



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS**

**“VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR Pb, Cd, Ni POR  
ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA EN AGUA Y SUELO”**

Trabajo de titulación para optar el grado académico de:  
**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORES: JESSICA XIMENA SANMIGUEL TORRES**  
**SANTIAGO RICARDO GUERRERO CARRERA**

**TUTORA: Dra. Yolanda Dolores Díaz Heredia.**

Orellana - Ecuador

2017

©2017, Jessica Ximena Sanmiguel Torres y Santiago Ricardo Guerrero Carrera.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Nosotros, Jessica Ximena Sanmiguel Torres y Santiago Ricardo Guerrero Carrera, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autores, asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 16 de Junio de 2017

**Jessica Ximena Sanmiguel Torres**

220008102-0

**Santiago Ricardo Guerrero Carrera**

180463648-6

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR Pb, Cd, Ni POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA EN AGUA Y SUELO”, es responsabilidad de la Srta. Jessica Ximena Sanmiguel Torres y el Sr. Santiago Ricardo Guerrero Carrera, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
DRA. YOLANDA DOLORES DIAZ HEREDIA. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	_____	_____
BQF.GISELA PILCO <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	_____	_____

Nosotros, Jessica Ximena Sanmiguel Torres y Santiago Ricardo Guerrero Carrera, somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**Jessica Ximena Sanmiguel Torres**

220008102-0

**Santiago Ricardo Guerrero Carrera**

180463648-6

## **DEDICATORIA**

A mis padres por el amor incondicional que me han sabido obsequiar, por las traspasadas que les he hecho pasar desde el momento en que llegue a sus vidas, por la lucha del día a día para darme el estudio y así poder ser alguien con un futuro prometedor.

A mis hermanos que de una u otra manera me brindaron un apoyo sincero durante mi fase de estudio en la universidad.

A mis abuelitos por su cariño, ternura y amor porque siempre han tenido fé que lograría culminar mis estudios.

En especial a una personita que llegó a mi vida a ti mi pequeña bebe, te amo, tú eres y serás la esperanza para nunca darme por vencida.

**Jessica Sanmiguel.**

A mis padres por el apoyo incondicional durante este proceso, sus ánimos, consejos, cariño y respaldo total a mis decisiones y proyectos de vida.

A mis hermanos por ser mi impulso a ser cada vez mejor para brindarles un ejemplo de superación.

En especial con mucho cariño dedico a mis abuelitos que fueron los propulsores principales para ser cada vez mejor personalmente así como profesionalmente toda mi gratitud a estos maravillosos seres que Dios puso en mi vida y que hoy ya se encuentran junto a él, principalmente a mi abuelita que partió en el trayecto de este proyecto, espero que se sientan orgullosos desde donde se encuentren. Mi promesa esta cumpliéndose.

**Santiago Guerrero.**

## AGRADECIMIENTO

Al ser supremo de nuestra existencia, al arquitecto de nuestra vida Dios, no consigo palabras que transmitan cuan agradecida estoy por guiarme en el camino del bien, por darme la fortaleza y la paciencia para seguir adelante en momentos difíciles y así culminar esta etapa de mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Extensión Norte Amazónica por brindarme en sus aulas enseñanzas donde día a día mis maestros, supieron fundar semillas de inquietud y vastos conocimientos en mí que me servirán tanto en el campo profesional como personal.

Deseo hacer un sincero agradecimiento a la Doctora Yolanda Díaz por aceptar dirigirme en este proyecto de titulación, por mostrar su apoyo, confianza y su capacidad para guiar, ha sido un aporte invaluable.

A la BQF. Gissela Pilco miembro del tribunal por sus oportunas asesorías durante la realización de esta tesis.

**Jessica Sanmiguel.**

Agradezco A Dios por permitirme vivir esta experiencia de formación Académica con grandes resultados además de iluminar las metas propuestas siendo el principal autor del desarrollo de este proyecto.

Agradezco a los docentes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por la guía teórica y social en el transcurso de nuestra preparación profesional, por su paciencia y empeño en lograr que adquiramos los conocimientos necesarios.

Al personal Administrativo y Técnico del Laboratorio Aqlab en la ciudad de Francisco de Orellana por haber permitido que este proyecto sea llevado a cabo dentro de su institución, dándonos todas las pautas teóricas necesarias y el apoyo personal para continuar y obtener con éxito los resultados de este proyecto.

**Santiago Guerrero**

## TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	xvi
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT .....	xviii
CAPÍTULO I	
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Justificación del proyecto.....	2
1.2. Objetivos .....	3
1.2.1. Objetivo General .....	3
1.2.2. Objetivos Específicos.....	3
CAPITULO II	
2. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1. Antecedentes de la Investigación .....	4
2.2. Marco conceptual .....	4
2.2.1 Metales Pesados. ....	4
2.2.1.1. Importancia del análisis de metales pesados. ....	5
2.2.1.2. Fuentes de contaminación por metales pesados. ....	5
2.2.1.3. Características y consecuencias .....	6
2.2.2. El Agua.....	7
2.2.2.1. Introducción .....	7
2.2.2.1. Características y propiedades .....	8
2.2.2.2. Calidad del agua.....	9
2.2.3. Suelo.....	10
2.2.3.1. Introducción .....	10
2.2.3.2. Características y propiedades generales del suelo .....	12
2.2.3.3. Calidad del suelo .....	13
2.2.4. Normativas Ambientales.....	15
2.2.4.1. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente.....	15
2.2.4.1.1. Anexo 1 del libro VI del TULSMA: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua.....	15
2.2.4.1.2. Anexo 2 del libro VI del TULSMA: norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.....	17
2.2.4.2. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108:2014.....	18
2.2.4.3. Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador 1215.....	18

2.2.5. Espectrometría de Absorción Atómica.....	19
2.2.5.1. Definición.....	19
2.2.5.2. Principio.....	20
2.2.5.3. Fundamento.....	20
2.2.5.4. Instrumentos.....	21
2.2.5.5. Aplicación.....	21
2.2.5.6. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.....	22
2.2.5.7. Descripción de la técnica de EAA.....	23
2.2.5.8. Fuentes de radiación.....	23
2.2.5.9. Niveles cuánticos en átomos.....	23
2.2.5.10. Lámpara de cátodo hueco.....	24
2.2.5.11. Lámparas individuales y de multielementos.....	24
2.2.5.12. Lámpara de descarga sin electrodos.....	25
2.2.5.13. Comparación entre lámparas de cátodo hueco y lámparas de descarga sin electrodos.....	25
2.2.5.14. Nebulizador.....	26
2.2.5.15. Quemador.....	27
2.2.5.15.1. Tipos de quemadores.....	27
2.2.5.15.2 Tipos de flamas.....	27
2.2.5.16. Interferencias espectrales.....	28
2.2.5.17. Interferencias no espectrales.....	29
2.2.6. Validación e Incertidumbre.....	29
2.2.6.1. Métodos y Guías de Referencia.....	29
2.2.6.2. Validación de Métodos.....	31
2.2.6.3. Parámetros relacionados con la calidad de un método analítico.....	32
2.2.6.4. Curva de Calibración.....	36
2.2.6.4.1. Función respuesta / linealidad.....	36
2.2.6.5. Criterios Generales para la Validación de un Método.....	38
2.2.6.6. Incertidumbre.....	40
2.2.6.6.1 Definición.....	40
2.2.6.6.2. Tipos de Incertidumbre.....	40
2.2.6.6.4. Contribuciones de la Incertidumbre.....	43
2.2.6.6.5. Formas de expresar la incertidumbre.....	44

### CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA.....	45
3.1. Marco Metodológico.....	45
3.1.1. Tipo y diseño de la investigación.....	45
3.1.2. Descripción del sitio de trabajo.....	45

3.1.3. Unidad de análisis .....	45
3.1.4. Técnicas de recolección de datos.....	45
3.1.5. Técnicas e Instrumentos Analíticos.....	46
3.1.5.1. Método.....	46
3.1.5.2. Equipos, Materiales y Reactivos.....	46
3.1.6. Condiciones Ambientales y conservación de las muestras.....	47
3.2. Diseño experimental .....	47
3.2.1. Detección de la Necesidad Analítica .....	47
3.2.2. Fijación de los objetivos y parámetros de validación. ....	48
3.2.3. Determinación del diseño experimental y estadístico de validación. ....	49
3.2.4. Elaboración de las Curvas de Calibración.....	49
3.2.5. Operación de Análisis.....	50
3.2.6. Tratamiento estadístico de los datos obtenidos.....	51
3.3. Cálculos .....	51
3.3.1. Tratamiento Estadístico .....	52
3.3.1.1. Selectividad para determinar los analitos metálicos. ....	52
3.3.1.2. Preparación de la muestra fortificada .....	53
3.3.2. Análisis de repetibilidad (r) de los datos primarios. ....	53
3.3.3. Análisis de reproducibilidad (R) de los datos primarios.....	54
3.3.3.1. Cálculo de los Límites de control del estándar de trabajo en la determinación de Cd. ....	54
3.3.4. Análisis de Varianza ANOVA.....	54
3.3.5. Incertidumbre .....	55
3.3.5.1. Incertidumbre de calibración.....	55
3.3.5.1.1. Incertidumbre de los estándares a partir del estándar del 1000mg/l. ....	55
3.3.5.1.2. Incertidumbre de la función respuesta $U_{FR} = S_{xy}$ (global).....	57
3.3.5.1.3. Incertidumbre de resolución.....	57
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>58</b>
4.1. Obtención de Resultados .....	58
4.1.1. Lecturas o datos primarios de cada analito validado.....	58
4.1.2. Determinación de la linealidad de la función de respuesta del método cadmio en aguas. ....	63
4.1.3. Análisis de repetibilidad (r) de los datos primarios. ....	66
4.1.4. Análisis de reproducibilidad (R) de los datos primarios.....	66
4.1.4.1. Cálculo de los Límites de control del estándar de trabajo en la determinación de Cd. ....	67
4.1.5. Análisis de Varianza ANOVA.....	68
4.1.6. Incertidumbre .....	69

4.1.6.1. Incertidumbre de los estándares a partir del estándar del 1000mg/l. ....	70
4.1.6.2. Incertidumbre de la función respuesta $U_{FR} = S_{xy}$ (global). ....	72
4.1.6.3. Incertidumbre de resolución.....	73
4.1.6.4. Cálculo de la Incertidumbre del método Cadmio en Aguas y Lixiviados. ....	73
4.2. Discusiones Generales .....	74
4.3. Discusiones Específicas .....	75
CONCLUSIONES .....	80
RECOMENDACIONES .....	81
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2. Indicadores físicos de calidad de suelo.....	14
Tabla 2-2. Indicadores físicos de calidad de suelo.....	14
Tabla 3-2. Indicadores biológicos de calidad de suelo.....	15
Tabla 4-2. Resumen de los límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb de la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de efluentes al recurso agua.....	16
Tabla 5-2. Resumen de los límites máximos permisibles para metales Cd,Ni,Pb de la Norma de Calidad Ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados. ....	18
Tabla 6-2. Límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb según la INEN 1108:2014. .	18
Tabla 7-2. Límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb según la RAOHE 1215. ....	19
Tabla 8-2.Ecuaciones para el Análisis de la Varianza .....	34
Tabla 9-2. Parámetros que se consideran en una validación de métodos.....	38
Tabla 10-2. Parámetros que se consideran en el diseño experimental de métodos analíticos.....	39
Tabla 1-3. Parámetros de validación y fijación de objetivos para analitos metálicos .....	48
Tabla 2-3. Diseño experimental y estadístico para la validación de metales pesados. ....	49
Tabla 3-3. Estándares para la realización de las curvas de calibración.....	50
Tabla 4-3. Condiciones para el control de la sensibilidad del equipo. ....	52
Tabla 1-4. Datos primarios para validación de Cadmio en aguas para el intervalo de trabajo 0,05 a 5,0 mg/L. ....	58
Tabla 2-4. Datos primarios para validación de Cadmio en suelos para el intervalo de trabajo 1,17 - 12,0 mg/Kg. ....	59
Tabla 3-4. Datos primarios para validación de Níquel en aguas para el intervalo de trabajo 0,10 - 5,0 mg/L. ....	60
Tabla 4-4. Datos primarios para validación de Níquel en suelos para el intervalo de trabajo 13,0 - 120,0 mg/Kg. ....	61
Tabla 5-4. Datos primarios para validación de Plomo en aguas para el intervalo de trabajo 0,20 - 3,0 mg/L. ....	62
Tabla 6-4. Datos primarios para validación de Plomo en suelos para el intervalo de trabajo 25,0 - 610,0 mg/Kg. ....	63
Tabla 7-4. Datos de la Curvas de Calibración para el Método Cadmio en Aguas. ....	64
Tabla 8 - 4. Parámetros estadísticos de la función respuesta del método Cadmio en aguas.....	65
Tabla 9-4. Interceptos y pendientes máximas y mínimas para el control de curvas de calibración. ....	65
Tabla 10-4. Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 1.....	66
Tabla 11-4. Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 2.....	66

Tabla 12-4. Análisis estadístico T student para Analista 1 y Analista 2.....	67
Tabla 13-4. Porcentaje de variación para el Estándar de Trabajo de Cd en el Intervalo de 0,05 a 5,0 mg/L. ....	67
Tabla, 14-4. Límites de control para el estándar de trabajo de Cd en aguas.....	68
Tabla 15-4. Resultados del Análisis de Varianza en todos los niveles de concentración, Cd en agua. ....	68
Tabla 16-4. Cálculo de T Fisher en todos los niveles de concentración de Cadmio en aguas. ...	69
Tabla 17-4. Incertidumbres de calibración de cada nivel de concentración de Cadmio en aguas. ....	70
Tabla 18-4. Incertidumbre de las soluciones patrón $U_{pp}$ .....	70
Tabla 19-4. Incertidumbre del material volumétrico $UV_f$ . ....	72
Tabla 20-4. Función respuesta de las curvas de calibración. ....	73
Tabla 21-4. UR: Desviación estándar de reproducibilidad (Anova).....	73
Tabla 22-4. Incertidumbre del Método Cadmio en Aguas y Lixiviados.....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: Estados físicos del agua.....	7
Figura 2-2: Distribución del agua en el planeta. ....	8
Figura 3-2. Proceso de atomización en una llama.....	22
Figura 4-2. Lámpara de cátodo hueco.....	24
Figura 5-2 Lámpara de descarga sin electrodos .....	25
Figura 6-2 Quemador-nebulizador de premezclado o de flujo laminar .....	26
Figura 7-2 Elección, desarrollo y evaluación de métodos .....	31
Figura 8-2 Distribución Normal.....	41
Figura 9-2 Distribución Rectangular.....	42
Figura 10-2 Distribución Triangular. ....	42
Figura 1 - 4. Gráfico Absorbancia vs Concentración. Linealidad de las curvas de calibración.	64

## ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO A.** Declaración de Validación de Cadmio en Aguas.

**ANEXO B.** Declaración de Validación de Cadmio en Suelos.

**ANEXO C.** Declaración de Validación de Níquel en Aguas.

**ANEXO D.** Declaración de Validación de Níquel en Suelos.

**ANEXO E.** Declaración de Validación de Plomo en Aguas.

**ANEXO F.** Declaración de Validación de Plomo en Suelos.

**ANEXO G:** Preparación de Estándares y Muestras.

**ANEXO H:** Digestión, filtración y aforo de matrices, muestras fortificadas y estándares.

**ANEXO I:** Lectura de muestras.

**ANEXO J.** Determinación de metales pesados en suelos y sedimentos.

**ANEXO K.** Determinación de metales pesados en aguas y lixiviados.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Cd	Cadmio
Ni	Niquel
Pb	Plomo
Sr	Desviación estándar de repetibilidad
SR	Desviación estándar de reproducibilidad
R	Repetibilidad
R	Reproducibilidad
SDR	Desviación Estándar
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
CV	Coficiente de variación
U	Incertidumbre
K	Intervalo de confianza
LMP	Límite máximo permisible
EAA	Espectrotometría de absorción atómica
LCH	Lámpara de cátodo hueco
ISO	Organización Internacional de Normalización
IEC	Comisión Electrotécnica Internacional
INEN	Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización
TULSMA	Texto Unificado Legislación Secundaria de Medio Ambiente
RAOHE	Reglamento Operaciones Hidrocarburíferas del Ecuador
STD	Estándar
ITU	Instructivo Técnico de Uso
ITE	Instructivo Técnico de Ensayo.
SGC	Sistema de Gestión de Calidad.

## RESUMEN

Se validó el método para la determinación de Plomo, Cadmio y Níquel por espectrometría de absorción atómica de llama en matrices agua y suelo para el laboratorio AQLAB de la ciudad de Orellana. Se estableció la necesidad analítica del laboratorio frente a la demanda de empresas que requieren la determinación de estos parámetros, esto con el fin de cumplir con ordenanzas ambientales nacionales y locales. Se seleccionó el método normalizado para el análisis de metales en Aguas y Suelos SM 3030 B, 3111 B, luego se estableció los objetivos de validación y se planteó el diseño experimental para cada analito (puesta a punto del método, toma de datos de validación, Anova, cálculo de la incertidumbre y declaración del método). Esto se logró bajo el cumplimiento de procedimientos internos acorde a la Norma INEN ISO IEC 17025:2006, así como metodología relacionada al tema. Se analizaron los siguientes requerimientos: Selectividad / Especificidad, Linealidad/Función respuesta, Límite de detección, Límite de cuantificación, Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad), Exactitud, Incertidumbre y el intervalo de trabajo. Se demostró que el método es el adecuado para la aplicación que se pretende dar, mediante el análisis estadístico se cumplió con los criterios de rendimiento tales como: coeficiente de variación de repetibilidad y reproducibilidad  $SDR < 10 \%$ ; Exactitud (Recuperación) 85 al 115% en todos los niveles; incertidumbre  $U \leq 33\%$  del rango más bajo con intervalo de confianza ( $K=2$ ), por lo que la declaración de validación fue aceptada. Se concluye que los parámetros críticos de la valoración en metales pesados en función respuesta – linealidad del método, donde el porcentaje de desviación estándar es menor al 10%, porcentaje de recuperación entre el 85 y 115%. Declarando una incertidumbre del método menor al 33%. Se recomienda ajuste las curvas de calibración, y verificar las interferencias en el análisis.

**PALABRAS CLAVES:** <BIOTECNOLOGÍA>, <BIOESTADÍSTICA>, <VALIDACIÓN>, <ESPECTROMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA>, <METALES PESADOS>, <DETERMINACIÓN EN AGUA>, < DETERMINACIÓN EN SUELO>, FRANCISCO DE ORELLANA (CANTÓN)>

## ABSTRACT

The method for the determination of Lead, Cadmium and Nickel by atomic flame absorption spectrometry in water and soil matrices for the AQLAB laboratory in the city of Orellana was validated. The analytical need was established the laboratory against the demand of companies that require the determination of these parameters, in order to comply with national and local environmental ordinances. The standardized method for the analysis in Water and Soils SM 3030 B, 3111 B was selected, then the validation objectives were established and the experimental design was developed for each analyte (method set-up, validation data collection, Anova, calculation of uncertainty and statement of method). This was achieved under the fulfillment of internal procedures to the INEN Standard ISO IEC 17025.2006, as well as methodology related to the subject. The following requirements were analyzed: Selectivity / Specificity, Linearity / Response Function, Detection Limit, Limit of Quantification, Precision (Repeatability and / or Reproducibility), Accuracy, Uncertainty and Working Interval. It was demonstrated that the method is suitable for the intended application, by means of the statistical analysis the performance criteria were met such as: coefficient of variation of repeatability and reproducibility SDR <10%; Accuracy (Recovery) 85 to 115 % at all levels; Uncertainty U <33% of the lowest range with confidence interval (k=2), so that the validation metals in function-response linearity method, where the percentage of standard deviation is less than 10% percentage and recovery between 85 and 115%. Declaring an uncertainty of the method less than 33%. It is recommended to adjust the curves and calibration, and verify interference in the analysis.

**KEY WORDS:** <BIOTECHNOLOGY>, <BIOESTADISTIC>, <VALIDATION>, <ATOMIC ABSORPTION SPECTRUM>, <HEAVY METALS>, <DETERMINATION IN WATER>, <DETERMINATION IN SOIL>, FRANCISCO DE ORELLANA (CANTON)

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

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

El Servicio de Acreditación Ecuatoriano es un ente externo que acredita los procedimientos internos que se realizan en los laboratorios, éste establece programas para evaluarlos y acreditarlos, es por esto que aparece la necesidad de validar métodos analíticos que cumplan con los requisitos que establece la Norma INEN ISO IEC 17025, criterios y guías del SAE y documentos externos que respalden la confianza, seguridad del método analítico y la calidad de los resultados. Es por tal razón que el Laboratorio AqLab requiere ampliar su alcance de acreditación en metales pesados con la ejecución de una validación bien documentada y desarrollada que determine trazabilidad de las metodologías, atributos de respuesta de los métodos, interferencias hasta la robustez de los mismos respaldados por la calibración de aparatos e instrumentos, el control en la calidad y manejo de reactivos, etc., con esto se garantiza que los resultados sean veraces.

