

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO
DE MEXICO**



FACULTAD DE QUIMICA

**ANALISIS DE LECHE EN POLVO POR PIXE
(PROTON INDUCED X-RAY EMISSION)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A :
GERMAN DESALES GALEANA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ANÁLISIS DE LECHE EN POLVO POR PIXE (PROTON INDUCED X-RAY EMISSION)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A :
GERMAN DESALES GALEANA



Universidad Autónoma del Estado de México
 UAEM

Facultad de Química

Oficio 276/10/1

Dependencia SECRETARÍA
 ACADÉMICA

Toluca, México.
 27 DE AGOSTO DE 1997.

SR. GERMAN DE SALES GALLANA
 PASANTE DE LA LICENCIATURA DE QUÍMICO
 FACULTAD DE QUÍMICA, U.A.E.M.

P R E S E N T E:

LA SECRETARÍA ACADÉMICA DE LA FACULTAD COMUNICA A USTED QUE EL
 JURADO DE SE EVALUACION PROFESIONAL ESTARA FORMADO POR:

- QUÍM. L. JESUS MORALES JUAREZ
PRESIDENTE
- M. EN C. RAFAEL LOPEZ CASTANARES
SECRETARIO
- QUÍM. DOLORES ARCE GRANADOS
VOCAI
- Q.F.B. GUADALUPE SANTAMARIA GONZALEZ
VOCAI
- M. EN C. FERNANDO UREÑA NUÑEZ
VOCAI
- M. EN C. PILAR ARROYO LOPEZ
SUPLENTE
- Q.F.B. ANA MARGARITA ARRIZABALAGA RIVERO
SUPLENTE

[Handwritten signatures and initials over horizontal lines]

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO



[Handwritten signature]
 M. EN C. JUAN CARLOS GARCIA VILLALBA
 SECRETARIO ACADÉMICO
 SECRETARÍA ACADÉMICA

A MIS PADRES.

A MIS HERMANOS
Y SUS FAMILIAS.

A MIS AMIGOS.

AGRADECIMIENTOS

A las Dras. Dolores Tenorio Castelleros y Melania Jiménez -- Reyes, así como al Quim. T. Jesús Morales Juárez, por su apoyo e interés al dirigir el desarrollo del presente trabajo.

Al Físico Rafael Maggi Ortega, por su ayuda en la irradiación de las muestras problema, en el acelerador Tandem Van de Graff del ININ.

A los Físicos Marco C. Fernández Barajas y José López Monroy por su asesoría en el uso de los programas de cómputo empleados en el presente trabajo, JULIE y PIXET, respectivamente.

Al M. en C. Fernando Ureña Nuñez, por su ayuda en la revisión de esta Tesis.

Al M. en C. Fco. Javier Sánchez A. así como a la M. en C. Pilar Arroyo López por la asesoría brindada en la interpretación estadística de los datos obtenidos.

A los Sres. Operadores y Técnicos del laboratorio del Depto. del Acelerador del ININ, por su disposición para la realización de la parte experimental (irradiación) del presente trabajo.

AGRADEZCO AL INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES NUCLEARES LAS
FACILIDADES Y EL APOYO ECONOMICO
OTORGADOS PARA LA REALIZACION
DEL PRESENTE TRABAJO.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN LOS DEPARTAMENTOS
DE QUIMICA Y DEL ACELERADOR DEL INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES NUCLEARES, BAJO LA DIRECCION DE
LAS DRAS. DOLORES TENORIO CASTILLEROS Y MELANIA --
JIMENEZ REYES, Y LA DIRECCION ACADEMICA DEL QUIM.
T. JESUS MORALES JUAREZ.

INDICE.

Pág.

INTRODUCCION.	1
CAPITULO I. GENERALIDADES.	
1.1).- ELMETODO PIXE.	
1.1.1).- Definición.	4
1.1.2).- Teorías de la producción de vacancias.	4
1.1.3).- Emisión de rayos X.	5
1.1.4).- Nomenclatura de los rayos X.	7
1.1.5).- El acelerador de partículas, el detector de ---- rayos X y el equipo electrónico asociado.	8
1.1.6).- Tipos de blancos.	11
1.1.7).- Sensibilidad.	12
1.2).- ANALISIS CUANTITATIVO.	
1.2.1).- El programa JULIE.	13
1.2.2).- El programa PIXET	14
1.3).- ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.	
1.3.1).- Fundamento.	19
1.3.2).- Equipo.	20
1.4).- LA LECHE.	
1.4.1).- Definición.	22
1.4.2).- Composición.	22
1.4.3).- Análisis.	24

	Pág.
CAPITULO II. PARTE EXPERIMENTAL.	
2.1).- Muestras y reactivos.	26
2.2).- Determinación del elemento de referencia.	27
2.3).- Preparación de los blancos.	28
2.4).- Bombardeo de las muestras.	29
2.5).- Espectrometría de rayos X.	32
CAPITULO III. CALCULOS.	
3.1).- Identificación de elementos.	36
3.2).- Cálculo de áreas.	38
3.3).- Corrección de áreas por autoabsorción	38
3.4).- Cálculo de concentración de los elementos.	40
3.5).- Cálculo de las fluctuaciones estadísticas.	42
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION.	
4.1).- Análisis de la leche en polvo.	
4.1.1).- Análisis Cualitativo.	45
4.1.2).- Análisis Cuantitativo.	51
4.1.3).- Aspecto Nutricional.	59
4.2).- ANALISIS DE LOS ENVASES.	
4.2.1).- Análisis cualitativo.	61
CONCLUSIONES.	68
APENDICE I.	70
APENDICE II.	77
BIBLIOGRAFIA.	84

INTRODUCCION.

La leche contribuye de manera preponderante a la buena nutrición humana, debido a que suministra cantidades abundantes de los elementos esenciales para el hombre. En ella se encuentran elementos mayoritarios y elementos en bajas concentraciones, cuyo contenido debe mantenerse dentro de ciertos límites, ya que fuera de ellos se pueden producir deficiencias nutricionales o efectos nocivos para el hombre.

Debido a lo anterior se planteó el análisis de este tipo de muestras, ya que la mayoría de la población la consume en cantidades importantes y en particular se propuso como objetivo el realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las leches en polvo, que consume la población mexicana, mediante la aplicación de una técnica analítica nuclear (PIXE).

PIXE es el acrónimo de las palabras inglesas Proton Induced X-ray Emission, y corresponde a un método de análisis multielemental mediante el cual es posible analizar simultáneamente a los elementos de $Z > 10$. Este método consiste básicamente en hacer pasar un haz de protones con determinada energía a través de cierto material, el cual, al incidir sobre los átomos de este material, produce la formación de vacancias electrónicas en las capas más internas de los átomos (K), éstas van a ser ocupadas por algún otro electrón, proveniente de una capa más externa (M o L) y como consecuencia se emitirá un rayo X característico

de cada átomo. Estos rayos X permiten un análisis cualitativo y cuantitativo de la muestra problema.

El otro objetivo de este trabajo y tal vez el más importante, fue el de encontrar los parámetros idóneos para el análisis de muestras biológicas, en este caso leche en polvo, mediante PIXE, y establecer las condiciones de análisis para aplicaciones futuras.

La estructura del presente trabajo consta, en el capítulo I del fundamento y principios del método PIXE, y de la espectrometría de absorción atómica, así como los datos relevantes sobre la leche. El capítulo II contiene la descripción de la parte experimental y en seguida se describen los cálculos realizados (capítulo III), para llegar a los resultados y una discusión sobre ellos (capítulo IV).

Por último se han incluido las conclusiones, una lista de las referencias bibliográficas y hemerográficas, y dos apéndices.

CAPITULO I

Generalidades.

1.1.- EL METODO PIXE.

1.1.1).- DEFINICION.

PIXE (Proton Induced X-ray Emission) es un método de análisis que se ha desarrollado en las últimas décadas. En 1970, Johansson y colaboradores demostraron experimentalmente, que la combinación de la emisión de rayos X, inducidos con protones de energías de alrededor de 2 MeV y su detección con el entonces recién desarrollado detector de Si(Li), constituía un nuevo y poderoso método de análisis multielemental, no destructivo [18].

1.1.2).- TEORIAS DE LA PRODUCCION DE VACANCIAS.

Paralelamente con la experiencia de Johansson, otros investigadores comenzaron a hacer estudios teóricos con respecto al proceso de producción de las vacancias electrónicas, en las capas más internas del átomo. Como resultado de ello, fueron desarrolladas tres formulaciones para explicar este proceso: la primera aproximación de Born para ondas planas (PWBA), la aproximación del choque binario (Binary Encounter Approximation, BEA) y el método del parámetro de impacto. Estas teorías suponen que la producción de vacancias en las capas internas, ocurre como un resultado de la interacción coulombiana directa, entre la partícula cargada incidente y el electrón ligado. Las dos primeras son formulaciones de alta energía, es decir, válidas cuando la energía

de los iones incidentes es mucho mayor que la energía de enlace de los electrones. Por su parte, la tercera se ocupa de explicar el proceso de ionización de las capas internas, con partículas cuya energía es similar a la de enlace de dichas capas [13]. Todas estas teorías permitieron el cálculo de las secciones eficaces de ionización de las capas electrónicas internas de los átomos.

1.1.3).- EMISION DE RAYOS X.

Existen varios procesos capaces de remover un electrón de las capas más internas de un átomo, uno de ellos es la incidencia de un flujo de protones, en un material dado. Cuando este proceso se realiza, los protones pueden chocar con un electrón de la capa K y transferir parte de su energía cinética, provocando la expulsión de ese electrón. Así se crea una vacancia que se llena en un tiempo extremadamente corto (del orden de 10^{-15} s) con un electrón de un nivel externo. La diferencia de energía se disipa bajo la forma de un rayo X (transición radiactiva) o se transfiere a otro electrón que será, a su vez, también expulsado (transición no radiactiva o Auger). La probabilidad de observar uno u otro tipo de transición está determinada por el rendimiento de fluorescencia w_i , el cual aumenta con la Z del átomo. En el caso de la capa K, varía conforme a la siguiente ecuación:

$$w_k = \frac{1}{(1 + aZ^{-4})} \quad (1)$$

donde a es una constante.

Una transición radiactiva conduce a la emisión de un rayo X de energía:

$$E_x = E_K - E_{L2} \quad (2)$$

donde E_K y E_{L2} son las energías de enlace de los niveles K y L2.

Cuando una transición no radiactiva afecta a un electrón del nivel L3, el electrón denominado Auger, que se emite tendrá una energía:

$$E_{\bar{e}} = E_{exc} - E_{L3} \quad (3)$$

donde E_{exc} es la energía de excitación y E_{L3} es la energía de enlace del nivel L3. Tal como se dijo, este es un proceso competitivo en la emisión de rayos X.

De acuerdo con la ecuación (2) la energía del rayo X depende de las energías de enlace electrónico y por lo tanto es característica de la Z del átomo. La figura 1 ilustra los procesos físicos que se han descrito:

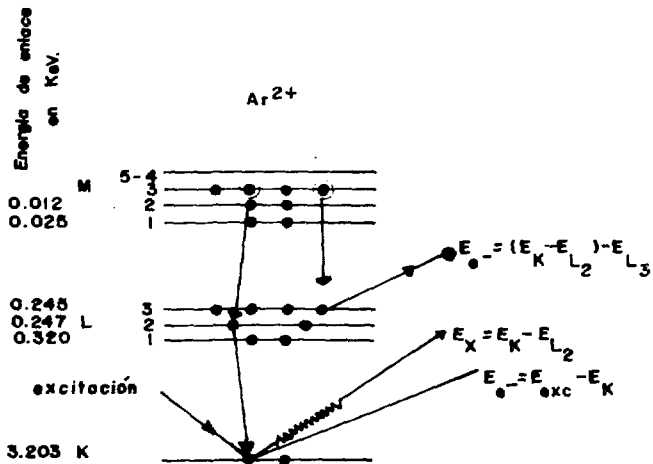


Figura 1).- Principio de las transiciones radiactivas y no radiactivas en un átomo de argón [16].

1.1.4).- NOMENCLATURA DE LOS RAYOS X.

Las líneas de rayos X designadas como K surgen de una transición electrónica de las capas más externas, L o M a una vacancia de la capa K. Si la transición ocurre desde la capa L, los rayos X serán denominados K_{α} si la transición ocurre desde la M, los rayos X serán denominados K_{β} . Esta nomenclatura se ilustra en la figura 2.

Las líneas de rayos X designadas como L son el resultado de las transiciones electrónicas desde las capas más externas hasta una vacancia localizada en la capa L y se denomina L_{α} , L_{β} o L_{γ} , dependiendo de la capa desde donde provenga el electrón que está llenando la vacancia en la capa L [2].

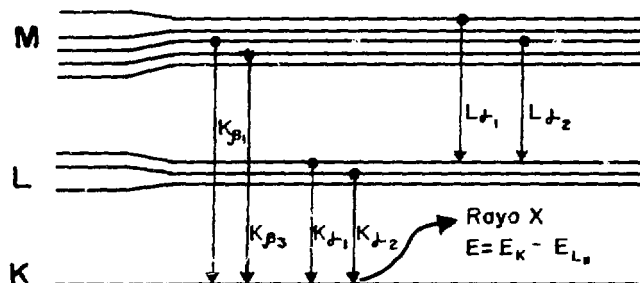


Figura 2.- Emisión de rayos X, K_{α} y K_{β} .

1.1.5).- EL ACELERADOR DE PARTICULAS, EL DETECTOR DE RAYOS X Y EL EQUIPO ELECTRONICO ASOCIADO.

