

IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE DILUCIÓN ISOTÓPICA DE DOS ETAPAS EN LA MEDICIÓN DE Cd Y Zn EN TEJIDO DE MOLUSCO

Arvizu R, Valle E. y Reyes A,
 Centro Nacional de Metrología, Metrología de Materiales Metálicos.
 km 4,5 Carretera a los Cués Mpio. El Marqués Querétaro
 Teléfono: (442) 211-05-00 Ext. 3902, 3910, y 3924; Fax: (442) 211-05-69
 marvizu@cenam.mx, evalle@cenam.mx, areyes@cenam.mx

Resumen:

El método de dilución isotópica aplicado en mediciones analíticas inorgánicas, es considerado por el CCQM, método potencialmente primario, por reproducir la unidad de cantidad de sustancia. Los Institutos Nacionales de Metrología emplean este método para certificar algunos elementos químicos en materiales de referencia. En este trabajo se describe el desarrollo e implementación del método en el CENAM, para la medición de metales como Zn y Cd en tejido de molusco. Asimismo, la evaluación de las fuentes de incertidumbre involucradas, indicando las significativas y su control durante la medición, a fin de alcanzar la alta calidad metrológica y nivel de incertidumbre de un método primario.

1. INTRODUCCIÓN

El método de medición analítica de dilución isotópica, empleando espectrometría de masas es considerado por el CCQM (Comité Consultivo de Cantidad de Sustancia - Metrología en Química), como un método potencialmente primario [1] cuando satisface los requisitos de alta calidad metrológica ya que su modelo matemático y realización se describen y se entienden completamente en términos del sistema internacional de unidades (SI), en este caso el mol [2].

Este método tiene el propósito de medir el contenido de cantidad de sustancia k (E, x), de un elemento químico (E) en una muestra (x) a niveles de contenido de cantidad de sustancia de nmol/g [3]. Su principio de medición esta basado en la medición de la relación isotópica (R_b) de dos isótopos seleccionados A y B del elemento E, contenidos en una mezcla de dos disoluciones. La primera de ellas es la muestra x , que contiene una cantidad desconocida del elemento E a medir con abundancia isotópica natural (Ab^A_x , Ab^B_x); la segunda, llamada disolución isotópica y , que contiene una cantidad conocida del elemento químico E, con el isótopo enriquecido A_y , las abundancias del par isotópico en y se representan por Ab^A_y y Ab^B_y [4, 5], ver figura 1.

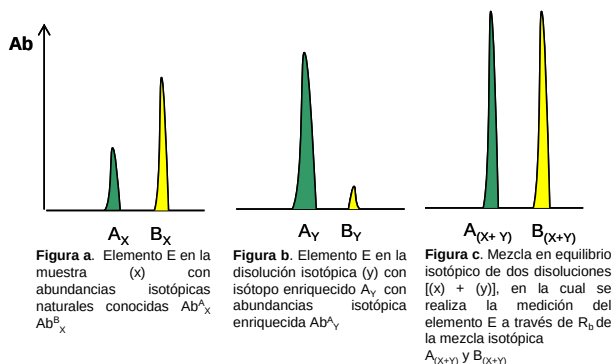


Fig. 1 Esquema que muestra la mezcla (c) de dos disoluciones que contienen el analito natural (a) y el isótopo enriquecido (b).

El resultado de medición de la relación isotópica de un elemento E en la mezcla, se expresa como la relación R_b de las abundancias del par de isótopos seleccionados A y B (ver ecuación 1) [5, 6].

$$R_b = \left[\frac{Ab^A_x X + Ab^A_y Y}{Ab^B_x X + Ab^B_y Y} \right] \quad (1)$$

Empleando el modelo matemático de dilución isotópica (ecuación 2), se determina k_x

$$k_x = k_y * \left(\frac{m_y}{m_x} \right) * \left[\frac{R_y - R_b}{R_b - R_x} \right] * \frac{\sum R_{x_i}}{\sum R_{y_i}} \quad (2)$$

Donde:

- k_x Contenido de cantidad de sustancia desconocida E en muestra x, mol/kg
 k_y Contenido de cantidad de sustancia del isótopo enriquecido y, mol/kg
 m_y masa de la disolución isotópica que contiene el isótopo y en la mezcla (Y+X), kg
 m_x masa del elemento E en la mezcla (Y+X), kg
 R_b Relación isotópica en la mezcla (Y+X)
 R_x Relación isotópica en la muestra (X)
 R_y Relación isotópica en la disolución isotópica (Y)

En este caso se requiere caracterizar el contenido de cantidad de sustancia del isótopo enriquecido k_y , para lo cual se emplea la misma ecuación (2), pero en esta ocasión se emplea en lugar de la muestra x un metal de alta pureza (primario) o una disolución espectrométrica representado por z, en donde la relación de la mezcla es R_b' y la relación isotópica natural de z es R_z . Por lo tanto, la ecuación (2) se convierte en la ecuación (3).

$$k_z = k_y * \left(\frac{m_y}{m_z} \right) * \left[\frac{R_y - R_b}{R_b - R_z} \right] * \frac{\sum R_{z_i}}{\sum R_{y_i}} \quad (3)$$

Si los procesos se realizan simultáneamente y se considera una muestra blanco $k_{(B,x)}$, entonces resolviendo para k_x , empleando las ecuaciones (2) y (3) y simplificando términos obtenemos la ecuación (4).