El presente trabajo tiene como objetivo validar el método para la determinación de Plomo, Cadmio y Níquel por espectrometría de absorción atómica de llama en matrices agua y suelo para el Laboratorio AqLab, para ampliar su capacidad de servicio y elaborar instructivos técnicos internos evaluados y aceptados luego de concluir la validación.

El análisis es tan importante ya que se determina el grado de contaminación de las aguas que se descargan a los cuerpos de agua dulce y posteriormente ésta es utilizada para riego dando como consecuencia la acumulación en los suelos agrícolas.

La técnica que se aplica es la de espectrometría de absorción atómica de llama, en la cual se puede detectar concentraciones pequeñas de analitos; con los datos obtenidos por esta técnica en matriz agua y suelo se pretende validar el método analítico con análisis estadísticos donde se determina el límite de detección, Límite de cuantificación, Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad), Exactitud, Incertidumbre y el Intervalo de trabajo.

Para realizar la determinación de metales por Absorción Atómica de Llama, es necesario la extracción de los analitos es decir libres de interferencias, para esto las muestras deben ser sometidas a un tratamiento previo; como filtración o digestión y preservación. Estos tratamientos se realizan según el tipo de matriz, ya que las muestras provienen de diversos orígenes siendo las más frecuentes las muestras de aguas, suelos.

Validar los métodos de determinación de metales en matriz aguas y suelos por absorción atómica de llama para el Laboratorio AqLab se da estrictamente bajo el cumplimiento de leyes y normativas aportando credibilidad en el servicio que presta.

### **1.1. Justificación del proyecto**

A nivel mundial tanto el agua como el suelo es un recurso vital para la vida. El suelo es el soporte físico sobre el que se asientan todos los seres vivos, es también la fuente primordial de materias primas y constituye uno de los elementos básicos del medio natural. Desde hace siglos la humanidad ha utilizado el suelo para desarrollarse y conseguir mejorar sus condiciones de vida. (López, 2003, p. 278).

El agua es el principal fundamento de la vida vegetal y animal y por tanto, es el medio ideal para la vida, es por eso que las diversas formas de vida prosperan allí donde hay agua. El agua es de gran importancia para las actividades humanas. Por lo tanto, es imprescindible que todos hagamos lo que esté a nuestro alcance para conservar este importante recurso.

La contaminación generada por los metales pesados como el Cd, Ni y Pb, por su toxicidad provocan el exterminio lento de las plantas y las especies animales. Los metales pesados se depositan en ambientes naturales, especialmente en suelos, aguas superficiales y plantas.

Estas Influencias antropogénicas, ponen en peligro sus diferentes usos: consumo humano, industriales, recreación, agrícolas u otros propósitos.

El Laboratorio AqLab dentro de su alcance de acreditación no posee metales pesados específicamente Cd, Ni y Pb en aguas y suelos, la determinación de estos es importante en la zona industrial / petrolera ya que deben cumplir con normativas ambientales. Es así que mediante este estudio se realizará la validación de metales por el método de absorción atómica de llama; se establecerá rangos de trabajo que garantice un resultado confiable y de calidad.

## **1.2. Objetivos**

### ***1.2.1. Objetivo General***

Validar el método para la determinación de Plomo, Cadmio y Níquel por Espectrometría de Absorción Atómica de llama en matrices agua y suelo para el Laboratorio AQLAB de la ciudad de Orellana.

### ***1.2.2. Objetivos Específicos***

- Determinar la secuencia de análisis para la determinación de Plomo, Cadmio y Níquel en agua y suelo por absorción atómica de llama para el Laboratorio AQLAB en la Ciudad de Orellana.
- Establecer los parámetros críticos para la validación del método para determinar Pb, Cd y Ni por espectrometría de absorción atómica.
- Calcular la incertidumbre para cada uno de los métodos de análisis

## CAPITULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la Investigación

En la última década se han reportado, en la literatura internacional, algunos impactos en salud derivados de exposición a cadmio, plomo y níquel por consumo de agua o indirectamente de los suelos, lo que ha generado preocupación en diversos grupos de investigadores.

Es importante considerar las cantidades de cadmio, plomo y níquel en el ambiente porque debido a distintos mecanismos, por ejemplo, el ciclo de agua, por parte de los metales pesados que se encuentran en el aire, suelo y agua van a depositarse en los mares y esta es la principal fuente de contaminación de las aguas limpias; donde existe vegetación y animales que acumulan estos metales en diferentes partes de su organismo.

El laboratorio de análisis y evaluación ambiental AqLab ha brindado desde el año 2013 un servicio integrado de análisis ambientales para una variedad de industrias y organizaciones.

Entre los requisitos técnicos establecidos en la norma ISO/IEC 17025 se encuentra la validación de métodos, es por esto que el laboratorio de análisis y evaluación ambiental AqLab, obtuvo la acreditación INEN ISO 17025:2006, a nivel nacional por el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE) en el año 2013, con el fin de garantizar que el laboratorio analice y tenga bajo control uno de los factores que incide en la conformidad y exactitud de los resultados que informa. Actualmente el laboratorio de análisis y evaluación ambiental AqLab cuenta con la acreditación en muestras de aguas, suelos, alimentos y toma de muestras.

#### 2.2. Marco conceptual

##### 2.2.1 Metales Pesados.

Los metales pesados son todos aquellos que tienen una densidad mayor a  $5 \text{ g cm}^{-3}$ , poseen una conductividad eléctrica alta, son dúctiles, la mayoría son elementos de transición con capacidad para formar compuestos que pueden o no sufrir actividad redox. De los 902 elementos que se encuentran naturalmente 21 son no metales, 16 son metales ligeros y los tres restantes, incluyendo el As, son metales pesados. Se incluyen el cadmio, cromo, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, cobalto, mercurio, níquel, plomo, aluminio y selenio. (Nedelkoska, 2000, p.30).

### *2.2.1.1. Importancia del análisis de metales pesados.*

Los efectos de los metales en aguas potables y residuales pueden ser beneficiosos, tóxicos o simplemente molestos. Algunos metales resultan esenciales, mientras que otros pueden perjudicar a los consumidores de agua, a los sistemas de tratamiento de aguas residuales y a las aguas de depósitos. En muchos casos el potencial beneficio o riesgo depende de la concentración. (Struempfer, 1973, p. 1-3).

Los metales son difíciles de eliminar del medio, puesto que los propios organismos los incorporan a sus tejidos y de éstos a sus depredadores, en los que se acaban manifestando. La toxicidad de estos metales pesados es proporcional a la facilidad de ser absorbidos por los seres vivos, un metal disuelto en forma iónica puede absorberse más fácilmente que estando en forma elemental, y si esta se halla reducida finamente aumentan las posibilidades de su oxidación y retención por los diversos órganos (Ramos et al., 2003: p.15)

Los metales pesados existen en el ambiente como resultado de procesos naturales y como contaminantes derivados de las actividades humanas; son estables y persistentes en ambientes acuáticos. La importancia de metales como el Zn, Fe, Cu, y Mn es que son esenciales para el metabolismo de organismos, el problema con ellos es la estrecha frontera entre la necesidad y la toxicidad. Otros metales pesados como el Cd, Hg, Cr y Pb tienen un nivel de toxicidad, incluso en bajas concentraciones ya que con el tiempo estas pueden irse acumulando (Feria, et al., 2010: pp. 35-40)

### *2.2.1.2. Fuentes de contaminación por metales pesados.*

Los metales pesados tienen gran toxicidad que ha quedado documentada a lo largo de la historia, hay que tener presente que los metales son materias naturales que han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de las civilizaciones. El problema surge cuando prolifera su uso industrial. La peligrosidad de estos metales es mayor al no ser química ni biológicamente degradables. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años. Además, su concentración en los seres vivos aumenta a medida que son ingeridos por otros, por lo que la ingesta de plantas o animales contaminados puede provocar síntomas de intoxicación. Se ha demostrado científicamente que, además de causar algunos de los problemas ambientales más graves, la exposición a metales pesados en determinadas circunstancias es la causa de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales. (Robles, Edward. 2010)

**a) Fuentes naturales de metales pesados.** Las Fuentes naturales a su vez se clasifican según su origen o por emisiones volcánicas. Se distribuyen de forma natural en el ambiente debido

a los ciclos biológicos y geológicos. Así, la lluvia disuelve las rocas y los minerales son transportados a los arroyos, ríos y océanos, donde precipitan formando sedimentos, o bien regresan de nuevo a la tierra con el agua de lluvia. Los ciclos biológicos de los metales incluyen su bioacumulación en animales y plantas y la incorporación a los alimentos. (Vázquez, 2001, p. 310).

**b) Fuentes antrópicas de metales pesados.** Las fuentes antrópicas las podemos clasificar en puntuales (fijas) y no puntuales (móviles) dependiendo de su procedencia. Dentro de las primeras tenemos las industrias, las carreteras y otras, en las que aun cuando no son las fuentes de los metales pesados, es allí donde se expiden de manera fija y continua. Dentro de las segundas tenemos los lodos residuales, fertilizantes, las cenizas y humos (transportados a través de vientos de manera esporádica), los pesticidas, los riegos, etc., (Bautista, 1999, p.38).

#### 2.2.1.3. Características y consecuencias

##### *Cadmio ( $Cd^{2+}$ )*

Elemento metálico soluble en agua como cloruro, nitrato y sulfato, poco común en aguas naturales. Además de causar vómito, se acumula en el hígado, páncreas, tiroides y los riñones; se le conoce como cancerígeno. Dosis de 13 a 15 ppm en alimentos, han causado enfermedad. Su presencia en aguas por lo general proviene de contaminación con residuos de la industria galvanoplastia. Es un protector metálico contra la oxidación, usado industrialmente. Una Fuente adicional es el humo de cigarrillo. (Romero, J, 2002. p. 299)

##### *Níquel*

Metal dúctil, resistente a la oxidación, muy usado en aleaciones con acero; puede causar alteraciones sanguíneas, irritación gastrointestinal y dermatitis. Tiene baja toxicidad oral para los humanos, pero es tóxico para las plantas y la vida marina. Existe con número de oxidación 0, +1, +2, +3 y +4. La forma más común en aguas y suelos es la +2. Su concentración en aguas es generalmente menor de 0,1 mg/L. (Romero, J, 2002. p. 299)

##### *Plomo ( $Pb^{2+}$ )*

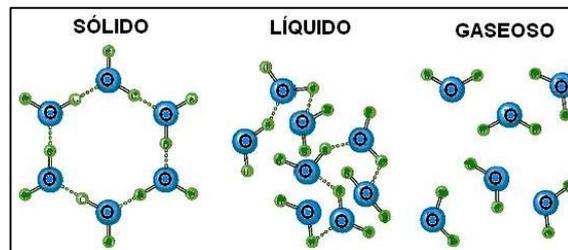
Por lo regular no se encuentra en aguas naturales, a menos que se introduzca mediante contaminación por arsenato de plomo y otras sales. Comúnmente está asociado con aguas corrosivas y fontanería de plomo. El efecto de envenenamiento con plomo es acumulativo. El

plomo se acumula en los huesos, causa constipación, retardo mental, pérdida de apetito, anemia, dolores abdominales y parálisis gradual en los músculos, especialmente en los brazos. El consumo prolongado de plomo en aguas con más de 15 mg/l puede ser fatal. Una Fuente adicional la constituye el humo de cigarrillo. (Romero, J, 2002. p. 299)

## 2.2.2. El Agua

### 2.2.2.1. Introducción

El agua es una sustancia cuyas moléculas están compuestas por un átomo de oxígeno y dos átomos de hidrógeno. Su estado más común es líquido aunque también puede hallarse en estado sólido (cuando se conoce como hielo) o en estado gaseoso (vapor). (Pérez J. , 2010).

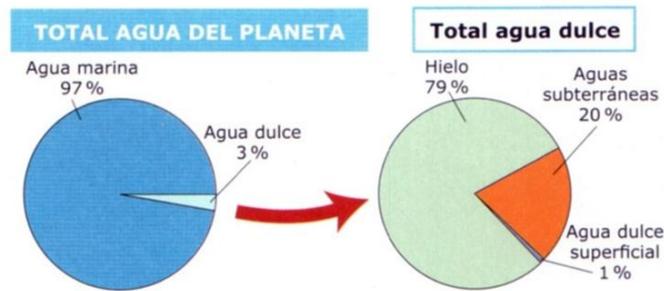


**Figura 1-2:** Estados físicos del agua.

Fuente: García ,2001.

El agua cubre el 71% de la superficie de la corteza terrestre. En la Tierra, se localiza principalmente en los océanos donde se concentra el 96,5% del agua total, los glaciares y casquetes polares tiene el 1,74%, los depósitos subterráneos en (acuíferos), los permafrost y los glaciares continentales suponen el 1,72% y el restante 0,04% se reparte en orden decreciente entre lagos, la humedad del suelo, Atmósfera, embalses, ríos y seres vivos.

Contrario a la creencia popular, el agua es un elemento bastante común en el sistema solar y esto cada vez se confirma con nuevos descubrimientos. Se puede encontrar agua principalmente en forma de hielo; de hecho, es el material base de los cometas, y el vapor compone la cola de ellos. (Tamayo, 2011,pp.4-6.)



**Figura 2-2:** Distribución del agua en el planeta.

Fuente: Lozano, 2010.

### 2.2.2.1. Características y propiedades

El agua es una sustancia elemental que permite la vida en nuestro planeta, es un líquido incoloro, inodoro e insípido, que en grandes masas adquiere un color azul. La composición y estructura molecular del agua son responsables de las propiedades físico-químicas que la distinguen de otras sustancias. Dichas características y propiedades son las siguientes:

**Acción disolvente.** El agua es el líquido que más sustancias disuelve (disolvente universal), debido a su característica polar, su capacidad para formar puentes de hidrógeno con otras sustancias polares e iónicas, y por su alto valor de constante dieléctrica (a temperatura ambiente vale 80).

**Conducción eléctrica.** El agua pura es un mal conductor de la electricidad, pero cuando contiene sales se convierte en un buen conductor porque hay presencia de iones con cargas eléctricas.

**Fuerza de cohesión entre sus moléculas.** Los puentes de hidrógeno mantienen a las moléculas fuertemente unidas, formando una estructura compacta que la convierte en un líquido casi incompresible. Esto significa que no es fácil reducir su volumen mediante presión, pues las moléculas de agua están enlazadas entre sí manteniendo unas distancias intermoleculares más o menos fijas.

**Elevada fuerza de adhesión.** De nuevo los puentes de hidrógeno del agua son los responsables, al establecerse entre estos y otras moléculas polares, y es responsable junto con la cohesión, de la capilaridad.

**Capilaridad.** Fenómeno que depende de la capacidad de adhesión de las moléculas de agua a las paredes de los conductos capilares y de la cohesión de las moléculas de agua entre sí. Consiste

en el ascenso de la columna de agua a través de tubos de diámetro capilar. Las plantas utilizan esta propiedad para la ascensión de la sabia bruta desde las raíces hasta las hojas.

**Tensión superficial.** Por la diferencia que existe entre las fuerzas de atracción que hay en el interior del líquido y en la superficie, lo que provoca una acumulación de moléculas en la superficie, formando una delgada película que opone gran resistencia a romperse, y permite que muchos organismos puedan “andar” sobre el agua y vivan asociados a esta película superficial.

**Calor específico.** Se necesita mucha energía para elevar su temperatura, lo cual convierte al agua en un buen aislante térmico. Esta propiedad permite al citoplasma acuoso servir de protección frente a cambios bruscos de temperatura. Por esta característica actúa como termorregulador; amortigua y regula los cambios térmicos ambientales y corporales. (Shermer, W. 2000).

#### 2.2.2.2. *Calidad del agua*

Es un factor que incide directamente en la salud de los ecosistemas y el bienestar humano: de ella depende la biodiversidad, la calidad de los alimentos, las actividades económicas, etc. Por tanto, la calidad del agua es también un factor influyente en la determinación de la pobreza o riqueza de un país.

Desde la perspectiva de su gestión, la calidad del agua se define por su uso final. Así, el agua para el recreo, la pesca, la bebida o como hábitat para organismos acuáticos requiere de mayores niveles de pureza, mientras que para obtener energía hidráulica, por ejemplo, las normas de calidad son mucho menos importantes.

Sin embargo, debemos tener en cuenta que después de su uso el agua suele volver de nuevo al sistema hidrológico, de manera que si se deja sin tratamiento puede acabar afectando gravemente al medio. Como el control de la calidad del agua debe efectuarse en todo su circuito, se debe contar con todos los usos de esta:

- Consumo doméstico y público.
- Preservación de fauna y flora.
- Agrícola.
- Pecuaria.
- Recreativo.

- Industrial.
- Estético.

A partir de lo anterior, el control de la calidad del agua se basa en reglamentos y legislaciones, estableciéndose límites deseables, tolerables o imperativos, así como orientadores (guías) de calidad. Las aguas se clasifican en cinco grupos según su calidad:

***Agua para consumo humano.*** Para hacer esta clasificación se usan unos 20 parámetros de los que los más importantes son: DQO, DBO<sub>5</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NTK, conductividad, Cl<sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>, recuentos microbiológicos y algunos metales (Fe, Cu, Cr).

***Aguas para uso agrícola.*** Los parámetros que determinan su calidad son el contenido de sales (como conductividad eléctrica o como sólidos totales en suspensión), los cationes Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> y Na<sup>1+</sup>, los aniones CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, los nutrientes NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, P y K, y otros parámetros como pH y el contenido en Boro.

***Aguas residuales.*** Los parámetros de calidad de mayor importancia son el oxígeno disuelto, sólidos suspendidos, DBO<sub>5</sub>, DQO, bacterias, nutrientes, pH y compuestos químicos tóxicos entre los que se encuentran los compuestos orgánicos volátiles, metales, pesticidas, entre otros.

***Aguas para el baño y uso deportivo.*** En este caso hay que fijarse, sobre todo, en los recuentos microbiológicos, el porcentaje de saturación de oxígeno, y en menor medida, presencia de aceites y grasas y otros caracteres organolépticos (olor, sabor, etc.).

***Aguas para la vida piscícola.*** Influye mucho la concentración de nitritos y también el amoníaco no ionizado, que es muy tóxico para los organismos acuáticos, aún a bajas concentraciones; y también, aunque menos, la DBO<sub>5</sub>, amonio, hidrocarburos disueltos y metales (Pb, Cu, Zn) presentes. (Terry,CC. 2010,pp.31-32).

### ***2.2.3. Suelo***

#### ***2.2.3.1. Introducción***

El suelo es lo que cubre la superficie terrestre y sostiene la vida vegetal, que es el gran motor energético de la naturaleza, ya que en su interior alberga nutrientes y agua. También es un soporte físico para el establecimiento de comunidades humanas y animales.

Los suelos se forman por la lenta desintegración de las rocas, que se produce por una sumatoria de factores, entre ellos los movimientos de placas tectónicas, la alternancia de temperaturas, la escorrentía por lluvias, los vientos, la actividad de la micro y mesofauna, etc. En todo suelo se distinguen una parte inorgánica y otra orgánica.

**Inorgánica.** Esta compuesta por tres fases:

- Fase sólida: conjunto de minerales en proceso de alteración. Formada por minerales de la arcilla, carbonatos, óxidos e hidróxidos de hierro, cloruros, sulfatos, etc. Constituyen el esqueleto del suelo.
- Fase líquida: constituida por agua y gran cantidad de sustancias inorgánicas disueltas, de importancia en la alimentación de los vegetales.
- Fase gaseosa: gases procedentes de la atmósfera, pero enriquecidos en CO<sub>2</sub> y empobrecidos en O<sub>2</sub> por la actividad de los seres que viven en el suelo. El contenido de aire en el suelo está determinado por la porosidad del mismo y el volumen de agua que alberga en estos espacios.

**Orgánica**

- Materia orgánica viva: se trata de todos los seres vivos que habitan en el suelo, tanto seres inferiores que constituyen la microflora del suelo (bacterias y hongos) y la microfauna (protozoos, arácnidos, gusanos, etc.), así como seres vivos superiores tales como raíces de las plantas y ciertos animales como los topos.
- Materia orgánica muerta: restos de vegetales muertos y cadáveres de los animales que viven en el suelo. Este conjunto sufre una descomposición especial llamada humificación.

Para darse una idea general de la importancia que tiene el agua para el suelo es necesario resaltar los conceptos: El agua es retenida dentro de los poros con grados variables de intensidad, según la cantidad de agua presente. Junto con sus sales disueltas el agua del suelo forma la llamada solución del suelo; ésta es esencial para abastecer de nutrimentos a las plantas que en él se desarrollan.

El aire del suelo no es continuo y está localizado en los poros separados por los sólidos. Este aire tiene generalmente una humedad más alta que la de la atmósfera. Cuando es óptima, su humedad relativa está próxima a 100%. El contenido de anhídrido carbónico es por lo general más alto y el del oxígeno más bajo que los hallados en la atmósfera. (Newton,I. 2017).

### 2.2.3.2. Características y propiedades generales del suelo

Los suelos se caracterizan por ciertos atributos que son muy importantes en términos de su capacidad productiva; entre ellos cabe citar la estructura (en terrones, en bloques, en columnas), el pH, la presencia de sales, la abundancia de materia orgánica.