El flujo de protones que se requiere en el método PIXE puede generarse en un acelerador de partículas y la energía de esos protones debe seleccionarse de acuerdo con las necesidades del experimento. En la figura 3 se muestra un esquema de las partes primordiales del Acelerador Tándem Van de Graff del Centro Nuclear de México, ahí se indica la posición de la cámara PIXE utilizada en este trabajo. En la figura 4 se muestra un diagrama de bloques del equipo electrónico requerido para el análisis PIXE.

Una vez que se producen en la muestra los rayos X, estos inciden en el detector, donde se producen pulsos eléctricos que son llevados al analizador multicanal, el cual cuenta y almacena puntos de acuerdo a su amplitud.

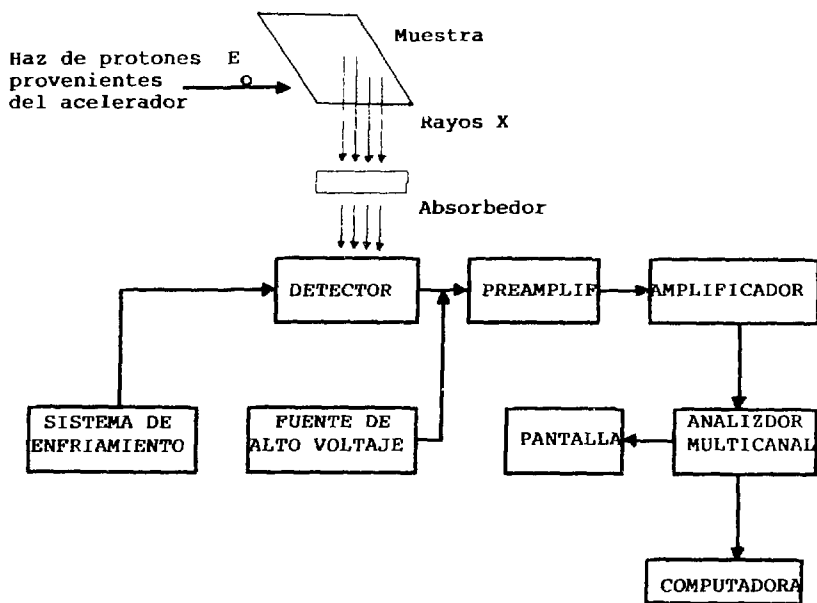


Figura 4).- Diagrama de bloques de la electrónica utilizada, en un análisis PIXE.

La amplitud del pulso es proporcional a la energía del rayo X que entra al detector, cada pulso en turno es almacenado en un canal particular correspondiendo a cierta energía, la distribución de pulsos en los canales es una imagen de la distribución de las energías de los rayos X. Al final de un periodo de conteo, el espectro que fue grabado puede ser observado sobre la pantalla. El eje horizontal es el número de canal o energía del rayo X y el vertical es el número de rayos X grabados por canal.

Los detectores de Si(Li) son sensibles en la región de 1.5 a 25 KeV, por lo que miden principalmente a las líneas K de los elementos con $13 \leq Z \leq 45$ y línea L de los elementos con $40 \leq Z \leq 92$ [2,6].

El espectrómetro de rayos X debe calibrarse en energía antes del experimento, por ejemplo con fuentes radiactivas que emiten rayos X característicos en la zona de interés. De preferencia, la función entre el número de canal y la energía debe ser lineal, ya que mediante la energía de los picos observados en el espectro, de una muestra problema, es posible identificar a los elementos que le constituyen (análisis cualitativo). La intensidad de los picos es proporcional a la abundancia del elemento en el material que se analiza (análisis cuantitativo).

1.1.6).- TIPOS DE BLANCOS.

Para PIXE los blancos pueden ser delgados o gruesos, se considera delgado un blanco cuando el haz de protones lo cruza, sin que se absorba en su interior. Mientras que en los blancos

gruesos el haz de protones se atenúa completamente. Este último tipo de blanco es muy fácil de preparar y fue el que se utilizó en el presente trabajo.

1.1.7).- SENSIBILIDAD.

La sensibilidad de un método de análisis es la mínima cantidad de un elemento que puede ser detectada. En PIXE, para poner en evidencia a un elemento es necesario distinguir en un espectro a un pico, característico y estadísticamente significativo, de entre el ruido de fondo.

La dispersión estadística sobre un conteo de n cuentas (pulsos) es igual a $n^{1/2}$. Las probabilidades para que el error sea inferior a $n^{1/2}$, $2n^{1/2}$, $3n^{1/2}$ en un conteo único son de 70, 96, 99.7%. Adoptando el último valor, para un pico de intensidad N_x , se dice que éste es significativo cuando su intensidad es superior o igual al triple de la dispersión estadística del número de impulsos N_f , correspondientes al ruido de fondo bajo el pico, es decir:

$$N_x \geq 3 N_f^{1/2} \quad (4)$$

El ruido de fondo bajo el pico no puede ser descrito por funciones analíticas simples y su valor depende de las condiciones experimentales. Una medida de sensibilidad es por lo tanto válida solamente para ciertas condiciones experimentales dadas [28]. Los factores que limitan la sensibilidad son: el fondo continuo,

la anchura a la mitad del pico, que depende de la resolución del detector, el calentamiento de la muestra y la conductividad de la misma. Con el método PIXE se han reportado sensibilidades para algunos elementos de hasta 10^{-12} g [18].

Por sus características, este método se ha aplicado en diversos campos [24,25].

1.2).- ANALISIS CUANTITATIVO.

En el presente trabajo se emplearon dos programas de cómputo para el análisis de datos en los espectros de rayos X. Uno para integrar los picos correspondientes a las líneas X denominado JULIE [9] y otro para el análisis cuantitativo de blancos gruesos, denominado PIXET [21]. En seguida se describen brevemente los fundamentos de uno y otro programa.

1.2.1).- EL PROGRAMA JULIE.

Con el programa JULIE [9] se obtuvieron las características de varias gaussianas traslapantes, sobrepuestas a un fondo lineal, común a todas ellas. Este programa considera que los datos presentan solamente desviaciones al azar de la ecuación de una recta, más una suma de varias gaussianas, es decir:

$$Y = Y_{\text{fondo}} + \sum_{j=1}^n Y_j = mx + b + \sum_{j=1}^n H_j e^{-\frac{1}{2}} \left[\frac{x - \mu_j}{\sigma_j} \right]^2 \quad (5)$$

donde $mx + b$ representa la ecuación de la recta y el resto de la ecuación corresponde a la suma de n gaussianas. El ajuste se efectúa mediante iteraciones, hasta que ya no se aprecia cambio en dos resultados consecutivos. Con este programa se obtiene la posición de cada pico, su altura y su anchura, (μ_j, H_j, σ_j) y el área, la cual se calcula con la siguiente ecuación:

$$A_j = \sigma_j (2\pi)^{\frac{1}{2}} H_j \quad (6)$$

1.2.2).- EL PROGRAMA PIXET.

El programa PIXET [21] se basa en la expresión matemática (7) que toma en consideración la producción de rayos X a lo largo de la trayectoria de la partícula y la atenuación de los rayos X por el material. La muestra se considera formada por sucesivas capas delgadas y el total de rayos X producidos en ella se calcula como la suma de los producidos en cada capa, (figura 5). El cálculo toma en cuenta la pérdida de energía (stopping power) de la partícula entrante, como una función de la profundidad, la sección transversal para la producción de rayos X y la atenuación de esa radiación por el material que se localiza entre los puntos donde se origina dicha radiación y el detector.

Las partículas antes mencionadas se relacionan entre ellas de acuerdo con la siguiente expresión:

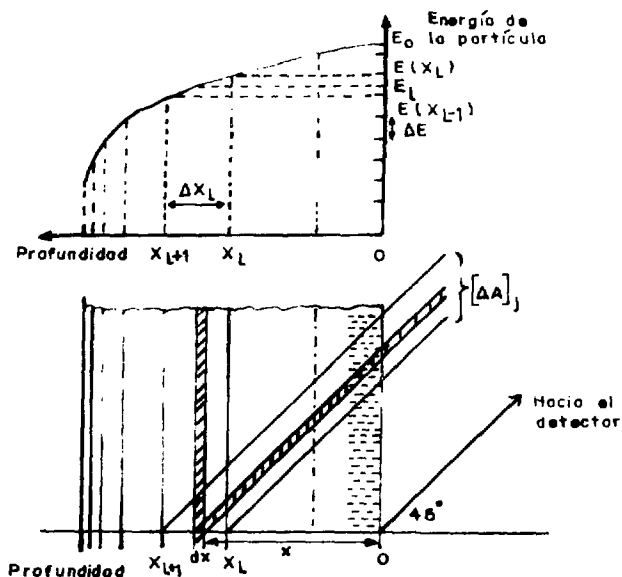


Figura 5.- Ilustración del stopping power de las partículas y la emisión de rayos X en las capas hipotéticas de un blanco grueso [21].

$$\begin{aligned}
 A_j &= \sum_{l=0}^{l=m} \left[\Delta A_j \right]_l \\
 &= N_j \cdot N \sum_{l=0}^{l=m} \frac{\sigma_j(E_l)}{(2)^{l/2}} \frac{1}{\sum_i C_i \mu_i(EX_j)} \left\{ \exp \left[-(2)^{l/2} \sum_i C_i \mu_i(EX_j) \cdot \right. \right. \\
 &\quad \left. \left. \sum_{k=0}^{l-1} \frac{\Delta E}{\sum_i C_i S_i(E_k)} \right] - \exp \left[-(2)^{l/2} \sum_i C_i \mu_i(EX_j) \sum_{k=0}^{l-1} \frac{\Delta E}{\sum_i C_i S_i(E_k)} \right] \right\} \\
 &\quad (7)
 \end{aligned}$$

donde:

m = número de capas de espesor variable correspondiente a una pérdida de energía constante, $\Delta E = 100$ KeV.

A = número de rayos X del elemento j que emergen desde la capa L .

N_j = número de átomos del elemento j por cm^3 .

N = número de partículas del haz incidente (# part./ $\text{cm}^2 \cdot \text{s}$).

$\sigma_j(E_j)$ = sección de producción de rayos X del elemento j para la energía del haz en el intervalo L .

$\sum_i C_i \mu_i(EX_j)$ = coeficiente de absorción másico del material blanco para los rayos X del elemento j , donde C_i es la concentración de masa relativa del elemento i , $\mu_i(EX_j)$ el coeficiente de absorción másico del elemento i para la radiación característica del elemento j .

$\sum_i C_i S_i(E_k)$ = poder de frenado del material blanco: donde $S_i(E_k)$ es el poder de frenado para el elemento i .

Para la primera capa, esto es para $l=0$, el valor de $[\Delta A]_0$ se calcula con:

$$[\Delta E]_0 = \frac{1}{2} \Delta E \quad (8)$$

$$[\sigma_j]_0^{X_j} = \sigma_j(E_0) \quad (9)$$

Introduciendo la eficiencia del detector ϵ_j , las correcciones debido al absorbedor a_j y el ángulo sólido Ω , subtendido por el detector, podemos calcular el número de rayos X del elemento j mediante la siguiente expresión:

$$A_j = \frac{4\pi}{\Omega} \cdot \frac{NX_j}{a_j \epsilon_j} \quad (10)$$

donde NX_j es el número de rayos X detectados cuyo valor puede obtenerse, por ejemplo con el programa JULIE.

Con un blanco de un espesor dado se calcula N_j (número de átomos del elemento j por unidad de volumen) a través de las expresiones (7) y (8), iterativamente. El calculo de las concentraciones se inicia a partir de la producción relativa de rayos X y usando como primera estimación de la concentración los valores:

$$[C_j]_0 = \frac{A_j / \sigma_j(E_0)}{\sum_i A_i / \sigma_i(E)} \quad (11)$$

las iteraciones terminan cuando:

$$\frac{(c_j)_{i,q} - (c_j)_{i,q-1}}{(c_j)_{i,q}} < 0.001 \quad (12)$$

donde: q = número de iteraciones.

1.3.- ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

1.3.1).- FUNDAMENTO.

La espectrometría de absorción atómica es un método analítico que se basa en la absorción de la luz visible o ultravioleta por átomos neutros en estado gaseoso [27]. Su utilidad potencial para el análisis de elementos metálicos fue sugerida primero en 1955 por Walsh, y por Alkemade y Milatz. Desde esa época, se han elaborado métodos para determinación de 65 elementos, y se han diseñado numerosos instrumentos comerciales específicos para este tipo de análisis.

En un análisis de la espectrometría de absorción atómica el elemento que se determina debe ser reducido al estado elemental, vaporizado e introducido en el haz de radiación procedente de la fuente. Este proceso se logra más frecuentemente llevando un soluto de la muestra, como fina niebla, a una llama apropiada, para cada elemento a analizar [17].

Cuando se aspira la solución de la muestra y llega a la flama, el disolvente se evapora o se quema y los compuestos de la mezcla se descomponen térmicamente y se convierten en un gas, formado de los átomos individuales de los elementos presentes. La gran mayoría de los átomos se encuentran en estado basal, aunque algunos se excitan y emiten luz. Los átomos neutros absorben luz del cátodo hueco que emite una radiación con una longitud de onda característica del elemento que se va a determinar. La

amplitud de longitud de onda es extremadamente angosta tanto para la línea de emisión de la fuente luminosa como para la línea de absorción del mismo elemento en la llama. Por este motivo, las probabilidades de interferencia por absorción de líneas espectrales de otros elementos es casi nula.