$$k_{(E_x,x)} = k_{(E_z,x_2)} * \left(\frac{m_z * m_y}{m_{y'} * m_x} \right) * \left[\frac{R_y - R_b}{R_b - R_x} \right] * \dots * \left[\frac{R_{b'} - R_z}{R_y - R_{b'}} \right] * \frac{\sum R_{x_i}}{\sum R_{z_i}} - k_{(B,x)} \quad (4)$$

Cuando la abundancia de los isótopos naturales de un elemento E no varían con su naturaleza, entonces los últimos términos de la ecuación (4) equivalen a la unidad. Tomando esta ecuación en términos de la magnitud de fracción de masa (g/g) e incluyendo los factores de corrección de discriminación de masa K_x , K_y , K_b , $K_{b'}$ y K_z para cada medición de relación isotópica correspondiente (ver sección 2.6), obtenemos la ecuación (5) [6].

$$w_{(E_x,x)} = w_{(E_z,x_1)} * \left[\frac{m_z m_y}{m_x m_{y'}} \right] * \dots * \left[\frac{(K_y R_y - K_b R_b)(K_b R_{b'} - K_z R_z)}{(K_b R_b - K_x R_x)(K_y R_y - K_{b'} R_{b'})} \right] - w_{(B,x)} \quad (5)$$

Este modelo matemático define el método de dilución isotópica en dos etapas ó llamado también doble dilución isotópica [7]. Algunos de los Institutos Nacionales de Metrología (INM), emplean este método de dilución isotópica con espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ID-ICPMS) para la certificación de algunos elementos químicos en materiales de referencia de matriz natural ó compleja. El CENAM ha desarrollado e implementado este método para la medición de metales como zinc (Zn) y cadmio (Cd) en tejido de molusco y fue empleado durante la comparación internacional en el marco del SIM8.16P-Toxic Metals in Seafood, que fue coordinada por el National Institute of Standards and Technology (NIST) y la Comisión Chilena de Energía Nuclear, Centro de Estudios Nucleares La Reina.

En este trabajo se presenta una descripción del desarrollo e implementación en el CENAM del método primario de dilución isotópica empleando espectrometría de masas con sector magnético con plasma acoplado inductivamente (ID-ICP-SFMS). La evaluación de las fuentes de incertidumbre involucradas es descrita, indicando cuales son las más significativas; se describe así mismo el control de estas últimas durante el proceso de medición, para minimizarlas y obtener el nivel de incertidumbre esperado de un método primario, que permita la certificación de metales en materiales de referencia de matriz compleja. Estos materiales de referencia certificados (MRC) son considerados como primarios y su uso adecuado por los usuarios establecerá la trazabilidad al SI.

2. EXPERIMENTAL

Empleando el modelo matemático (4), se realizó el desarrollo experimental para la medición de Zn y Cd en tejido de molusco. Se planteó primero la preparación de muestras y posteriormente la optimización de los métodos instrumentales. Esta última consiste en la evaluación de interferencias espectrales y la estabilidad instrumental, para seleccionar el par isotópico empleado y los parámetros instrumentales óptimos para ambos

elementos, Cd y Zn. Finalmente se diseñó el experimento para la realización de las mediciones de relación isotópica en el instrumento.

2.1 Reactivos e instrumentación

Los isótopos enriquecidos ^{111}Cd (96.5 %) y ^{66}Zn (99%), que se emplearon en el análisis fueron adquiridos respectivamente en el Oak Ridge National Laboratory y en ISOFLEX, de EUA.

El agua filtrada por un sistema Milli-Q fue doblemente subdestilada. Los ácidos nítrico, perclórico y fluorhídrico ultrapuros fueron adquiridos comercialmente de Baker.

Las disoluciones espectrométricas de Zn y Cd certificadas (MRC) por el CENAM: DMR-85c Cd (1001.0 ± 5.9 mg/L) y DMR-61c Zn (1001.2 ± 7.4 mg/L) fueron utilizadas en este trabajo.

Para la evaluación de interferencias del método, se emplearon MRC de matriz natural de alimento marino, SRM 1566, del NIST de EUA, para Cd y DOLT-3 del NRC de Canadá, para Zn.

Para la medición de relación isotópica se usó un espectrómetro de sector magnético de doble enfoque, ELEMENT 1 (Finnigan MAT, Bremen, Alemania). Todos los datos fueron adquiridos en media resolución (MR). Se empleó un nebulizador microconcéntrico (ESI 100) y una cámara de nebulización de cuarzo tipo-Scott.

2.2 Preparación de la muestra

En este trabajo se prepararon 4 blancos de digestión y 6 muestras de tejido de ostra de aproximadamente 0.4 g cada una. A cada una de las muestras se les adicionó una cantidad de masa conocida (2 g) de cada una de las disoluciones de isótopo enriquecido de ^{111}Cd y de ^{66}Zn , preparándose así las mezclas R_b . Las mezclas alcanzaron su equilibrio isotópico durante el proceso de digestión. Todas las muestras fueron tratadas con una digestión ácida a reflujo en sistema abierto a 130°C durante 12 h, empleando 10 mL de HNO_3 . Posteriormente se agregaron aproximadamente 3 mL de HClO_4 y se mantuvieron a reflujo entre (160 a 200°C) hasta eliminación de la materia orgánica. Finalmente se adicionaron de 3 a 5 gotas de HF manteniendo las muestras a reflujo entre 160 a 200°C , con el objeto de eliminar el precipitado de óxido de silicio. Las muestras fueron aforadas con ácido nítrico al 1 % a 20 g.

