada, 5 g de cloruro de sodio, 2.2 g de dihidrógeno fosfato de sodio monohidratado. Se adicionó 500 g de agua y se procedió a ajustar el pH a 4.9 con una solución de hidróxido de sodio 0,1 M.

4.9.2 Extracción

Se pesó 0,5 g de cada una de las muestras (por triplicado), se transfirieron a tubos falcon con 10 g de solución de sudor ácido artificial y se agitó la mezcla a (37 ± 2) °C durante 60 min a una velocidad de (150 ± 10) revoluciones $\cdot\text{min}^{-1}$. Finalmente se filtraron las disoluciones y se tomó la misma cantidad para todas las réplicas (8 g).

4.10 Migración de plomo en útiles escolares (piel seca pH 5,5)

Se efectuó el mismo procedimiento que para la piel grasa, a excepción que el pH se ajustó a 5,5.

5.Resultados y discusión

5.1 Verificación de los reactivos

Se determinó la posible contaminación de los reactivos usados en la metodología, para esto se llevó a cabo una verificación. Los resultados obtenidos evidencian que el contenido del metal de interés se encuentra por debajo del límite de cuantificación del método.

Tabla 8

Análisis de los reactivos para las metodologías analíticas

Reactivo	Concentración de Pb ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
Agua destilada	< LCM
Sudor ácido artificial	<LCM
Ácido nítrico	<LCM
Ácido clorhídrico	<LCM
Ácido orto-fosfórico	<LCM

5.2 Validación

5.2.1 Optimización de variables instrumentales

5.2.1.1 Optimización de la temperatura secado, calcinado y atomización. Se siguieron las recomendaciones establecidas por el fabricante del equipo de absorción atómica AGILENT AA 240 FSL- GTA 120 para la determinación de plomo, en donde se consigna que se obtienen señales máximas a una temperatura de calcinado de 700°C y una temperatura de atomización de 2100°C. Por otra parte, la temperatura de secado se determina de acuerdo con el punto de ebullición

del solvente, por lo que, en este caso al ser una solución acuosa se programó una etapa de secado a 95°C.

5.2.1.1 Concentración del modificador. De acuerdo con las especificaciones del fabricante, se debe preparar una solución modificadora con la finalidad de estabilizar el analito, permitiendo aumentar la temperatura de atomización [De palacios et al., 1994]. Para el caso del plomo se emplea una solución de ácido orto-fosfórico, en donde experimentalmente se reportó una mejor señal a una concentración de 2000 µg/Kg (ver tabla 9). A concentraciones menores la relación plomo vs modificador no es eficiente, es decir, se tienen pérdidas por volatilidad.

Tabla 9

Optimización de la señal de acuerdo con la concentración del modificador

Concentración del modificador (µg/Kg)	Lectura Pb (µg/kg)
500	13,416
1000	14,543
2000	14,942

5.2.2 Comparación de métodos para la extracción de plomo total en útiles escolares

En la Tabla 10, se observa el porcentaje de recuperación para los dos métodos estudiados.

Tabla 10

Comparación de los métodos (EPA 3050B e digestión vía seca)

Crayola	
Método	Porcentaje de recuperación*
EPA 3050 B	73,47
Digestión vía seca	100,02

(*) Nota: ambos ensayos se realizaron por triplicado; en la tabla se presenta el valor promedio para cada ensayo.

De acuerdo con los resultados, el método de digestión vía seca es la mejor alternativa para la determinación de plomo en útiles escolares. Esto se debe a que dicho método usa altas temperaturas para la eliminación de materia orgánica y posteriormente ácido nítrico para la extracción, potencializando la digestión y a su vez el contenido del analito estudiado, por lo que como se observa en la tabla 10 su porcentaje de recuperación resulto más eficiente.

5.2.3 Determinación de plomo total en útiles escolares

Tabla 11

Resultados de mg Pb/Kg en crayolas

ID muestra	Resultado promedio (mg Pb/kg)	Desviación estándar	%CV
Crayola amarilla	1,3615	0,0355	2,6104
Crayola azul	1,2078	0,0075	0,6209
Crayola roja	1,3275	0,0532	4,0062

Tabla 12

Resultados de mg Pb/Kg en vinilos

ID muestra	Resultado promedio (mg Pb/kg)	Desviación estándar	%CV
Vinilo amarillo	2,1897	0,0039	0,1791
Vinilo azul	2,3956	0,0015	0,0646
Vinilo rojo	2,2406	0,0371	1,6573

Tabla 13

Resultados de mg Pb/Kg en foami

ID muestra	Resultado promedio (mg Pb/kg)	Desviación estándar	%CV
Foami amarillo	0,8698	0,0067	0,7664
Foami azul	0,6002	0,0114	1,9022
Foami rojo	0,5103	0,0102	1,9909

Tabla 14*Resultados de mg Pb/Kg en plastilina*

ID muestra	Resultado promedio (mg Pb/kg)	Desviación estándar	%CV
Plastilina amarilla	1,1481	0,0078	0,6804
Plastilina azul	0,7440	0,0264	3,5540
Plastilina roja	1,0699	0,0341	3,1907

Como se puede observar en las tablas 11 a 14, los útiles escolares contienen ciertas cantidades de plomo, esto se debe a los pigmentos que los constituyen, entre estos el amarillo París, el óxido café de plomo, el verde cromo, el naranja de molibdeno, el azul fierro, el rojo de plomo, el blanco de plomo, más el aglutinante aceitoso que contiene plomo para acelerar el secado.

5.2.4 Linealidad

Para establecer el rango lineal se revisaron las recomendaciones establecidas por el fabricante del equipo de absorción atómica (Agilent Technologies) para la determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito, donde se sugiere que la respuesta del equipo es lineal hasta 30 µg/kg. Por lo tanto, a partir de un estándar de 987 mg Pb/Kg se estableció la preparación de 8 soluciones a diferentes concentraciones que se leyeron por un periodo de 6 días. En la Tabla 15, se registran las absorbancias para cada solución durante este periodo.