La línea espectral elegida se aísla del rayo que emerge mediante un monocromador y se mide su intensidad con una fotocelda o fotomultiplicador. La cantidad de luz absorbida dependerá del número de átomos en la trayectoria de la luz.

1.3.2).- EQUIPO.

Un instrumento para mediciones de absorción atómica posee los siguientes componentes: una fuente, un monocromador, un recipiente de muestra (en este caso una llama), un detector y un amplificador indicador, sistema de lectura y graficador (ver figura 6).

La espectrometría de absorción atómica permite analizar a todos los elementos metálicos y también a algunos otros que se clasifican a veces como no metales (boro, silicio, arsénico, selenio y telurio). Esta técnica se emplea principalmente para medir cantidades pequeñas o trazas de elementos [17].

El hierro, elemento que se consideró como referencia en el presente trabajo fue determinado en todas las muestras por este método. La longitud de onda para ese análisis es 248.3 nm y la sensibilidad es de 0.1 $\mu\text{g/ml}$ [3,27].

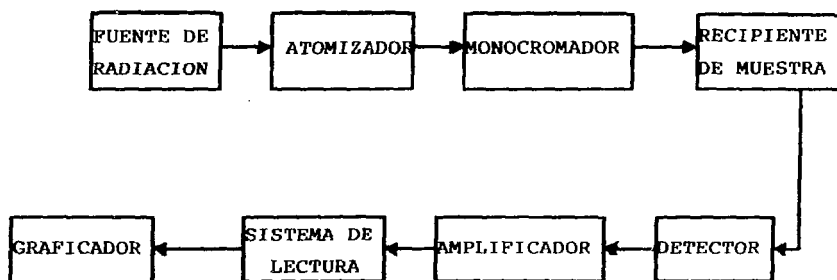


Fig. 6).- Diagrama del arreglo instrumental en la espectrometría de absorción atómica.

1.4.- LA LECHE.

1.4.1.)- DEFINICION.

La leche es una emulsión natural que se obtiene como una secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos y contribuye más que ningún otro alimento a la buena nutrición. Se le conoce en general como un alimento protector, debido a que suministra cantidades abundantes de los elementos esenciales que a veces escasean en los alimentos diarios. La palabra leche sin ningún calificativo significa generalmente leche de vaca [1,20,31].

1.4.2.)- COMPOSICION.

La leche recién ordeñada varía en su composición química. Algunas de las causas más importantes de esa variación son: la especie del mamífero, su raza, su edad, su etapa de crianza, su salud, el pienso y la estación del año [31].

Como casi todos los alimentos, la leche contiene grasas, proteínas, carbohidratos, minerales y sustancias tales como vitaminas, fosfolípidos y enzimas.

Los componentes minerales de la leche (cenizas) varían entre el 0.6 y el 0.8%. En general, las cenizas de la leche se caracterizan por su contenido elevado de calcio, potasio y fósforo, tal como lo muestra la tabla 1.

Además de los componentes dados en la tabla 1, la leche

contiene pequeñas cantidades de otros elementos, entre ellos los siguientes: Fe, Zn, I, Mg, Br, Pb, Zr, Ti, V, Rb, Si, Li, Sr, Cr, Ba, Ge, Co. El contenido aproximado de hierro y cobre es de 0.15 y 2.5 ppm, respectivamente [20].

Mediante la desecación se obtienen la leche en polvo, que es más rica en nutrientes que las concentradas y las condensadas y se conserva aún mejor.

El reglamento para evitar la adulteración de alimentos reconoce tres clases de leche en polvo: leche entera, leche descremada y leche parcialmente descremada. Las diferencias principales residen en su composición final, en la que influye la clase de leche que se deseca.

TABLA 1

COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS CENIZAS DE LA LECHE DE VACA . [20]

COMPOSICION	A	B
$P_2 O_5$	24.29	29.33
CaO	20.01	20.27
MgO	2.42	2.80
Cl^-	14.28	14.00
SO_3	3.84	vestigios
Fe_2O_3	0.13	0.40
Na_2O	10.01	6.67
K_2O	25.02	28.71
CO_2	-----	0.97

A.- Datos reportados por Leachwinton.

B.- Datos reportados por Richmond.

La leche en polvo se elabora por una concentración suficiente de la leche, de tal manera que los sólidos vayan acompañados de un 2% a un 5% de humedad. El polvo de leche entera puede contener menos humedad que el de leche descremada [31].

1.4.3).- ANALISIS.

Un análisis medio del polvo de leche completa es el siguiente: humedad 2%; grasa 27%; proteínas 25.5%; lactosa 38%; cenizas 6% [20]. La leche en polvo puede considerarse entonces como una matriz biológica que contiene 46% de oxígeno, 5% de hidrógeno, 0.5% de nitrógeno y 46% de carbono [11].

En lo que se refiere al análisis de los componentes inorgánicos en la leche en polvo, por el método PIXE, A. B. Hallak [11] reportó la presencia de S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Br, y Rb, y encontró que las concentraciones de S, Cl, K, Ca, y Br fueron mayores en las muestras de leche entera que en las de leche descremada.

Gharib y colaboradores [10] analizaron también los componentes inorgánicos de la leche, ellos utilizaron además del método PIXE, otras técnicas tales como análisis por activación neutrónica y espectrometría de absorción atómica. Mediante PIXE lograron analizar: Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Zn y Ni, en concentraciones de algunas ppm.

CAPITULO II
Parte
Experimental.

2.1).- MUESTRAS Y REACTIVOS.

Los reactivos utilizados en el presente trabajo fueron de -- grado analítico y no requirieron de purificación antes de usarse, todas las soluciones se prepararon con agua desionizada -----
($0.2 \mu\Omega/\text{cm}^3$).

Las muestras de leche en polvo se obtuvieron en los centros comerciales de la ciudad de Toluca, México, durante el mes de --- abril de 1989 y cubrieron las siguientes características: tres -- marcas de leche entera: E1, E2 y E3, dos de leche descremada: D1 y D2, y cinco para lactantes: L1, L2, L3, L4 y L5. Toda la experimentación se llevó a cabo con un mismo paquete de leche.

Se analizaron también muestras de los envases metálicos que contenían a las leches, con excepción de la E3 y la D2, porque -- ambas venían en un empaque metálico recubierto en su interior con polietileno. De las leches L1, L2, L3, E1 y D2, se tomaron mues-- tras del sello metálico que recubre la parte superior del envase y de las L4, L5 y E2, carentes de ese sello se analizó una mues-- tra de las paredes del envase.

Como parte del presente trabajo se analizó también el patrón de referencia certificado por el Organismo Internacional de Ener-- gía Atómica (OIEA), denominado A-11, el cual consiste de leche en polvo.

2.2).- DETERMINACION DEL ELEMENTO DE REFERENCIA: Fe^{3+}

Los análisis de cada muestra se realizaron por triplicado. - 10 g de leche se precalcinaron durante 4 h, entre 150 y 200°C sobre una parrilla eléctrica, con agitación suave y de tiempo en -- tiempo. El residuo se dejó enfriar en desecador con gel de sílice y después se transfirió a un tubo de vidrio pyrex de 20 X 2 cm, - previamente pesado. Ese tubo se colocó en un horno tubular ----- (Lindberg, modelo molda-minimite 55036) a 500-530°C durante 12 ho ras. Cuando fue necesario, al observar la presencia de carbono en forma de puntos negros, la muestra se humedeció con algunas gotas de agua desionizada y una gota de ácido clorhídrico concentrado y luego se dejó evaporar a 100°C y se prolongo la calcinación duran te 2 horas más, hasta obtener cenizas blancas. Esas cenizas se de jaron enfriar en un desecador y después se disolvieron con 12.5 - ml de una solución al 13% de ácido clorhídrico, todo se llevó en- seguida a un volumen de 25 ml. Esas soluciones se conservaron en un refrigerador hasta algunas horas antes de análisis.

A partir de una solución patrón de hierro (Merck de México - S.A.) se prepararon soluciones de 5, 10, 20, 30 y 40 ppm y con -- ellas se calibró el espectrómetro de absorción atómica (Perkin -- Elmer, 2380). Las condiciones fueron las siguientes: gas comburene te: aire, gas combustible: acetileno, longitud de onda: 248.3 nm.

Los cálculos de la concentración de hierro en las muestras - se efectuaron con la siguiente operación:

$$[\text{Fe}^{3+}], \text{ ppm} = \frac{L \times 25}{M} \quad (13)$$

La cual toma en cuenta la lectura obtenida en el equipo (L), el volumen de la solución (25 ml) y la masa de la muestra (M) en gramos.

2.3).- PREPARACION DE LOS BLANCOS.

De cada tipo de leche se fabricaron tres blancos idénticos: 500 mg de leche, se colocaron en un depósito con émbolo y todo se llevó a una prensa hidráulica (Apex Construction, ACL) a 1.96×10^5 Pa. De esa manera se obtuvieron pastillas de 1.3 cm de diámetro por 3 mm de espesor, las cuales se pegaron con resina epóxica a los marcos portablanco, de aluminio, y se dejaron por lo menos durante 24 horas en un desecador con gel de sílice, para asegurar la cohesión. Después, los blancos se ordenaron sobre regletas de acero inoxidable con una capacidad de 20 blancos cada una. Para verificar su resistencia a presiones bajas, los blancos se mantuvieron durante 20 minutos a una presión de entre 1 y 0.1 mPa. En esas condiciones, todas resultaron lo suficientemente compactas. Las regletas con los blancos se almacenaron en condiciones anhidras antes del bombardeo.

Para el análisis de los envases metálicos que contenían a algunas de las leches, se prepararon blancos de la siguiente manera: se recortaron cuadrados de 1.5 cm por lado, de las laminas, las cuales se fijaron directamente a la regleta portablancos.

2.4).- BOMBARDEO DE MUESTRAS.

Las experiencias se llevaron a cabo con flujos de protones de 1.5 y 3.0 MeV, los cuales se obtuvieron del acelerador Tándem Van de Graff del Centro Nuclear de México. Antes de llegar los protones a la cámara de bombardeo, el haz se hizo pasar por tres diafragmas de tantalio de 3.0 mm de diámetro cada uno.

La cámara de bombardeo (figura 7) es un paralelepípedo de 11.5 X 10.5 cm² en la cara que da al haz y de 14.5 cm de largo, fabricado en acero inoxidable. En su interior se introduce la regleta portamuestra y después se reduce la presión hasta 1.0-0.1 mPa. Con la ayuda de las ventanas de observación se alinea el blanco hacia la dirección del haz. La regleta está aislada del resto de la cámara, lo que permite la medida de la corriente en los blancos gruesos y conductores, tal como es el caso de los blancos de lámina.

Durante la irradiación de los blancos no conductores, es decir los fabricados con leche en polvo, se utilizó un cañón de electrones, con el propósito de evitar la sobrecarga eléctrica de los blancos.

Los blancos se bombardearon de 15 a 20 minutos cada uno,

con el haz de protones de algunas decenas de $n\text{A}^c$ y 1.5 o 3.0 MeV según el caso. El conteo global se mantuvo siempre menor que 1000 cps para evitar la saturación del detector. Los rayos X producidos durante la interacción de los protones con el blanco, son colimados por las rejillas de carbono y atraviesan una ventana de Mylar de $127\ \mu\text{m}$ de espesor y otra de aluminio de $52\ \mu\text{m}$ de espesor, antes de llegar al cristal detector.

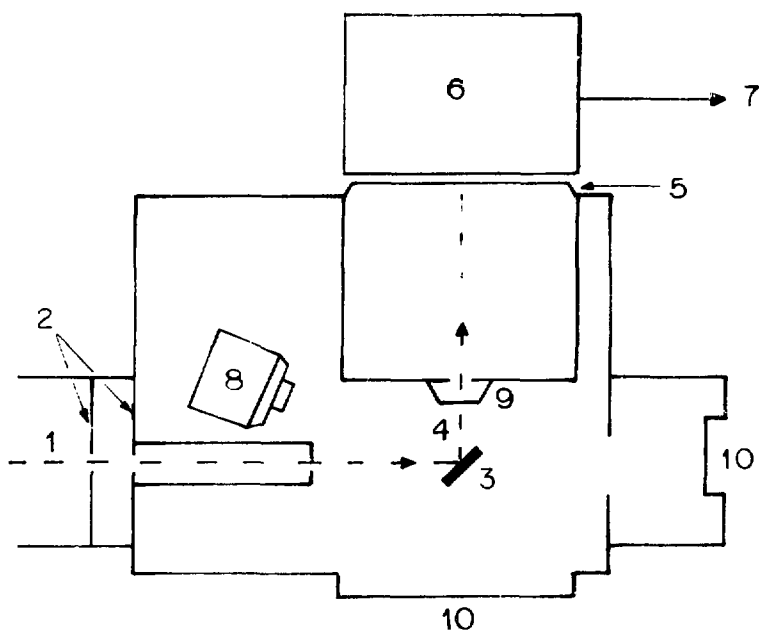


Figura 7.- Cámara de bombardeo (vista superior).

1) Dirección del haz de protones, 2) Dirección de rotación, 3) Blanco, 4) Dirección de los rayos X, 5) Absorbedores de Mylar y aluminio, 6) Detector de Si(Li), 7) Hacia el analizador multicanal, 8) Cañón de electrones, 9) Rejilla de carbono, 10) ventana de observación.

2.5).- ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X.

El equipo estuvo integrado por:

a) Detector de Si(Li) (KEVEX-RAY 3010).

Voltaje aplicado: -950 V.

Ventana: de berilio, de 25 μm de espesor.