2.3 Optimización instrumental y evaluación de interferencias espectrales

Para la optimización del instrumento, se emplearon dos disoluciones de Cd y Zn preparadas a partir de dos disoluciones espectrométricas DMR-85c Cd,

DMR-61c Zn. Los parámetros instrumentales óptimos para la medición de los isótopos de Cd y Zn, se encontraron verificando experimentalmente su relación isotópica natural y comparándola con la publicada por la IUPAC [8]. A continuación se presentan los resultados de la evaluación.

R_z	IUPAC	Experimental
$^{114}\text{Cd}/^{111}\text{Cd}$	0.44553	0.44546
$^{66}\text{Zn}/^{64}\text{Zn}$	0.5796	0.5885

Las interferencias espectrales que podrían estar presentes en la muestra, tanto isobáricas como poliatómicas para Zn y Cd se evaluaron experimentalmente. Para esta evaluación se emplearon, la muestra, DMR-85c y SRM 1566 para el Cd, DMR-61c y DOLT-3 para el Zn. Estas se presentan en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Interferencias potenciales en Zn

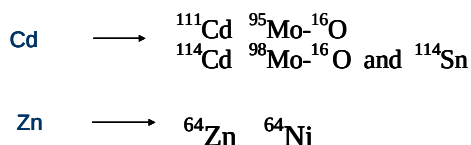
^{64}Zn	^{66}Zn	^{68}Zn
^{64}Ni	$^{28}\text{Si}^{38}\text{Ar}$	$^{52}\text{Cr}^{16}\text{O}$
$^{28}\text{Si}^{36}\text{Ar}$	$^{50}\text{Cr}^{16}\text{O}$	$^{30}\text{Si}^{38}\text{Ar}$
$^{26}\text{Mg}^{36}\text{Ar}$	$^{30}\text{Si}^{36}\text{Ar}$	$^{28}\text{Si}^{40}\text{Ar}$
$^{24}\text{Mg}^{40}\text{Ar}$	$^{26}\text{Mg}^{40}\text{Ar}$	$^{32}\text{S}^{40}\text{Ar}$
$^{48}\text{Ca}^{16}\text{O}$	$^{48}\text{Ti}^{18}\text{O}$	$^{38}\text{Ar}^{14}\text{N}^{16}\text{O}$
$^{46}\text{Ti}^{18}\text{O}$	$^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^{16}\text{O}$	$^{30}\text{Si}^{37}\text{Cl}$
$^{23}\text{Na}^{23}\text{Na}^{17}\text{O}^1\text{H}$	$^{29}\text{Si}^{37}\text{Cl}$	$^{32}\text{S}^{35}\text{Cl}$
$^{23}\text{Na}^{23}\text{Na}^{16}\text{O}^2\text{H}$	$^{31}\text{P}^{35}\text{Cl}$	
$^{14}\text{N}^{18}\text{O}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$		
$^{29}\text{Si}^{35}\text{Cl}$		
$^{27}\text{Al}^{37}\text{Cl}$		

Tabla 2. Interferencias potenciales en Cd

^{111}Cd	^{112}Cd	^{113}Cd	^{114}Cd
$^{73}\text{Ge}^{38}\text{Ar}$	$^{74}\text{Ge}^{38}\text{Ar}$	$^{75}\text{As}^{38}\text{Ar}$	$^{76}\text{Se}^{38}\text{Ar}$
$^{71}\text{Ga}^{40}\text{Ar}$	$^{72}\text{Ge}^{40}\text{Ar}$	$^{73}\text{Ge}^{40}\text{Ar}$	$^{74}\text{Ge}^{40}\text{Ar}$
$^{73}\text{Ge}^{38}\text{Ar}$	$^{76}\text{Ge}^{36}\text{Ar}$	$^{77}\text{Se}^{36}\text{Ar}$	$^{76}\text{Ge}^{38}\text{Ar}$
$^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}$	$^{96}\text{Mo}^{16}\text{O}$	$^{97}\text{Mo}^{16}\text{O}$	$^{78}\text{Se}^{36}\text{Ar}$
$^{74}\text{Ge}^{37}\text{Cl}$	$^{96}\text{Zr}^{16}\text{O}$	$^{95}\text{Mo}^{18}\text{O}$	$^{74}\text{Se}^{40}\text{Ar}$
$^{76}\text{Ge}^{35}\text{Cl}$	$^{94}\text{Mo}^{18}\text{O}$	$^{76}\text{Se}^{37}\text{Cl}$	$^{98}\text{Mo}^{16}\text{O}$
$^{74}\text{Se}^{37}\text{Cl}$	^{112}Sn	$^{78}\text{Se}^{35}\text{Cl}$	^{114}Sn
$^{76}\text{Se}^{35}\text{Cl}$	$^{94}\text{Zr}^{18}\text{O}$	$^{76}\text{Ge}^{37}\text{Cl}$	$^{96}\text{Mo}^{18}\text{O}$
	$^{75}\text{As}^{37}\text{Cl}$		
	$^{77}\text{Se}^{35}\text{Cl}$		

Como resultado de la evaluación experimental, se encontró que los siguientes pares de isótopos de ^{111}Cd y ^{114}Cd , ^{66}Zn y ^{64}Zn , presentan la menor cantidad de interferencias espectrales bajo las condiciones experimentales establecidas (ver tabla

3). Las interferencias encontradas se muestran a continuación.



2.4 Optimización del tiempo muerto

El tiempo muerto del detector, se define como el tiempo requerido para la detección y procesamiento electrónico del pulso generado por un ion [9].