Como los factores formadores de suelo operan de manera lenta pero constante, desde una perspectiva de largo plazo el suelo cambia, con lo que puede hacerse más fértil (si hay descomposición moderada de residuos orgánicos o solubilización de fosfatos, por ejemplo), o puede hacerse menos fértil (por ejemplo, si hay lluvias excesivas y mucha lixiviación de nitratos). Las características y propiedades son:

**El color** del suelo depende de sus componentes y varía con el contenido de humedad, materia orgánica presente y grado de oxidación de minerales presentes. Se usa para distinguir las secuencias en un perfil del suelo, determinar el origen de materia parental, presencia de materia orgánica, estado de drenaje y la presencia de sales y carbonato.

La **textura del suelo** se refiere a la proporción de componentes inorgánicos de diferentes formas y tamaños como arena, limo y arcilla. La textura es una propiedad importante ya que influye como factor de fertilidad y en la habilidad de retener agua, aireación, drenaje, contenido de materia orgánica y otras propiedades.

**La porosidad** del suelo se refiere al porcentaje del volumen del suelo no ocupado por sólidos. En general el volumen del suelo está constituido por 50% materiales sólidos y 50% de espacio poroso. Dentro del espacio poroso se pueden distinguir macro poros y micro poros donde agua, nutrientes, aire y gases pueden circular o retenerse.

**La consistencia** es la propiedad que define la resistencia del suelo a la deformación o ruptura que pueden aplicar sobre él. Según su contenido de humedad la consistencia del suelo puede ser dura, muy dura y suave. Se mide mediante tres niveles de humedad; aire-seco, húmedo y mojado. Para la construcción sobre él se requiere medidas más precisas de resistencia del suelo antes de la obra.

**La profundidad** del suelo se denomina como la capa superficial del suelo (horizonte A) junto con el subsuelo (E y B). El horizonte C se definía como estratos con poca formación edafogénica. De este modo la profundidad efectiva del suelo fue considerada como la espesura del suelo.

**La densidad** del suelo se puede obtener la porosidad total del suelo. Se refiere al peso por volumen del suelo. Existen dos tipos de densidad, real y aparente. La densidad real, de las partículas densas del suelo, varía con la proporción de elementos constituyendo el mismo. Una densidad aparente alta indica un suelo compacto o tenor elevado de partículas granulares como la arena. (Doler,k. 2017).

#### 2.2.3.3. *Calidad del suelo*

El suelo es un recurso dinámico que sustenta la vida de las plantas. Regula la distribución del agua de lluvia y de irrigación, almacena nutrientes y otros elementos, y actúa como un filtro que protege la calidad del agua, del aire y de otros recursos. Está formado por partículas minerales de diferente tamaño (arenas, limos y arcillas), materia orgánica y numerosas especies de organismos.

Posee propiedades biológicas, químicas y físicas, algunas de las cuales son dinámicas y pueden cambiar en función de su manejo.

#### **Indicadores de la calidad**

Los indicadores de calidad del suelo pueden ser propiedades físicas, químicas y biológicas, o procesos que ocurren en él, los indicadores deben permitir: analizar la situación actual e identificar los puntos críticos con respecto al desarrollo sostenible; analizar los posibles impactos antes de una intervención; monitorear el impacto de las intervenciones antrópicas; y ayudar a determinar si el uso del recurso es sostenible. (Moreno,A. 2002,p.605-620).

Para que las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo sean consideradas indicadores de calidad deben cubrir las siguientes condiciones:

- Escribir los procesos del ecosistema.
- Integrar propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
- Reflejar los atributos de sostenibilidad que se quieren medir.
- Ser sensitivas a variaciones de clima y manejo.
- Ser sensitivas a los cambios en el suelo que ocurren como resultado de la degradación antropogénica.
- Ser componentes de una base de datos del suelo ya existente.

**Tabla 1-2.** Indicadores físicos de calidad de suelo

<b>Indicador</b>	<b>Relación con las funciones y condiciones del suelo</b>	<b>Valores o unidades relevantes, comparaciones para evaluación</b>
Textura	Retención y transporte de agua y minerales; erosión del suelo	% (arena, limo y arcilla); pérdida de sitio o posición del paisaje
Profundidad (suelo superficial y raíces)	Estimación del potencial productivo y de erosión	cm; m
Infiltración y densidad aparente	Potencial de lixiviación, productividad y erosión	min/2,5cm agua; g/cm <sup>3</sup>
Capacidad de retención de agua	Contenido en humedad, transporte, erosión, humedad aprovechable, textura, materia orgánica	% (cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup> ); cm humedad aprovechable/30cm; intensidad de precipitación (mm/h)
Estabilidad de agregados	Erosión potencial de un suelo, infiltración de agua	% (agregados estables)

**Fuente.** Luaces, 2008. Características del Suelo.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

**Tabla 2-2.** Indicadores físicos de calidad de suelo.

<b>Indicador</b>	<b>Relación con las funciones y condiciones del suelo</b>	<b>Valores o unidades relevantes</b>
Contenido en materia orgánica	Fertilidad de suelo, estabilidad y grado de erosión, potencial productivo	kg (C ó N)/ha
pH	Actividad química y biológica	Comparación entre los límites superiores e inferiores para la actividad vegetal y microbiana
Conductividad eléctrica	Actividad microbiológica y crecimiento de plantas	dS/m; comparación entre los límites superiores e inferiores para la actividad vegetal y microbiana
N, P, K extraíbles	Disponibilidad de nutrientes para las plantas, indicadores de productividad y calidad ambiental	kg/ha; niveles suficientes para el desarrollo de los cultivos
Capacidad de intercambio catiónico	Fertilidad del suelo, potencial productivo	mol/kg
Metales pesados disponibles	Niveles tóxicos para el crecimiento de las plantas y la calidad del cultivo	Concentraciones máximas en agua de riego

**Fuente:** Luaces, 2008. Características del Suelo.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

**Tabla 3-2.** Indicadores biológicos de calidad de suelo.

<b>Indicador</b>	<b>Relación con las funciones y condiciones del suelo</b>	<b>Valores o unidades relevantes</b>
Contenido de biomasa microbiana	Potencial catalizador microbiano, reposición de C y N	kg (C ó N)/ha relativo al C, N total o al CO <sub>2</sub> producido
Nitrógeno mineralizable	Productividad del suelo y aporte potencial de N	kg N·ha <sup>-1</sup> ·día <sup>-1</sup> relativo al C, N total
Aireación, contenido en agua, temperatura	Medición de la actividad microbiológica	kg C·ha <sup>-1</sup> ·día <sup>-1</sup> relativo a la actividad de la biomasa microbiana; pérdida de C contra entradas al reservorio total de C
Contenido de lombrices	Actividad microbiana	Número de lombrices
Rendimiento del cultivo	Producción potencial del cultivo, disponibilidad de nutrientes	kg producto/ha

**Fuente:** Luaces, 2008. Características del Suelo.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

#### **2.2.4. Normativas Ambientales**

##### *2.2.4.1. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente.*

El presente libro establece los procedimientos y regula las actividades y responsabilidades públicas y privadas en materia de calidad ambiental. Se entiende por calidad ambiental al conjunto de características del ambiente y la naturaleza que incluye el aire, el agua, el suelo y la biodiversidad, en relación a la ausencia o presencia de agentes nocivos que puedan afectar al mantenimiento y regeneración de los ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos de la naturaleza.

##### *2.2.4.1.1. Anexo 1 del libro VI del TULSMA: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua.*

El anexo VI establece:

- ✓ Los principios básicos y enfoque general para el control de la contaminación del agua.
- ✓ Las definiciones de términos importantes y competencias de los diferentes actores establecidas en la ley.
- ✓ Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos.
- ✓ Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas

- o sistemas de alcantarillado.
- ✓ Permisos de descarga.
- ✓ Los parámetros de monitoreo de las descargas a cuerpos de agua y sistemas de alcantarillado de actividades industriales o productivas, de servicios públicas o privadas.
- ✓ Métodos y procedimientos para determinar parámetros físicos, químicos y biológicos con potencial riesgo de contaminación del agua.

La normativa establece criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos:

- Criterios de calidad para aguas destinadas al consumo humano y uso doméstico, previo a su potabilización.
- Criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuarios.
- Criterios de calidad de aguas para riego agrícola.
- Criterios de calidad para aguas de uso pecuario.
- Criterios de calidad para aguas con fines recreativos.
- Criterios de calidad para aguas de uso estético.

Así como también establece normas generales para descarga de efluentes, tanto al sistema de alcantarillado como a los cuerpos de agua.

- Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes al sistema de alcantarillado.
- Límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para descarga de efluentes a un cuerpo de agua o receptor: Descarga a un cuerpo de agua dulce, Descarga a un cuerpo de agua marina.

**Tabla 4-2.** Resumen de los límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb de la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de efluentes al recurso agua.

Metal	Unidades	T1	T2		T3	T5	T8	T9
			A.D.	A. MyE				
Cadmio	mg/L	0,02	0,001	0,005	0,05	0,05	0,02	0,02
Niquel	mg/L	-	0,025	0,1	0,2	-	2,0	2,0
Plomo	mg/L	0,01	0,001	0,001	5,0	0,05	0,5	0,2

Fuente: TULSMA, 2015. Anexo 1 del libro VI del TULSMA.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

Tabla T1. Criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y doméstico.

Tabla T2. Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuarios.

Tabla T3. Criterios de calidad de aguas para riego agrícola.

Tabla T5. Criterios de calidad de aguas para uso pecuario.

Tabla T8. Límites de descarga al Sistema de alcantarillado público.

Tabla T9. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.

AD. Agua de descarga

AMyE. Agua Marina y de estuario.

*2.2.4.1.2. Anexo 2 del libro VI del TULSMA: norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.*

La presente norma técnica determina:

- Los objetivos y parámetros de calidad ambiental del suelo a ser considerados para diferentes usos de este recurso.
- El procedimiento para determinar los valores iniciales de referencia respecto a la calidad ambiental del suelo.
- Los límites permisibles de contaminantes en función del uso del suelo, en relación con un valor inicial de referencia.
- Los métodos y procedimientos para la determinación de los parámetros de calidad ambiental del suelo.
- Los métodos y procedimientos para la Remediación de suelos contaminados.

***Calidad ambiental del suelo:*** Conjunto de características cualitativas y/o cuantitativas que le permiten al suelo funcionar dentro de los límites del ecosistema del cual forma parte y con el que interactúa, y que posibilita su utilización para un propósito específico en una escala amplia de tiempo.

***Criterios de calidad del suelo:*** Los criterios de calidad del suelo son valores de fondo aproximados o límites analíticos de detección para un contaminante presente en el suelo. Los valores de fondo pueden ser el resultado de la evolución natural del área, a partir de sus características geológicas, sin influencia de actividades antropogénicas.

**Criterios de remediación del suelo:** Los criterios de remediación de se establecen de acuerdo al uso del suelo, tienen el propósito de establecer los niveles máximos de concentración de contaminante en un suelo luego de un proceso de remediación.

**Tabla 5-2.** Resumen de los límites máximos permisibles para metales Cd,Ni,Pb de la Norma de Calidad Ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.

Metal	Unidades	T1	T2 (Uso de suelo)			
			Residual	Comercial	Industrial	Agrícola
Cadmio	mg/kg	0,5	4	10	10	2
Niquel	mg/kg	19	100	100	50	50
Plomo	mg/kg	19	140	150	150	60

**Fuente:** TULSMA, 2015. Anexo 2 del libro VI. Criterios para suelos contaminados.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

Tabla T1. Criterios de calidad del suelo.

Tabla T2. Criterios de Remediación.

#### 2.2.4.2. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108:2014.

Esta norma se aplica para el control al agua potable de los sistemas de abastecimiento públicos y privados a través de redes de distribución y tanqueros.

**Tabla 6-2.** Límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb según la INEN 1108:2014.

Metal	Unidades	Límite maximo permitido
Cadmio	mg/kg	0,003
Niquel	mg/kg	0.07
Plomo	mg/kg	0.01

**Fuente:** NTE INEN 1108, 2014. Requisitos para agua potable.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

#### 2.2.4.3. Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador 1215.

El presente Reglamento Ambiental y sus Normas Técnicas Ambientales incorporadas se aplicará a todas las operaciones hidrocarburíferas y afines que se llevan a efecto en el país.

El presente Reglamento tiene por objeto regular las actividades hidrocarburíferas de exploración, desarrollo y producción, almacenamiento, transporte, industrialización y comercialización de

petróleo crudo, derivados del petróleo, gas natural y afines, susceptibles de producir impactos ambientales en el área de influencia directa, definida en cada caso por el Estudio Ambiental respectivo.

**Tabla 7-2.** Límites máximos permisibles para metales Cd, Ni, Pb según la RAOHE 1215.

Metal	T4 a	T6			T7		T9
		Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistemas sensibles	Sin Impermeabilización en la base	Con impermeabilización en la base	
Cadmio	-	< 2	< 10	< 1	< 0,05	< 0,5	Solicitados en la tabla
Niquel	-	< 50	< 100	< 40	-	-	
Plomo	< 0,5	< 100	< 500	< 80	-	-	

Fuente: RAOHE 1215, 1998. Requisitos para actividades hidrocarburíferas.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

T4a. Límites permisibles para el monitoreo ambiental permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimiento de tanques y vehículos. Límites permisibles en el punto de descarga de efluentes (descargas líquidas).

T6. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

T7. Límites permisibles de lixiviados para la disposición final de lodos y ripios de perforación en superficie.

T9. Parámetros a determinarse en la caracterización de aguas superficiales en Estudios de Línea Base – Diagnóstico Ambiental. (RAOHE, 2010,p.49-56)

### **2.2.5. Espectrometría de Absorción Atómica.**

#### **2.2.5.1. Definición**

Es una técnica para determinar la concentración de un elemento metálico determinado en una muestra. Puede utilizarse para analizar la concentración de más de 62 metales diferentes en una solución.

Aunque la espectrometría de absorción atómica data del siglo XIX, la forma moderna fue desarrollada en gran medida durante la década de los 50 por un equipo de químicos de Australia, dirigidos por Alan Walsh. (Pérez G. , 2017)

### 2.2.5.2. Principio

La técnica hace uso de la espectrometría de absorción para evaluar la concentración de un analito en una muestra. Se basa en gran medida en la ley de Beer-Lambert. En resumen, los electrones de los átomos en el atomizador pueden ser promovidos a orbitales más altos por un instante mediante la absorción de una cantidad de energía (es decir, luz de una determinada longitud de onda). Esta cantidad de energía (o longitud de onda) se refiere específicamente a una transición de electrones en un elemento particular, y en general, cada longitud de onda corresponde a un solo elemento.

Como la cantidad de energía que se pone en la llama es conocida, y la cantidad restante en el otro lado (el detector) se puede medir, es posible, a partir de la ley de Beer-Lambert, calcular cuántas de estas transiciones tienen lugar, y así obtener una señal que es proporcional a la concentración del elemento que se mide (Skoog, 2001, p. 321).

### 2.2.5.3. Fundamento

Al suministrar una determinada cantidad de energía a un átomo cualquiera en estado fundamental ( $E_0$ ), ésta es absorbida por el átomo de tal forma que se incrementará el radio de giro de sus electrones de la capa externa llevando al átomo a un nuevo estado energético ( $E_1$ ) que llamamos excitado.

Cuando éste vuelve a su estado fundamental, cede una cantidad de energía cuantitativamente idéntica a su energía de excitación, emitiendo radiaciones a longitudes de onda determinadas.

Cuando los átomos en estado fundamental se encuentran con las mismas radiaciones que ellos mismos son capaces de emitir, se produce una absorción de las mismas, desplazándose el equilibrio hacia la izquierda y pasando los átomos del estado fundamental al excitado. El fenómeno de absorción de radiaciones a determinadas longitudes de onda en el caso particular en que el medio absorbente sean los átomos en estado fundamental.

El átomo consiste de un núcleo y de un número determinado de electrones que llenan ciertos niveles cuánticos. La configuración electrónica más estable de un átomo corresponde a la de menor contenido energético conocido como “estado fundamental”. (Villanueva, C.2004,P.34-50).

#### *2.2.5.4. Instrumentos*

Para analizar los constituyentes atómicos de una muestra es necesario atomizarla. La muestra debe ser iluminada por la luz. Finalmente, la luz es transmitida y medida por un detector. Con el fin de reducir el efecto de emisión del atomizador (por ejemplo, la radiación) o del ambiente, normalmente se usa un espectrómetro entre el atomizador y el detector. (Pérez G. , 2017).

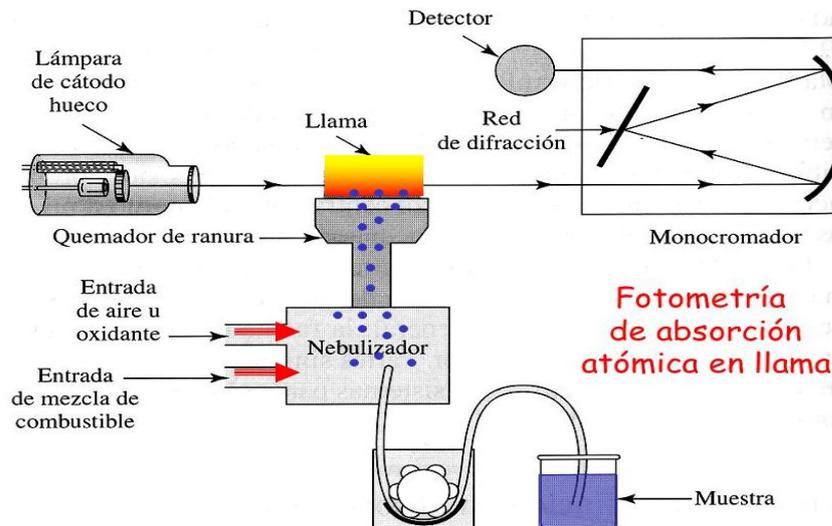
#### *2.2.5.5. Aplicación*

La EAA constituye una de las técnicas más empleadas para la determinación de más de 60 elementos, de una gran variedad de muestras. Entre algunas de sus múltiples aplicaciones tenemos el análisis de: aguas, muestras geológicas, muestras orgánicas, metales y aleaciones, petróleo y sus subproductos; y de amplia gama de muestras de industrias químicas y farmacéuticas.

La espectroscopía de absorción atómica con llama es el método más empleado para la determinación de metales en una amplia variedad de matrices. Su popularidad se debe a su especificidad, sensibilidad y facilidad de operación. En este método la solución muestra es directamente aspirada a una llama de flujo laminar.

La llama tiene como función generar átomos en su estado fundamental, de los elementos presentes en la solución muestra. Temperaturas cercanas a los 1,500 – 3, 000°C son suficientes para producir la atomización de un gran número de elementos, los que absorberán parte de la radiación proveniente de la fuente luminosa.

El resultado fue el desarrollo de un quemador con un cabezal de ranura, obteniéndose de este modo un camino óptico alargado a través de la llama, lo que proporciona una mayor sensibilidad al método. Estos quemadores emplean generalmente una cámara de premezclado de combustible/oxidante en combinación con un sistema para aspirar la solución muestra a la llama. En la Figura 3-2. Se observan los procesos que experimenta una solución muestra con estos sistemas de atomización en la llama. (Razmilic, B. 2001)



**Figura 3-2. Proceso de atomización en una llama**

*Fuente: Jimenez, Instituto Politécnico Nacional. 2013.*

#### 2.2.5.6. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.

- Una fuente de radiación que emita una línea específica correspondiente a la necesaria para efectuar una transición en los átomos del elemento analizado.
- Un nebulizador, que por aspiración de la muestra líquida, forme pequeñas gotas para una atomización más eficiente.
- Un Quemador, en el cual por efecto de la temperatura alcanzada en la combustión y por la reacción de combustión misma, se favorezca la formación de átomos a partir de los componentes en solución.
- Un sistema óptico que separe la radiación de longitud de onda de interés, de todas las demás radiaciones que entran a dicho sistema.
- Un detector o transductor, que sea capaz de transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagética, en señales eléctricas o de intensidad de corriente.
- Una amplificador o sistema electrónico, que como su nombre lo indica amplifica la señal eléctrica producida, para que en el siguiente paso pueda ser procesada con circuitos y sistemas electrónicos comunes.
- Por último, se requiere de un sistema de lectura en el cual la señal de intensidad de corriente, sea convertida a una señal que el operario pueda interpretar (ejemplo: transmitancia o absorbancia). Este sistema de lectura, puede ser una escala de aguja, una escala de dígitos, un graficador, una serie de datos que pueden ser procesados a su vez por una computadora, etc.

#### *2.2.5.7. Descripción de la técnica de EAA*

La técnica de absorción atómica en flama en una forma concisa consta de lo siguiente: la muestra en forma líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se desintegra y forma un rocío o pequeñas gotas de líquido. Las gotas formadas son conducidas a una flama, donde se produce una serie de eventos que originan la formación de átomos.

Estos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración. La señal de la lámpara una vez que pasa por la flama llega a un monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura. (Slavin, M. 1978, p.45-80).

#### *2.2.5.8. Fuentes de radiación*

Una vez que han sido formados los átomos, la flama tiene la misma función que una celda en espectroscopia visible o Ultravioleta. Los átomos de la flama absorben radiación de acuerdo a la Ley de Beer si esta corresponde a la diferencia en energía entre los niveles energéticos de algunos de los átomos presentes, del contrario, la radiación pasa por la flama sin disminuir la potencia de haz como efecto de los átomos contenidos en ella.