Area activa: 10 mm^2 .

Resolución: 230 eV para línea K_{α} del hierro (6.4 KeV).

Temperatura de trabajo: -77°K.

b) Preamplificador (integrado al detector).

c) Amplificador (ORTEC 572).

d) Analizador de altura de pulsos.

e) Almacén de datos con cinta magnética.

Este equipo se calibró en energía, con una fuente de ^{241}Am , en la figura 8 se encuentra el espectro de ese isótopo radiactivo y la recta de calibración obtenida se muestra en la figura 9.

Los espectros de rayos X obtenidos con este equipo fueron registrados en cintas magnéticas para su análisis posterior.

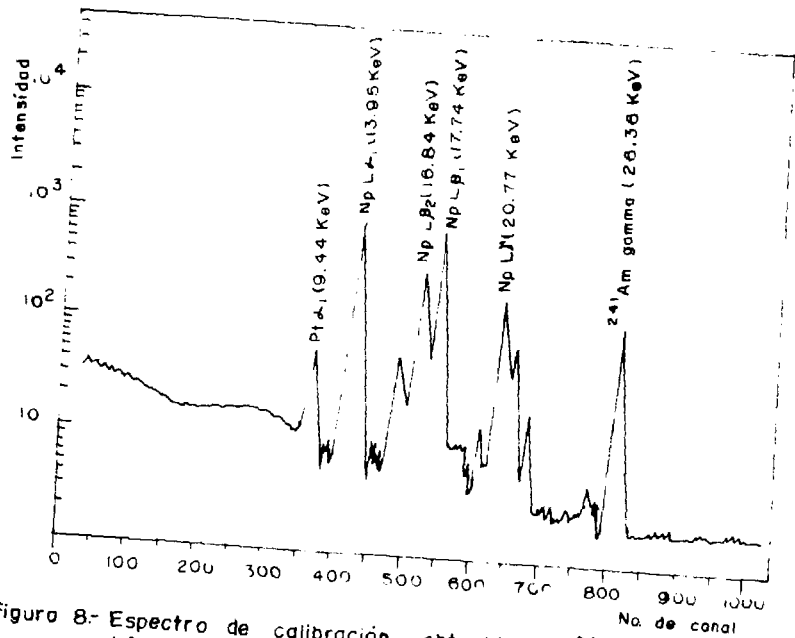


Figura 8.- Espectro de calibración, obtenido con ^{241}Am (A = 10 μCi).

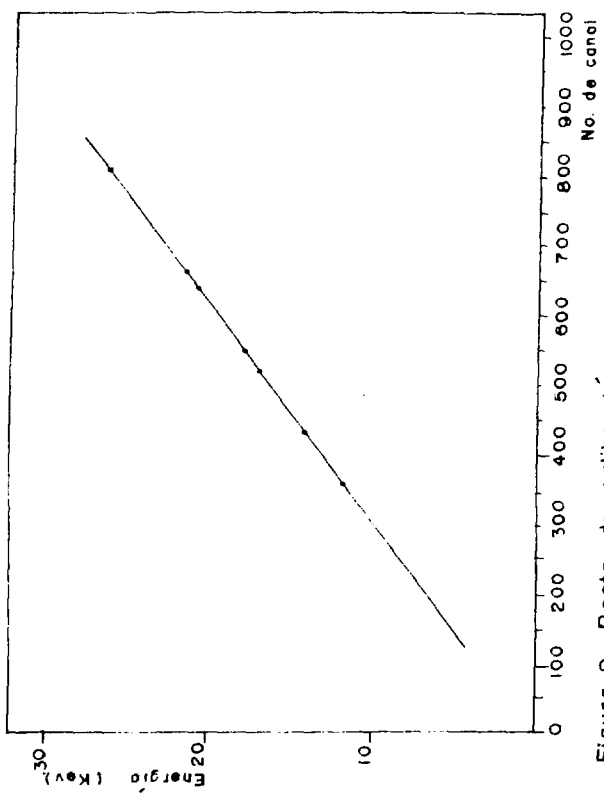


Figura 9.- Recta de calibración.

CAPITULO III
Calculos.

CALCULOS.

Para describir los tratamientos matemáticos dados a los espectros de rayos X, se tomó como ejemplo un caso típico.

3.1).- IDENTIFICACION DE ELEMENTOS.

Un espectro de rayos X tiene la forma que se muestra en la figura 10; éste fue obtenido al bombardear una pastilla de leche en polvo con protones de 1.5 MeV.

La identificación de cada pico se hizo con la recta de calibración del equipo (figura 9) y las energías de los rayos X reportadas en la literatura [4].

Para los elementos que se encuentran entre el aluminio y el zinc, la línea K_{α} del elemento z puede confundirse con la línea K_{β} del elemento $Z-1$. La identificación se efectuó entonces de acuerdo con el ejemplo siguiente. La línea K_{α} del calcio (3.691 KeV) se superpuso con la K_{β} del potasio (3.589 KeV) por lo que se calculó el área de la K_{α} del potasio (3.313KeV) y se utilizó la relación K_{β}/K_{α} de dicho elemento [26] para calcular la intensidad de la K_{β} . Ese valor se restó al área del pico en que se encontraban superpuestas las líneas y de esa manera se obtuvo la contribución de la línea K del calcio.

$$K(K_{\alpha}) = 2826460$$

$$K(K_{\beta}/K_{\alpha}) = 0.12$$

$$K(K_{\beta}) = (0.12) (2826460)$$

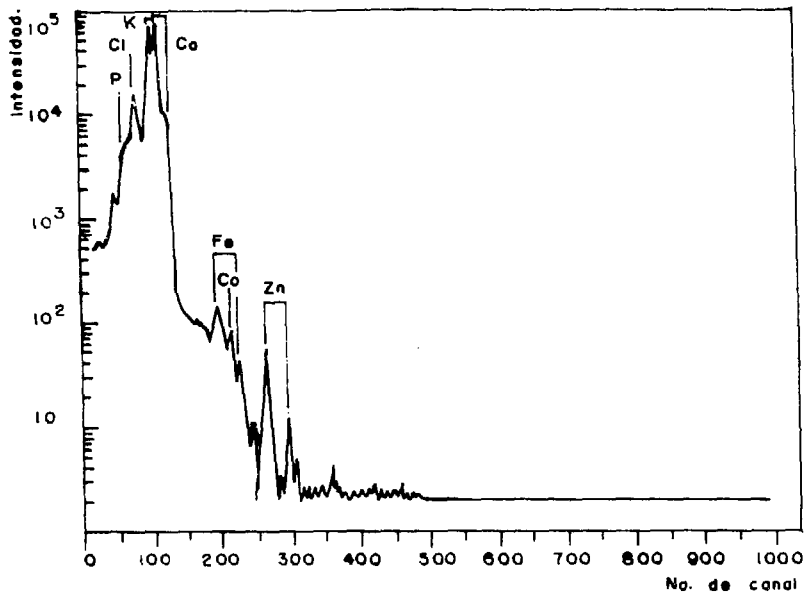


Figura 10.- Espectro de rayos X de la muestra El, Ep=1.5 MeV.

$$= 339175$$

$$K(K_{\beta}) + Ca(K_{\alpha}) = 2104054$$

$$Ca(K_{\alpha}) = 2104054 - K(K_{\beta}) = 1764879$$

3.2).- CALCULO DE AREAS.

La integración se efectuó mediante el programa de cómputo denominado JULIE, descrito anteriormente [9]. Para juzgar la validez del ajuste entre el espectro experimental y el espectro analítico, se compararon gráficamente ambos espectros, se obtuvo además el número de canal donde se sitúa el máximo, el área y la desviación estadística. Así se analizaron cada uno de los picos de todos los espectros obtenidos con leche en polvo.

3.3).- CORRECCION DE AREAS POR AUTOABSORCION.

Con este propósito se utilizó la fórmula siguiente:

$$I_o = I (e^{-\mu x \rho})_{total} \quad (14)$$

donde: I = área corregida por autoabsorción.

I_o = área del pico.

μ = coeficiente de absorción másico (cm^2/g).

x = espesor del material (cm).

ρ = densidad del material (g/cm^3).

Para las irradiaciones con protones de 3.0 MeV se utilizaron

tres absorbentes, de aluminio, de berilio y de mylar, por lo tanto se consideró que:

$$(e^{-\mu \times \rho})_{\text{total}} = (e^{-\mu \times \rho})_{\text{Al}} \cdot (e^{-\mu \times \rho})_{\text{Be}} \cdot (e^{-\mu \times \rho})_{\text{Mylar}} \quad (15)$$

En las irradiaciones con protones de 1.5 MeV, sólo se utilizaron absorbentes de berilio y de Mylar. Los valores de μ se obtuvieron en la literatura [6], para cada valor de energía de los rayos X. Los espesores fueron: 0.005185 cm del aluminio ($\rho = 2.7 \text{ g/cm}^3$), 0.0025 cm de berilio ($\rho = 1.85 \text{ g/cm}^3$) y 0.0127 cm de Mylar ($\rho = 1.38 \text{ g/cm}^3$). El Mylar es un polímero hidrocarbonado ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$), con 63% de carbono y 33% de oxígeno, con estos valores se calculó el coeficiente de absorción másico de este material.

Por ejemplo, para la línea $\text{K}\alpha$ del potasio (3.31 KeV), obtenida con protones de 1.5 MeV se consideraron los datos siguientes:

$$\mu_{\text{Be}} = 19.934 \text{ cm}^2/\text{g}$$

$$\mu_{\text{Mylar}} = 0.63\mu_{\text{C}} + 0.33\mu_{\text{O}} = 46.920$$

y con esos datos: $I = 4.84 \text{ Ia}$

$$I = (4.84) (583979.3)$$

$$I = 2826460$$

En el apéndice I se ha incluido una tabla con los valores

de los coeficientes de absorción másico y los factores de corrección para cada energía de las líneas X, que fueron calculados para el presente trabajo.

3.4).- CALCULO DE CONCENTRACIONES DE LOS ELEMENTOS.

En este trabajo se usó el programa de cómputo propuesto por Lagarde et al. [21], en la modalidad de utilizar un elemento de referencia, el cual puede ser cualquiera de los constituyentes de la muestra, de preferencia uno de los mayoritarios. En el presente trabajo se utilizó el hierro como elemento de referencia, el cual se determinó por espectrometría de absorción atómica tal como se describió antes. Se consideró a la leche como una matriz biológica que contiene 46 % de carbono, 46% de oxígeno, 5% de hidrógeno y 0.5 % de nitrógeno [11], se consideró además la presencia en la leche de otros elementos de $Z < 15$, principalmente: 0.33% de sodio (valor promedio de los reportados en las referencias 11 y 14) y 0.11 % de magnesio [14].

En el caso que se ha tomado como típico, el programa se alimentó con los siguientes datos:

Energía de los protones incidentes: 1.5 MeV

Números atómicos y áreas corregidas de los elementos identificados:

Z	A
15	7163119
17	1951225

19	2826460
20	1764879
26	1548
27	131
30	792
0	0

Número atómico y fracción atómica de los elementos constituyentes de la matriz, C, H, O, N, Na y Mg.

Z	F.A.
6	0.325
7	0.003
8	0.245
1	0.425
11	0.0013
12	0.0004
0	0

y por último, número atómico y porcentaje másico del elemento de referencia:

Z	%
26	0.000478

Los datos que se obtuvieron con este programa son: número

atómico, área, porcentaje másico y ppm ($\mu\text{g/g}$).

Los espectros obtenidos con protones de 3 MeV se trataron de una manera similar a la descrita.

3.5).- CALCULO DE LAS FLUCTUACIONES ESTADISTICAS.

Se calcularon los valores medios (\bar{X}) de los datos obtenidos y también su desviación típica (S) con dos o más pastillas de una misma muestra de leche [30].

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} \quad (16)$$

$$S = \left[\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{1/2} \quad (17)$$

El límite de sensibilidad C_{Lim} del metodo PIXE en las condiciones del presente trabajo se calcularon de acuerdo con la expresión siguiente [22]:

$$C_{Lim} = C_S \frac{3 (B)^{1/2}}{N_S - B} \quad (18)$$

donde C_s es la concentración del analito en la muestra, para el presente trabajo se escogió la más baja de todas, B es el área del fondo en la región del pico considerado y $N_s - B$ el área neta del pico del analito.

CAPITULO IV
Resultados y
Discusion.

4.1.- ANALISIS DE LECHE EN POLVO .

4.1.1.- ANALISIS CUALITATIVO.

Los espectros de rayos X que se han considerado como típicos de los diferentes tipos de leche en polvo, obtenidos en el presente trabajo, se encuentran en la figura 10 del capítulo presente y en las figuras 11, 12, 13, 14 y 15 de este capítulo. Esas figuras se refieren a los espectros obtenidos con leche en polvo entera, descremada y para lactantes, irradiadas con haces de protones de 1.5 y 3.0 MeV.

Con los protones de 1.5 MeV se identificaron en los espectros algunos de los elementos cuya Z se encuentra entre 15 y 30. En todos los tipos de leche se encontró fósforo, cloro, potasio, calcio, hierro y zinc, y sólo en algunos: cromo, cobalto, níquel y molibdeno. Los protones de 3.0 MeV generan espectros de rayos X, en los que se pueden identificar principalmente a los elementos de $Z > 24$.

En las leches en polvo se encontró generalmente: cromo, hierro, níquel y molibdeno, y sólo en algunos: cobre, galio, bromo, rubidio, estroncio y cadmio.