La optimización del tiempo muerto para las R_b de ${}^{111}\text{Cd}/{}^{114}\text{Cd}$ y ${}^{66}\text{Zn}/{}^{64}\text{Zn}$, se realizó preparando disoluciones de Cd (de 1.5 a 3.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y Zn de (4 a 8) $\mu\text{g}/\text{kg}$. Las condiciones instrumentales óptimas encontradas se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Condiciones Instrumentales

Condiciones de operación	Cd	Zn
Potencia de radio frecuencia, watts	1200	1200
Flujo de gas de muestra, Lmin^{-1}	0.890	0.890
Flujo de gas de enfriamiento, Lmin^{-1}	15.1	15.1
Flujo de gas auxiliar, Lmin^{-1}	0.85	0.85
Flujo de inyección, μLmin^{-1}	100	100
Parámetros de análisis	Media resolución	
Ventana de integración, %	60	60
Barridos por muestra	70	70
Tiempo muerto, ns	35	35

El tiempo muerto, en el cual el detector procesa completamente los pulsos generados por los iones de manera estable y repetible, determinado para las disoluciones de Cd y Zn fue de 35 ns, (repetibilidad de relación isotópica de 0.13 %). En las figuras 2 y 3 se muestra el resultado gráfico de la evaluación del tiempo muerto [9, 11] que fue empleado en las mediciones de R_b para Cd y Zn.

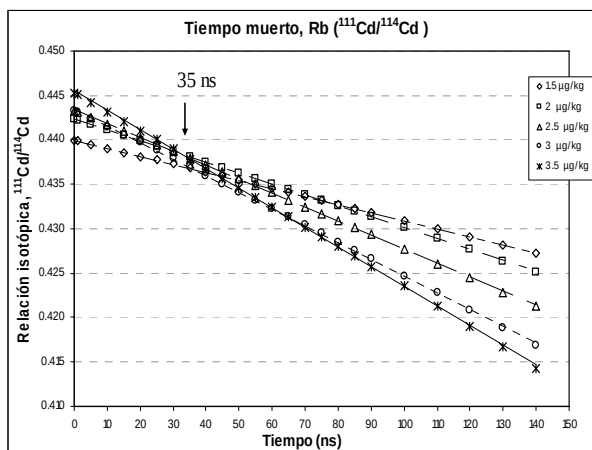


Fig. 2 Determinación del tiempo muerto para Cd

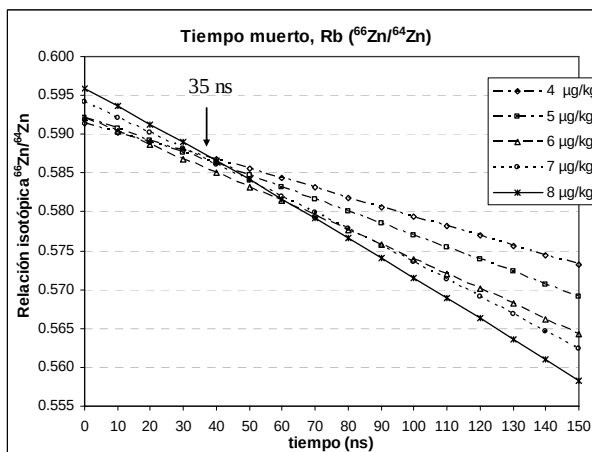


Fig. 3 Determinación del tiempo muerto para Zn

2.5 Optimización de la relación isotópica R_b

En dilución isotópica las dos principales fuentes de error, asumiendo que no hay interferencias isobáricas, son la pureza del isótopo enriquecido y la diferencia de masa atómica [10] entre los dos isótopos seleccionados. Ambos parámetros afectan la medición de la R_b . Cualquier error estadístico en la medición de R_b , es incrementado por el factor de amplificación de error $E(R)$ [11]. En las figuras 4 y 5, se muestra la gráfica del $E(R)$ en función de R_b , correspondiente a Cd y Zn. Cuando la contribución de $E(R)$ es mínima, se encuentra el valor óptimo de R_b .

La relación isotópica R_b óptima es un compromiso entre el factor de amplificación del error más bajo, un adecuado intervalo de trabajo del instrumento y los efectos del tiempo muerto.

En estas figuras, se observa una curva que mantiene una región donde $E(R)$ es mínima, en el intervalo R_b de 0.09 a 0.12 para ${}^{114}\text{Cd}/{}^{111}\text{Cd}$ y de 0.06 a 0.11 para ${}^{64}\text{Zn}/{}^{66}\text{Zn}$.

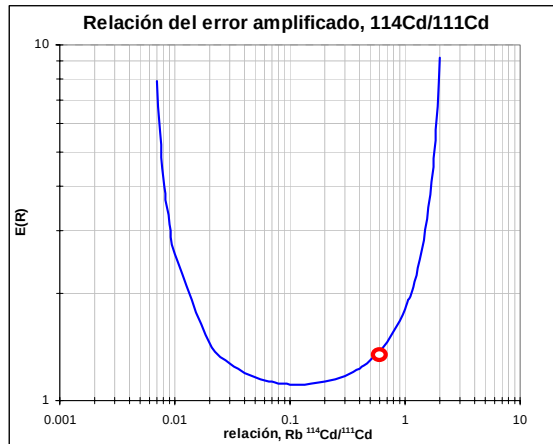


Fig. 4 Factor de amplificación del error para Cd

Estas relaciones equivalen a la obtención de un $E(R)$ de 1.115 a 1.110 para $^{114}\text{Cd}/^{111}\text{Cd}$ y de 1.100 a 1.102 para $^{64}\text{Zn}/^{66}\text{Zn}$.