#### *2.2.5.9. Niveles cuánticos en átomos*

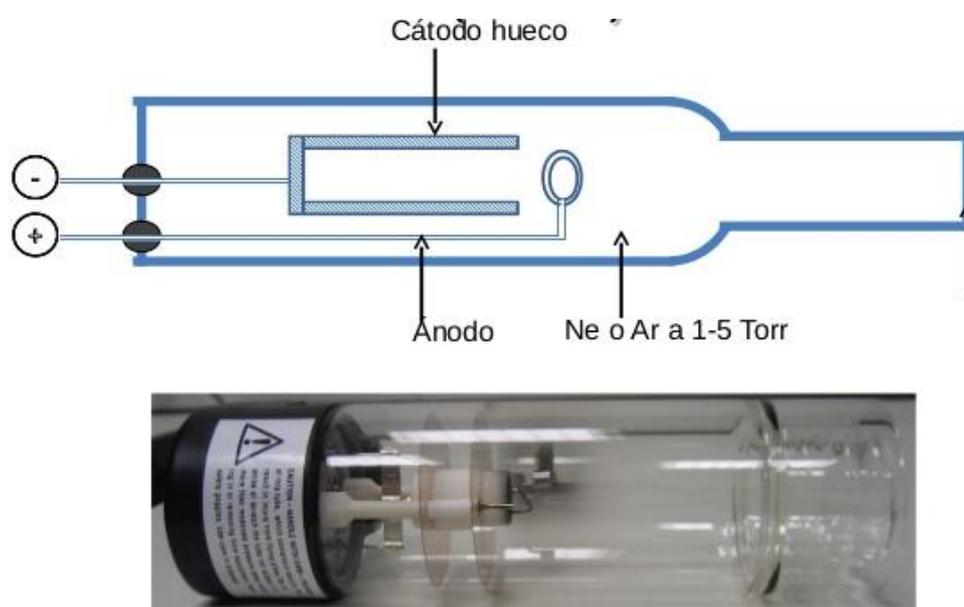
Los átomos de los diferentes elementos tienen líneas bien definidas que corresponden a transiciones entre diferentes niveles atómicos. Estas transiciones tienen anchos espectrales de décimas o hasta centésimas de nanómetro. Cada elemento va a responder a la excitación de una radiación de longitud de onda muy específica ya que solo este elemento absorbe o emite tal tipo de radiación, porque esta corresponde a la diferencia en energía entre dos niveles particulares de ese átomo.

La idea de Alan Walsh, el creador de la EAA fue la siguiente: los átomos absorben y emiten radiación de exactamente la misma frecuencia o longitud de onda, ya que absorben radiación al pasar del estado basal a un estado excitado y teóricamente emiten la misma frecuencia de radiación en el proceso inverso; por lo tanto si se tiene una fuente de excitación en donde el elemento excitado es el mismo que se va a analizar, la radiación emitida va a ser captada únicamente por el elemento que es idéntico al de la fuente luminosa.

#### 2.2.5.10. Lámpara de cátodo hueco

Este tipo de fuente de radiación es de las ampliamente difundidas en la EAA. Las lámparas de cátodo hueco (LCH o HCL) consisten de un cilindro de vidrio sellado al vacío y con un gas inerte en su interior. Dentro de este mismo cilindro se encuentran dos filamentos; uno de ellos es el cátodo y el otro el ánodo.

El ánodo generalmente es un alambre grueso hecho de níquel o tungsteno, el cátodo es en forma de un cilindro hueco, en el interior del cual se encuentra depositado en forma de una capa el elemento metálico que se va a excitar. También regularmente y cuando esto es posible el cátodo está enteramente hecho del metal a analizar (Figura 4-2).



**Figura 4-2. Lámpara de cátodo hueco.**

**Fuente:** Jimenez, Instituto Politécnico Nacional, 2013.

#### 2.2.5.11. Lámparas individuales y de multielementos

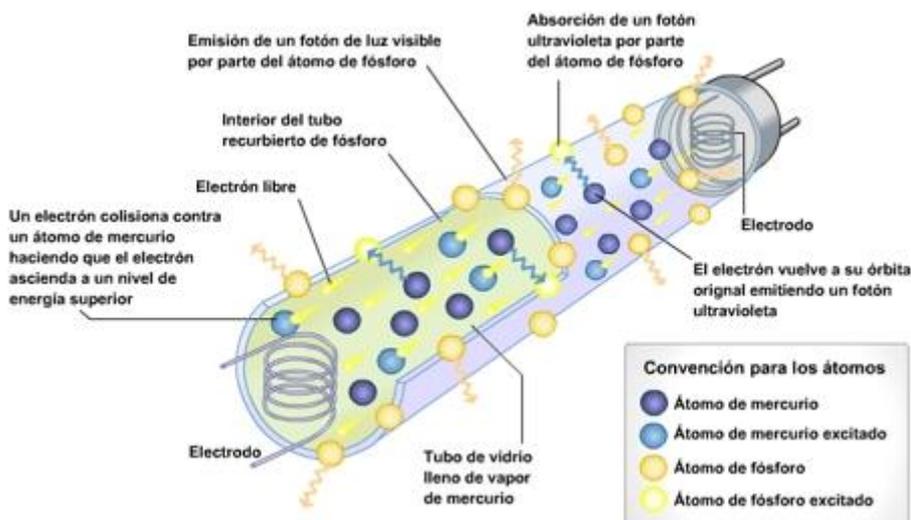
En el caso de las lámparas de cátodo hueco, es posible tener lámpara individual de multielementos. Cuando existe la seguridad de que no hay interferencias espectrales interelementos y cuando las propiedades metalúrgicas son adecuadas para hacer la aleación necesaria se pueden construir cátodos con más de un elemento metálico. De esta forma una lámpara puede servir para determinar uno, dos, tres o hasta seis elementos. El costo de una lámpara de multielementos, es menor a la suma del costo de cada una de las diferentes lámparas individuales, desafortunadamente este tipo de lámparas tienen grandes inconvenientes, entre ellos

principalmente el que el haz de radiación producido no tiene la intensidad ni la pureza espectral que proporciona una lámpara individual.

#### 2.2.5.12. Lámpara de descarga sin electrodos

Las fuentes de radiación de este tipo tienen la misma finalidad que las lámparas de cátodo hueco, solo que la forma de excitación de los átomos emisores de radiación es diferente. La lámpara de descarga sin electrodos se construye colocando una pequeña cantidad de una sal del elemento metálico (generalmente un yoduro), o el elemento metálico mismo si así es más conveniente, en un recipiente de cuarzo, el cual previamente se ha sometido al vacío antes de sellarse. Posteriormente, esta ampolla de cuarzo se coloca dentro de un cilindro de cerámica el cual está acoplado a un generador de radiofrecuencia.

Cuando la lámpara se enciende se forma un campo de microondas el cual causa la volatilización y la excitación de algunos átomos del elemento depositado en la cápsula de cuarzo de la lámpara y así se forma el haz de radiación del elemento específico a determinar. La Figura 5.2 es esquemática de una lámpara de este tipo.



**Figura 5-2 Lámpara de descarga sin electrodos**

Fuente: Jimenez, Instituto Politécnico Nacional, 2013.

#### 2.2.5.13. Comparación entre lámparas de cátodo hueco y lámparas de descarga sin electrodos.

Las lámparas de cátodo hueco fueron las primeras empleadas y en la actualidad son las más ampliamente utilizadas. Se pueden construir lámparas de éste tipo para prácticamente todos los elementos determinables por EAA y la mayoría de ellos están disponibles en lámparas individuales o multielementos, lo cual da cierta elasticidad en su uso. Y las de descarga sin

electrodos solo son fabricadas para elementos individuales. Las lámparas de descarga sin electrodos requieren de una fuente de poder para producir la radiofrecuencia. (Iturriaga,H. 1989,pp.178-180)

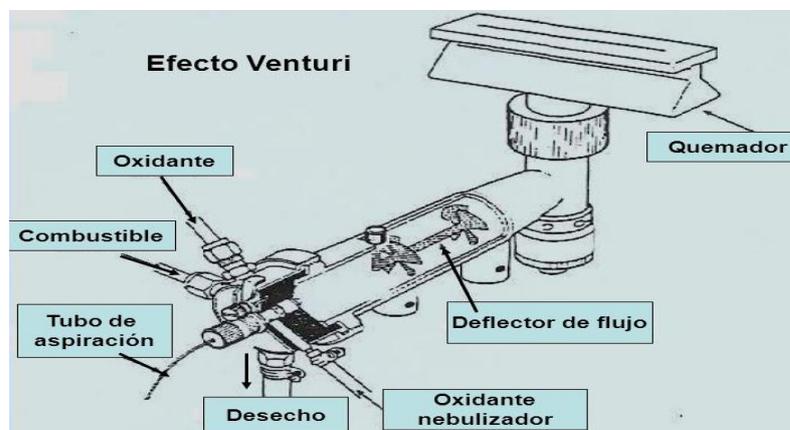
#### 2.2.5.14. Nebulizador

Cuando una solución acuosa de sales inorgánicas disueltas es aspirada y dirigida hacia una flama, en esta ocurre una serie de eventos que conducen a la formación de átomos en la misma. El quemador de premezclado mostrado en la Figura 6-2 tiene la siguiente secuencia de pasos en su operación: inicialmente la muestra líquida debe ser conducida al quemador.

Para esto se hace uso del efecto Venturi. Este efecto se crea cuando el oxidante (por ejemplo aire) se introduce a través de un tubo diseñado de manera tal que se genera un vacío lo cual produce la succión de la muestra líquida a través del tubo capilar.

El combustible necesario, (generalmente acetileno) se introduce directamente a la cámara del nebulizador por medio de un conducto adicional. El resultado es que el quemador lleva finalmente una mezcla oxidante (aire) y combustible (acetileno) que transportan pequeñas gotas de rocío de la muestra aspirada. Otras de las líneas conectadas a la cámara del nebulizador es el tubo de drenaje.

La finalidad de este es desechar las gotas que por su tamaño grande condensan en el deflector de flujo o esfera de impacto. La eficiencia y el grado en que la solución aspirada forma pequeñas gotas de rocío es sumamente importante ya que la reproductibilidad y la sensibilidad de esta técnica depende en gran parte de este paso en la operación del nebulizador.



**Figura 6-2 Quemador-nebulizador de premezclado o de flujo laminar**

Fuente: Jimenez, Instituto Politécnico Nacional, 2013.

#### 2.2.5.15. Quemador

- Con las gotas de solución que alcanzan a llegar al quemador ocurren los siguientes eventos:
- El solvente es vaporizado y se forman los cristales de las sales metálicas que originalmente se encontraban en solución como iones positivos y negativos. La naturaleza de las sales formadas dependen principalmente de la constante de producto de solubilidad del compuesto que cristaliza.
- Posteriormente el metal pasa del estado líquido al estado gaseoso y finalmente se tiene en un vapor atómico que es capaz de absorber radiación de longitudes de onda bien definidas.
- Si la temperatura es lo suficientemente alta y/o el elemento metálico es de bajo potencial de ionización, parte de los átomos del elemento pierden uno o más de sus electrones y se ioniza parcialmente. Esto no es conveniente ya que la ionización es una interferencia en EAA.

##### 2.2.5.15.1. Tipos de quemadores

Existen dos tipos de arreglos nebulizador/quemador; de premezclado o flujo laminar y de consumo total. El quemador de premezclado es el que se utiliza más ampliamente en los modernos equipos de EAA. Este tipo de arreglo se le llama de premezclado, debido a que el oxidante y el combustible se combinan en la cámara del nebulizador y llegan como una mezcla al quemador.

El flujo de la mezcla gas/aerosol, es el tipo de flujo laminar, por lo que también se le llama quemador de flujo laminar. Solamente un pequeño volumen de muestra (las gotas de rocío más pequeñas) llega al quemador y el resto se vierte hacia el drenaje.

El quemador de consumo total o quemador de inyección directa, es aquel en el cual el total de la muestra aspirada se hace llegar a la flama. Aunque aparentemente este tipo de quemador es superior al de premezclado, por no desperdiciar nada de muestra, se tienen una serie de desventajas con este quemador de consumo total, que lo hacen objetable.

##### 2.2.5.15.2 Tipos de flamas

Aunque a lo largo del desarrollo de la EAA se han utilizado diferentes combinaciones de gases para producir la reacción de combustión en el quemador (ejemplo: oxígeno-acetileno, aire-hidrógeno, oxígeno-hidrógeno, etc.), las únicas combinaciones que hoy en día se emplean con fines prácticos son las flamas: airepropano, aire-acetileno, óxido nitroso-acetileno.

En el caso de los elementos alcalinos se tiene el problema de que se ionizan fácilmente en flamas de alta temperatura, como aire-acetileno lo cual es una interferencia en la EAA. Para esto se utiliza un supresor de ionización, o se emplea una flama de menor temperatura, como lo es la flama de aire-propano y se determina el elemento por Espectroscopia de Emisión de Flama.

#### *2.2.5.16. Interferencias espectrales*

Las interferencias espectrales son originadas, por señales alteradas de la longitud de onda de radiación electromagnética seleccionada. Esta alteración tiene diferentes orígenes y son los siguientes:

**a) Traslapamiento de líneas atómica.** - En EAA se hace incidir radiación de longitud de onda que corresponde exactamente a la longitud de onda requerida para efectuar una transición específica en los átomos de la especie absorbente. Aunque en teoría existe la posibilidad de que otra especie atómica que no es la que se está analizando absorba la radiación incidente, esta posibilidad es sumamente difícil de que se llegue a presentar debido a que las líneas de absorción de los átomos son sumamente agudas.

**b) Interferencia por dispersión por partículas.** - Cuando la solución aspirada hacia el quemador tiene un gran número de sólidos disueltos, es probable que se tenga interferencia por dispersión por partículas. Este tipo de interferencia se debe a que si el número de partículas sólidas que llegan al quemador es demasiado grandes es posible que no ocurra en forma completa todos los pasos que producen la descomposición de las partículas que se encuentran en solución.

**c) Interferencia por traslapamiento de bandas moleculares.** - Por matriz de la muestra se entiende todo lo que acompaña al analito; el entorno en que se encuentra éste. La interferencia por bandas moleculares ocurre cuando la matriz tiene en cantidades grandes, compuestos moleculares sumamente complejos; por ejemplo: una muestra de orina o de sangre.

Al quemarse la muestra en la flama, los componentes orgánicos que se encuentran en la matriz de la muestra producen compuestos y radicales que son potenciales absorbedores de radiación electromagnética. Si las bandas de absorción de estos compuestos caen dentro del rango de la línea de absorción del elemento a determinar, se tendrá una interferencia de tipo espectral, ya que se registrará una falsa absorbancia.

#### 2.2.5.17. *Interferencias no espectrales*

Las interferencias no espectrales son aquellas que causan errores y que pueden dar origen a lecturas mayores o menores a los valores normales. Las interferencias de este tipo son las que se detallan a continuación:

**a) Interferencia por ionización.** - Como ya se ha mencionado con anterioridad, en la flama ocurren una serie de eventos que conducen a la formación de átomos a partir de compuestos en solución, sin embargo, cuando la temperatura de la flama es muy alta y/o el elemento pierde fácilmente uno o más de sus electrones más exteriores ocurre la ionización. La ionización es indeseable debido al error que causa en las lecturas del analito. Considérese el caso del Sodio atómico y del Sodio ionizado; en este último caso el Sodio ha perdido su electrón más externo y se encuentra cargado positivamente.

**b) Interferencia por propiedades físicas de las soluciones.** - Para que dos soluciones de la misma concentración den iguales lecturas de absorbancia deben tener la misma velocidad de aspiración hacia la flama y la proporción de líquido aspirado que finalmente llega al quemador debe ser constante. Considérese por ejemplo que se va a determinar contenido de calcio en una miel. Para corregir por este efecto se emplea la técnica de adición de estándar con la finalidad de homogenizar las propiedades físicas de estándares y muestras.

**c) Interferencias por volatilización de soluto.** - el solvente que acompaña al analito y de más sales, es evaporado en la cámara de nebulización o inmediatamente después de que ha alcanzado la flama, por lo que ocurre en la parte más baja del quemador la formación de partículas sólidas que posteriormente se descompone hasta la formación de átomos y entidades más simples. Posteriormente a la solvatación y formación de partículas sólidas, ocurre la descomposición de las sales y la formación de átomos. (Rocha E, 2000, pp: 123-203).

#### 2.2.6. *Validación e Incertidumbre*

##### 2. 2.6.1. *Métodos y Guías de Referencia*

**Métodos Estándar.** – Conocido como *Standard Methods*, es utilizado a nivel mundial como referencia de métodos normalizados para guía de laboratorios este describe métodos de muestreo y análisis de aguas. La publicación *Standard Methods for the examination of wáter and wastewater*, traducido al español: *Métodos estándar para el análisis de aguas limpias y residuales*, representa la mejor práctica actual de analistas de agua de América. Esta referencia abarca todos

los aspectos de técnicas de análisis de aguas limpias y residuales. Métodos estándar es una publicación conjunta de la *American Public Health Association* (APHA), la *American Water Works Association* (AWWA), y la *Water Environment Federation* (WEF). (Eugene,W. 2012,p.200-204).

**Guía Eurachem para la Validación de Métodos.** - EURACHEM es una red de organizaciones en Europa cuyo objetivo es establecer un sistema internacional para asegurar la trazabilidad en mediciones analíticas y la promoción de prácticas de calidad.

Proporciona una guía detallada para la evaluación de la incertidumbre en análisis químicos cuantitativos. Es aplicable a todos los niveles de precisión en todos los campos, desde análisis de rutina a investigaciones básicas y métodos empíricos, así como para validación de métodos ya que es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos. Si bien la mayoría de los químicos analíticos son conscientes de ello, no siempre está claro por qué y cuándo debe realizarse y qué es necesario hacer. Algunos consideran que la validación de métodos debe realizarse en colaboración con otros laboratorios, por lo que no la llevan a cabo.

Las guías Eurachem, para la validación de métodos de análisis y estimación de la incertidumbre, han demostrado ser aplicables en laboratorios alrededor del mundo y son aceptadas internacionalmente, por lo que el SAE (Servicio de Acreditación Ecuatoriano) exige el uso de estas guías para la acreditación de los laboratorios bajo la norma ISO/IEC 17025:2006. (Lorens.P, 2014,p.41-59).

**Norma NTE-INEN ISO/IEC 17025:2006.** Forman el sistema especializado para la normalización mundial. Los organismos nacionales miembros de ISO e IEC participan en el desarrollo de las Normas Internacionales a través de comités técnicos establecidos por la organización respectiva, para tratar con campos particulares de la actividad técnica. En 1982 se publica la Guía ISO 25 para el caso de los laboratorios, y en año 2005 fue sustituida por la norma ISO/ IEC 17025: “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”.

La ISO/IEC 17025 establece los requisitos generales para la competencia en la realización de ensayos o de calibraciones, incluido el muestreo. Cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el propio laboratorio.

Esta norma se ejecuta bajo un sistema de gestión de calidad, evalúa la administración y la

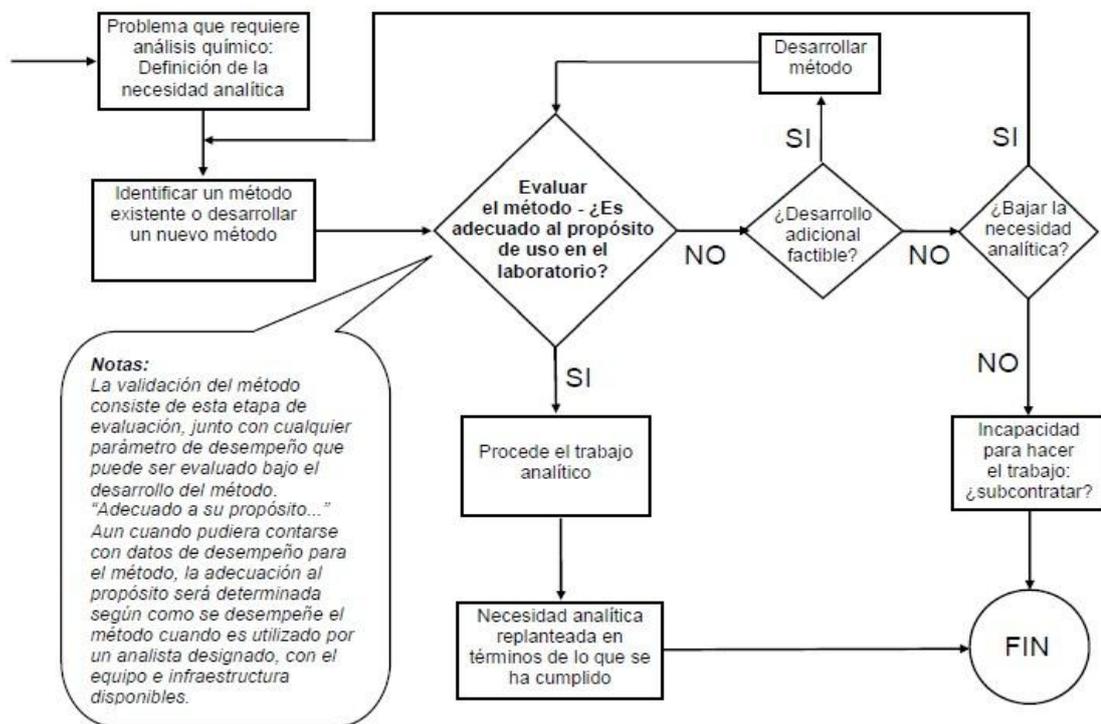
competencia técnica del laboratorio, los laboratorios acreditados tienen como función principal de crear resultados válidos y hay un reconocimiento mutuo con otros laboratorios del mundo.