Tabla 15

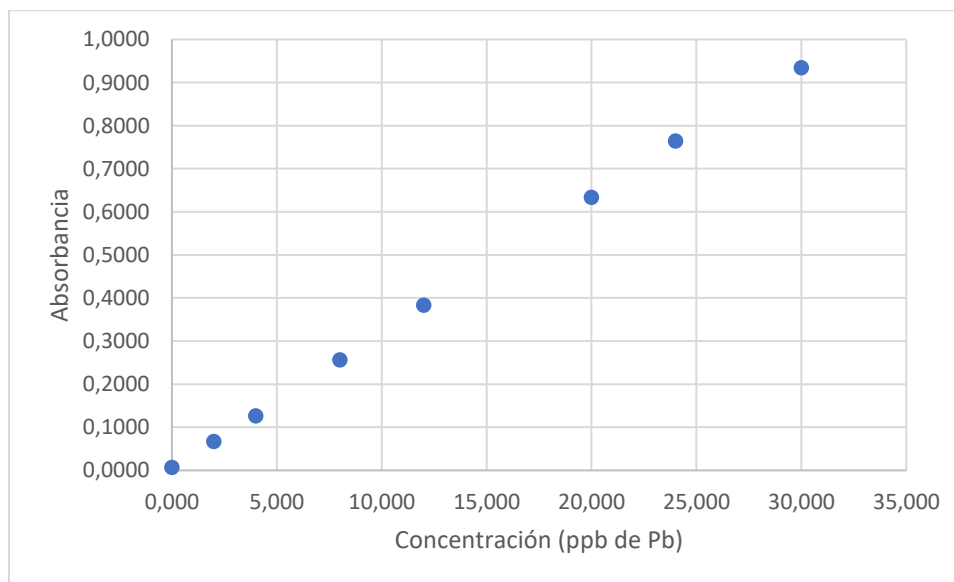
Datos para la construcción de la curva de calibración

#	DATOS		REPETETIBILIDAD						X	Ŷ
	X	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆			
1	0	0,0065	0,0065	0,0051	0,0077	0,0047	0,0097	0	0,0067	
2	2	0,0787	0,0666	0,0737	0,0476	0,0708	0,0654	2	0,0671	
3	4	0,1467	0,127	0,1343	0,0962	0,1322	0,1211	4	0,1263	
4	8	0,2938	0,2651	0,264	0,2112	0,2634	0,241	8	0,2564	
5	12	0,4354	0,4047	0,3902	0,3364	0,381	0,354	12	0,3836	
6	20	0,6706	0,6502	0,6122	0,6282	0,6387	0,6015	20	0,6336	
7	24	0,8021	0,7796	0,7598	0,7747	0,7536	0,7156	24	0,7642	
8	30	0,9622	0,9375	0,9271	0,9503	0,918	0,9109	30	0,9343	

Con los valores promedio se construyó la curva de calibración (véase Figura 7), la cual presenta un coeficiente de determinación de 0,9998 y una ecuación para la regresión lineal: $y = 0,0312x + 0,006$.

Figura 7

Curva de calibración de Pb



Para determinar la linealidad, se realiza una inspección de la curva de calibración global en la cual se lleva a cabo una evaluación estadística de la prueba t-Student. Se calcula un valor de t con n-2

grados de libertad y se compara con el valor tabulado de t para el nivel de confianza requerido ($\alpha = 0.05$) en 2 colas.

Así:

$n = N^\circ$ de niveles = 8

$r =$ coeficiente de correlación = 0,9999

$r^2 =$ coeficiente de determinación = 0,9998

Donde:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} * S_{yy}}} \quad (7)$$

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \quad (8)$$

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad (9)$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 \quad (10)$$

$S_{xy} =$ Covarianza

$S_{xx} =$ Desviación estándar de x

$S_{yy} =$ Desviación estándar de y

$x_i =$ Concentración del analito

$y_i =$ Concentración de la señal del analito

$\bar{y} =$ Promedio de la respuesta del equipo

$\bar{x} =$ Promedio de la concentración del analito

Ahora:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad (11)$$

$t_{\text{calculado}}$ = Valor del estimador t Student obtenido para el coeficiente de correlación

Tabla 16

Datos prueba t de student para linealidad

H₀:	No existe correlación entre X e Y
H₁:	Existe correlación entre X e Y
t_{crit} =	2,450
t_{cal} =	162,152

Se observa que el t calculado es mayor que el t crítico, por lo cual se rechaza la hipótesis nula H₀, siendo la correlación lineal significativa a la probabilidad establecida (95%).

5.2.5 Límite de detección y cuantificación

Resultados de la medición de 8 réplicas de un blanco de reactivos.

Tabla 17

Datos de la medición de 8 réplicas de un blanco de reactivos

Blancos	Absorbancia	Concentración
1	0,0205	0,0110
2	0,0182	0,0100
3	0,0409	0,0240
4	0,0234	0,0180
5	0,0341	0,0350
6	0,0236	0,0170
7	0,0193	0,0105
8	0,0225	0,0163

$$\text{Límite de detección} = (K * S'_o) = 0,0357 \quad (12)$$

k= Nivel de confianza (3: 99,86%)

$$\text{Límite de cuantificación} = k_Q * S'_o = 0,1192 \quad (13)$$

$$k_Q = \text{Según IUPAC } k_Q = 10$$

Donde:

$$S'_o = s_o \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} \quad (14)$$

s_o = Desviación estándar de cada resultado

n = Número de réplicas de muestra

n_b = Número de réplicas del blanco

S'_o = Desviación estándar de los blancos

Tabla 18

Límite de detección, cuantificación y desviación estándar

LDM	0,0357	S	S'o
LCM	0,1192	0,008430684	0,011922787

LDM: Límite de detección

LCM: Límite de cuantificación

Para verificar el límite de cuantificación experimental, se fortificaron muestras a 1 $\mu\text{g Pb/Kg}$ y 2 $\mu\text{g Pb/Kg}$ y se calcularon sus coeficientes de variación.

Tabla 19

Datos de fortificados a 1 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)

Fortificación 1 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)		
Blanco fortificado	Absorbancia	Concentración
BF-1	0,0084	1,291
BF-2	0,009	1,784
BF-3	0,0059	0,696
BF-4	0,0051	0,601

BF-5	0,01	1,948
BF-6	0,0079	1,307
BF-7	0,0070	1,019
BF-8	0,0076	1,211
Promedio		1,232
Desv. Estándar		0,47173
%CV		38,29

El Coeficiente de Variación, CV, refleja la variación interna de los tratamientos. Un coeficiente de variación mayor al 10% manifiesta que los datos obtenidos no son confiables. Por lo mismo, como se observa en la tabla 19 las mediciones de fortificados a 1 $\mu\text{g Pb/Kg}$ son muy variables, lo que significa que no dan el nivel de confianza estadísticamente requerido.