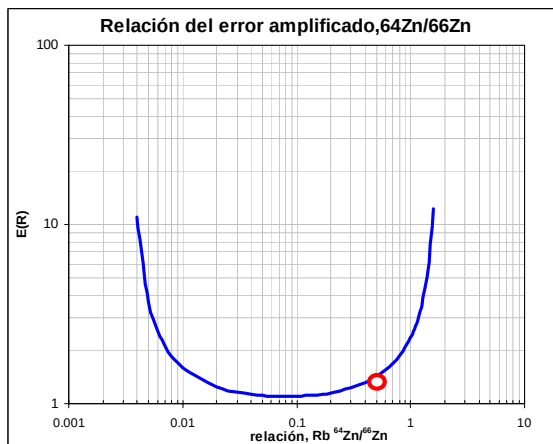


Fig. 5 Factor de amplificación del error para Zn

La selección de la R_b , se basó en el compromiso de emplear una mínima cantidad de isótopo sin incrementar significativamente el valor del $E(R)$. La R_b seleccionada para ambos elementos se muestra en las figuras 4 y 5 con un círculo y corresponden a los siguientes valores:

Tabla 4. R_b seleccionadas para Cd y Zn

R_b		$E(R)$
$^{64}\text{Zn}/^{66}\text{Zn}$	$^{66}\text{Zn}/^{64}\text{Zn}$	
0.5	2	1.4
$^{114}\text{Cd}/^{111}\text{Cd}$	$^{111}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$	$E(R)$
0.5	2	1.3

2.6 Secuencia de medición instrumental

La medición de R_b empleando ICP-HRMS varía con el tiempo, lo cual requiere que todas las relaciones isotópicas medidas sean corregidas individualmente por discriminación de masa. El efecto de discriminación de masa se da por las variaciones del sistema de medición con el tiempo y por la matriz de la muestra. La corrección se realiza al estimar un factor K_{xi} , llamado factor de corrección de discriminación de masa [11].

Durante el experimento, el K_{xi} fue estimado, con la medición de una mezcla $R_{b(\text{MRC})}$, llamada referencia de relación isotópica conocida. La secuencia de medición de R_b en las mezclas de muestra, fue diseñada de manera interpolada respecto a la mezcla $R_{b(\text{MRC})}$, que fue preparada empleando una mezcla de un MRC (disolución espectrométrica) y el isótopo enriquecido de interés [12]. Durante el proceso de medición, $R_{b(\text{MRC})}$ a su vez es corregida por el factor de discriminación de masa K_z empleando la medición de R_z (de una disolución espectrométrica) que contiene en disolución el elemento químico (z) de abundancia isotópica natural conocida (emitida por la IUPAC, ver 2.2).

La corrección aplicada a la R_b de la muestra se realizó empleando la ecuación (6)

$$R_b = K_{xi} - \left[n_i * \left(\frac{K_{xi} - K_{xj}}{n} \right) * R_{b\text{exp}} \right] \quad (6)$$

Donde, n_i es el orden de la lectura realizada en la muestra, K_{xi} y K_{xj} son los factores de discriminación de masa obtenidos de la medición experimental de la referencia $R_{b(\text{MRC})}$ antes y después de un grupo seleccionado de muestras.

3. RESULTADOS

3.1 Valores de medición de Cd y Zn

Los resultados para Cd en tejido de ostra se muestran en la tabla 5. Los resultados para Zn se muestran en la tabla 6.

Tabla 5. Resultados de Cd en tejido de ostra

Muestra	mg/kg
1	0.754
2	0.750
3	0.764
4	0.758
5	0.754
6	0.764
promedio	0.7574

En la figura 6, se muestran gráficamente los resultados de la medición de Cd en tejido de ostra. Las líneas punteadas delimitan el intervalo de confianza al 95 % asociado al valor de medición.

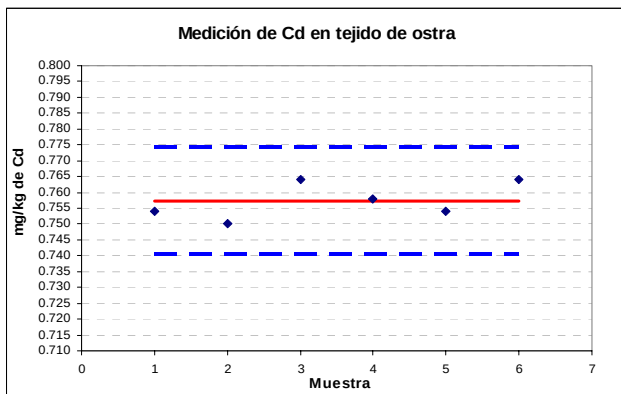


Fig. 6 Resultados de la medición de Cd en tejido de ostra

Tabla 6. Resultados de Zn en tejido de ostra

Muestra	mg/kg
1	66.3
2	67.7
3	67.4
4	65.4
5	66.4
6	65.7
promedio	66.47

En la figura 7, se muestran gráficamente los resultados de la medición de Zn en tejido de ostra. Las líneas punteadas delimitan el intervalo de confianza al 95 % asociado al valor de medición.