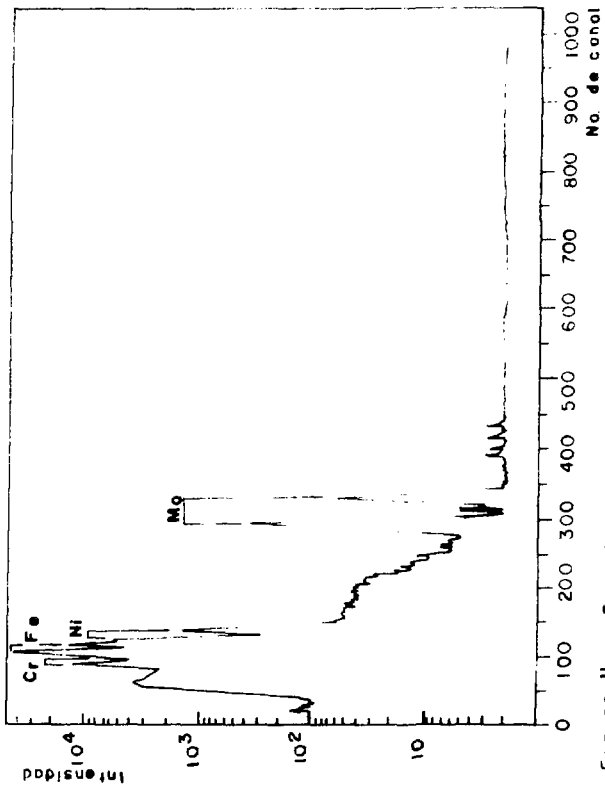


Figura II - Espectro de rayos X de la muestra EI, $E_p = 3$ MeV

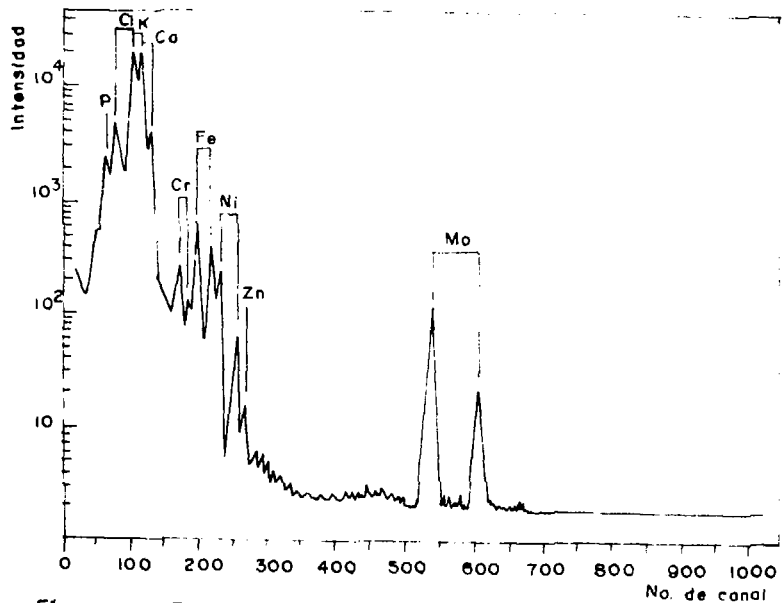


Figura 12.- Espectro de rayos X de la muestra D1, $E_p=1.5$ MeV.

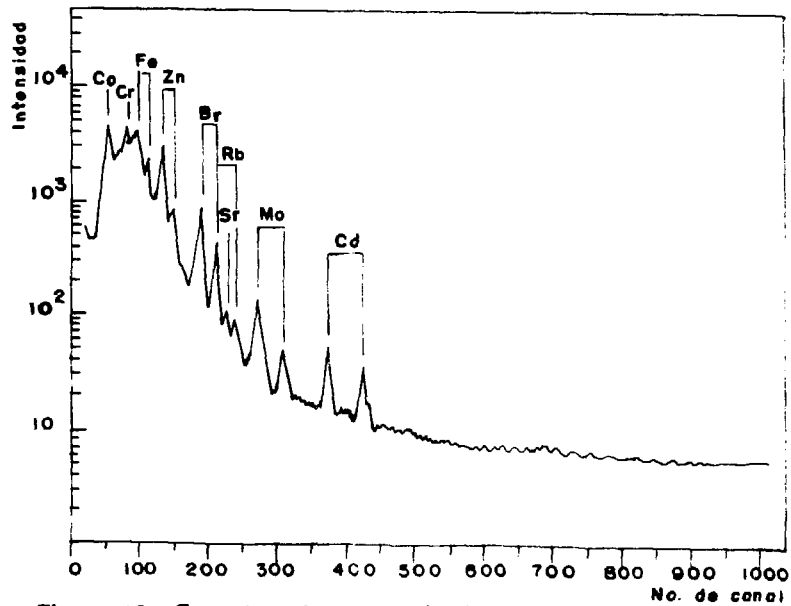


Figura 13.- Espectro de rayos X de la muestra D1, $E_p=3$ MeV.

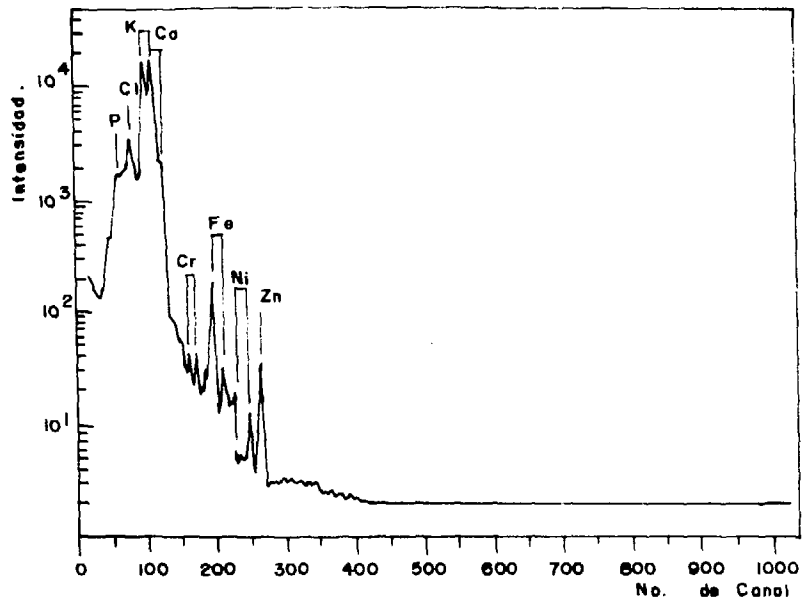


Figura 14.- Espectro de rayos X de la muestra Li, $E_p = 1.5$ MeV.

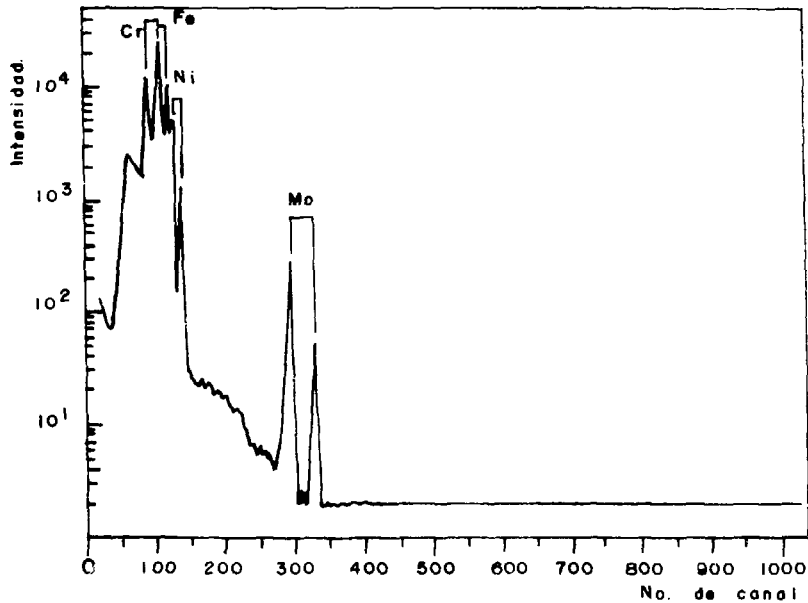


Figura 15.- Espectro de rayos X de la muestra LI, $E_p = 3$ MeV.

4.1.2.- ANALISIS CUANTITATIVO.

Los resultados del análisis cuantitativo se encuentran en las tablas 2, 3 y 4. La primera de ellas se refiere a las leches enteras y descremadas, la segunda a las leches para lactantes y la tercera a la muestra de leche, denominada A-11, certificada por el OIEA. Se incluyen en esas tablas los valores de las concentraciones de hierro, elemento que se consideró como referencia y que fue analizado mediante espectrometría de absorción atómica.

Los valores reportados son el promedio de 2 o 3 experimentos, realizados en sendas pastillas, en igualdad de condiciones. Esos promedios están acompañados de la desviación típica.

Con excepción del resultado para el cromo en la muestra L1: $2.1 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$, donde la desviación típica es alta, por lo general, los valores de este parámetro son pequeños pues representan menos del 5% del valor promedio. Sin embargo, no se puede asegurar que los resultados son reproducibles porque el número de muestras analizadas de cada leche es pequeño.

La suma de los porcentajes de los elementos mayoritarios (C, O, N, Na y Mg) no analizados en este trabajo fueron ajustados en cada caso con el programa PIXET. De acuerdo con los resultados experimentales, ese valor es de $98.5 \pm 0.9 \%$. Es necesario hacer notar aquí que el porcentaje global que representan los elementos analizados es pequeño (1.5%) y que la técnica PIXE permite analizar a los elementos que se encuentran en muy bajas concentraciones, sin interferencia de los elementos mayoritarios,

TABLA 2

Resultados del análisis cuantitativo de las muestras
de leche en polvo entera y descremada.

ELEMENTO	MUESTRA				
	E1	E2	D1	D2	D3
P (%)	0.25 ± 0.01	0.64 ± 0.04	0.37 ± 0.01	0.21 ± 0.01	1.10 ± 0.10
Cl (%)	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.36 ± 0.07
K (%)	0.02 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.57 ± 0.04
Ca (%)	0.11 ± 0.00	0.17 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.52 ± 0.05
Cr (µg/g)	1.33 ± 0.06	1.53 ± 0.06	5.7 ± 0.2	-----	1.9 ± 0.6
*Fe	4.8 ± 0.3	6.5 ± 0.2	5.3 ± 0.5	5.2 ± 0.4	76.2 ± 1.0
Co	0.7 ± 0.2	-----	-----	-----	-----
Ni	0.3 ± 0.0	0.9 ± 0.0	-----	-----	2.1 ± 0.2
Cu	-----	-----	-----	-----	-----
Zn	8.3 ± 0.5	6.6 ± 0.2	25.3 ± 2.0	1.3 ± 0.2	19.7 ± 0.7
Ga	-----	-----	-----	0.1 ± 0.0	-----
Br	-----	8.2 ± 0.5	11.8 ± 1.3	4.1 ± 0.8	13.4 ± 1.3
Rb	-----	-----	10.8 ± 0.5	1.1 ± 0.3	-----
Sr	-----	-----	0.23 ± 0.06	-----	-----
Mo	0.4 ± 0.0	7.0 ± 0.4	3.8 ± 0.2	1.1 ± 0.0	2.3 ± 0.5
Cd	-----	-----	-----	1.5 ± 0.0	-----

* Elemento analizado por E.A.A.

Nota: El número de muestras analizadas para E1 y D3 fue dos,
en el resto fue tres.

TABLA 3

Resultados del análisis cuantitativo de las muestras
de leche en polvo para lactantes.

ELEMENTO	MUESTRA				
	L1	L2	L3	L4	L5
P (%)	1.31 ± 0.00	1.27 ± 0.01	1.32 ± 0.01	0.20 ± 0.00	0.84 ± 0.02
Cl (%)	0.13 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.16 ± 0.02
K (%)	0.27 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.66 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.34 ± 0.03
Ca (%)	0.20 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.50 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.27 ± 0.03
Cr (µg/g)	2.1 ± 1.0	2.5 ± 0.7	2.3 ± 0.7	1.3 ± 0.3	5.8 ± 0.2
*Fe	64.9 ± 0.02	86.2 ± 0.8	67.5 ± 1.1	52.5 ± 0.01	86.1 ± 1.0
Co	-----	-----	-----	-----	-----
Ni	3.2 ± 0.3	5.8 ± 0.4	-----	3.7 ± 0.1	2.5 ± 0.1
Cu	-----	-----	-----	1.8 ± 0.0	-----
Zn	26.0 ± 1.1	27.2 ± 1.0	33.0 ± 0.3	37.5 ± 1.8	30.6 ± 1.7
Ga	-----	-----	-----	-----	0.7 ± 0.0
Br	-----	-----	6.9 ± 0.7	-----	-----
Rb	-----	-----	3.7 ± 0.3	-----	-----
Sr	-----	-----	1.5 ± 0.4	-----	-----
Mo	2.1 ± 0.1	3.3 ± 0.4	5.9 ± 1.0	6.5 ± 0.1	1.0 ± 0.1
Cd	-----	-----	-----	-----	1.3 ± 0.1

* Elemento analizado por E.A.A.

Nota: El número de muestras analizadas para L4 y L5 fue dos,
para el resto fue tres.

TABLA 4
Análisis cuantitativo de una muestra de
la leche en polvo A-11, certificada
por el OIEA.