Tabla 20

Datos de fortificados a 2 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)

Fortificación 2 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)		
Blanco fortificado	Absorbancia	Concentración
BF-1	0,0645	2,022
BF-2	0,0611	2,098
BF-3	0,0588	2,014
BF-4	0,0638	2,058
BF-5	0,0640	2,021
BF-6	0,0627	2,058
BF-7	0,0686	2,061
BF-8	0,0609	2,093
Promedio		2,053
Desv. Estándar		0,03217
%CV		1,57

Asimismo, con fortificados de 2 $\mu\text{g Pb/Kg}$ se obtiene un coeficiente de variación de 1,57%, lo que indica que estos valores son confiables, por lo tanto, se toma 2 $\mu\text{g Pb/Kg}$ como el límite de cuantificación experimental.

5.2.6 Veracidad (sesgo y % de recuperación)

Se determinó en un mismo día 6 mediciones de un material de referencia obtenido de unas pruebas inter-laboratorio a una concentración de 15 µg Pb/Kg.

Tabla 21

Datos de las mediciones para calcular el sesgo

SESGO					
Lectura	Resultado (µg/kg)	$x - x_a$	S	t calculado	t tabla (95%)
1	15,2910	0,2910			
2	15,0190	0,0190			
3	15,2110	0,2110			
4	15,0580	0,0580	0,1062	0,52	2,57
5	15,0610	0,0610			
6	15,1720	0,1720			

Tabla 22

Datos prueba t de student para el sesgo

X_a =	15,000
Promedio =	15,135
n =	6

H0:	La media es igual al valor de referencia
H1:	La media es diferente al valor de referencia

Donde:

s= sesgo

X = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas.

X_a = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

Y para hallar el t calculado:

$$t_{cal} = \frac{|X_a - X|}{S * \sqrt{n}} \quad (15)$$

Como se observa en la tabla 22, el t calculado < t crítico, por lo que se acepta la hipótesis nula y no hay sesgo significativo.

Por otra parte, el porcentaje de recuperación se determinó mediante un blanco de matriz fortificado en tres niveles de concentración: rango bajo (límite de cuantificación), rango medio (carta control, 50%) y rango alto (90%). Los valores promedio presentados en la tabla 23 corresponden a las lecturas realizadas durante 7 días.

$$\%R = \frac{(C_e - C_o)}{C_a} \times 100\% \quad (16)$$

C_e = es la concentración de analito de la muestra enriquecida.

C_o = es la concentración de analito medida en la muestra sin adicionar.

C_a = es la concentración de analito adicionado a la muestra enriquecida.

Para calcular t:

$$t_{cal} = \frac{|\%R-100|}{s * \sqrt{n}} \quad (17)$$

Tabla 23

Datos para hallar el %Recuperación en tres niveles de concentración

Valor esperado (µg Pb/kg)	Valor promedio obtenido (µg Pb/kg)	Desviación estándar	% Recuperación	t calculado	t crítico
2,000 (RB)	1,997	1,845	99,680	0,065	2,570
15,000 (RM)	15,353	1,903	102,230	-0,442	2,570
27,000 (RA)	27,058	0,677	100,150	-0,086	2,570

Los porcentajes de recuperación (%R) hallados se encuentran en el rango de 90%-110%, este rango fue establecido como criterio de aceptación por el laboratorio químico de consultas industriales.

Asimismo, como t calculado $<$ t crítico para $n-1$ grados de libertad, no hay diferencias significativas y los resultados son veraces.

Adicionalmente, se hizo un análisis de varianza con los porcentajes de recuperación de las muestras usadas para la validación.

Tabla 24

Datos para hallar el %Recuperación en las crayolas

CRAYOLA								
FORTIFICACION= $\mu\text{g Pb/kg}$		20						
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	Promedio	S	t cal	t tabla
1	48,2300	28,4875	20,000	98,713				
2	48,8690	28,4875	20,000	101,908				
3	47,0130	28,4875	20,000	92,628				
4	45,3460	25,6905	20,000	98,278	100,022	3,756	-0,0169	2,36
5	46,7420	25,6905	20,000	105,258				
6	45,9060	25,6905	20,000	101,078				
7	42,3770	22,4495	20,000	99,638				
8	42,9860	22,4495	20,000	102,683				

Tabla 25

Datos para hallar el %Recuperación en los vinilos

VINILO								
FORTIFICACION= $\mu\text{g Pb/kg}$		20						
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	Promedio	S	t cal	t tabla
1	59,0130	38,5150	20,000	102,490				
2	59,9980	38,5150	20,000	107,415				
3	60,8726	40,2060	20,000	103,333				
4	60,1740	40,2060	20,000	99,840	103,629	4,344	-2,3140	2,36
5	69,1380	48,0090	20,000	105,645				
6	69,2900	48,0090	20,000	106,405				
7	69,6240	48,0090	20,000	108,075				
8	46,5590	27,5130	20,000	95,230				

Tabla 26*Datos para hallar el %Recuperación en el foami*

FOAMI									
FORTIFICACION = $\mu\text{g Pb/kg}$		20							
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	Promedio	S	t cal	t tabla	
1	37,7630	16,7855	20,000	104,888					
2	36,7040	16,7855	20,000	99,593					
3	37,8370	16,7855	20,000	105,258					
4	33,3080	13,8700	20,000	97,190					
5	34,5130	13,8700	20,000	103,215	101,01	3,225	-0,8853	2,36	
6	32,0410	12,4825	20,000	97,793					
7	32,8470	12,4825	20,000	101,823					
8	32,1460	12,4825	20,000	98,318					

Tabla 27*Datos para hallar el %Recuperación en la plastilina*

PLASTILINA									
FORTIFICACION= $\mu\text{g Pb/kg}$		20							
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	Promedio	S	t cal	t tabla	
1	42,1730	23,1865	20,000	94,933					
2	42,2670	23,1865	20,000	95,403					
3	34,2190	14,7370	20,000	97,410					
4	34,2930	15,2100	20,000	95,415					
5	42,4780	21,5325	20,000	104,728	98,939	3,665	0,8186	2,36	
6	41,5900	21,5325	20,000	100,288					
7	33,6990	13,2700	20,000	102,145					
8	33,5090	13,2700	20,000	101,195					

Los porcentajes de recuperación (%R) hallados se encuentran en el rango de 90%-110%, cumpliendo con el criterio establecido.

Entonces,

H_0 : Las varianzas son estadísticamente iguales

H_1 : Al menos una medida es diferente

Tabla 28

Análisis de varianza de los porcentajes de recuperación de cada una de las matrices (crayola, vinilo, foami y plastilina)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Crayola	8	800,18	100,023	14,10606429		
Vinilo	8	829,038	103,63	18,8169905		
Foami	8	808,075	101,009	10,40028705		
Plastilina	8	791,515	98,9394	13,42977813		
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	96,62043	3	32,2068116	2,26996	0,10223962	2,946685
Dentro de los grupos	397,2718	28	14,18828			
Total	493,8923	31				

En la tabla 28 se muestran los cálculos del ANOVA en donde se puede observar que el F calculado < F crítico, por lo que se acepta la hipótesis nula: las varianzas son estadísticamente iguales, esto a su vez corrobora que el método empleado funciona para las cuatro matrices.