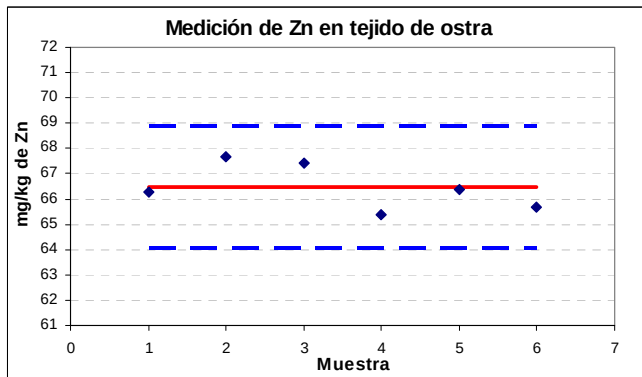


Fig. 7 Resultados de la medición de Zn en tejido de ostra

3.2 Estimación de incertidumbre en la medición de Cd y Zn en tejido de ostra.

La estimación de incertidumbre se realizó de acuerdo a la *Guía de Expresión de incertidumbre en Medición*, publicada por la ISO [13] y la *Guía de Cuantificación de Incertidumbre en Mediciones Analíticas* publicada por EURACHEM [5]. En ésta última se describe el proceso de estimación de la incertidumbre combinada, empleando un método numérico aproximativo de diferenciación (método de Kragten) [14], que requiere solamente el conocimiento de los cálculos usados para encontrar el resultado final (incluyendo cualquier factor de corrección o de influencia necesarios), de los valores numéricos de los parámetros y sus incertidumbres asociadas.

La incertidumbre combinada para la medición de Cd y Zn en tejido de ostra, se estimó considerando las fuentes de incertidumbre relacionadas con las magnitudes de influencia de la ecuación (5).

$$w_{(E_x, x)} = w_{(E_z, x_1)} \cdot \left[\frac{m_z m_y}{m_x m_y} \right] \cdot \dots \cdot \left[\frac{(K_y R_y - K_b R_b)(K_b R_b - K_z R_z)}{(K_b R_b - K_x R_x)(K_y R_y - K_b R_b)} \right] \cdot w_{(B, x)} \quad (5)$$

En las tablas 7 y 8 se muestran los resultados de los valores de las magnitudes de influencia, la incertidumbre estimada para cada magnitud de influencia, el tipo de estimación de incertidumbre (A ó B) y en la última línea se presenta el resultado de medición del analito (Cd y Zn) y de la incertidumbre combinada, en base al método de Kragten.

En la tabla 7 puede observarse, que las fuentes de incertidumbres más significativas en la medición de Cd en tejido de ostra, empleando ID-ICP-SFMS son K_b' , K_b y R_b' ; en la figura 8 se muestra gráficamente, la contribución de estas fuentes de incertidumbre, así como también, se observa que hay otras fuentes de incertidumbre con menor contribución, pero aún importantes, como R_b y ε_w , estas cinco fuentes de incertidumbre contribuyen en un 84 % en la incertidumbre expandida en la medición de Cd.

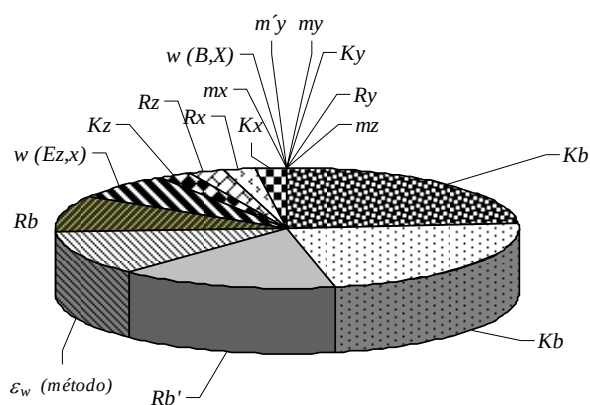
Así mismo, en la tabla 8, se observa que las fuentes de incertidumbre que contribuyen significativas en la medición de Zn son R_b , R_b' y ε_w y con menor contribución K_b' y K_b . Los resultados gráficos de la contribución de incertidumbre en la medición de Zn se muestran en la figura 9, donde estas cinco fuentes de incertidumbre contribuyen en un 88 % en incertidumbre expandida para el Zn.

Tabla 7. Estimación de incertidumbre en la medición de Cd en tejido de ostra

Magnitud	Valor	Unidad	u	Tipo A/B
$w_{(Ez,x1)}$	0.017038	mg/kg	0.0023	B
m_z	19.868455	g	0.0000013	B
m'_y	1.983723	g	0.000014	B
m_x	0.403030	g	0.000059	B
m_y	1.997467	g	0.000012	B
K_y	0.9960		0.0000058	A
R_y	164.3		0.0000057	A
K_b	1.0029		0.0040	A
R_b	2.0772		0.0026	A
K_x	1.0016		0.0013	A
R_x	0.4449		0.0013	A
K_z	1.0029		0.0013	A
R_z	0.4443		0.0013	A
K_b'	1.0029		0.0041	A
R_b'	1.9109		0.0033	A
$w_{(B,X)}$	0.001128	mg/kg	0.000037	A
ε_w (método)	0.7574	mg/kg	0.0029	B
w_{Cd}	0.7574	mg/kg	0.0084	

La incertidumbre expandida, se estimó empleando un factor de cobertura $k = 2$

$(0.757 \pm 0.017) \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd en tejido de ostra

**Fig. 8** Resultados de la medición de Cd en tejido de ostra

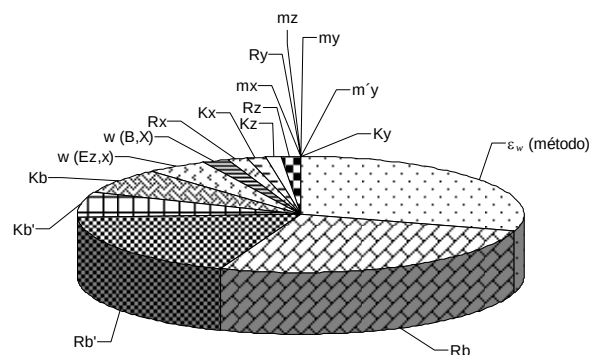
La incertidumbre obtenida, corresponde a una incertidumbre relativa de 2.2 %, valor bastante aceptable para la medición del metal tóxico Cd en la matriz natural de tejido de ostra.