Esta norma cumple con los requerimientos técnicos de la ISO 9001 (aplicable a todo tipo de organización). Por lo tanto, toda organización que cumple con los requerimientos de ISO 17025 también cumple con los requerimientos de ISO 9001, pero no del modo inverso. (INEN, 2006, pp.14-28)

### 2.2.6.2. Validación de Métodos

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

El objetivo de la validación es probar la aptitud de los métodos, así como la capacidad del laboratorio y se apoya en los parámetros estadísticos. (Teddington, M.2005)



**Figura 7-2 Elección, desarrollo y evaluación de métodos**

Fuente: Castaño A. 2012.

### 2.2.6.3. Parámetros relacionados con la calidad de un método analítico

**Selectividad y especificidad:** En todo método analítico hay un paso fundamental en el que se produce la medida de una señal relacionada con la concentración (análisis cuantitativo) o la presencia (análisis cualitativo) de un determinado analito. A veces, la presencia de otros compuestos, química o físicamente similares al analito, pueden contribuir a dicha señal, pudiendo causar un error sistemático en la determinación del analito. Estos compuestos pasan a denominarse interferencias. Es por tanto necesario asegurarse de donde procede la señal que se está midiendo.

**Exactitud de medida:** Grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. La exactitud da cuenta de la proximidad entre el resultado obtenido por un método y el valor “real”. Como se trata de un parámetro cualitativo (un método será muy o poco exacto) para describir el error asociado a un resultado, hace falta un parámetro que permita medir la exactitud cuantitativamente. Se puede determinar la exactitud de un método mediante estudios de intercomparación y recuperabilidad.

**Z Score:** Es un parámetro de desempeño que permite la interpretación y comparación de los resultados de los participantes.

$$z_{core} = \frac{|(x_i - Valor\ asignado)|}{s}$$

Donde:

$x_i$  = el resultado reportado de la concentración del analito en la muestra.

Valor asignado = Valor establecido como verdadero en el certificado.

$s$  = desviación estándar establecido.

**Interpretación del Z-score:** Los resultados del cálculo de Zscore serán comparados de la siguiente manera:

$ Z $	$\leq 2$ el resultado es satisfactorio	ACEPTABLE
$ Z $	$>2$ a $< 3$ el resultado es cuestionable	CUESTIONABLE
$ Z $	$> 3$ el resultado es insatisfactorio	NO ACEPTABLE

Es decir: Si el valor absoluto de Z mayor que 0 pero menor o igual que 2, el resultado es aceptable; Si el resultado es mayor que 2 y menor que 3, el resultado es cuestionable; y si el resultado es

mayor que 3, el resultado es no satisfactorio (No aceptable).

**Veracidad:** Es un parámetro que expresa la proximidad de la media de una serie de resultados obtenidos con el método al valor real. Generalmente se expresa en términos de error o bias, definido como la diferencia entre el resultado de medida y el valor real y **la precisión** da cuenta de la proximidad entre sí de esta serie de resultados

**Recuperabilidad:** Parámetro que evalúa la exactitud del método, es la capacidad del método de obtener el analito en la concentración más cercana a la real.

$$\% \text{ Recuperabilidad} = \frac{\text{Valor obtenido} \times 100}{\text{Valor teórico}}$$

**Repetibilidad:** Precisión bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, con el mismo operador, utilizando el mismo instrumento de medida y durante un corto intervalo de tiempo.

**Reproducibilidad:** Medida de la desviación cuando se realizan los ensayos variando una o más de las condiciones, por ejemplo con el mismo método, en diferentes laboratorios, por diferentes analistas, usando diferentes equipos. Indica la variabilidad cuando un método se desarrolla en diferentes condiciones. El  $T_{\text{calculado}} < T_{\text{teórico}}$ .

$$T_{\text{calculado}} = \frac{(X_1 - X_2) - 0}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)V_1 + (n_2 - 1)V_2}{(n_1 + n_2) - 2} \left[ \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Donde:

$X_1$  y  $X_2$ : medias de las muestras 1 y 2.

$n_1$  y  $n_2$ : tamaño de las muestras 1 y 2.

$V_1$  y  $V_2$ : varianzas insesgadas de las muestras 1 y 2.

$T$  se distribuye con una  $T$  de Student con  $n_1$  y  $n_2 - 2$  grados de libertad.

La precisión se puede realizar calculando, a través del análisis simple de varianza para cada uno de los niveles de ensayo.

**Tabla 8-2.**Ecuaciones para el Análisis de la Varianza

Origen de la Varianza	Grados de Libertad (v)	Suma de diferencias Cuadráticas (SDC)	Diferencias cuadráticas medias (Varianzas)
Entre grupos (Between)	$Vb = K-1$ $Vb = 2-1$ $Vb = 1$	$SCDb = \sum_{i=1}^2 (P (\bar{x}_{pA1} - \bar{x}_N)^2 + P (\bar{x}_{pA2} - \bar{x}_N)^2)$	$DCMb = \frac{SCDb}{Vb}$
Dentro del grupo (Whithin)	$Vw = k (P-1)$ $Vw = 2 (5-1)$ $Vw = 8$	$SCDw = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 (X_{iA1A2} - \bar{x}_{pA1})^2 + (X_{iA2} - \bar{x}_{pA2})^2)$	$DCMw = \frac{SCDw}{Vw}$

Fuente: Remache A, Validación de métodos analíticos, 2013.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

La desviación estándar de repetibilidad ( $S_r$ ) es:

$$S_r = \sqrt{DCMw}$$

La desviación estándar de reproducibilidad ( $S_R$ ) es:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + SL^2}$$

Precision intermedia “SL”

$$SL^2 = \frac{DCMb - DCMw}{K}$$

Siendo el denominador igual al número de observaciones que se realizan cada día (en cada nivel).

Cálculo del coeficiente de variación de repetibilidad “CVr”

$$CVr \% = \frac{S_r}{\bar{X}_N} \times 100$$

Cálculo del coeficiente de variación de reproducibilidad “CVR”.

$$CVR \% = \frac{S_R}{\bar{X}_N} \times 100$$

Donde:

$X_N$  = media de las medias de cada nivel

**Interferencia:** Modificación de la función de respuesta del método producida por la presencia de otras sustancias distintas al analito problema.

**Intervalo de trabajo:** El intervalo de trabajo de un método es el intervalo de concentración en el que puede obtenerse una exactitud y precisión adecuadas al objetivo del método.

**Límite de cuantificación del método:** Concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Se establece utilizando una muestra o material de referencia apropiado. Normalmente corresponde al punto inferior de la curva de calibración (excluido el blanco). No debe determinarse por extrapolación.

**Límite de detección del método:** Mínima concentración de analito que se puede detectar siguiendo el proceso completo del método con un nivel aceptable de confianza de que dicha concentración es mayor que el blanco.

**Sensibilidad:** Es la diferencia en la concentración de analito que corresponde a la diferencia más pequeña en la respuesta del método que puede detectarse. Se calcula a partir de la pendiente de la curva de calibración o, experimentalmente, utilizando muestras que contengan distintas concentraciones del analito.

**Robustez:** Es la inercia que presenta un método analítico a modificar su señal cuando tienen lugar pequeños cambios en las condiciones ambientales u operativas, que se consideran las variables que gobiernan el experimento de medida. Para el estudio de robustez, estas condiciones se modifican ligeramente, siguiendo un determinado diseño experimental, y se comprueba su influencia en la señal analítica. Con ello, se puede concluir que variables son más significativas a la hora de realizar las medidas y por tanto, deben ser mejor controladas.

**Varianza:** La varianza es una medida de variabilidad que da cuenta del grado de homogeneidad de un grupo de observaciones. El análisis de varianza lo vamos a utilizar para verificar si hay diferencias estadísticamente significativas entre medias cuando tenemos más de dos muestras podemos considerarlas muestras aleatorias de la misma población. .

**Coefficiente de Variación (C.V.) (en %):** Magnitud que caracteriza la dispersión de una serie de  $n$  mediciones de un mismo mesurando, expresada como medida relativa a la media aritmética de los  $n$

resultados considerados. (Lorens.P, 2014,p.41-59).Su valor se calcula como:

$$C.V.(%) = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 = \%R.S.D$$

#### 2.2.6.4. Curva de Calibración.

Para determinar la concentración de un analito mediante un método instrumental, esta lectura debe ser directamente proporcional a la concentración de analito. Para esto se debe establecer una relación entre las señales medidas y una serie de patrones de concentración conocida. Esto es lo que se denomina realizar un calibrado. La relación señal- concentración vendrá dada por una función matemática a partir de la cual se puede interpolar el valor de señal obtenido para una muestra y calcular así la concentración de analito en la misma.

Los diferentes parámetros de la Función Respuesta y de Linealidad se determinan utilizando el Método de Mínimos Cuadrados.

##### 2.2.6.4.1. Función respuesta / linealidad

Es la relación entre la concentración de analito y la respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva de calibración. Cuando no sea posible la linealidad para un método, se deberá encontrar un algoritmo adecuado. Para la determinación de la función respuesta de un método se evalúan con los siguientes parámetros.

#### **Pendiente**

$$b = \frac{\sum (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sum (X_i - \bar{X})^2}$$

Donde:

$X_i$  = Concentración, mg/l

$Y_i$  = Absorbancia, Abs

$\bar{Y}$  = Absorbancia promedio, Abs

$\bar{X}$  = Concentración promedio, mg/l

**Intercepto**

$$a = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i - b \sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

**Coefficiente de determinación**

$$r^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 \sum (Y_i - \bar{Y})^2}}$$

**Error tipo de la estimación de y**

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (Y_i - \bar{Y})^2}{N - 2}}$$

**Error tipo de estimación de X (S<sub>xy</sub>)**

$$S_{xy} = \frac{S_{yx}}{b}$$

**Desviación estándar de la pendiente (S<sub>b</sub>)**

$$S_b = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

**Desviación estándar del intercepto (S<sub>a</sub>)**

$$S_a = \frac{s_{yx}}{\sqrt{\frac{\sum_i^n X_i^2}{\sum (X_i - \bar{X})^2}}}$$

**Intervalo de confianza para pendiente (b<sub>Min</sub> y b<sub>Max</sub>)**

$$b_{Min} = b - t * S_b$$

$$b_{Max} = b + t * S_b$$

**Intervalo de confianza para intercepto (a<sub>Min</sub> y a<sub>Max</sub>)**

$$a_{Min} = a - t * S_a$$

$$a_{Max} = a + t * S_b$$

t = t de student, calculada con 95%

### 2.2.6.5. Criterios Generales para la Validación de un Método.

La selección de los parámetros de validación son el primer paso para un proceso de validación, seguido por un diseño experimental / estadístico. Es un proceso donde se plantea los objetivos de validación y como resultado final se obtiene un método validado.

#### Selección de los parámetros de validación

Para demostrar que un método es adecuado para la aplicación que se pretende, es preciso determinar mediante estudios de laboratorio sus características de funcionamiento (parámetros), que se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo:

**Tabla 9-2.** Parámetros que se consideran en una validación de métodos

Parámetros	Objetivo Establecido
Selectividad / Especificidad	Definido por bibliografía normativa Nacional o internacional
Linealidad/Función respuesta	Elaborar curva de calibración, y regresión lineal del grado de ajuste con un $r \geq 0.995$ .
Límite de detección	3s del blanco, establecido por métodos bibliográficos o determinado por la concentración más baja del Límite de cuantificación.
Límite de cuantificación	10s del blanco, o determinado por la concentración más baja determinada experimentalmente.
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	CV * % en todos los niveles en estudio. F calculado $\leq$ F Tabulado t student calculado $\leq$ t student Tabulado (veracidad)
Exactitud	Recuperación de al menos del 85 al 115% en todos los niveles. (material de referencia Z score $> -2 < 2$ )
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ del rango más bajo, asumiendo (k=2)
Intervalo de trabajo	Definido por el tratamiento estadístico, y por los niveles de las muestras y estándares utilizados.

Fuente: Laboratorio AqLab. 2013. Criterios del SAE.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

## Diseño experimental y estadístico

Es necesario resaltar que a la hora de determinar los parámetros que se hayan seleccionado, estos no se obtendrán, normalmente, de un modo secuencial, sino que se obtendrían como resultado final de un diseño experimental adecuado, que contemplará los objetivos que se persigue conseguir, y en el que algunos de los elementos que se emplean pueden servir, simultáneamente, para la determinación de más de un parámetro.

**Tabla 10-2.** Parámetros que se consideran en el diseño experimental de métodos analíticos

A continuación, se presenta, <b>a modo general</b> un esquema de diseño experimental y una serie de criterios elementales para la determinación de los diversos parámetros de validación.	
<b>Límite de detección</b>	10 blancos en condiciones de Repetibilidad y reproducibilidad
<b>Límite de cuantificación</b>	Nivel más bajo determinado experimentalmente
<b>Linealidad</b>	En métodos instrumentales se procederá a realizar 5 curvas de calibración en condiciones de reproducibilidad Las curvas se aceptan si $r \geq 0.995$
<b>Repetibilidad</b>	Muestras mínimo cuatro niveles de concentración, determinadas bibliográficamente o según experiencia técnica: bajo, Medio y Alto  (10 repeticiones por muestra (estándar ó MRC ó matriz) en condiciones de repetibilidad) Nota: Es recomendable que las muestras seleccionadas deben usarse durante toda la validación, las mismas que deben ser rotuladas con sus datos como fechas de recolección.
<b>Reproducibilidad</b>	Muestras mínimo cuatro niveles de concentración, determinadas bibliográficamente o según experiencia técnica: bajo, medio y alto.  (10 repeticiones por muestra (estándar ó MRC ó matriz) en condiciones de reproducibilidad) Nota: Es recomendable que las muestras seleccionadas deben usarse durante toda la validación, las mismas que deben ser rotuladas con sus datos como fechas de recolección, procedencia.
<b>Exactitud</b>	Determinación de la exactitud de materiales de referencia. Por participación en interlaboratorios o Proficiency Testing
<b>Tratamiento estadístico</b>	CV ANOVA CRITERIO F T STUDENT % RECUPERABILIDAD Z SCORE
<b>Incertidumbre</b>	Estimación de la incertidumbre

Fuente: Laboratorio AqLab. 2013. Criterios del SAE.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.

## 2.2.6.6. Incertidumbre

### 2.2.6.6.1 Definición

En metrología, es una cota superior del valor de la corrección residual de la medida. También puede expresarse como el valor de la semi-amplitud de un intervalo alrededor del valor resultante de la medida, que se entiende como el valor convencionalmente verdadero.

### 2.2.6.6.2. Tipos de Incertidumbre

#### **Incertidumbre típica**

Para calcular la incertidumbre típica asociada a cada variable, considerando todas las contribuciones asociadas se debe:

- a) Establecer tan detalladamente como sea posible las causas o fuentes de incertidumbre que afectan a cada  $x_i$ .
- b) Determinar todas las fuentes de incertidumbre las cuales se pueden agrupar en dos categorías en función del método utilizado para estimar su valor numérico:
  - TIPO A: Es la contribución mediante el estudio estadístico de una serie de observaciones, es decir, la desviación estándar máxima de la repetibilidad y reproducibilidad.
  - TIPO B: Contribución de la incertidumbre y resolución de equipos calibrados, materiales de referencia y material de vidrio certificado.

#### **Incertidumbre Acumulada**

La incertidumbre de una medición cuando el resultado se obtiene a partir de la raíz cuadrada positiva de las contribuciones de tipo A y de tipo B.

$$U_{acumulada} = \sqrt{\text{Contribuciones del tipo A} + \text{contribuciones del tipo B}}$$

#### **Incertidumbre Expandida**

Magnitud que define un intervalo alrededor del resultado de una medición el que se espera cubra una fracción grande de la distribución de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mesurando.

$$U_{expandida} = U_{acumulada} \times k$$

### Factor de cobertura (k)

Factor que puede considerarse como la probabilidad de cobertura o nivel de confianza del intervalo, factor numérico usado como multiplicador de la incertidumbre acumulada para obtener una incertidumbre expandida. El factor de cobertura se encuentra típicamente en el intervalo de trabajo. (Teddington, M.2005)

#### 2.2.6.6.3. Distribución de probabilidad.

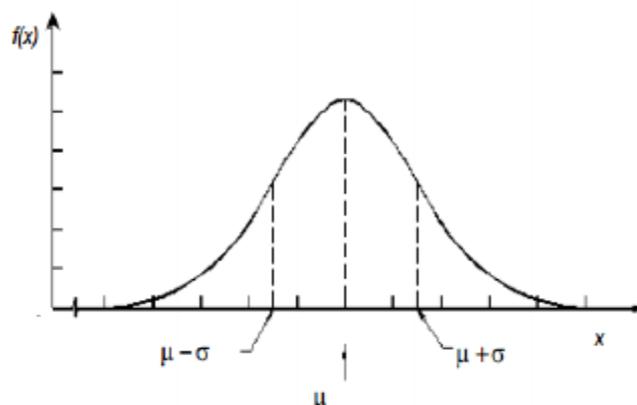
La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

**Distribución normal.** - Los resultados de una medición repetida “repetibilidad de las mediciones” afectada por una o más magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen en buena aproximación una distribución normal. También la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal.

Una de las características principales de la curva normal es que es asintótica en la base, es decir, “sus colas” tocan el cero hasta el infinito.

Se usa cuando se dispone de una incertidumbre expandida U.

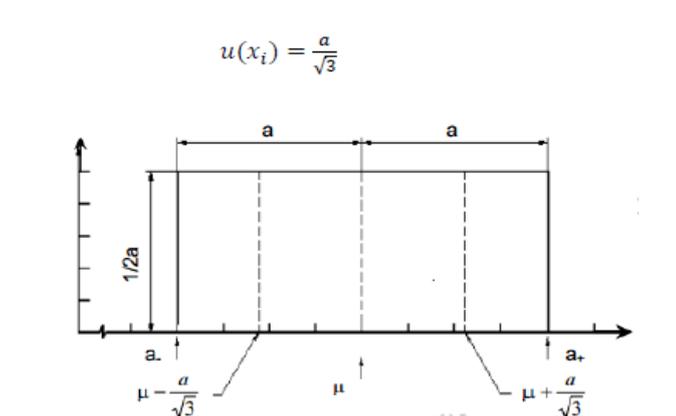
$$u(x_i) = \frac{U}{k}$$



**Figura 8-2 Distribución Normal.**

Fuente: Spieguel, Murray. 2014.

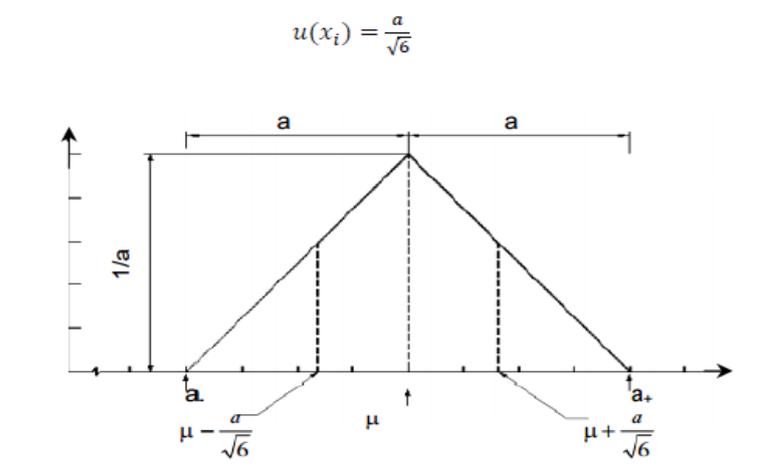
**Distribución rectangular.** - En un distribución rectangular cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, o sea la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo. Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica sobre tolerancias de un instrumento. En general, cuando exclusivamente hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada, lo más conservador es suponer una distribución rectangular.



**Figura 9-2 Distribución Rectangular**

Fuente: Spiegel, Murray. 2014.

**Distribución triangular.** Si además del conocimiento de los límites superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular. Resumiendo, a cada una de las fuentes de incertidumbre se les asigna una distribución probabilística que represente su comportamiento. (Feller, E. 1968, o.40-50)



**Figura 10-2 Distribución Triangular.**

Fuente: Spiegel, Murray. 2014.

**Cuantificación del mensurando.** La cuantificación consiste en determinar el valor más probable del mensurando, es decir, por ejemplo el promedio de una serie de datos o en su defecto el valor único. Se determina a través del modelo matemático, simplemente se sustituyen las variables del modelo (magnitudes de entrada) por su valor. Estas magnitudes de entrada se determinan de la misma forma, ya que cada una de ellas puede ser tratada como un mensurando que es necesario para determinar el mensurando final de interés. Si es complejo, se puede aislar la variable y tratarla por separado para simplificar el análisis.