5.2.7 Precisión (repetibilidad, precisión intermedia)

La precisión podrá establecerse en términos de repetibilidad y precisión intermedia. La repetibilidad se determinó registrando 7 mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo equipo, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo) de un blanco de matriz fortificado a una concentración de 10 µg Pb/Kg. Adicionalmente, se evaluó la repetibilidad para cada matriz (crayola, vinilo, foami, plastilina).

Tabla 29*Datos para la repetibilidad*

Fortificación 10 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)		
Blanco fortificado	Absorbancia	Concentración
BF-1	0,1798	10,325
BF-2	0,1864	10,704
BF-3	0,1888	10,837
BF-4	0,1818	10,436
BF-5	0,1803	10,353
BF-6	0,1829	10,501
BF-7	0,1782	10,229
	Promedio	10,484
	Desv. Estándar	0,21720
	%CV	2,07

Como se puede observar, se cumple el criterio de aceptabilidad establecido por el laboratorio químico de consultas industriales, ya que tanto para el blanco de matriz fortificado a $10 \mu\text{g Pb/Kg}$ como para las distintas matrices (ver tablas tal 11-14), el porcentaje de coeficiente de variación es menor al 10%.

Por otra parte, para determinar la precisión intermedia se realizaron mediciones durante 7 días no consecutivos. El factor de precisión intermedia fue el tiempo y los niveles del factor 7. En cada uno de los niveles del factor se analizaron 7 réplicas de un blanco de matriz fortificado a una concentración de $10 \mu\text{g Pb/Kg}$.

Tabla 30*Datos para la precisión intermedia*

Fortificación	10 ($\mu\text{g Pb/Kg}$)					
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
10,325	10,897	10,678	10,184	10,308	10,920	10,367
10,704	10,234	10,742	10,230	10,431	10,127	10,478
10,837	10,145	10,024	10,346	10,353	10,119	10,361
10,436	10,364	10,538	10,584	10,379	10,145	10,623
10,353	10,875	10,651	10,239	10,229	10,085	10,584
10,501	10,237	10,682	10,402	10,171	10,118	10,492
10,229	10,456	10,560	10,059	10,210	10,102	10,358

Para analizar los datos experimentales se llevó a cabo un análisis de varianza de un factor.

H_0 : Las varianzas son estadísticamente iguales

H_1 : Al menos una medida es diferente

Tabla 31*Análisis de varianza de los datos de la precisión intermedia*

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	7	73,385	10,483571	0,047177952
Día 2	7	73,208	10,458286	0,095405905
Día 3	7	73,875	10,553571	0,059617286
Día 4	7	72,044	10,292	0,028814333
Día 5	7	72,081	10,297286	0,009334238
Día 6	7	71,616	10,230857	0,092700476
Día 7	7	73,263	10,466143	0,011980476

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,6238136	6	0,10396894	2,1093272	0,072289582	2,3239938
Dentro de los grupos	2,070184	42	0,0492901			
Total	2,6939976	48				

Como $F_{cal} < F_{crítico}$, se acepta la hipótesis nula, es decir las varianzas son estadísticamente iguales, lo que significa que los ensayos realizados cuentan con una precisión intermedia estadísticamente requerida.

5.2.8 Robustez

Para esta determinación se aplica el Test de Youden y Steiner. Este procedimiento permite evaluar el efecto las variables implicadas con mínimo ocho análisis de una muestra.

Tabla 32

Prueba de Robustez de Youden y Steiner para las crayolas

				Robustez Crayola							
Condición variable				Prueba							
Tipo	Clave	Valor alto X	Valor bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A, a	600	550	600	600	600	600	550	550	550	550
Peso muestra, g	B, b	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,500	1,000	0,500	0,500	0,500
Volumen ácido nítrico, mL	C, c	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5
Cantidad de agua tipo II, g	D, d	27	25	30	30	25	25	25	25	30	30
RESULTADOS (µg Pb/kg)				41,542	41,902	51,382	25,530	51,295	25,383	20,636	20,698

Tabla 33

Robustez para las crayolas

Condición variable		Resultados		Diferencia	Comparación $\Delta < \sqrt{2} * S$, S= Desviación estándar	
Valor alto X	Valor bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta (X-x) $		
A	a	40,0890	29,5030	10,58600	18,647395	No es sensible a la variable
B	b	46,5303	23,0618	23,46850	18,647395	Es sensible a la variable
C	c	41,2138	28,3783	12,83550	18,647395	No es sensible a la variable

D	d	31,1945	38,3975	7,20300	18,647395	No es sensible a la variable
---	---	---------	---------	---------	-----------	------------------------------

Tabla 34*Prueba de Robustez de Younden y Steiner para los vinilos*

Robustez Vinilo											
Condición variable				Prueba							
Tipo	Clave	Valor alto X	Valor bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A, a	600	550	600	600	600	600	550	550	550	550
Peso muestra, g	B, b	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,500	1,000	0,500	0,500	0,500
Volumen ácido nítrico, mL	C, c	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5
Cantidad de agua tipo II, g	D, d	27	25	30	30	25	25	25	25	30	30
RESULTADOS (µg Pb/kg)				74,476	75,005	83,979	42,244	84,761	42,523	37,764	37,685

Tabla 35*Robustez para los vinilos*

Condición variable		Resultados		Diferencia	Comparación $\Delta < \sqrt{2} * S$, S= Desviación estándar	
Valor alto X	Valor bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta (X-x) $		
A	a	68,9259	50,6833	18,24265	30,405041	No es sensible a la variable
B	b	79,5553	40,0539	39,50135	30,405041	Es sensible a la variable
C	c	70,2450	49,3642	20,88085	30,405041	No es sensible a la variable
D	d	56,2325	63,3767	7,14415	30,405041	No es sensible a la variable

Tabla 36*Prueba de Robustez de Younden y Steiner para foami*

Condición variable				Prueba							
Tipo	Clave	Valor alto X	Valor bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A, a	600	550	600	600	600	600	550	550	550	550
Peso muestra, g	B, b	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,500	1,000	0,500	0,500	0,500
Volumen ácido nítrico, MI	C, c	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5
Cantidad de agua tipo II, g	D, d	27	25	30	30	25	25	25	25	30	30
RESULTADOS (µg Pb/kg)				20,640	19,870	28,100	14,329	27,887	14,742	9,086	9,764