ELEMENTO	MUESTRA	
	¹ A-11	² A-11
P (%)	1.10 ± 0.20	0.96 ± 0.10
Cl(%)	0.02 ± 0.00	0.91 ± 0.17
K (%)	0.05 ± 0.01	1.72 ± 0.10
Ca(%)	0.03 ± 0.01	1.29 ± 0.08
Cr(μg/g)	1.8 ± 0.2	0.257
Fe	3.65 (*)	3.65 ± 0.76
Co	-----	5 ng/g
Ni	0.65 ± 0.07	0.93
Cu	1.2 ± 0.2	0.84 ± 0.16
Zn	21.0 ± 0.4	38.9 ± 6.3
Ga	-----	-----
Br	12.5 ± 0.1	14
Rb	1.9 ± 0.6	30.8 ± 6.3
Sr	-----	5.4
Mo	1.5 ± 0.1	1.3
Cd	-----	-----

* Dato tomado de la referencia del OIEA (1980).

¹ A-11 datos experimentales.

² A-11 datos proporcionados por el OIEA.

incluso sin ningún tratamiento químico previo ni posterior al --- análisis.

Para las concentraciones en todas las leches en los elemen-- tos P, Cl, K, Ca, Cr, Fe, Ni, Zn, Br, Rb y Mo se aplicó el análi-- sis de varianza de una vía (apéndice II) y se encontró que con -- excepción del Cl, para todos los otros elementos las diferencias son estadísticamente significativas con una $P < 0,01$. Para el caso del Sr. se aplicó el mismo análisis de varianza de una vía, pero para dos muestras (apéndice II), la diferencia no fue estadística-- mente significativa.

Los resultados de Co y Cu no fueron tratados en forma esta-- dística por tener un resultado único, y los de Ga y Cd tampoco -- por tener promedios puntuales sin desviación típica es decir, el valor de ésta fue inferior al límite de sensibilidad del método - PIXE.

Con respecto a la exactitud de los resultados obtenidos, es preciso observar la tabla 4, que se refiere a los resultados obte-- nidos con la muestra de leche A-11 del OIEA.

Tal como se observó en las figuras de la 10 a la 15, el efec-- to de la atenuación de los rayos X, que se manifiesta en las re-- giones de bajas energías, es importante. Dichas regiones llegan - hasta 5 KeV, aproximadamente, en los espectros obtenidos con pro-- tones de 1.5 MeV (figuras 10, 12 y 14) y hasta 8.5 KeV con pro-- tones de 3.0 MeV (figuras 11, 13 y 15). Los picos de rayos X -- que se encuentran fuera de esas zonas se definen fácilmente y por esa razón el análisis cuantitativo de esos elementos es bastante exacto. Esa exactitud disminuye para aquellos elementos cuyos ---

picos se sitúan en las regiones mencionadas y que son: fósforo, cloro, potasio y calcio. En la tabla 4 se observa además que para dichos elementos la concordancia entre los resultados obtenidos y los certificados por el OIEA no es siempre buena y también que para los elementos del cromo en adelante ambos valores son bastante concordantes es decir, esos resultados pueden considerarse exactos.

En la tabla 5 se encuentran los valores de los límites de detección de cada uno de los elementos analizados en el presente trabajo de acuerdo con la expresión (18). Estos límites dependen principalmente de la contribución del fondo en la región del espectro de rayos X en el que se sitúan los picos de los analitos. En el presente trabajo se encontró que por lo general esos límites son muy bajos, pues con excepción del fósforo y del cloro se mantienen $\leq 1 \mu\text{g/g}$.

Es pertinente hacer notar que en el presente trabajo se analizaron 16 elementos, número comparable al reportado por Asubiojo et al., quienes analizaron 17 elementos en muestras de leche en polvo para lactantes, mediante activación neutrónica. Los reportes de análisis de leche en polvo por PIXE de A.B. Hallak y de A. Gharib, indican la presencia de 9 y 7 elementos, respectivamente. En ninguno de los trabajos mencionados, se reporta la presencia de estroncio, molibdeno y cadmio, analizados los tres en el presente trabajo. Hallak menciona diferencias entre las concentraciones de las leches enteras y las descremadas.

En el presente trabajo se aplicó la prueba de Scheffé para el análisis de variancia entre grupos (apéndice II) para estable

TABLA 5

Limite de detección del método
PIXE, en el presente trabajo.

ELEMENTO	SENSIBILIDAD ($\mu\text{g/g}$)
P	612
Cl	12
K	1
Ca	9
Cr	0.5
Fe	---
Co	0.3
Ni	0.06
Cu	0.3
Zn	0.2
Ga	0.08
Br	0.3
Rb	0.05
Sr	0.09
Mo	0.008
Cd	1

cer las diferencias estadísticamente significativas, tal como se observa en el mismo apéndice II, no existen diferencias estadísticamente significativas en el contenido de varios elementos entre E1, E2, D1 y D2, y que también en la mayoría de los casos la concentración de los elementos presentes en D3 son similares a los de leches para lactantes.

4.1.3.- ASPECTO NUTRICIONAL.

De los elementos analizados en el presente trabajo, algunos han sido considerados desde hace mucho tiempo como parte de las sustancias nutritivas requeridas por el organismo humano y para otros esa consideración es más reciente. Todos participan, cuando se encuentran en concentraciones adecuadas en funciones vitales del organismo humano y algunos son perjudiciales cuando se ingieren en concentraciones elevadas [5, 15, 23].

La definición de un metal tóxico [5] indica que es aquél que al exceder de cierta concentración resulta perjudicial para el crecimiento o el metabolismo de las células. En la tabla 6 se encuentran los valores de la razón dietética diaria recomendada (RDDR) [23], por la Comisión de Alimentos y Nutrición del Consejo de Investigación Norteamericano para cada elemento y en algunos casos los límites de toxicidad. En esa tabla se encuentran también los valores calculados en mg/día de cada elemento por la ingestión de leche. Para ese cálculo se consideró que un recién nacido de 3 Kg consume diariamente 60 g de leche en polvo [29] y en particular se tomaron los datos de la muestra L1 que es para lactantes de primera edad. Existen algunas diferencias en los componentes de bajo peso molecular, aquellos que se determinaron con poca exactitud y en cambio se nota que los elementos del cromo en adelante se encuentran todos dentro de los límites establecidos como ración dietética diaria recomendada (RDDR).

TABLA 6

ELEMENTO	DOSIS NUTRICIONAL(mg/día)	
	EXPERIMENTAL Li	RDDR
P	786	800
Cl	78	1700 - 5100
K	162	1900 - 5600
Ca	120	800
Cr	0.13	0.05 - 0.20
Fe	3.9	10
Co	---	0.2
Ni	0.19	0.17 - 0.70
Cu	---	500 - 200
Zn	1.56	15
Ga	---	No establecido
Br	---	(3000)*
Rb	---	No establecido
Sr	---	No establecido
Mo	0.126	0.15 - 0.50
Cd	---	No establecido

(*) Nivel de toxicidad.

4.2.- ANALISIS DE LOS ENVASES

4.2.1.- ANALISIS CUALITATIVO.

Los espectros de rayos X que se han considerado como típicos de los envases metálicos que contenían a algunas de las leches en polvo, obtenidos al irradiarlos con haces de protones de 1.5 y -- 3.0 MeV de energía, se encuentran en las figuras 16, 17, 18 y 19.

En la tabla 7 se reportan los elementos que se identificaron en los diferentes tipos de envases que contenían a las leches en polvo. En esa tabla se observa que en todas las muestras metáli--cas analizadas se encuentran el hierro y el cromo, ambos constituyentes mayoritarios del acero inoxidable. En los envases de las - leches L1, L2, L3, E1 y D2, se encontró además escandio, titanio, cobre, zinc, galio y zirconio. Este material contiene básicamente aluminio, pero este elemento no fue detectado en las condiciones experimentales del presente trabajo, debido a la presencia del --absorbedor del aluminio colocado sobre la ventana del detector -- de Si(Li).

En los envases de las leches L4, L5 y E2, se encontró además del hierro y el cromo, al escandio y al estaño.

Los elementos que fueron identificados en los envases son -- todos comunes en los materiales metálicos.

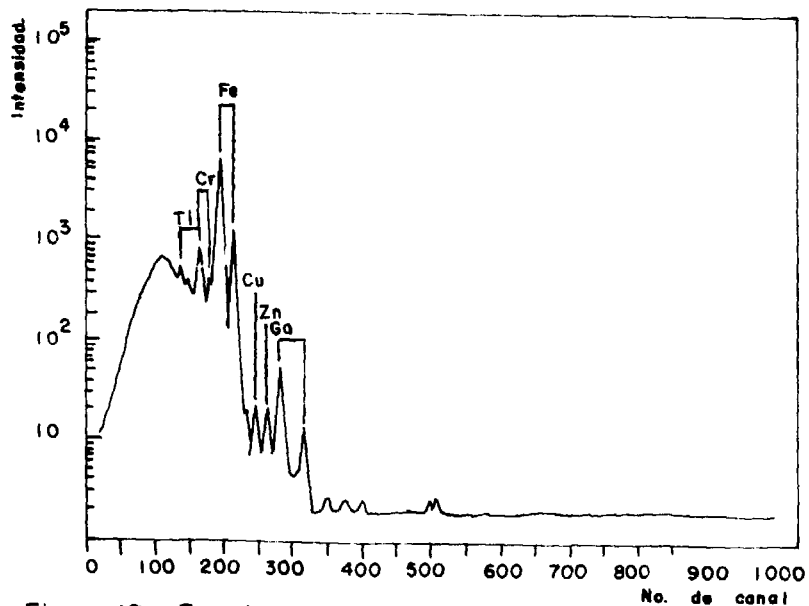


Figura 16.- Espectro de rayos X, del envase metálico que contiene a la muestra Li, $E_p = 1.5$ MeV.

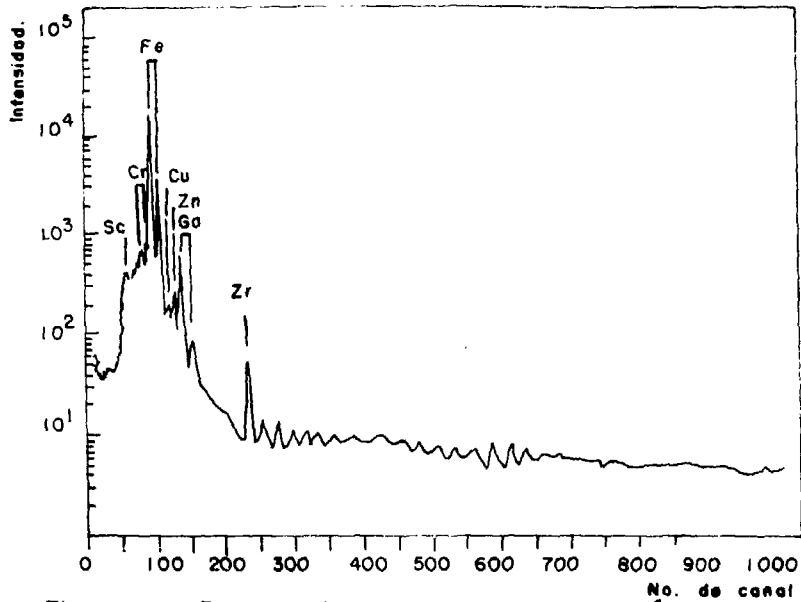


Figura 17.- Espectro de rayos X, del envase metálico que contiene a la muestra Li, $E_p = 3 \text{ MeV}$.

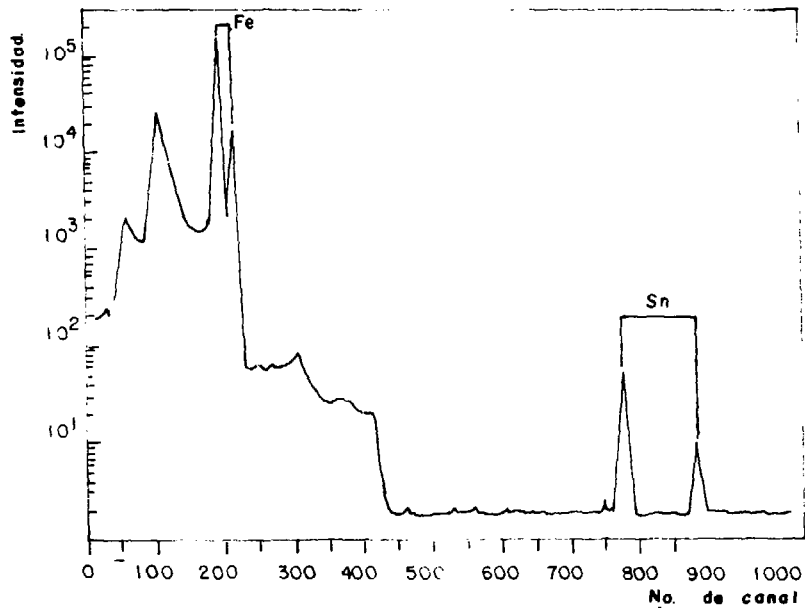


Figura 18.- Espectro de rayos X, del envase metálico que contenía a la muestra L4, $E_p=1.5$ MeV.