#### 2.2.6.6.4. Contribuciones de la Incertidumbre

**Certificado de Calibración.** - Se utiliza la información del certificado de calibración del equipo (o del patrón). En el certificado debe figurar el valor del error como de la incertidumbre expandida, U, para cada uno de los puntos del campo de medida donde se ha realizado la calibración. La incertidumbre debida a la calibración de un equipo se calcula a partir de la ecuación:

$$U(V_{cal}) = \frac{U(cal)}{K}$$

Donde:

U(cal): Se obtiene de certificado de calibración.

k: Factor de Cobertura (generalmente k=2 corresponde a un nivel de confianza del 95%).

**Temperatura.** - Incertidumbre debida a la diferencia entre la temperatura de calibración (o especificación del fabricante) y la de trabajo. Si no viene expresamente definida por el fabricante, ni se conoce o espera algún tipo de influencia, no se considera como contribución, siempre que se trabaje dentro de los márgenes de temperatura para los que esté garantizado. Su contribución a la incertidumbre se considerará como un límite máximo, salvo que se especifique de otra forma, y por lo tanto se divide para  $\sqrt{3}$ .

$$U(V_{temperatura}) = \frac{(Dif T) * V_f * \alpha}{\sqrt{3}}$$

Donde:

Vf = Volumen del material volúmetrico.

Diferencia de Temperatura a(20°C) = 10 . Rango de Temperatura 20 – 30°C

$\alpha$  = 0,00025 Coeficiente de expansión vidrio boro sílice.

**Resolución.** - En los equipos digitales se considera como resolución el dígito menos significativo que pueda ser claramente leído por el operador. De acuerdo con la definición de resolución, se asigna una distribución rectangular. Su contribución se calcula de acuerdo a la ecuación

$$U_{res} = \frac{\text{resolución de equipo digital}}{\sqrt{12}}$$

#### 2.2.6.6.5. Formas de expresar la incertidumbre

***Incertidumbre absoluta:*** No es más que el valor absoluto de la diferencia entre el valor real y el valor medido. Sin embargo como el valor real es por definición desconocido, se utilizan las reglas prácticas explicadas anteriormente para asociar una incertidumbre a cada medición. La incertidumbre absoluta tiene las mismas unidades que la variable a la que está asociada y no depende de la magnitud de esta sino solamente de la resolución del instrumento utilizado.

***Incertidumbre expandida:*** Frecuentemente es necesario dar una incertidumbre que defina un intervalo alrededor del resultado de la medición del que se espera comprenda una fracción grande de la distribución de valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.

Al fin de incrementar la confiabilidad la incertidumbre combinada se multiplica por un factor de cobertura que generalmente es cercano a 2 y se representa con la letra “k”. La incertidumbre resultante es llamada “incertidumbre expandida”, U, y es la que típicamente se reporta en un informe de ensayo o calibración.

***Incertidumbre relativa:*** Representa que proporción del valor reportado es dudosa. Son adimensionales (no tienen unidades) y dependen de la magnitud de la variable medida. Mientras mayor sea el valor central menor será la incertidumbre relativa (para incertidumbres absolutas iguales).

***Incertidumbre porcentual:*** También representa que proporción del valor reportado es dudosa, pero en este caso en tanto por ciento. Al igual que las incertidumbres relativas, las incertidumbres porcentuales son adimensionales) y dependen de la magnitud de la variable medida. Mientras menor sea el valor central mayor será el error porcentual cometido (para incertidumbres absolutas iguales) (Maroto, Alicia. 2002 p.304)

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Marco Metodológico

##### *3.1.1. Tipo y diseño de la investigación*

Aplicado a validación de métodos, el tipo de investigación fue teórica – experimental. La parte teórica se realizó mediante la investigación bibliográfica de métodos oficiales, publicaciones, temas afines encontrados en libros, páginas web y procedimientos de validación. La parte experimental se realizó en el área instrumental del Laboratorio AqLab con los equipos, materiales y reactivos que posee el mismo, y se obtuvo datos de diferentes matrices para realizar la validación del método espectrometría de absorción atómica en el análisis de Cadmio, Plomo y Níquel en aguas y suelos.

El procedimiento de validación de los metales se basó en el instructivo guía de laboratorio para la Validación de Métodos PG-AQLAB-07.

En el procedimiento experimental se realizaron 5 curvas de calibración para cada metal, se determinó la concentración de metales pesados considerando matrices reales, estándares y fortificación de muestras. Finalmente el registro de los resultados para cada grupo de ensayos de acuerdo al protocolo ITE0401 y al ITE3301 para determinación de metales pesados en aguas y suelos.

##### *3.1.2. Descripción del sitio de trabajo*

La Validación de metales pesados se realizó en el Laboratorio AqLab, ubicado en la Provincia de Orellana, Ciudad Puerto Francisco de Orellana. Coordenadas: 18M 0279263 9948509 UTM.

##### *3.1.3. Unidad de análisis*

Metales pesados: Cadmio, Níquel y Plomo

##### *3.1.4. Técnicas de recolección de datos.*

- Análisis de laboratorio.

Se realizó los análisis químico-físicos con la asistencia del laboratorio AqLab.

### **3.1.5. Técnicas e Instrumentos Analíticos**

#### *3.1.5.1. Método*

Se tomó como referencia los métodos descritos en el Estándar Métodos 3030B, 3111 B, 3111 D, para las determinaciones de plomo, cadmio y níquel por absorción atómica de llama en aguas y suelos. Además los Instructivos Técnicos de Ensayo ITE-AQLAB-33 y ITE-AQLAB-04 describen el procedimiento interno para la determinación de metales pesados.

#### *3.1.5.2. Equipos, Materiales y Reactivos*

Los equipos, reactivos y materiales necesarios para la validación de este método se nombran a continuación:

##### **a) Equipos**

Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer 300.

Lámpara de cátodo hueco Perkin Elmer de Plomo, Níquel y Cadmio

Compresor de aire con filtro de purificación para vapor de agua y polvo

Bloque para digestión con regulador de temperatura.

Balanza Analítica.

Sorbona.

##### **b) Materiales**

Vasos de precipitación 500 ml.

Balones aforados de 100, 1000 y 2000 ml

Pipeta volumétrica de 5, 10,25 ml

Pipeta automática de 0.1, 1, 5 y 10 ml

Envases plásticos con tapa para almacenar los estándares y muestras

Probeta 100 ml.

Embudos vástago de filtración plásticos

Papel filtro cuantitativo de 0.45  $\mu\text{m}$  o su equivalente

Tubos de digestión de 100ml

Piseta de 500ml

### **c) Reactivos**

Agua destilada grado I con conductividades inferior a 0,5 uS/cm y pH 7.

Material de referencia certificado disponible en el laboratorio

Ácido nítrico concentrado, grado ACS.

Ácido clorhídrico, grado ACS.

Patrón químico Plomo, Niquel y cadmio.

Acetileno de alta pureza.

Peróxido de Hidrogeno.

#### ***3.1.6. Condiciones Ambientales y conservación de las muestras***

El área donde está instalado el equipo de flama de Absorción Atómica debe mantenerse a una temperatura menor a 35 °C y humedad relativa menor a 80%, con el fin de preservar la vida útil del equipo.

Debe colocarse los estándares, reactivos, muestras, y materiales de referencia en el área donde se realizarán las lecturas respectivas, al menos 30 minutos antes del inicio de la toma de datos, con el objeto de acondicionarlos al ambiente.

### **3.2. Diseño experimental**

#### ***3.2.1. Detección de la Necesidad Analítica***

El Laboratorio de Análisis y Evaluación Ambiental AQLAB, específicamente el área de aguas y suelos se ha visto en la necesidad de validar el análisis de metales pesados por espectrometría de Absorción Atómica para ampliar la capacidad de servicio y de esta manera cumplir con la normativa que rige el control de la calidad, a través de metodologías que demuestren experimentalmente resultados confiables.

Se estableció la necesidad analítica del laboratorio (procedimiento analítico para la determinación de Cd, Ni y Pb en aguas y suelos) a fin de satisfacer las demandas de servicios de sus clientes que requieren evaluar el cumplimiento de las Normativas del RAOHE, INEN, TULSMA (Tablas descritas en el apartado 2.2.4.).

### 3.2.2. Fijación de los objetivos y parámetros de validación.

Antes de empezar una validación y demostrar que los métodos de ensayo ITE-AQLAB-04 y ITE-AQLAB-33 son adecuados para la aplicación que se pretende dar, se determinó sus objetivos y parámetros de rendimiento los mismos que se debe cumplir cuando se declare un método validado.

**Tabla 1-3.** Parámetros de validación y fijación de objetivos para analitos metálicos

<b>Parámetros de validación</b>	<b>Objetivo Establecido</b>														
Selectividad / Especificidad	Conocer las interferencias del método de AAS, éstas se describen en los instructivos técnicos de ensayo ITE-AQLAB-04, ITE-AQLAB-33.														
Linealidad/Función respuesta	Realizar curvas de calibración para cada analito donde la regresión lineal del grado de ajuste cumpla con $R^2 \geq 0,995$ .														
Límite de detección	<p>Establecer los límites de detección para cada analito.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th><b>Metales de Suelos</b></th> <th><b>Metales de Aguas</b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cadmio: 1,000 mg/kg</td> <td>0,015 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Níquel: 10,000 mg/kg</td> <td>0,100 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Plomo: 15,000 mg/kg</td> <td>0,15 mg/l</td> </tr> </tbody> </table>	<b>Metales de Suelos</b>	<b>Metales de Aguas</b>	Cadmio: 1,000 mg/kg	0,015 mg/l	Níquel: 10,000 mg/kg	0,100 mg/l	Plomo: 15,000 mg/kg	0,15 mg/l						
<b>Metales de Suelos</b>	<b>Metales de Aguas</b>														
Cadmio: 1,000 mg/kg	0,015 mg/l														
Níquel: 10,000 mg/kg	0,100 mg/l														
Plomo: 15,000 mg/kg	0,15 mg/l														
Límite de cuantificación	<p>Establecer los límites de cuantificación para cada analito.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th><b>Metales de Suelos</b></th> <th><b>Metales de Aguas</b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cadmio: 1,17 mg/kg</td> <td>0,05 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Níquel: 13,00 mg/kg</td> <td>0,10 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Plomo: 25,00 mg/kg</td> <td>0,20 mg/l</td> </tr> </tbody> </table>	<b>Metales de Suelos</b>	<b>Metales de Aguas</b>	Cadmio: 1,17 mg/kg	0,05 mg/l	Níquel: 13,00 mg/kg	0,10 mg/l	Plomo: 25,00 mg/kg	0,20 mg/l						
<b>Metales de Suelos</b>	<b>Metales de Aguas</b>														
Cadmio: 1,17 mg/kg	0,05 mg/l														
Níquel: 13,00 mg/kg	0,10 mg/l														
Plomo: 25,00 mg/kg	0,20 mg/l														
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	El porcentaje de la desviación estándar en todos los niveles de concentración deberá ser $< 10\%$ .														
Exactitud	Recuperar el analito al menos del 85 al 115% en todos los niveles.														
Incertidumbre	La incertidumbre en todo el rango deberá ser $\leq 33\%$ en todos los niveles de concentración con un intervalo de confianza del 95% ( $K=2$ ).														
Intervalo de trabajo	<p>Establecer los rangos de trabajo para cada analito.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"><b>Metales</b></th> <th><b>Suelos</b></th> <th><b>Aguas</b></th> </tr> <tr> <th><b>Rango en mg/kg</b></th> <th><b>Rango en mg/l</b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cadmio</td> <td>1,17 – 12,0</td> <td>0,05 – 5,00</td> </tr> <tr> <td>Níquel</td> <td>13,0 – 120,0</td> <td>0,10 – 5,00</td> </tr> <tr> <td>Plomo</td> <td>25,0 – 610,0</td> <td>0,20 – 3,00</td> </tr> </tbody> </table>	<b>Metales</b>	<b>Suelos</b>	<b>Aguas</b>	<b>Rango en mg/kg</b>	<b>Rango en mg/l</b>	Cadmio	1,17 – 12,0	0,05 – 5,00	Níquel	13,0 – 120,0	0,10 – 5,00	Plomo	25,0 – 610,0	0,20 – 3,00
<b>Metales</b>	<b>Suelos</b>		<b>Aguas</b>												
	<b>Rango en mg/kg</b>	<b>Rango en mg/l</b>													
Cadmio	1,17 – 12,0	0,05 – 5,00													
Níquel	13,0 – 120,0	0,10 – 5,00													
Plomo	25,0 – 610,0	0,20 – 3,00													

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

### 3.2.3. Determinación del diseño experimental y estadístico de validación.

Se estableció un diseño experimental con el fin de determinar la cantidad de datos que se va a tomar por cada nivel de concentración y el tratamiento estadístico que se debe dar a estos.

**Tabla 2-3.** Diseño experimental y estadístico para la validación de metales pesados.

<p>Diseño Experimental</p> <p>Lecturas para:</p> <p>Curvas de calibración</p> <p>Blanco</p> <p>Estándar</p> <p>Muestras</p>	<p>Se tomaron datos primarios de:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diez lecturas de Blanco solución de HNO<sub>3</sub> al 0,5 N.</li> <li>• Diez lecturas de muestras con efecto matriz aguas (consumo, naturales, residuales y lixiviados) y suelos (agrícola, arcilla, industrial y sedimentos)</li> <li>• Diez lecturas de patrones entre matrices que se encuentren dentro de los niveles de concentración establecido dentro del intervalo de trabajo.</li> <li>• Cinco curvas de calibración por cada analito (concentraciones mayores leer con dilución).</li> </ul> <p>Los datos se tomaron en dos días distintos en condiciones de reproducibilidad, con el diseño anterior. Los patrones y blancos se prepararon cada día para recoger la variabilidad que proviene de dicha preparación.</p>
<p>Procesamiento</p>	<p>Las muestras de agua se midieron el mismo día por la inestabilidad de los metales, a estas se acidifican considerando la siguiente relación 50:2; muestra-ácido HNO<sub>3</sub> (v/v), para determinar el contenido de metal disuelto.</p> <p>Las muestras de suelos se analizaron acorde a los días planeados no hay problema de la inestabilidad de los metales.</p>
<p>Función de respuesta</p>	<p>Se determinó la función respuesta por regresión lineal y se realizaron mínimo 5 curvas de calibración validas, para estimar la linealidad y función respuesta del equipo.</p> <p>Se determinó la exactitud en cada nivel, mediante porcentaje de recuperación o interlaboratorio.</p>
<p>Tratamiento estadístico</p>	<p>Se realizó el análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para la determinar a precisión por niveles.</p> <p>Se determinó los límites de detección, Límites de cuantificación, Intervalo de trabajo validado y de la incertidumbre asociada a cada nivel.</p>

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

### 3.2.4. Elaboración de las Curvas de Calibración

Se realizó 5 curvas de calibración a partir de una solución madre de concentración equivalente a 1000 mg/l: se tomó 1 ml a un balón de aforo de 100 ml obteniéndose una concentración de 10 mg/L, los estándares se prepararon con una solución de HNO<sub>3</sub> 0,5 N.

Partiendo de 10 mg/l se preparó los estándares descritos en la Tabla 3-3, y se realizó las curvas de calibración de cada uno de los analitos para aguas y suelos.

**Tabla 3-3.** Estándares para la realización de las curvas de calibración.

<b>Elemento</b>	<b>STD 1 (mg/l)</b>	<b>STD 2 (mg/l)</b>	<b>STD 3 (mg/l)</b>	<b>STD 4 (mg/l)</b>	<b>STD 5 (mg/l)</b>
<b>Cadmio</b>	0,015	0,05	0,10	0,20	0,30
<b>Níquel</b>	0,10	0,30	0,50	1,00	2,00
<b>Plomo</b>	0,15	0,50	1,00	2,00	3,00

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Para realizar una curva de calibración, se debe leer primero los estándares de baja concentración hasta la concentración estándar más alta. Para que se forme una curva de calibración es necesario los datos de concentración vs. absorbancia.

Con los datos de las curvas de calibración se determinó la función respuesta/linealidad para cada uno de los analitos.

### **3.2.5. Operación de Análisis**

Una vez ajustado el equipo de flama absorción atómica (ITU-AQLAB-04), se realizó las curvas de calibración y se determinó la concentración de muestras y estándares desde el blanco hacia adelante es decir hasta la concentración más alta; se colocó las soluciones bajo el capilar de absorción para medición.

Para determinar un metal libre (disuelto) en agua a la muestra se debe acidificar; mientras que, para determinar un metal total a la muestra se debe acidificar y digerir por 30 minutos a 150 °C.

En suelos, previo el secado al ambiente, triturado y tamizado de la muestra, se pesó lo más cercano a  $2 \pm 0,01$  g se añadió 10 ml de ácido nítrico concentrado, 10 ml de agua destilada y 2 a 3 perlas de ebullición, se digirió a  $150 \pm 5$  °C durante 30 minutos.

Previo a la lectura en el equipo todas las muestras (aguas y suelos) se filtraron para prevenir taponamiento en el capilar de absorción al nebulizador de muestras.

Para determinar la concentración de muestras (matriz, estándar, o muestra fortificada), primero debe realizarse una curva de calibración y en ésta debe leerse las muestras, así es como se tomó los diez datos para cada nivel de concentración descritos en las Tabla 1-4 a la Tabla 6-4.

### **3.2.6. Tratamiento estadístico de los datos obtenidos**

El tratamiento estadístico se realizó siguiendo los lineamientos del Procedimiento General PG-AQLAB-07 / Validación de métodos, establecido por el Laboratorio en su SGC. Para la validación se diseñó hojas de cálculo en Excel en donde se determinó; la función respuesta del método, análisis de repetibilidad (% SDR), análisis de reproducibilidad (t student, % Recuperación), Análisis de Varianza (T Fisher) y finalmente se determinó la incertidumbre y se declaró validado el método. Estos cálculos se realizaron con los datos primarios de las Tablas 1-4 a la 6-4 y en éstas describen las lecturas de matrices, estándares, blancos para cada analito.

### **3.3. Cálculos**

Para el cálculo y análisis de los parámetros de validación se utilizó como referencia la Guía Eurachem, procedimientos internos PG-AQLAB-06 Validación de Métodos y PG-AQLAB-07 Cálculo de la Incertidumbre.

Para el análisis se recurrió a la bibliografía de los Métodos Estándar APH, mientras que para el uso del equipo se revisa el manual de uso del fabricante, así como el Instructivo Técnico de Uso interno del Laboratorio (ITU-AQLAB-04), donde se considera el alineado de lámoara y quemador.

Se analizó para cada metal la longitud de onda adecuada con su correspondiente estándar de chequeo, y el nivel de energía máximo. Para optimizar el método de análisis se procedió a aspirar la solución de chequeo de cada uno de los metales y ajustar el sistema del quemador mientras se controla la absorbancia en la pantalla.

Para cada uno de los metales se obtuvo los siguientes valores de absorbancia al momento de optimizar el equipo con cada una de las soluciones de chequeo:

**Tabla 4-3.** Condiciones para el control de la sensibilidad del equipo.

Item	Metal	Control de Sensibilidad (mg/l)	Concentración Característica (mg/l) comparación	ABS (Equipo)	Concentración Característica (mg/l) Medida	% Recuperación
1	CADMIO, Cd, 228,8 nm	1,5	0,028	0,245	0,028	100,0
			0,028	0,258	0,024	85,7
			0,028	0,210	0,031	110,7
6	NIQUEL, Ni, 232,0 nm	7,0	0,140	0,230	0,140	100,0
			0,140	0,245	0,126	90,0
			0,140	0,200	0,154	110,0
7	PLOMO, Pb, 217,0 nm	7,0	0,123	0,255	0,123	100,0
			0,123	0,277	0,111	90,2
			0,123	0,228	0,135	109,8
<b>ABS OPTIMA CC</b>		<b>ABS MINIMA CC</b>		<b>ABS MAXIMA CC</b>		

Fuente: Datos de validación.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

### 3.3.1. Tratamiento Estadístico

#### 3.3.1.1. Selectividad para determinar los analitos metálicos.

Este método se diseñó para determinar la concentración de metales en muestras de aguas y suelos mediante un procedimiento analítico, proporcionando una gran exactitud. No se consideró la existencia de interferencias espectrales debido al uso de una lámpara con un solo elemento.

La lectura obtenida del equipo de absorción atómica indica directamente en mg/l sin ser necesaria ninguna transformación para el caso de la matriz agua, y para suelos en mg/kg.

Para el caso del matriz suelo la concentración determinada será reportada en base al peso real de la muestra. Por tanto, si se determina el peso seco de una muestra, también se debe proporcionar los sólidos por ciento de la muestra. (mg/kg)

Para el cálculo de la sustancia seca (%).

$$\% \text{ sustancia seca (C)} = \frac{(F - D)}{E} * 100$$

F= peso muestra + cápsula a 105 °C (g)

D= cápsula vacía (g)

E= Peso de muestra húmeda (g)

Una vez que se determina el % de sustancia se calcula el peso real de la muestra aplicando una regla de tres simple, dato que se ingreso va analizar en el espectrofotómetro, los mismos que son digitados en el software el AAS

### 3.3.1.2. Preparación de la muestra fortificada.

Para evaluar la recuperación se procedió a la adición de estándares a muestras de matrices puras, en determinados niveles de concentración para la validación, se realizó la fortificación de la muestra de la siguiente manera:

Por ejemplo:

1. Se determinó la concentración de la matriz pura, en este caso Agua de río = 0,20 mg/l de Cadmio
2. Se preparó un estándar de concentración X, en este ejemplo es: 3,0 mg/l a partir de un estándar de 10 mg/l de Cadmio.
3. Se añadió 15ml del estándar de 3,0 mg/l a la matriz real considerando un volumen de 50 ml de aforo final.
4. Se determinó la concentración final de la muestra fortificada.