Tabla 8. Estimación de incertidumbre en la medición de Zn en tejido de ostra

Magnitud	Valor	Unidad	u	Tipo A/B
$w_{(Ez,x1)}$	0.72	mg/kg	0.25	B
m_z	40.012333	g	0.000062	B
m'_y	1.9927	g	0.0012	B
m_x	0.4030	g	0.0061	B
m_y	1.9629	g	0.0014	B
K_y	1.02893		0.00012	A
R_y	267.35857		0.00012	A
K_b	0.99		0.32	A
R_b	2.15		0.62	A
K_x	0.99		0.14	A
R_x	0.58		0.14	A
K_z	0.99		0.14	A
R_z	0.59		0.13	A
K_b'	0.99		0.32	A
R_b'	2.09		0.52	A
$w_{(B,X)}$	1.11	mg/kg	0.16	A
ε_w (método)	66.47	mg/kg	0.66	B
w_{Zn}	66.8	mg/kg	1.2	

La incertidumbre expandida, se estima empleando un factor de cobertura $k = 2$

$(66.8 \pm 2.4) \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn en tejido de ostra

**Fig. 9** Resultados de la medición de Zn en tejido de ostra

La incertidumbre obtenida, corresponde a una incertidumbre relativa de 3.6 %, valor bastante aceptable para la medición del micronutriente Zn en la matriz de la muestra tejido de ostra.

4. DISCUSIÓN

Las fuentes de incertidumbre más significativas fueron la medición de la relación isotópica R_b y R_b' , así como sus respectivos factores de corrección de discriminación de masa K_b y K_b' . De aquí la importancia de controlar la estabilidad de la señal del espectrómetro durante el tiempo de medición. El modelo matemático de la ecuación (6) empleado para la corrección de la discriminación de masa, requiere de establecer un diseño experimental de medición para estimar adecuadamente la deriva en el tiempo de las lecturas del instrumento.

Es igualmente importante para obtener una reproducibilidad de la relación isotópica de (0.1 a 0.5) %, determinar experimentalmente el tiempo muerto del detector. Estimar previamente la relación isotópica óptima para controlar la preparación de las mezclas, minimiza el factor de amplificación del error.

Otros factores importantes en la optimización del espectrómetro, como la ventana de integración, los barridos por muestra, tiempo por muestra, etc., influyen en la medición, cuya estimación de incertidumbre será primordial en una siguiente etapa de mejora del método.

Para obtener la exactitud requerida, es necesario realizar una adecuada corrección de interferencias poliatómicas e isobáricas, de aquí la importancia de una evaluación *a priori* que nos permita establecer un adecuado diseño experimental, que incluya los factores asociados a la corrección de estas interferencias.

Los resultados obtenidos de Cd y Zn en tejido de ostra fueron comparados con los de otros INM y laboratorios reconocidos internacionalmente, a través de la prueba de comparación del Sistema Interamericano de Metrología de las Américas (SIM), SIM8.16P-Toxic Metals in Seafood. Los valores de referencia certificados fueron asignados al combinar estadísticamente los resultados de los Laboratorios Nacionales de Metrología de: IRMM (Bélgica), NIST (EUA), NRC (Canadá) y el Instituto Superior de Sanità (Italia).

Los resultados de la comparación se presentan en la figuras 10 y 11 para Cd y Zn, respectivamente.

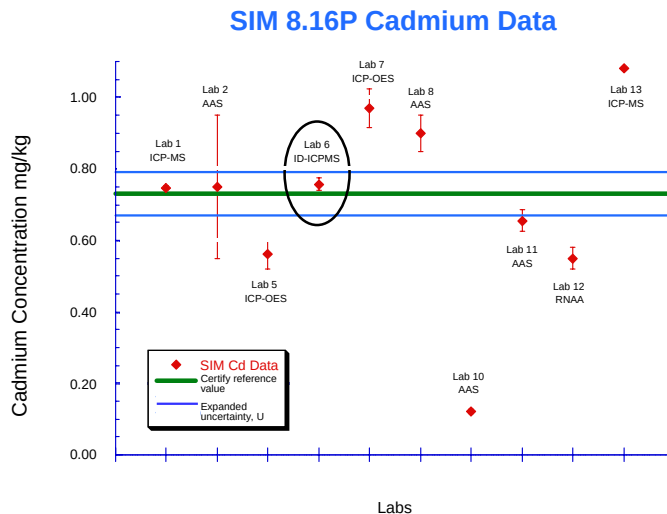


Fig. 10 Resultados Cd en tejido de ostra

Los resultados del CENAM están representados por el laboratorio 6, el cual se indica con un círculo en ambas figuras. Los valores obtenidos para Cd y Zn se encuentran muy cercanos al valor certificado asignado al material empleado en esta comparación, la incertidumbre expandida obtenida para el Cd de 0.017 mg/kg y para el Zn de 2.4 mg/kg, comparada con los valor asignados de Cd de 0.060 mg/kg y para Zn de 2 mg/kg, es adecuada al nivel de un método primario para una matriz natural (compleja).