Tabla 37

Robustez para el foami

Condición variable		Resultados		Diferencia	Comparación $\Delta < \sqrt{2} * S$, S = Desviación estándar	
Valor alto X	Valor bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta (X-x) $		
A	a	20,7348	15,3698	5,36508	10,441498	No es sensible a la variable
B	b	24,1243	11,9803	12,14393	10,441498	Es sensible a la variable
C	c	21,4283	14,6763	6,75193	10,441498	No es sensible a la variable
D	d	14,8400	21,2646	6,42458	10,441498	No es sensible a la variable

Tabla 38*Prueba de Robustez de Younden y Steiner para la plastilina*

Robustez Plastilina											
Condición variable				Prueba							
Tipo	Clave	Valor alto X	Valor bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A, a	600	550	600	600	600	600	550	550	550	550
Peso muestra, g	B, b	1,000	0,500	1,000	1,000	1,000	0,500	1,000	0,500	0,500	0,500
Volumen ácido nítrico, mL	C, c	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5
Cantidad de agua tipo II, g	D, d	27	25	30	30	25	25	25	25	30	30
RESULTADOS (µg Pb/kg)				30,419	31,059	40,579	20,397	41,379	20,229	16,336	15,837

Tabla 39*Robustez para la plastilina*

Condición variable		Resultados		Diferencia	Comparación $\Delta < \sqrt{2} * S$, S = Desviación estándar
Valor alto X	Valor bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta (X-x) $	
A	a	30,6135	23,4453	7,16825	14,610002 No es sensible a la variable
B	b	35,8590	18,1998	17,65925	14,610002 Es sensible a la variable
C	c	32,1783	21,8805	10,29775	14,610002 No es sensible a la variable
D	d	23,4128	30,6460	7,23325	14,610002 No es sensible a la variable

Como se evidencia en las tablas 33, 35, 37 y 39, para las cuatro matrices el método tiende a ser robusto en la mayoría de sus variables excepto en la variable peso de la muestra, donde sus resultados de concentración final cuando el peso de muestra es el del límite superior establecido

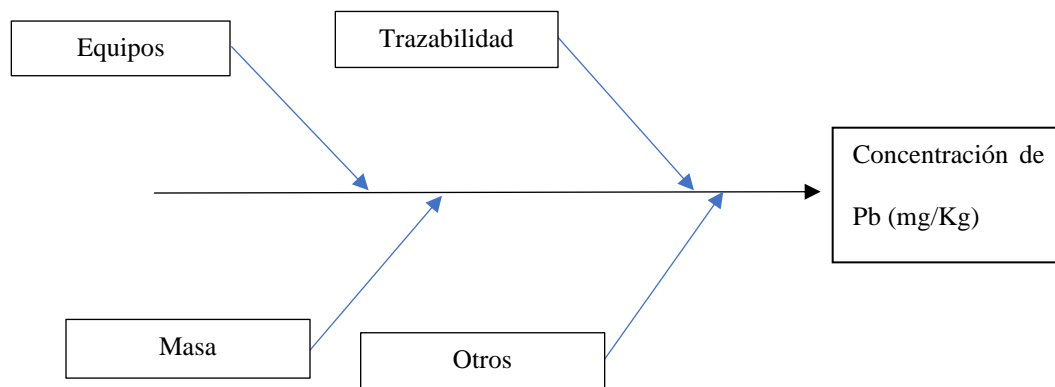
(aproximadamente 1 g) difieren entre sí, y para su confirmación se realizaron pruebas de fortificación que ratificaron dicha variabilidad al obtener porcentajes de recuperación fuera del rango establecido en el laboratorio; esta misma verificación se llevó a cabo con el límite inferior que no presentaba diferencias significativas en la concentración final y por ende, en los fortificados de la misma.

5.2.9 Estimación de la incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre total asociada al método, primero se identificaron todas las fuentes individuales de incertidumbre. Los factores se encuentran evidenciados en un diagrama de causa-efecto, el cual se puede observar en la figura 8. Con base en a esto, se procedió a hacer los respectivos cálculos para hallar la incertidumbre total del método.

Figura 8

Diagrama de causa-efecto para la determinación de la concentración de plomo



Cabe resaltar, que es posible agrupar términos y calcular la incertidumbre de forma global. En el diagrama de causa y efecto se observa que las fuentes de incertidumbre identificadas en la determinación de plomo pueden agruparse en cuatro componentes: 1) incertidumbre debida a los equipos; 2) incertidumbre debida a la verificación de la trazabilidad; 3) incertidumbre debida a la masa; e 4) incertidumbre debida a otros efectos.

$$U_c = \sqrt{u_{Equi}^2 + u_{Traz}^2 + u_{Masa}^2 + u_{Otros}^2} \quad (18)$$

La U equipos está relacionada con los certificados de calibración y calificación, la U trazabilidad considera la incertidumbre asociada a asegurar que el método proporciona resultados trazables (incertidumbre del material de referencia y los mismos términos de incertidumbre asociados a la precisión del método), la U masa está determinada por la medición de la masa de la muestra que comprende la incertidumbre de la balanza, la incertidumbre aportada por la resolución y la incertidumbre de los patrones de la curva de calibración, y la U otros incorpora la incertidumbre asociada a la variabilidad de las matrices.

5.2.9.1 u equipos

Tabla 40

Incertidumbre asociada a los equipos

Fuente	Tipo de evaluación	Cálculo	Valor	u equipos	u equipos ²
Mufla	Tipo B	$\frac{U}{K}$	0,00110733	0,00111	0,0000012
Espectrofotómetro de absorción atómica	Tipo B	No aplica	0		

5.2.9.2 u trazabilidad**Tabla 41***Incertidumbre asociada a la trazabilidad*

Fuente	Tipo de evaluación	Cálculo	Valor	u trazabilidad	u trazabilidad ²
Patrón	Tipo B	$\frac{Up}{K}$	0,001013171		
Sesgo experimental	Tipo B	$\frac{Sesgo}{\sqrt{3}}$	7,81155E-05	0,01083	0,0001174
Repetibilidad	Tipo A	$\frac{Desv. Est.}{\sqrt{n}}$	0,010786137		