Concentración muestra fortificada = Concentración matriz + concentración del estándar

$$[\text{muestra fortificada}] = 0,20 \frac{\text{mg}}{\text{l}} + 3,0 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$$

$$[\text{muestra fortificada}] = 3,2 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$$

Concentración final de la muestra fortificada.

### 3.3.2. Análisis de repetibilidad ( $r$ ) de los datos primarios.

En el análisis de repetibilidad el % SDR debe ser < 10% por cada nivel de concentración, cuando ésta condición se cumple se aceptan los datos de validación.

**Se determina el Límite de Detección y Límite de Cuantificación.**

**LC** = Es el valor asignado donde el equipo empieza a dar señal de lectura del analito 0,050.

**LD** = Es el valor bajo el límite de cuantificación 0,015.

### 3.3.3. Análisis de reproducibilidad (R) de los datos primarios.

En el análisis de R, se tomaron los datos del analista 1 y 2 en conjunto y se realizó el análisis estadístico **t Student** por cada nivel de concentración, cuando el  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{teórico}}$  se aceptan los datos de validación.

#### 3.3.3.1. Cálculo de los Límites de control del estándar de trabajo en la determinación de Cd.

Se determinaron los límites de control para el *estándar de trabajo* de Cadmio, es decir que durante el análisis éste servirá para el control de calidad interno del método, para esto se considera los datos del Analista 1 y 2 y se establece el Porcentaje de Variación en un intervalo de confianza  $K=2$  (2 s).

### 3.3.4. Análisis de Varianza ANOVA

#### Determinación del análisis de varianza.

En el análisis de varianza de método Cd en aguas, se establecen las siguientes variables fijas para todos los niveles de concentración y analistas.

P: repeticiones por cada día	P=5	
K: Analistas	K=2	
Grados de libertad $V_b = K-1$	$V_b=1$	b: entre grupos de datos (2 analistas)
Grados de libertad $V_w = K(P-1)$	$V_w=8$	w: dentro del grupo (entre datos)

Considerando las variables antes descritas, para el análisis de varianza se determinó los siguientes datos: (descritos en el apartado 2.2.6.3, Tabla 8-2).

- La media de las medias.
- La sumatoria de diferencias entre grupos “SDCb”.
- El valor medio de las sumas de las diferencias al cuadrado entre grupos DCMb.
- La sumatoria de diferencia dentro de grupos SCDw.
- El valor medio de las sumas de las diferencias al cuadrado dentro de grupos “DCMw”
- La desviación estándar por repetibilidad “Sr”
- La precisión intermedia “SL”
- La desviación estándar por reproducibilidad “SR”
- El coeficiente de variación de repetibilidad “CVr”
- El coeficiente de variación de reproducibilidad “CVR”

Una vez obtenidos los datos del análisis de varianza (a – j), se analiza que la  $S_r$  sea  $< SR$  y que el  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{teórico}}$  en el análisis estadístico T Fisher.

### 3.3.5. Incertidumbre

La siguiente ecuación define la forma de determinar la incertidumbre combinada, aplicando Incertidumbres relativas, debido a que las variables que contribuyen a la incertidumbre tienen diferentes unidades:

*Ecuación para determinar la incertidumbre del método - matriz aguas.*

$$U_{\text{método}} = \sqrt{U_{\text{cal}}^2 + U_{\text{res}}^2 + U_{\text{R}}^2}$$

Donde:

$U_{\text{cal}}$ : Incertidumbre combinada de la calibración instrumental.

$U_{\text{res}}$ : Incertidumbre de resolución.

$U_{\text{R}}$ : Incertidumbre de Reproducibilidad. Desviación estándar de reproducibilidad SR del Anova.

#### 3.3.5.1. Incertidumbre de calibración.

$$U_{\text{cal}} = \sqrt{U_{\text{pp}}^2 + U_{\text{FR}}^2 + U_{\text{res}}^2}$$

Donde:

$U_{\text{pp}}$ : Incertidumbre de preparación de las soluciones patrón.

$U_{\text{FR}}$ : Incertidumbre de la función respuesta =  $S_{yx}$  (global).

$U_{\text{res}}$ : Incertidumbre de resolución del instrumento.

##### 3.3.5.1.1. Incertidumbre de los estándares a partir del estándar del 1000mg/l.

$$U_{\text{pp}} = C \sqrt{\left(\frac{U_{Q \text{ std } 1000}}{C}\right)^2 + \left(\frac{U(Vf) \text{ pipeta}}{V \text{ pipeta}}\right)^2 + \left(\frac{U \text{ matraz}}{V \text{ matraz}}\right)^2}$$

Donde:

$U_{\text{pp}}$ : Incertidumbre de preparación de las soluciones patrón.

$C$ : Concentración del estándar 10 mg/l

$U_{Q \text{ std } 1000}$ : Incertidumbre del estándar madre de Cadmio de 1000mg/l

## 1) Incertidumbre del Estándar madre de Cadmio de 1000mg/l

$$U_{Q\text{ std } 1000} = \frac{U(\text{std})}{K}$$

Donde:

$U(\text{std})$ : obtenida del certificado del Estándar, mg/l.

k: Factor de Cobertura (generalmente  $k=2$  corresponde a un nivel de confianza del 95,45%)

### ✓ Cálculo de la Incertidumbre relativa del std madre.

$$U \text{ relativa std} = \frac{U_{Q \text{ std } 1000}}{C}$$

Donde:

C: Concentración 1000mg/l

## 2) Incertidumbre para el material volumétrico $U(V_f)$ .

Para el cálculo de la U en las pipetas volumétricas y balones de aforo se tiene la siguiente fórmula:

$$U(V_f) = \sqrt{U(V_{cal})^2 + U(V_{temperatura})^2 + U(V_{rep})^2}$$

$V_f$ : Volumen del material volumétrico.

### ✓ Incertidumbre de calibración " $U(V_{cal})$ "

Incertidumbre de la pipeta, los cálculos se efectúan para una pipeta volumétrica de 1 ml.

$$U(V_{cal}) = \frac{U(cal)}{K}$$

Donde:

$U(cal)$ : Se obtiene de certificado de calibración de la pipeta volumétrica.

k: Factor de Cobertura (generalmente  $k = 2$  corresponde a un nivel de confianza del 95,45%)

✓ **Incertidumbre debida a la diferencia entre la T de calibración "U(Vtemperatura)"**

$$U(Vtemperatura) = \frac{(Dif T) * Vf * \alpha}{\sqrt{3}}$$

Donde:

Vf = Volumen del material volúmetrico.

Diferencia de Temperatura a(20°C) = 10 . Rango de Temperatura 20 – 30°C

$\alpha = 0,00025$  Coeficiente de expansión vidrio boro sílice.

✓ **Incertidumbre de U (Vrep) y U relativa**

Incertidumbre de la pipeta o material volúmetrico: Reemplazando los resultados de las variables U(Vcal), U(Vtemperatura), U(Vrep) en la fórmula U(Vf),

$$U(V_f) = \sqrt{U(Vcal)^2 + U(Vtemperatura)^2 + U(Vrep)^2}$$

$$U \text{ relativa} = \frac{U(V_f)}{Vf}$$

3.3.5.1.2. *Incertidumbre de la función respuesta  $U_{FR} = S_{xy}$  (global).*

Se consideró el cálculo de la función respuesta de las 5 curvas de calibración.

$$U_{FR} = \frac{S_{xy} \text{ global}}{\sqrt{3}}$$

Donde:

$S_{xy} \text{ global}$ : Función respuesta global (Error tipo de estimación de X ( $S_{xy}$ ))

3.3.5.1.3. *Incertidumbre de resolución (Ures).*

Se calculó la incertidumbre de la resolución de los equipos.

$$U_{res} = \frac{\text{resolución de equipo digital}}{\sqrt{12}}$$

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Obtención de Resultados

##### 4.1.1. Lecturas o datos primarios de cada analito validado.

Las tablas 1-4 a la 6-4 describen las lecturas de matrices, estándares, blancos para cada analito; datos que más adelante son tomados para los cálculos estadísticos de validación.

**Tabla 1- 4.** Datos primarios para validación de Cadmio en aguas para el intervalo de trabajo 0,05 a 5,0 mg/l.

Nivel	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentración	0,00	0,05	0,05	0,09	0,20	0,20	0,29	0,08	5,21
Muestras	blanco	Std 0,05	TCLP+ 0,05	LIXRS	Std 0,20	Río + 0,20	ADI+0,30	ADI	ACONT.
Dilución	1	1	1	1	1	1	2	1	20
Analista 1	0,000	0,060	0,052	0,085	0,217	0,203	0,313	0,091	5,540
	0,000	0,049	0,041	0,101	0,201	0,187	0,313	0,080	5,360
	0,002	0,055	0,048	0,085	0,222	0,188	0,298	0,088	5,260
	0,002	0,048	0,045	0,101	0,215	0,214	0,284	0,079	5,240
	0,000	0,050	0,047	0,101	0,206	0,197	0,277	0,073	5,160
Analista 2	0,000	0,050	0,047	0,101	0,207	0,201	0,283	0,087	4,980
	0,000	0,057	0,047	0,085	0,215	0,218	0,273	0,078	5,080
	0,000	0,051	0,046	0,101	0,205	0,187	0,286	0,086	5,640
	0,000	0,049	0,047	0,085	0,200	0,181	0,280	0,069	4,960
	0,000	0,048	0,041	0,101	0,199	0,183	0,310	0,076	4,920

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

Std 0,05 / 0,20: Solución estándar 0,05 mg/l y 0,20 mg/l.

TCLP + 0,05: Muestra fortificada Lixiviado de corte + solución estándar 0,05 mg/l.

Lixiviado RS: Lixiviado de relleno satinario.

Río + 0,20: Muestra fortificada: Agua de río + solución estándar 0,20 mg/l.

ADI: Agua de descarga industrial.

ACONT: Agua contaminada.

**Tabla 2 - 4. Datos** primarios para validación de Cadmio en suelos para el intervalo de trabajo 1,17 - 12,0 mg/kg.

<b>Nivel</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Concentración</b>	<b>1,17</b>	<b>1,03</b>	<b>2,34</b>	<b>2,50</b>	<b>2,45</b>	<b>2,75</b>	<b>11,75</b>
<b>Muestras</b>	<b>Blanco Arcilla</b>	<b>Suelo Industrial</b>	<b>Suelo Agrícola</b>	<b>Suelo Arcilla</b>	<b>STD 2,5</b>	<b>Sedimentos</b>	<b>LABSSA</b>
<b>Dilución</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Analista 1</b>	0,915	1,146	2,110	1,273	2,347	2,507	11,942
	0,946	0,996	2,149	1,339	2,313	2,370	11,286
	1,098	0,998	2,237	1,387	2,391	3,467	11,084
	1,369	0,937	2,659	1,717	2,723	2,609	12,232
	1,192	0,808	2,362	1,608	2,631	2,912	11,858
<b>Analista 2</b>	1,252	1,134	2,562	1,714	2,615	2,906	11,670
	1,233	1,105	2,502	1,595	2,705	2,840	12,232
	1,080	1,116	2,381	1,329	2,052	2,363	11,858
	1,079	0,942	2,182	1,348	2,359	2,787	11,670
	1,068	1,142	2,231	1,398	2,315	2,694	11,702

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

Blanco arcilla: suelo arcilloso.

Std 2,5 mg/kg: Estándar de 2,5 mg/kg.

LABSSA: Suelo proporcionado por el Laboratorio SSA Petroecuador.

**Tabla 3 - 4.** Datos primarios para validación de Níquel en aguas para el intervalo de trabajo 0,10 - 5,0 mg/l.

<b>Nivel</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Concentración</b>	<b>0,00</b>	<b>0,10</b>	<b>0,20</b>	<b>0,30</b>	<b>0,49</b>	<b>0,50</b>	<b>1,00</b>	<b>2,00</b>	<b>5,00</b>
<b>Muestras</b>	<b>blanco</b>	<b>ACH + 1,0</b>	<b>STD CNTRL 0,20</b>	<b>ARIO+ 0,30</b>	<b>D.D</b>	<b>STD 0,50</b>	<b>ADI+ 1,00</b>	<b>STD 2,00</b>	<b>ADI+ 5,00</b>
<b>Dilución</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
<b>Analista 1</b>	-0,008	0,099	0,212	0,311	0,502	0,511	0,960	2,002	5,048
	0,000	0,106	0,196	0,300	0,483	0,511	0,918	1,946	4,869
	-0,006	0,097	0,204	0,312	0,497	0,496	0,967	2,016	5,342
	-0,002	0,107	0,196	0,309	0,482	0,483	0,957	1,974	5,258
	-0,003	0,093	0,200	0,307	0,476	0,496	0,954	1,947	5,062
<b>Analista 2</b>	0,004	0,106	0,205	0,310	0,515	0,516	0,992	2,027	5,549
	-0,011	0,100	0,200	0,301	0,461	0,474	0,963	1,955	5,511
	-0,008	0,103	0,201	0,307	0,496	0,498	0,986	2,024	5,029
	0,001	0,097	0,212	0,307	0,515	0,504	0,958	2,025	5,229
	0,003	0,098	0,224	0,294	0,500	0,498	0,947	1,950	5,223

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

ACH+1,0: Muestra fortificada: Agua de consumo humano + solución estándar de 1mg/l.

Std 0,20: Solución estándar 0,20 mg/l.

ARIO + 0,30: Muestra fortificada: Agua de río + 0,30 mg/l.

DD: Agua de descarga doméstica.

STD 0,50 / 0,20: Solución Estándar 0,50 / 0,20 mg/l.

ADI+1,00: Muestra fortificada: Agua de descarga industrial. + solución estándar 1,00 mg/l.

ADI+5,00: Muestra fortificada: Agua de descarga industrial. + solución estándar 5,00 mg/l.

**Tabla 4 - 4.** Datos primarios para validación de Níquel en suelos para el intervalo de trabajo 13,0 - 120,0 mg/kg.

<b>Nivel</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Concentración</b>	<b>12,35</b>	<b>12,50</b>	<b>13,13</b>	<b>18,47</b>	<b>31,29</b>	<b>46,57</b>	<b>132,23</b>
<b>Muestras</b>	<b>Blanco Arena</b>	<b>STD 12,5</b>	<b>Suelo Industrial</b>	<b>Arcilla + 7,5</b>	<b>Agrícola + 2,5</b>	<b>Sedimento +25,0</b>	<b>LABSSA</b>
<b>Dilución</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
<b>Analista 1</b>	11,590	12,890	13,490	18,930	29,840	46,350	128,970
	11,790	12,580	13,500	18,350	30,360	46,490	130,080
	11,720	12,640	13,340	18,370	30,420	46,780	129,540
	13,130	12,720	13,080	16,950	32,400	47,970	141,210
	12,420	11,310	12,790	18,090	31,010	45,000	124,980
<b>Analista 2</b>	12,280	12,530	12,000	18,970	31,150	47,100	127,230
	12,590	11,920	13,730	18,390	31,460	46,980	128,880
	12,420	11,890	12,660	18,690	31,890	46,720	133,920
	12,820	12,640	12,630	19,420	32,520	45,750	138,900
	12,760	12,270	14,070	18,560	31,860	46,580	138,570

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

Blanco arcilla: suelo arcilloso.

Std 12,5: Estándar de 12,5 mg/kg.

Arcilla + 7,5: Suelo arcilla + solución estándar 7,5 mg/kg.

Agrícola + 2,5: Suelo agrícola + solución estándar de 2,5 mg/kg.

Sedimento + 25,0: Sedimento + solución estándar de 25,0 mg/kg.

LABSSA: Suelo proporcionado por Laboratorio SSA Petroecuador.

**Tabla 5 - 4.** Datos primarios para validación de Plomo en aguas para el intervalo de trabajo 0,20 - 3,0 mg/l.

<b>Nivel</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>Concentración</b>	<b>0,00</b>	<b>0,10</b>	<b>0,20</b>	<b>0,368</b>	<b>0,50</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>3,00</b>
<b>Muestras</b>	<b>Blanco</b>	<b>ACH + 0,10</b>	<b>STD 0,20</b>	<b>MR. ASEQUALITY</b>	<b>RIO +0,50</b>	<b>RIO +1,0</b>	<b>ADI +1,00</b>	<b>ADI +3,00</b>
<b>Dilución</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Analista 1</b>	0,000	0,057	0,214	0,384	0,425	0,846	0,850	3,330
	0,000	0,122	0,239	0,399	0,469	1,107	0,994	3,020
	0,000	0,084	0,228	0,483	0,526	1,095	1,087	3,312
	0,000	0,080	0,193	0,340	0,471	0,995	1,092	2,929
	0,000	0,076	0,200	0,382	0,492	1,044	0,964	2,916
<b>Analista 2</b>	0,000	0,090	0,225	0,342	0,492	1,034	1,025	3,229
	0,000	0,084	0,229	0,406	0,492	0,984	1,005	2,980
	0,000	0,088	0,227	0,391	0,518	1,072	1,076	3,228
	0,000	0,097	0,225	0,401	0,500	0,979	0,995	3,344
	0,000	0,088	0,182	0,401	0,492	0,932	1,107	2,877

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

ACH+0,10: Muestra fortificada: Agua de consumo humano + solución estándar 0,10 mg/l.

Std 0,20: Solución estándar 0,20 mg/l.

MR. Asequality: Material de referencia.

RIO + 0,50: Muestra fortificada: Agua de río + solución estándar 0,50 mg/l.

RIO + 1,0: Muestra fortificada: Agua de río + solución estándar 1,0 mg/l.

ADI +1,00: Muestra fortificada: Agua de descarga industrial. + solución estándar 1,00 mg/l.

ADI +3,00: Muestra fortificada: Agua de descarga industrial. + solución estándar 3,00 mg/l.

**Tabla 6 - 4.** Datos primarios para validación de Plomo en suelos para el intervalo de trabajo 25,0 - 610,0 mg/kg.

<b>Nivel</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Concentración</b>	<b>24,38</b>	<b>39,03</b>	<b>40,62</b>	<b>89,03</b>	<b>616,41</b>
<b>Muestras</b>	<b>Blanco suelo Arcilla</b>	<b>INDUS 1+5 STD 10</b>	<b>AGRICOLA + 2,5 STD 10</b>	<b>INDUS 1 +15 STD 10</b>	<b>MR LABSSA</b>
<b>Dilución</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>10</b>
<b>Analista 1</b>	23,990	36,380	39,680	90,080	572,800
	23,380	36,640	40,640	90,180	606,900
	24,540	36,040	38,940	88,420	610,000
	23,430	36,200	39,040	89,060	670,100
	23,340	35,560	40,110	88,840	588,000
<b>Analista 2</b>	23,890	36,180	39,830	89,780	610,100
	26,620	36,020	42,270	89,360	676,400
	23,160	36,950	40,410	89,900	616,400
	26,150	35,150	41,390	93,200	657,500
	25,300	37,830	40,470	89,540	555,900

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Donde:

Blanco suelo arcilla: suelo arcilloso.

Indus 1 + 5 Std 10: Muestra fortificada: Suelo industrial + 5 ml de la solución estándar 10 mg/kg.

Agrícola + 2,5 Std 10: Muestra fortificada: Suelo agrícola + 2,5 ml de la solución estándar 10 mg/kg.

Indus 1 + 15 Std 10: Muestra fortificada: Suelo industrial + 15 ml de la solución estándar 10 mg/kg.

MR LABSSA: Material de referencia Suelo proporcionado por Laboratorio SSA Petroecuador.

#### ***4.1.2. Determinación de la linealidad de la función de respuesta del método cadmio en aguas.***

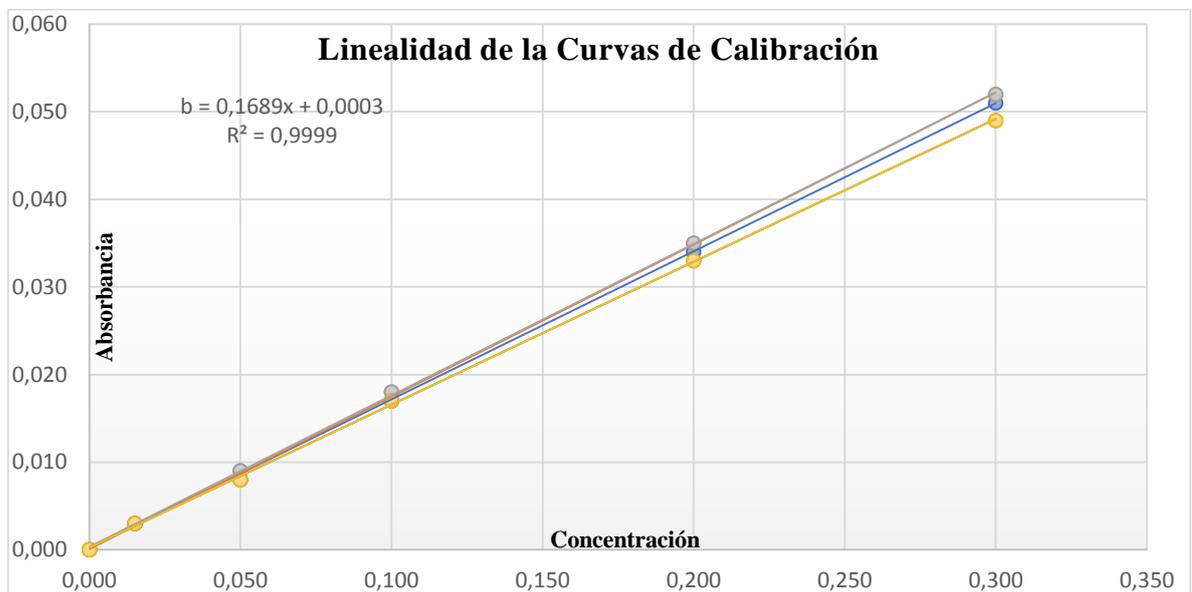
Se prepararon estándares de Cadmio a las concentraciones descritas en la Tabla 14-3; se tomaron datos para 5 curvas de calibración, con los cuales se determina la función respuesta de todo el método.