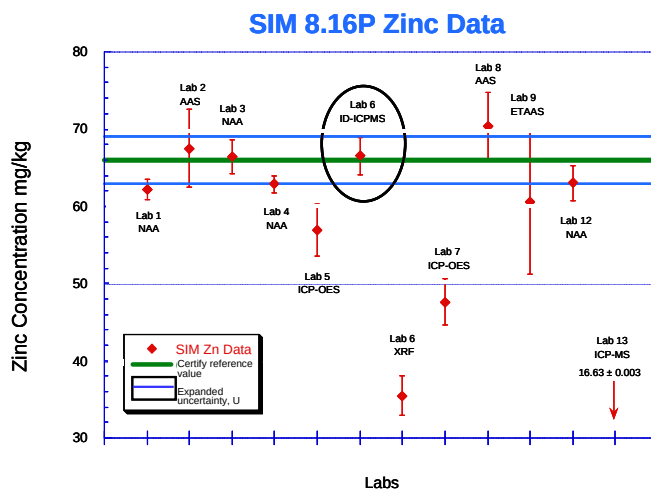


Fig. 11 Resultados de Zn en tejido de ostra

5. CONCLUSIONES

Los métodos potencialmente primarios, designados por el CCQM, si son bien entendidos y empleados adecuadamente, pueden ser llevados al más alto nivel de exactitud metrológica, y permiten reproducir la unidad base, en este caso el mol. Para ello, en primer término es importante evaluar las fuentes de incertidumbres potenciales a partir del modelo matemático y posteriormente controlarlas durante el proceso de medición.

El conocimiento de un método analítico a nivel primario, requiere de experimentación preliminar, y experiencia del metrólogo (analista), sin dejar a un lado el conocimiento científico del principio de medición del método analítico, que nos permite evaluar las interferencias presentes en la muestra, en los reactivos, en los isótopos y en los materiales puros. Estos parámetros analíticos juegan un papel fundamental en la medición de las R_b y R_b' , que son factores indispensables para establecer y estimar los parámetros instrumentales óptimos, como el tiempo muerto que nos lleva a obtener una medición de la relación isotópica con un nivel de reproducibilidad aceptable (de 0.13 %), para alcanzar la menor incertidumbre posible asociada al resultado del valor final. Un adecuado diseño experimental nos permite evaluar los factores que influyen en la medición y en su caso realizar las correcciones correspondientes, como las interferencias poliatómicas, isobáricas y de discriminación de masa.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. John Moody, Jack Fasset y a Karen Murphy del NIST de Estados Unidos de América, al Dr. Heinrich Kipphardt del BAM y al Dr. Detlef Schiel del PTB, ambos de los INM de Alemania, por su apoyo durante el desarrollo en el CENAM del Patrón Nacional Primario de cantidad de sustancia para elementos químicos empleando el método de dilución isotópica. También agradecemos a la I.Q. J. Velina Lara Manzano y al Dr. Yoshito Mitani por su apoyo en la mejora de este Patrón Nacional en el CENAM.

REFERENCIAS

- [1] Report of the Comité Consultatif pour la Quantité de Matière. 1st Meeting-1995. Comité Consultatif pour la Quantité de Matière (CCQM) of Bureau International des Poids et Mesures, at Sèvres.
- [2] The International System of Units (SI), International Bureau of Weights and Measures, 7a Edition 1998.
- [3] Cvitaš T., Quantities Describing Compositions of Mixtures, *Metrologia* 33, 1996, 35-39.
- [4] Gunter Faure, Principles of Isotope Geology, Chapter 5 Mass spectrometry. John Wiley & Sons, January 1998, pp. 56-65.
- [5] Eurachem-CITAC "Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", 2nd. Edition, 2000.
- [6] P. de Bièvre, Herber M. Stoepler, Trace Element Analysis in Biological Specimens. R.F.M. Techniques and instrumentation in analytical chemistry- Vol 15. Elsevier 1994.
- [7] M. J. T. Milton and T. J. Quinn, Primary Methods for the Measurement of Amount of Substance, *Metrologia*, 38. 2001, 289-296.
- [8] International Union of Pure and Applied Chemistry. Inorganic Chemistry Division, Commission on Atomic Weights and Isotopic Abundances. Atomic Weights of Elements 2001 (IUPAC Technical Report). Preparado para publicación por: R. D. Loss. *Pure Appl. Chem.*, Vol 75, No. 8, 2003, pp. 1107-1122.
- [9] F. Vanhaecke, G. de Wannemacker, L. Moens, R. Dams, C. Latkoczy, T. Prohaska and G. Stingeder. Dependence of detector dead time on analyte mass number in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, No. 13, 1998, pp. 567-571.
- [10] Henrik Andrén, Licentiate thesis of Studies of artificial mass bias in isotopic measurements by inductively coupled plasma mass spectrometry. Lulea University of Technology, Dpt. Of Chemical Engineering and Geosciences, Div. of Chemistry. 2004:41
- [11] K. G. Heumann, Isotope Dilution Mass Spectrometry. F. Adams, R. Gifbels, R. Van Grieken, Inorganic Mass Spectrometry. J. D. Winefordner, I. M. Kolthoff, Chemical Analysis, A series of monographs on analytical chemistry and its applications, Vol. 95. John Wiley & Sons, 1998, pp. 301-311.

- [12] C. R. Quétel, T. Prohaska, S. M. Nelms, J. Digmer and P. D.P. Taylor. ICP-MS applied to isotope abundance ratio measurements: performance study and development of a method for combining uncertainty contributions from measurement correction factors. 7th International Conference on plasma source Mass Spectrometry: The New Millennium Conference. Greenville Holland, Dpto. of Geological Sciences, University of Durham, U.K. Royal Society of Chemistry. 2000, pp. 257-269.
- [13] ISO, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1995.
- [14] J. Kragten, Calculating Standard Deviations and Confidence Intervals with a Universally Applicable Spread Sheet Technique, *Analyst*, 119, 1994, pp. 2161-2166 (1994).