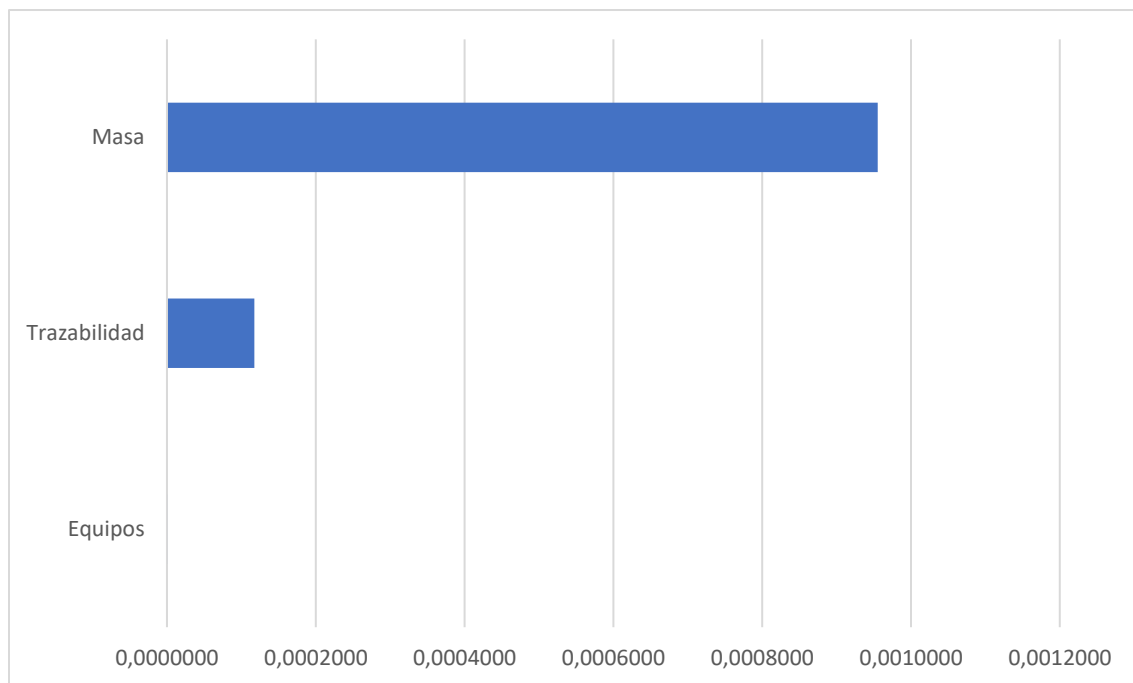
5.2.9.3 u masa**Tabla 42***Incertidumbre asociada a la masa*

Fuente	Tipo de evaluación	Cálculo	Valor	u masa	u masa ²
Balanza	Tipo B	U	1,20E-04		
Resolución	Tipo B	$\frac{R}{\sqrt{12}}$	2,89E-05	0,03091	0,000955234
Curva	Tipo A	Sxo*	0,0074		
Niveles de concentración	Tipo A	u niveles	0,03000		

Tabla 43*Incertidumbre final en términos absolutos*

Término	Incertidumbre
Equipos	0,0000012
Trazabilidad	0,0001174
Masa	0,0009552
U combinada	0,0327693
U expandida	0,0655387

U= 0,065 mg/Kg, con K=2

Figura 9*Contribución de cada una de las componentes de la incertidumbre*

De acuerdo con lo evidenciado en la figura 9, la componente que más contribuye a la incertidumbre del método es la de la masa, esto se debe a que implica la preparación de cada

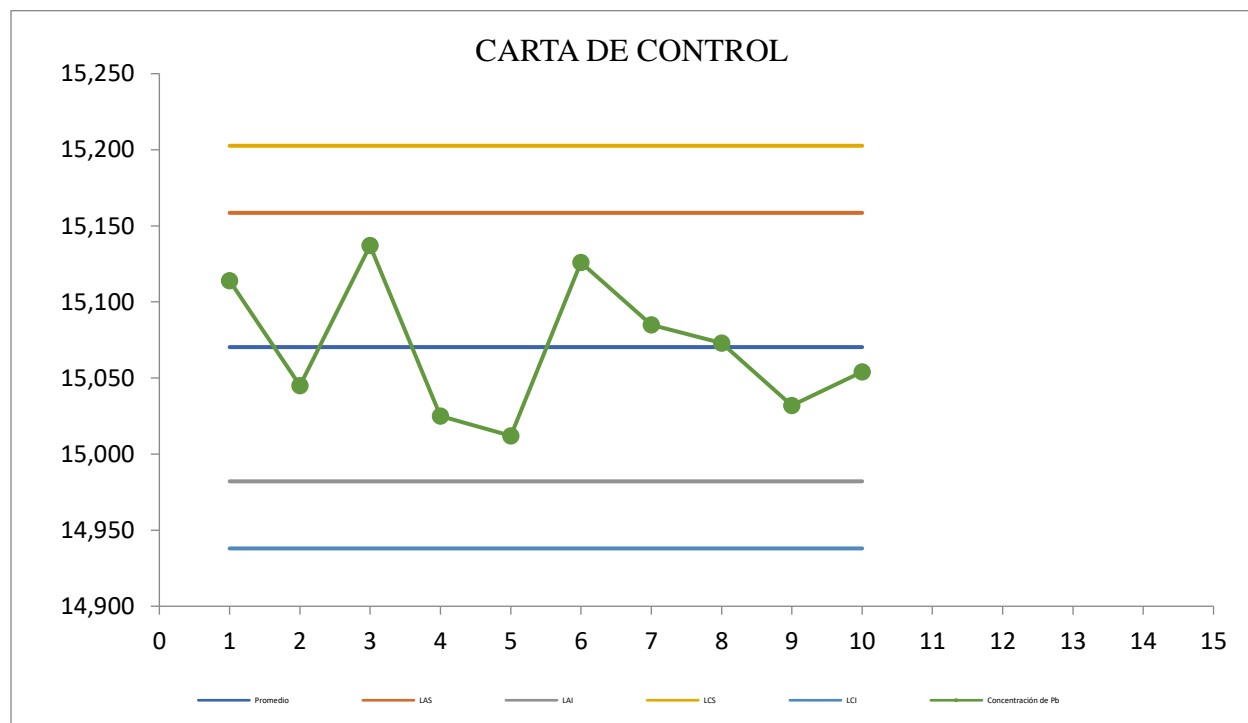
solución de la curva de calibración y la respuesta del equipo. Por otra parte, la trazabilidad también contribuye de gran forma a la incertidumbre dado que, involucra el sesgo experimental, la repetibilidad y la incertidumbre asociada al patrón.