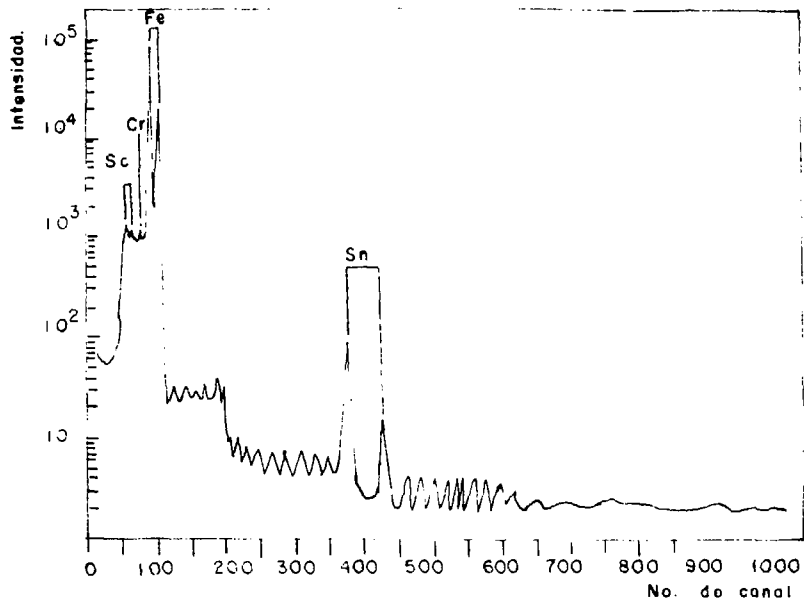


Figura 19.—Espectro de rayos X, del envase metálico que contenía a la muestra L4, $E_p = 3$ MeV.

TABLA 7

Análisis cualitativo de los envases.

ELEMENTO	MUESTRA							
	L1	L2	L3	E1	D2	L4 (*)	L5 (*)	E2 (*)
Sc	SI	SI	SI	--	SI	SI	--	SI
Ti	SI	SI	SI	SI	SI	--	--	--
Cr	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Fe	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Cu	SI	SI	SI	SI	SI	--	--	--
Zn	SI	SI	SI	SI	SI	--	--	--
Ga	SI	SI	SI	SI	SI	--	--	--
Zr	SI	SI	SI	SI	SI	--	--	--
Sn	--	--	--	--	--	SI	SI	SI

(*) muestras tomados de las paredes laterales del envase.

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

1).- Las condiciones para el método PIXE. Utilizadas en el presente trabajo, son adecuadas para el análisis multielemental de muestras biológicas tales como la leche en polvo. Este tipo de muestras no requirió de ningún tratamiento previo a la irradiación protónica.

2).- Los elementos mayoritarios: C, H, O, Na y Mg (98.5%) no interfieren en la determinación de los elementos menos abundantes. El método PIXE permitió analizar a algunos elementos en concentraciones hasta de 100 ng/g. Los resultados son precisos.

3).- Las concentraciones de los elementos que se evaluaron se sitúan dentro de los intervalos normales, necesarios para la nutrición humana.

APENDICE I

APENDICE I.

Coefficientes de absorción másico y factores de corrección (F.C.), para diferentes valores de energía de rayos X.

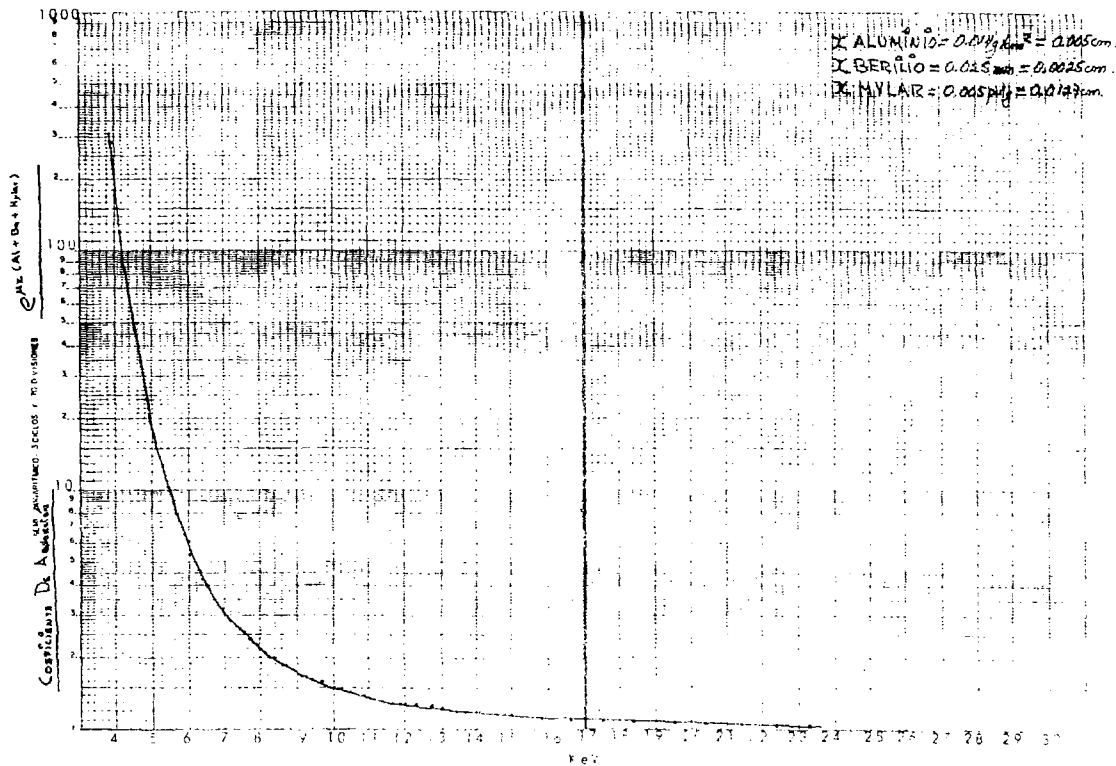
$$e^{\mu \rho}_{TOTAL} = e^{\mu \rho}_{Al} + e^{\mu \rho}_{Be} + e^{\mu \rho}_{Mg} + e^{\mu \rho}_{Si}$$

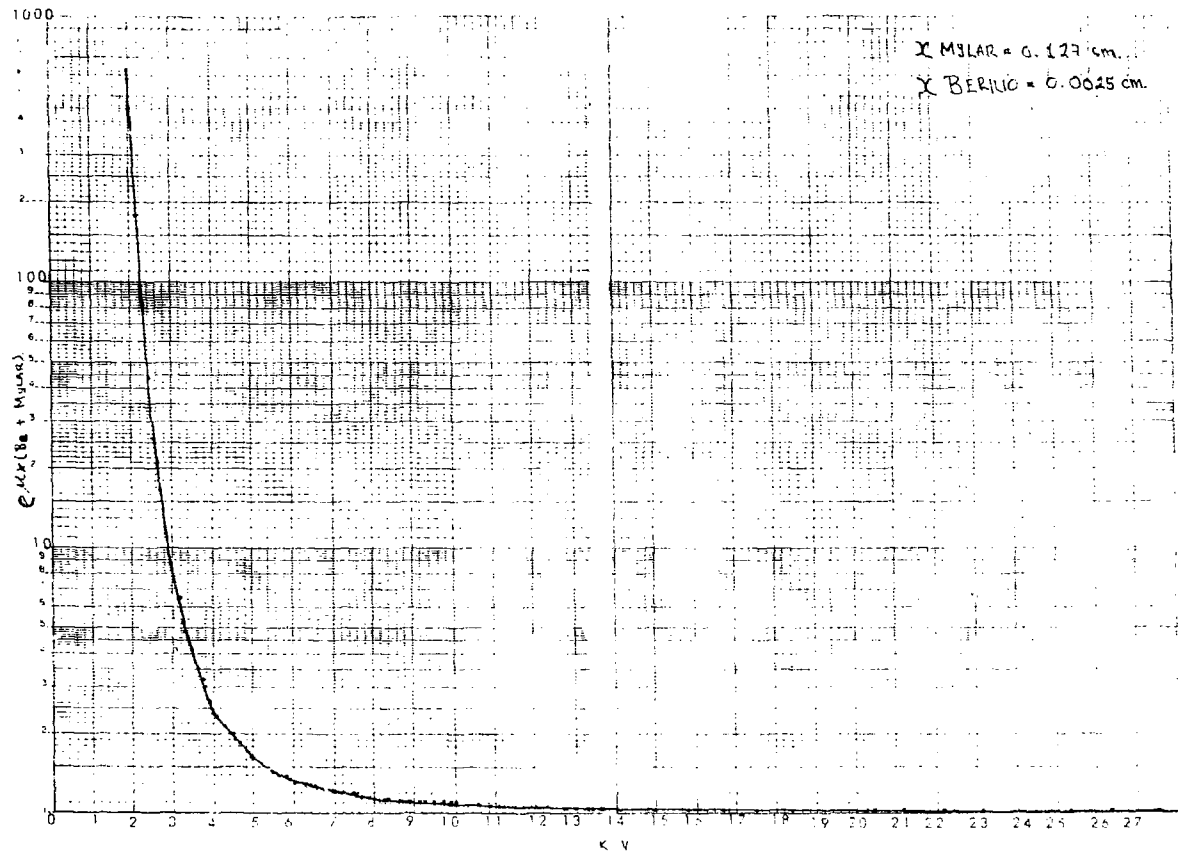
Energía del Rayo-X (KeV)	μ_{Al} cm ² /g	μ_{Be} cm ² /g	μ_C cm ² /g	μ cm ² /g	$e^{\mu \rho}_{TOTAL}$ (F. C.) 1.5 MeV	$e^{\mu \rho}_{TOTAL}$ (F. C.) 3.0 MeV
2.56	1119.777	41.215	127.910	286.618	26.066	1.7-8
2.62	1043.063	38.391	119.147	266.982	20.840	4.6-7
2.70	962.986	35.444	110.000	246.486	16.510	1.2-7
2.84	835.472	30.751	95.434	213.841	11.400	1.4-6
2.96	744.714	27.410	85.067	190.617	8.74	3.0-5
2.98	726.269	26.731	82.960	185.896	8.30	2.2-5
3.13	633.296	23.309	72.340	162.098	6.50	44803
3.29	553.716	20.380	63.250	141.729	5.15	11662
3.31	541.586	19.934	61.864	138.624	4.84	9502.3
3.44	487.153	17.930	55.646	124.691	4.13	3781.7
3.60	428.105	15.757	48.901	109.577	3.50	1394.4
3.69	400.342	14.735	45.730	102.471	3.21	872.0
3.77	377.592	13.897	43.131	96.648	3.00	593.0
3.94	334.135	12.298	38.167	85.525	2.646	284.640
4.09	300.364	11.055	34.310	76.881	2.396	160.613
4.11	296.425	10.910	33.860	75.873	2.369	150.272

4.29	262.924	9.677	30.033	67.298	2.151	85.348
4.47	234.291	8.623	26.762	59.969	1.979	52.592
4.51	228.423	8.407	26.092	58.467	1.946	47.640
4.65	209.619	7.715	23.944	53.654	1.842	34.663
4.84	187.649	6.906	21.434	48.030	1.727	23.881
4.95	175.884	6.473	20.091	45.019	1.669	19.569
5.03	160.059	6.185	19.197	43.016	1.631	17.153
5.23	150.928	5.555	17.244	38.631	1.552	12.842
5.42	136.976	5.041	15.646	35.060	1.489	10.139
5.43	135.723	4.995	15.503	34.739	1.484	9.924
5.64	122.504	4.509	13.993	31.356	1.428	7.937
5.85	110.671	4.073	12.641	28.327	1.381	6.499
5.90	107.778	3.966	12.311	27.587	1.368	6.187
6.05	100.032	3.681	11.426	25.604	1.338	5.427
6.27	90.735	3.339	10.364	23.224	1.301	4.634
6.40	85.630	3.151	9.781	21.917	1.284	4.259
6.50	82,255	3.027	9.395	21.054	1.271	4.020
6.72	74.826	2.754	8.547	19.152	1.244	3.548
6.94	68.635	2.526	7.840	17.568	1.221	3.193
6.95	68.048	2.504	7.773	17.417	1.219	3.162
7.18	62.136	2.287	7.097	15.904	1.199	2.862
7.42	56.807	2.090	6.489	14.540	1.193	2.641
7.48	55.467	2.041	6.335	14.197	1.174	2.554
7.66	51.960	1.912	5.935	13.299	1.163	2.407
7.89	47.712	1.756	5.450	12.212	1.149	2.241
8.05	45.161	1.662	5.158	11.559	1.141	2.146
8.15	43.644	1.606	4.985	11.171	1.135	2.090

8.40	40.109	1.476	4.581	10.266	1.124	1.971
8.64	37.032	1.363	4.230	9.478	1.114	1.870
8.65	36.888	1.357	4.213	9.441	1.113	1.864
8.91	34.013	1.215	3.885	8.706	1.105	1.778
9.18	31.279	1.151	3.573	8.006	1.094	1.696
9.25	30.565	1.125	3.491	7.823	1.092	1.676
9.44	28.905	1.063	3.301	7.398	1.087	1.630
9.71	26.735	0.995	3.053	6.843	1.081	1.571
9.89	25.383	0.955	2.899	6.497	1.076	1.535
10.01	24.590	0.920	2.808	6.294	1.074	1.515
10.27	22.815	0.855	2.606	5.839	1.068	1.470
10.55	21.134	0.795	2.421	5.425	1.064	1.432
10.56	21.134	0.790	2.414	5.409	1.064	1.430
10.84	19.634	0.740	2.242	5.025	1.058	1.392
11.14	18.213	0.695	2.080	4.661	1.054	1.360
11.22	17.800	0.675	2.033	4.556	1.053	1.351
11.43	16.922	0.650	1.933	4.331	1.050	1.330
11.73	15.737	0.610	1.797	4.028	1.047	1.305
12.04	14.648	0.575	1.673	3.749	1.044	1.283
12.35	13.643	0.545	1.558	3.492	1.041	1.260
12.65	12.729	0.515	1.454	3.258	1.037	1.239
12.66	12.723	0.515	1.453	3.256	1.037	1.239
12.98	11.869	0.487	1.355	3.038	1.035	1.222
13.30	11.062	0.465	1.263	2.831	1.033	1.207
13.39	10.844	0.458	1.236	2.775	1.032	1.201
13.64	10.339	0.440	1.181	2.646	1.031	1.192
14.67	9.273	0.407	1.059	2.373	1.028	1.171

14.98	7.961	0.372	0,930	2.037	1.024	1.144
15.78	6.866	0.340	0.798	1.757	1.021	1.124
16.62	5.932	0.310	0.700	1.518	1.018	1.105
17.49	5.147	0.288	0.615	1.317	1.015	1.091
18.37	4.480	0.269	0.550	1.146	1.014	1.080
19.28	3.912	0.250	0.495	1.001	1.012	1.069
20.23	3.425	0.237	0.455	0.890	1.011	1.060
21.20	3.007	0.225	0.409	0.786	1.010	1.053
22.18	2.647	0.214	0.380	0.700	1.009	1.047
23.17	2.337	0.203	0.355	0.630	1.009	1.042
24.21	2.067	0.191	0.328	0.568	1.008	1.037
25.30	1.833	0.189	0.303	0.517	1.007	1.033
26.38	1.629	0.184	0.285	0.472	1.007	1.027
27.49	1.451	0.178	0.270	0.433	1.006	1.026
28.63	1.295	0.174	0.255	0.400	1.006	1.024
29.80	1.158	0.169	0.242	0.375	1.006	1.022
31.00	1.037	0.167	0.232	0.350	1.005	1.020
32.20	0.952	0.165	0.222	0.330	1.005	1.018
33.50	0.850	0.163	0.212	0.305	1.005	1.017





Gráfica de los coeficientes de absorción másico para haces de protones de 3 MeV de energía.