5.2.10 Carta de control

Se realizaron 10 lecturas con las cuales se construyó la carta de control para útiles escolares. Se utilizó un material de referencia obtenido de unas pruebas inter-laboratorio a una concentración de 15 $\mu\text{g Pb/Kg}$. En la figura 10, se observa que las medidas no presentan ninguna tendencia indicando que la metodología no está sujeta a errores sistemáticos, asimismo como no se superan los límites de advertencia se demuestra que los errores aleatorios se encuentran bajo control.

Figura 10

Carta de control para útiles escolares



5.3 Migración de Pb en útiles escolares como crayolas, vinilo, foami y plastilina

5.3.1 Migración a pH 1,2 (simulación-jugo gástrico)

Tabla 44

Migración de plomo en crayolas a pH 1.2

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Crayola amarilla	4,2110	0,0820	2,2011
Crayola azul	4,2080	0,0833	1,3265
Crayola roja	4,9820	0,0980	0,9027

Tabla 45

Migración de plomo en vinilos a pH 1,2

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Vinilo amarillo	5,7770	0,1138	0,6178
Vinilo azul	6,0870	0,1207	0,4061
Vinilo rojo	8,0020	0,1586	1,6786

Tabla 46

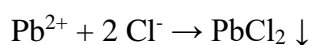
Migración de plomo en foami a pH 1,2

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Foami amarillo	0,2950	0,0034	12,2990
Foami azul	0,2510	0,0024	22,1597
Foami rojo	0,4100	0,0056	9,0852

Tabla 47*Migración de plomo en plastilina a pH 1,2*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Plastilina amarilla	3,3670	0,0635	1,6758
Plastilina azul	3,1320	0,0596	0,9866
Plastilina roja	3,4860	0,0654	1,0416

Según lo reportado en la literatura, la mayoría de los útiles escolares están constituidas por pigmentos a base de acetato de plomo, carbonato de plomo, sulfato de plomo entre otros, donde el plomo se encuentra en su estado Pb^{2+} . Los cuales al interactuar con la simulación del jugo gástrico generan la formación de $PbCl_2$, de acuerdo con la siguiente reacción:



Esta sal insoluble forma una capa protectora de color blanco que rodea el metal, haciendo que las concentraciones de migración de este estén muy por debajo del límite permisible (3,4 mg/kg) [CONDE et al., 2001].

5.3.2 Migración a pH 4,9 (simulación sudor-piel grasa)

Tabla 48*Migración de plomo en crayolas a pH 4,9*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Crayola amarilla	1,3740	0,0246	11,5013
Crayola azul	1,6900	0,0313	9,9716
Crayola roja	1,8320	0,0326	13,5582

Tabla 49*Migración de plomo en vinilos a pH 4,9*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Vinilo amarillo	1,1300	0,0203	16,9048
Vinilo azul	1,0770	0,0231	9,6295
Vinilo rojo	1,1500	0,0216	10,7923

Tabla 50*Migración de plomo en foami a pH 4,9*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Foami amarillo	0,0360	0,0009	32,2676
Foami azul	0,0570	0,0014	31,8265
Foami rojo	0,0320	0,0010	56,2977

Tabla 51*Migración de plomo en plastilina a pH 4,9*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Plastilina amarilla	0,5780	0,0130	49,6186
Plastilina azul	0,2760	0,0041	13,6115
Plastilina roja	0,3340	0,0087	32,5444

5.3.3 Migración a pH 5,5 (simulación sudor-piel seca)**Tabla 52***Migración de plomo en crayolas a pH 5,5*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Crayola amarilla	1,2834	0,0239	9,5952
Crayola azul	1,4150	0,0281	31,8154
Crayola roja	1,6270	0,0300	14,5115

Tabla 53*Migración de plomo en vinilos a pH 5,5*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Vinilo amarillo	0,1990	0,0032	36,8127
Vinilo azul	0,3270	0,0082	27,7191
Vinilo rojo	0,8120	0,0137	30,4071

Tabla 54*Migración de plomo en foami a pH 5,5*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Foami amarillo	0,0990	0,0015	49,3938
Foami azul	0,0370	0,0011	41,8528
Foami rojo	0,0540	0,0012	18,1217

Tabla 55*Migración de plomo en plastilina a pH 5,5*

ID muestra	Lectura equipo (µg/Kg)	Resultado (mg Pb/kg)	%CV
Plastilina amarilla	0,1350	0,0041	49,6186
Plastilina azul	0,7100	0,0130	13,6115
Plastilina roja	0,3340	0,0087	32,5444

Por otra parte, a un pH de 4,9 y 5,5 no se pudo cuantificar la migración del plomo, ya que, como se puede observar en las tablas de la 47 a la 54, la lectura en el equipo de absorción atómica-horno de grafito para todas las matrices fue inferior al límite de cuantificación y los porcentajes de coeficiente de variación fueron muy altos para ser aceptables. Esto se puede atribuir al efecto causado por el sudor ácido artificial, debido a que este contiene sales, las cuales causan interferencias químicas, así como producen una señal importante de background [NHAM, 2010].

6. Conclusiones

Se determinó que el método más adecuado para llevar a cabo la extracción de plomo en las matrices correspondientes fue el de digestión vía seca, al involucrar altas temperaturas para la eliminación de materia orgánica y ácido nítrico para completar la digestión.

Se comprobó que todas las matrices escogidas y estudiadas en el laboratorio para este trabajo, cumplen con la ley 2041 de 2020, ya que sus resultados se encuentran por debajo del límite permisible de Pb total (90 mg/Kg).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se demostró que el método es apto para la determinación de plomo total en útiles escolares, debido a que permitió adquirir la evidencia objetiva y necesaria para la validación, al cumplir con los rangos y valores de aceptación para todas las figuras de mérito establecidas que soportan la veracidad y robustez del método.

Para la migración de plomo en útiles escolares a pH 1,2, se evidenció que se cumplen los requisitos establecidos en la norma NTC 71-3: 2016, puesto que, ninguna de las matrices estudiadas sobrepasa los límites permisibles que garanticen su inocuidad.

Las sales presentes en el sudor ácido artificial disminuyeron la señal obtenida, afectando directamente la veracidad y precisión del valor registrado. Por lo anterior, no fue posible cuantificar la migración de plomo a un pH de 4,9 y 5,5.

7.Recomendaciones

En la cuantificación de plomo por la técnica espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito, se recomienda que la concentración del modificador ácido orto-fosfórico sea de 2000 $\mu\text{g/Kg}$.

Se propone el empleo de agentes como ácido fluorhídrico y oxalato de amonio reportados en la literatura como modificadores de matriz, para eliminar la interfeencia debida a las sales que afectan la migración del plomo a valores de Ph entre 4,9 y 5,5.