APENDICE II

APENDICE II.

1).- Ejemplo de la prueba F de una vía aplicada al elemento fósforo [30].

MUESTRA	N	\bar{X}	S	$n_i (X_i - \bar{X})^2$	$(n_i - 1)S_i^2$
E1	2	0.25	0.01	0.55	0.0001
E2	3	0.64	0.04	0.05	0.0032
D1	3	0.37	0.01	0.49	0.0004
D2	3	0.21	0.01	0.95	0.0004
D3	2	1.1	0.1	0.21	0.01
L1	3	1.31	0.0	0.86	0.00
L2	3	1.27	0.01	0.73	0.0002
L3	3	1.32	0.01	0.87	0.0002
L4	2	0.2	0.0	0.66	0.00
L5	2	0.84	0.02	0.008	0.0004

$$\Sigma = \frac{26}{}$$

$$SSA = 5.42 \quad SSE = 0.0145$$

$$N = 26$$

$$k = 10$$

$$\bar{X}_1 = \frac{\sum n_i X_i}{\sum n_i} = \frac{20.14}{26} = 0.774$$

Los cálculos en un problema de análisis de variancia se resumen generalmente en forma tabular, como se muestra en la siguiente tabla:

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
TRATAMIENTO	SSA	$k - 1$	$S_1^2 = \frac{SSA}{k - 1}$	$\frac{S_1^2}{S^2}$
ERROR	SSE	$N - k$	$S^2 = \frac{SSE}{N - k}$	
TOTAL	SST	$N - 1$		

En el presente ejemplo quedaría de la siguiente manera:

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
TRATAMIENTO	9	5.42	0.60	664
ERROR	16	0.0145	0.0009	
TOTAL	25	5.4345		

$F_{0.01}(9,16)$ en dos colas = 7.56

En este ejemplo $F > F_{0.01}$ por lo tanto la concentración del P en los diez diferentes tipos de leche es estadísticamente significativa a un α de 0.01.

3).- Ejemplo de la prueba F de una vía para dos muestras: Sr.

	D1	L3	$(D1)^2$	$(L3)^2$
	0.3	1.4	0.09	1.96
	0.2	1.2	0.04	1.44
	0.2	2.0	0.04	4.00
$\Sigma =$	0.7	4.6	0.17	7.4

$$\bar{X} = 0.23 \quad 1.53$$

$$\Sigma X_e^2 = \frac{(0.7)^2}{3} + \frac{(4.6)^2}{3} - \frac{(5.3)^2}{6} = 2.535$$

$$\Sigma X_r^2 = 0.17 + 7.4 - \frac{(5.3)^2}{6} = 2.8883$$

$$\Sigma X_d^2 = 2.888 - 2.535 = 0.353$$

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
TRATAMIENTO	1	2.535	2.535	23.73
ERROR	4	0.353	0.08825	
TOTAL	5	2.888		

$F_{(0.01)}(1,4) = 42.4$ (en dos colas), por lo tanto se concluye -- que la concentración de Sr en estas dos muestras no es estadísticamente significativa a un α de 0.01.

2).- Para los casos que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó como método interno de la prueba F de una vía, el de Scheffé, el cual se utiliza para evaluar - comparaciones arbitrarias entre cada uno de los grupos.

$$\hat{\sigma} = [\text{Error Cuadrado Medio}]^{1/2}$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\hat{\sigma} \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]^{1/2}}$$

$$(F_{(0.01)})_s = \left[(k - 1) F_{0.01}(k-1, N-k) \right]^{1/2}$$

Por ejemplo, para el P en L1 y L2, el error cuadrado medio - calculado antes es 0.0009, por lo que:

$$\hat{\sigma} = 0.012$$

$$t = \frac{1.31 - 1.27}{0.03 (1/3 + 1/3)^{1/2}} = 1.63$$

$$(F_{0.01})_s = [(9) F_{0.01} (9,16)]^{1/2} = [9(3.78)]^{1/2} = 5.8$$

Debido a que $t < (F_{0.01})_s$, se concluye que la diferencia en la concentración de P entre las muestras L1 y L2 no es significativa.

Los resultados de las comparaciones entre grupos con la prueba de Scheffé se dan a continuación, por cada elemento. Las líneas que agrupan a dos o más valores, representan que la diferencia entre ellos no es estadísticamente significativa.

P

L3	L1	L2	D3	L5	E2	D1	E1	D2	L4
<u>1.32</u>	<u>1.31</u>	<u>1.27</u>	<u>1.10</u>	<u>0.84</u>	<u>0.64</u>	<u>0.37</u>	<u>0.25</u>	<u>0.21</u>	<u>0.20</u>

K

L3	D3	L2	L5	L1	E2	D1	D2	L4	E1
<u>0.66</u>	<u>0.57</u>	<u>0.34</u>	<u>0.34</u>	<u>0.27</u>	<u>0.23</u>	<u>0.16</u>	<u>0.10</u>	<u>0.09</u>	<u>0.02</u>

Ca

D3	L3	L2	L5	L1	E2	D1	E1	D2	L4
<u>0.052</u>	<u>0.50</u>	<u>0.30</u>	<u>0.27</u>	<u>0.20</u>	<u>0.17</u>	<u>0.12</u>	<u>0.11</u>	<u>0.08</u>	<u>0.06</u>

Cr

L5	D1	L2	L3	L1	D3	E2	E1	L4
<u>5.80</u>	<u>5.70</u>	<u>2.50</u>	<u>2.30</u>	<u>2.10</u>	<u>1.90</u>	<u>1.53</u>	<u>1.33</u>	<u>1.30</u>

Fe

L2	L5	D3	L3	L1	L4	E2	D1	D2	E1
<u>88.2</u>	<u>86.1</u>	<u>76.2</u>	<u>67.5</u>	<u>64.9</u>	<u>52.5</u>	<u>6.2</u>	<u>5.3</u>	<u>5.2</u>	<u>4.8</u>

Ni

L2	L4	L1	L5	D3	E2	E1
<u>5.8</u>	<u>3.7</u>	<u>3.2</u>	<u>2.5</u>	<u>2.1</u>	<u>0.9</u>	<u>0.3</u>

Zn

L4	L3	L5	L2	L1	D1	D3	E1	E2	D2
<u>37.5</u>	<u>33.0</u>	<u>30.6</u>	<u>27.2</u>	<u>26.0</u>	<u>25.3</u>	<u>19.7</u>	<u>8.5</u>	<u>6.6</u>	<u>1.3</u>

Br

D3	D1	E2	L3	D2
<u>13.4</u>	<u>11.8</u>	<u>8.2</u>	<u>6.9</u>	<u>4.1</u>

Rb

D1	L1	D2
<u>10.8</u>	<u>3.7</u>	<u>1.1</u>

Mo

E2	L4	Le	D1	L2	D3	L1	L5	D2	E1
<u>7.0</u>	<u>6.5</u>	<u>5.9</u>	<u>3.8</u>	<u>3.3</u>	<u>2.5</u>	<u>2.1</u>	<u>1.8</u>	<u>1.1</u>	<u>0.4</u>

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1].- C. Alais, *Ciencia de la leche*, Edit. CECSA, Méx. D. F. -----
15-17, 151-161, (1984).
- 2].- F. Aldape Ugalde, *Un nuevo método de calibración de un sistema de detección de rayos X para el análisis PIXE*, Tesis UNAM, México. 8-10, 13-15, 32-36 (1986).
- 3].- G. Aluster y D.G. Easterly. *Atomic Absortion Newls*, 9,93 (1970).
- 4].- J.B. Bearden, *Reviews of Modern Physics*, 39 (1), 78-123 (1967).
- 5].- Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS, OMS. *Evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales*. Edit. Limusa, Méx. D. F., 43 (1988).
- 6].- R.D. Deuley, *Handbook of X-ray and Microprobe Data*, New York, pergamon, 323-352 (1966).
- 7].- M. N. Doronie y R. W. Heath, *Métodos estadísticos aplicados*.
- 8].- F. Folkmann. *J. Physics G. Scientifics Instruments*, 8, 429-444 (1975).
- 9].- M. C. Fernández Barajas, *Separación de Gaussianas Traslapantes*, Informe Técnico, Acel-9035, ININ México (1990).
- 10].- A. Gharib, H. Rahimi, H. Pyrovan, N. J. Roaffi, M. Taherpoor, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles 89(1)*, 31-44 (1985).
- 11].- A. B. Hallak, *Journal of Radioanalytical Chemistry*, 77

- (1), 201-205 (1983).
- 12].- Harper and Rev. Publication Inc. (1973).
- 13].- P. Hiriart y Valencia, Aplicación y optimización de una técnica microanalítica de rayos X, de utilidad en aplicaciones interdisciplinarias, Tesis UNAM, México. 1-5 (1978).
- 14].- OIEA, Hoja de información, material de referencia A-11, Lab/243 (1980).
- 15].- OIEA, Análisis elemental de materiales biológicos, Technical Reports Series No. 197, 1-16 (1980).
- 16].- J. L. Iturbe, Analyse du Tellurure de Cadmium Basée sur la Fluorescence X excitée par des ions Ar et Kr, Université Louis Pasteur de Estrasburgo Francia, 16 (1981).
- 17].- J.S. Fritz, G.H. Schenk, Química Analítica Cuantitativa, Edit. Limusa, México D.F., 563-574 (1979).
- 18].- T. B. Johansson, R. Akselsson and S.A.E. Johansson, Nucl. Instr. and Methods, 84, 141 (1970).
- 19].- J.A. Aspiazu Fabián, Análisis Cuantitativo de trazas de elementos por la técnica PIXE. Tesis UNAM, México, 89 - (1985).
- 20].- Kirk and Othmer, Enciclopedia de Tecnología Química, Tomo X. Edit. UTEHA, México D. F. 1-10, 30-35, 61-65 (1969).
- 21].- G. Lagarde, J. Cailleret and C. Heitz, Nuclear Instruments and Methods, 205, 545 (1983).
- 22].- G. Lagarde J. Larcher, J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters,-- 105 (6) 341-350 (1986).
- 23].- J. M. Orten O. W. Neuhaus, Bioquímica Humana, Edit. Médica

Panamericana, 10ª edición, Méx. D.F., 730-757 (1984).

- 24].- Proceedings of the International Conference on Particles Induced X-ray Emission and its Analytical Applications. Nucl. Instr. and Methods in Physics, 142, Nos 1 y 2 (1977).
- 25].- Proceedings of the Third International Conference on PIXE and its Analytical Applications. Nucl. Instr. and Methods in Physics Research. 231 (B3) Nos 1-3 (1984).
- 26].- S.I. Salem, S.L. Panassian and R.A. Krause. Atomic Data and Nuclear Data Tables, 14, 91-109 (1974).
- 27].- D. A. Skoog and D. M. West, Análisis Instrumental, Edit. Limusa, México D. F., 117-132 (1982).
- 28].- M. Kwadow, Analyse d'elements traces par emission X induite par particules lourdes, Tesis, Université Louis Pasteur, Estrasburgo Francia, 43, 71, 72 (1978).
- 29].- R. H. Valenzuela, J. Lucnga, L. Marguet, Manual de Pediatría, 9 edición, Edit. Interamericana (1975).
- 30].- R. E. Walpole y R. H. Myers, Probabilidad y estadística para ingenieros, Edit. Interamericana, Méx. D. F. 462-487 (1987)
- 31].- J. N. Warner, Principios de la tecnología de lácteos, AGT Editor S.A., Méx. D. F., 15-18, 189 (1980).
- 32].- S. Willenstein, C. L. Zucter, J. L. Fleiss, Circulation Reserch, 47 (1980).