Teniendo en cuenta la norma ISO/IEC 17025:2017 se sugiere un control metrológico de los equipos, donde se pongan en práctica los mantenimientos preventivos y correctivos para un óptimo desempeño del método.

Por último, para aportar una menor estimación de la incertidumbre se debe tener en cuenta que el coeficiente de correlación sea próximo a 1, que es la testificación de una buena curva de calibración.

Referencias bibliográficas

- ARDERIU, X. F., & MANRIQUE, M. S. (2002). Guía para estimar la incertidumbre de medida en ciencias de laboratorio clínico. *Bioquímica*, 27(4), 112-120.
- ARMENTEROS, A. M. R., BALBOA, J. L. G., & MINGORANCE, J. L. M. (2010). Error, incertidumbre, precisión y exactitud, términos asociados a la calidad espacial del dato geográfico.
- BEATY, R. D., & KERBER, J. D. (1993). Concepts, instrumentation and techniques in atomic absorption spectrophotometry.
- CASTELLANOS, I. S., VELANDIA, J. R., GONZÁLEZ, M.A., & VARELA, D.A. (2018). Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro de absorción atómica AA-700 de Shimadzu. Universidad EAN.
- CASTILLO AGUILAR, B., & GONZÁLEZ HERNÁNDEZ, R. (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista cubana de farmacia*, 30(1), 0-0.
- CONDE, F.; JIMENO, S.; MARTÍ, F. MÉNDEZ, J. Química Analítica Cualitativa. Thomson Learning, 18ª Ed., España, 2001, p.p. 426 - 430.
- CONNELLY, L. M. (2021). Introduction to analysis of variance (ANOVA). *Medsurg Nursing*, 30(3), 218-158.
- DE PALACIOS, N., SÁNCHEZ, R., & GÓMEZ, G. P. (1994). Modificación de la Matriz para Determinación de Plomo en Orina por Espectroscopia de Adsorción Atómica con Horno de Grafito. *Revista de Ciencias*, 6, 91-96.
- DUFFAU, B., ROJAS, F., GUERRERO, I., ROA, L., RODRÍGUEZ, L., SOTO, M., ... & SANDOVAL, S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. *Santiago*.
- EUROLAB ESPAÑA. P.P. MORILLAS Y COLABORADORES. (2016) Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed).
- EUROLAB ESPAÑA. WILLIAMS, A. Y COLABORADORES. (2016) Guía CG 4 EURACHEM / CITAC –Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas (3ª ed).

- EUROPEAN MEDICINES AGENCY. (1995). ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. *Prescrire Int*, 20, 278.
- FERREIRA, S. L., BEZERRA, M. A., SANTOS, A. S., DOS SANTOS, W. N., NOVAES, C. G., DE OLIVEIRA, O. M., ... & GARCIA, R. L. (2018). Atomic absorption spectrometry—A multi element technique. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 100, 1-6.
- FLORA, G., GUPTA, D., & TIWARI, A. (2012). Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdisciplinary toxicology*, 5(2), 47.
- GUIDE TO METHOD VALIDATION FOR QUANTITATIVE ANALYSIS IN CHEMICAL TESTING LABORATORIES. Irish National Accreditation Board (INAB). Dublin, 2016.
- HECHAVARRÍA-HERNÁNDEZ, A., & ARADA-PÉREZ, M. D. L. Á. (2017). Estimación de la incertidumbre de la medición en análisis químico, un caso de estudio. *Revista Cubana de Química*, 29(1), 54-72.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. (2016). Seguridad de los juguetes. Parte 3: Migración de ciertos elementos químicos (NTC 71-3: 2016).
- ISO Guide 3435-1 (2006). Statistics - Vocabulary And Symbols - Part 1: General Statistical Terms And Terms Used 1861 In Probability. ISO. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- JCGM 100: (2008) / Guía para la expresión de la incertidumbre de medida (3ª ed).
- LEY 2041 DE 2020. Por medio de la cual se garantiza el derecho de las personas a desarrollarse física e intelectualmente en un ambiente libre de plomo, fijando límites para su contenido en productos comercializados en el país. 27 de julio de 2020.
- MILLER, J. N., & MILLER, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (No. 543.062: 519.23 MIL).
- NHAM, T. Direct determination of As, Cu and Pb in seawater by Zeeman Graphite Furnance Atomic Absortion Spectrometry. Agilent Technologies, Inc, 2010, p.p. 1- 6.
- OZBEK, N., USTABASI, G. S., & AKMAN, S. (2015). Direct determination of lead in plastic toys by solid sampling high resolution-continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 30(8), 1782-1786.

- PERELONIA, K. B. S., BENITEZ, K. C. D., BANICOD, R. J. S., TADIFA, G. C., CAMBIA, F. D., & MONTOJO, U. M. (2021). Validation of an analytical method for the determination of cadmium, lead and mercury in fish and fishery resources by graphite furnace and cold vapor atomic absorption spectrometry. *Food Control*, *130*, 108363.
- RIBEIRO, F. A. D. L., FERREIRA, M. M. C., MORANO, S. C., SILVA, L. R. D., & SCHNEIDER, R. P. (2008). Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, *31*(1), 164-171.
- RODRIGUEZ, S. C. (2012). Validación de un método analítico para la determinación de boro en muestras foliares de *Citrus reticulata*. *Revista Tumbaga*, *1*(7).
- SANDERS, M., STOLZ, J., & CHACON-BAKER, A. (2013). Testing for lead in toys at day care centers. *Work*, *44*(Supplement 1), 29-38.
- SCHMID, W. A., & LAZOS, R. (2000). Guía para estimar la incertidumbre de la medición. Centro nacional de Metrología, 106.
- SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., & CROUCH, S. R. (2015). Principios de análisis instrumental.
- SKOOG, D. A., WEST, D. M., & HOLLER, J. (1998). *Fundamentos de química analítica*. Reverté.
- Suarez, R., Arévalo, E., Linares, L., Ustáriz, F., & Hernández, G. (2009). Validación de un método analítico para la determinación de magnesio eritrocitario. *Avances en Química*, *4*(2), 53-62.
- TÜZEN, M. (2003). Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food chemistry*, *80*(1), 119-123.
- UNODC, O. (2010). 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.
- VAN LOON, A. T. (2012). *Analytical atomic absorption spectroscopy: selected methods*. Elsevier.
- VOCABULARIO INTERNACIONAL DE METROLOGÍA (VIM). (2012) Conceptos fundamentales y generales y términos asociados. SNM., 3 Ed., España.