**Tabla 7 - 4.** Datos de la Curvas de Calibración para el Método Cadmio en Aguas.

CONCENTRACIÓN mg/l	CURVA 1 abs	CURVA 2 abs	CURVA 3 abs	CURVA 4 abs	CURVA 5 abs
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,015	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
0,050	0,009	0,008	0,009	0,008	0,009
0,100	0,017	0,018	0,018	0,017	0,018
0,200	0,034	0,035	0,035	0,033	0,036
0,300	0,051	0,052	0,052	0,049	0,052

**Fuente:** Datos de curvas de calibración para Cd en aguas. 2016.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero.



**Figura 1 - 4.** Gráfico Absorbancia vs Concentración. Linealidad de las curvas de calibración.

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Mediante la aplicación del método de Mínimos Cuadrados se determina la función respuesta / estimación lineal. Los cálculos se realizan solo en base a la validación de Cadmio en Aguas y se describe a continuación:

**Tabla 8 - 4.** Parámetros estadísticos de la función respuesta del método Cadmio en aguas.

Variable	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
b(m) pendiente	0,1689	0,1737	0,1728	0,1630	0,1741
a (intercepto)	0,0003	0,0001	0,0003	0,0003	0,0004
S <sub>b</sub>	0,0009	0,0020	0,0011	0,0014	0,0021
S <sub>a</sub>	0,0001	0,0003	0,0002	0,0002	0,0003
r <sup>2</sup>	0,9999	0,9995	0,9999	0,9997	0,9994
S <sub>yx</sub>	0,0002	0,0005	0,0003	0,0004	0,0005
Grados libertad (n-1)	4,0000	4,0000	4,0000	4,0000	4,0000
t	2,776	2,776	2,776	2,776	2,776
a <sub>min</sub>	-0,0001	-0,0008	-0,0001	-0,0003	-0,0005
a <sub>max</sub>	0,0007	0,0009	0,0008	0,0009	0,0013
b <sub>min</sub>	0,1664	0,1682	0,1699	0,1591	0,1683
b <sub>max</sub>	0,1714	0,1791	0,1757	0,1670	0,1799
S <sub>xy</sub>	0,0014	0,0030	0,0016	0,0023	0,0032
r	0,9999	0,9997	0,9999	0,9998	0,9997

Fuente: Datos de validación.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Se tomaron los valores máximos y mínimos de la Tabla 9 - 4 (a<sub>min</sub>, a<sub>max</sub>, b<sub>min</sub>, b<sub>max</sub>), y se determina los intercepto máximo y mínimo, así como la pendiente máxima y mínima para el control de curvas de calibración durante y después del proceso de validación.

**Tabla 9 - 4.** Incercptos y pendientes máximas y mínimas para el control de curvas de calibración.

LIMITES	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5	PARA CONTROL	
a <sub>min</sub>	-0,0001	-0,0008	-0,0001	-0,0003	-0,0005	-0,0008	a MIN
a <sub>max</sub>	0,0007	0,0009	0,0008	0,0009	0,0013	0,0013	a MAX
b <sub>min</sub>	0,1664	0,1682	0,1699	0,1591	0,1683	0,1591	b (m) MIN
b <sub>max</sub>	0,1714	0,1791	0,1757	0,1670	0,1799	0,1799	b (m) MAX

Fuente: Datos de validación.

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero. 2016.

**4.1.3. Análisis de repetibilidad (r) de los datos primarios.**

**Tabla 10 - 4.** Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 1.

Nivel	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Muestras	blanco	Std 0,05	TCLP+ 0,05	LIXRS	Std 0,20	Rio + 0,20	ADI+0,30	ADI	ACONT.
$\bar{x}$ media	0,00080	0,05240	0,04660	0,09460	0,21220	0,19780	0,29100	0,08220	5,31200
s desviación estándar	0,001095	0,005030	0,004037	0,008764	0,008526	0,011212	0,014509	0,007259	0,146014
% SDR (s/ $\bar{x}$ ) *100	0,000	9,60	8,66	9,26	4,02	5,67	4,99	8,83	2,75

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

**Tabla 11 - 4.** Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 2.

Nivel	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Muestras	blanco	Std 0,05	TCLP+ 0,05	LIXRS	Std 0,20	Rio + 0,20	ADI+0,30	ADI	ACONT.
$\bar{x}$ media	0,00000	0,05100	0,04560	0,09460	0,20520	0,19400	0,28800	0,07920	5,11600
s desviación estándar	0,00000	0,00354	0,00261	0,00876	0,00642	0,01552	0,01402	0,00746	0,29880
% SDR (s/ $\bar{x}$ ) *100	0,0000	6,93	5,72	9,26	3,13	8,00	4,87	9,42	5,84

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Discusión:

El porcentaje SDR del analista 1 y 2 es < 10%, es decir se aceptan los datos de repetibilidad de validación, ya que no existe diferencia significativa entre datos.

**4.1.4. Análisis de reproducibilidad (R) de los datos primarios.**

**Tabla 12 - 4.** Análisis estadístico T student para Analista 1 y Analista 2.

Nivel	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Muestras</b>	blanco	Std 0,05	TCLP+ 0,05	LIXRS	Std 0,20	Rio + 0,20	ADI+0,30	ADI	ACONT.
$\bar{X}_1$ Media analista 1	0,000800	0,052400	0,046600	0,094600	0,212200	0,197800	0,291000	0,082200	5,312000
$\bar{X}_2$ Media analista 2	0,000000	0,051000	0,045600	0,094600	0,205200	0,194000	0,288000	0,079200	5,116000
$V_1$ Varianza analista 1	0,000001	0,000025	0,000016	0,000077	0,000073	0,000126	0,000211	0,000053	0,021320
$V_2$ Varianza analista 2	0,000000	0,000013	0,000007	0,000077	0,000041	0,000241	0,000197	0,000056	0,089280
<b>t teórico</b>	2,262	2,262	2,262	2,262	2,262	2,262	2,262	2,262	2,262
<b>t calculado</b>	1,53960	0,48005	0,43863	0,00000	1,38275	0,41835	0,31350	0,60746	1,24247
<b>Resultado</b>	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

El  $T_{\text{calculado}} < T_{\text{teórico}}$ , por tanto, se aceptan los datos de validación es decir que no hay diferencia significativa entre las medidas tomadas por los dos analistas.

#### 4.1.4.1. Cálculo de los Límites de control del estándar de trabajo en la determinación de Cd.

**Tabla 13 - 4.** Porcentaje de variación para el Estándar de Trabajo de Cd en el Intervalo de 0,05 a 5,0 mg/l.

Nivel	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Concentración</b>	0,00	0,05	0,05	0,09	0,20	0,20	0,29	0,08	5,21
<b>Muestras</b>	blanco	Std 0,05	TCLP+ 0,05	LIXRS	Std 0,20	Rio + 0,20	ADI+0,30	ADI	ACONT.
<b>n</b>	10	10	10	10	10	10	10	10	10
$\bar{X}$ media	0,0004	0,0517	0,0461	0,0946	0,2087	0,1959	0,2895	0,0807	5,2140
<b>s</b>	0,0008	0,0042	0,0032	0,0083	0,0080	0,0129	0,0135	0,0071	0,2446
<b>%RSD</b>	10,82%	8,06%	7,04%	8,73%	3,84%	6,60%	4,68%	8,82%	4,69%
<b>s<sup>2</sup> (varianza)</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0001	0,0002	0,0002	0,0001	0,0598
<b>%Recuperación</b> $\bar{X}$ resultado / X teórico	100%	100,00%	99,78%	100,00%	104,35%	100,00%	100,00%	100,88%	100,00%
<b>2s %</b> ( $X_{\text{teórico}} * (\text{RSD} * 2)$ ) * 100 / $\bar{X}$	1,64	16,11	14,12	17,47	7,36	13,19	9,36	17,49	9,38

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Se considera el Porcentaje de Variación a K=2 más alto, ya que este abarca a todos los niveles de concentración y se determinó que el estándar de trabajo para el control de calidad interno del método es un Estándar de 0,20 mg/l y se calculó los límites de control descritos en la Tabla 18-3.

**Tabla, 14-4.** Límites de control para el estándar de trabajo de Cd en aguas.

<b>LIMITES DE CONTROL (2s)</b>	
<b>17,49 %</b>	
Estándar de control de Cadmio 0,20 mg/ l	
Criterio (std control*17%)	0,032
Límite máximo (std control + criterio)	0,232
Límite mínimo (std control - criterio)	0,168

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

Discusión:

Es decir que un estándar de trabajo de 0,20 mg/l puede encontrarse desde 0,168 hasta 0,232 mg/l.

**4.1.5. Análisis de Varianza ANOVA**

**Tabla 15-4.** Resultados del Análisis de Varianza en todos los niveles de concentración, Cd en agua.

<b>CONCENTRACIÓN VERDADERA</b>	<b>Sr</b>	<b>SL<sup>2</sup></b>	<b>SR</b>	<b>CVr%</b>	<b>CVR%</b>
BLANCO	0,0008	0,00000	0,0008	193,6492	193,7742
STD 0,05 mg/l	0,0043	0,0000	0,0043	8,4089	8,4089
TCLP+0,05	0,0034	0,0000	0,0034	7,3721	7,3721
LIXIVIADO RS	0,0088	0,0000	0,0088	9,2638	9,2638
STD 0,20 mg/l	0,0075	0,0000	0,0075	3,6160	3,6160
RIO+0,20	0,0135	-0,0001	0,0135	6,9120	6,9120
ADI+0,30	0,0143	-0,0001	0,0143	4,9276	4,9276
Agua descarga Industrial	0,0074	0,0000	0,0074	9,1228	9,1228
ACONTAM	0,2352	0,0204	0,2555	4,5102	4,9008

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

### Discusión:

Para el método de Cadmio se consideraron todos los datos primarios en condiciones de repetibilidad (dentro del grupo) y reproducibilidad (entre grupos) y se determinó que la Sr es menor que la SR, es decir se aceptan los datos de validación en el análisis de varianza.

Se explica que la Sr es menor que la SR porque son datos tomadas en condiciones de repetibilidad (mismo analista y día), y la SR es más alto porque son diferentes condiciones de trabajo o analista

### **Análisis estadístico T fisher.**

**Tabla 16-4.** Cálculo de T Fisher en todos los niveles de concentración de Cadmio en aguas.

<b>T FISHER</b>		
	<b>F calculado = <math>\frac{DCMb}{DCMw}</math></b>	<b>F teórico</b>
BLANCO	2,6667	5,7861
STD 0,05 mg/l	0,2593	5,7861
TCLP+0,05	0,2165	5,7861
LIXIVIADO RS	0,0000	5,7861
STD 0,20 mg/l	2,1510	5,7861
RIO+0,20	0,1969	5,7861
ADI+0,30	0,1106	5,7861
Agua descarga Industrial	0,4151	5,7861
ACONTAM	1,7367	5,7861

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

### Discusión:

El F calculado < F teórico, es decir se aceptan los datos de validación ya que no hay diferencia significativa entre grupo de datos (analistas) y entre datos (número de repeticiones).

#### **4.1.6. Incertidumbre**

Se reemplazó las Variables  $U_{pp}$ ,  $U_{FR}$ ,  $U_{res}$  en la fórmula de  $U_{cal}$  para el nivel de concentración de 0,05 mg/L.

$$U_{cal} = \sqrt{U_{pp}^2 + U_{FR}^2 + U_{res}^2}$$

$$U_{cal} = \sqrt{0,00010^2 + 0,00256^2 + 0,00029^2}$$

$$U_{cal} = 0,00258$$

Cálculo del porcentaje de Incertidumbre para el nivel 0,05 mg/l.

$$\%U = \frac{U_{cal}}{C}$$

$$\%U = \frac{0,00258}{0,05}$$

$$\%U = 5,16$$

**Tabla 17- 4.** Incertidumbres de calibración de cada nivel de concentración de Cadmio en aguas.

Nivel de concentración	STD	TCLP	LIX.	STD	RIO	ADI	ADI	A CONT	Unidades
	0,05	0,050	0,100	0,20	0,20	0,30	0,08	5,00	
Ucal	0,00258	0,00258	0,00259	0,00267	0,00267	0,00272	0,00259	0,01000	
%Ucal		5,16	2,59	1,33	1,33	0,91	3,24	0,20	%

*4.1.6.1. Incertidumbre de los estándares a partir del estándar del 1000mg/l.*

Se calculó en base a la preparación de un estándar el 10mg/L (donde se usa un matraz de 100ml y una pipeta de 1ml).

$$U_{pp} (\text{std } 10,00 \text{ mg/l}) = \text{std } 10 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \sqrt{\left(\frac{U_{Q \text{ std } 1000}}{C}\right)^2 + \left(\frac{U(V_f) \text{ pipeta}}{V \text{ pipeta}}\right)^2 + \left(\frac{U \text{ matraz}}{V \text{ matraz}}\right)^2}$$

$$U_{pp} (\text{std } 10,00 \text{ mg/l}) = 10 \sqrt{\left(\frac{1,200}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0,0003}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,1490}{100}\right)^2}$$

$$U_{pp} (\text{std } 10,00 \text{ mg/l}) = 0,01933 \text{ mg/l}$$

**Tabla 18-4.** Incertidumbre de las soluciones patrón Upp.

Nivel Std mg/l	Upp para cada Std
10,000	0,01933
0,015	0,00003
0,050	0,00010
0,100	0,00025
0,200	0,00069
0,300	0,00088
5,000	0,00966

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

## 1) Incertidumbre del Estándar madre de Cadmio de 1000mg/l

$$U_{Q \text{ std } 1000} = \frac{U(\text{std})}{K}$$

$$U_{Q \text{ std } 1000} = \frac{2,400}{2}$$

$$U_{Q \text{ std } 1000} = 1,200$$

### ✓ Cálculo de la Incertidumbre relativa del std madre.

$$U \text{ relativa std} = \frac{U_{Q \text{ std } 1000}}{C}$$

$$U \text{ relativa std} = \frac{1,200}{1000}$$

$$U \text{ relativa} = 0,001$$

## 2) Incertidumbre para el material volumétrico $U(V_f)$ .

### ✓ Incertidumbre de calibración " $U(V_{cal})$ "

Incertidumbre de la pipeta, los cálculos se efectúan para una pipeta volumétrica de 1 ml.

$$U(V_{cal}) = \frac{U(cal)}{K}$$

$$U(V_{cal}) = \frac{0,0010}{2}$$

$$U(V_{cal}) = 0,0005$$

### ✓ Incertidumbre debida a la diferencia entre la T de calibración " $U(V_{temperatura})$ "

$$U(V_{temperatura}) = \frac{(Dif T) * V_f * \alpha}{\sqrt{3}}$$

$$U(V_{temperatura}) = \frac{(10) * 1 * 0,00025}{\sqrt{3}}$$

$$U(V_{temperatura}) = 0,0014$$

### ✓ Incertidumbre de U (Vrep)

Se determinó la Incertidumbre de la pipeta o material volumétrico.

$$U(V_f) = \sqrt{U(V_{cal})^2 + U(V_{temperatura})^2 + U(V_{rep})^2}$$

$$U(V_f) = \sqrt{(0,0005)^2 + (0,0014)^2 + (0,0007)^2}$$

$$U(V_f) = 0,0003$$

Cálculo de la Incertidumbre relativa del material volumétrico.

$$U \text{ relativa} = \frac{U(V_f)}{V_f}$$

$$U \text{ relativa} = \frac{0,0017}{1}$$

$$U \text{ relativa} = 0,0017$$

**Tabla 19 - 4.** Incertidumbre del material volumétrico  $U(V_f)$ .

MATERIAL	U(Vf)	U relativa	MATERIAL	U(Vf)	U relativa
PIPETA 1 ml	0,0003	0,0003	BALON AFORADO 5 ml	0,0102	0,0020
PIPETA 1 ml	0,0017	0,0017	BALON AFORADO 10 ml	0,0162	0,0016
PIPETA 2 ml	0,0058	0,0029	BALON AFORADO 25 ml	0,0363	0,0015
PIPETA 3 ml	0,0067	0,0022	BALON AFORADO 50 ml	0,0779	0,0016
PIPETA 4 ml	0,0092	0,0023	BALON AFORADO 100 ml	0,1490	0,0015
PIPETA 5 ml	0,0116	0,0023			
PIPETA 10 ml	0,0149	0,0015			

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

#### 4.1.6.2. Incertidumbre de la función respuesta $U_{FR} = S_{xy}$ (global).

Se calculó la función respuesta de las 5 curvas de calibración.

**Tabla 20 - 4.** Función respuesta de las curvas de calibración.

Variable	Función respuesta
b (m)	0,1705
a	0,0003
Sb	0,0013
Sa	0,0002
r <sup>2</sup>	0,9984
Syx	0,0008
Grados libertad	28
$Sxy\ global = \frac{S_{yx}}{b}$	0,00443

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016.

$$U_{FR} = \frac{Sxy\ global}{\sqrt{3}}$$

$$U_{FR} = 0,00256$$

4.1.6.3. *Incertidumbre de resolución (Ures).*

$$U_{res} = \frac{\text{resolución de equipo digital}}{\sqrt{12}}$$

$$U_{res} = 0,00029$$

4.1.6.4. *Cálculo de la Incertidumbre del método Cadmio en Aguas y Lixiviados.*

**Tabla 21 - 4.** UR: Desviación estándar de reproducibilidad (Anova)

Niveles de concentración	S <sub>R</sub>
BLANCO	0,0008
STD 0,05 mg/L	0,0043
TCLP+0,05	0,0034
LIXIVIADO RS	0,0088
STD 0,20 mg/L	0,0075
RIO+0,20	0,0135
ADI+0,30	0,0143
Agua descarga Industrial	0,0074
ACONTAM	0,2555

**Realizado por:** Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016

El cálculo se realiza para el nivel de concentración de 0,05 mg/l.

$$U_{\text{método}} = \sqrt{0,0258^2 + 0,00029^2 + 0,0043^2}$$

$$U_{\text{método}} = 0,0051 * 2$$

$$U_{\text{método}} = 0,0102$$

**Porcentaje de Incertidumbre para el nivel 0,05 mg/l.**

$$\%U = \frac{U_{\text{método}}}{C}$$

$$\%U = \frac{0,0102}{0,05}$$

$$\%U = 20,25$$

**Tabla 22 - 4.** Incertidumbre del Método Cadmio en Aguas y Lixiviados.

Nivel de concentración	STD	TCLP	LIX.	STD	RIO	ADI	ADI	A CONT	Unidades
	0,05	0,050	0,100	0,20	0,20	0,30	0,08	5,00	
U <sub>método</sub>	0,010	0,009	0,018	0,016	0,028	0,029	0,016	0,511	
%U <sub>cal</sub>	<b>20,25</b>	17,10	18,28	8,01	13,80	9,68	19,52	10,23	%

Realizado por: Jessica Sanmiguel y Santiago Guerrero, 2016

Para la declaración de la Incertidumbre en todo el rango 0,05 – 5,00 mg/l del Método de Cadmio en Aguas y Lixiviados se toma el mayor % determinado.

$$U_{\text{método}} = 20,25\%$$

Donde:

**LD** = valor asignado luego del cero en las concentraciones descritas en la curva de calibración. 0,015

**LC** = valor asignado luego del LD en las concentraciones descritas en la curva de calibración. 0,050

**4.2. Discusiones Generales**

- Se establece como criterios de calidad la precisión, exactitud e incertidumbre los cuales se determinan estadísticamente (ANOVA “t” de student “t” Fisher), con un rango de confiabilidad de 95%.

- El análisis r&R discrimina variables de menor influencia, quedando como un aporte de incertidumbre mayor la preparación de los estándares de trabajo ya que tienen influencia directa para la calibración del equipo, determinando la función respuesta del mismo.
- Se establece los parámetros críticos para la validación siendo estos: coeficiente de variación de repetibilidad y reproducibilidad  $\leq 10\%$ ; Exactitud  $85 < \%R < 115$  e incertidumbre  $U \leq 33\%$  ( $K=2$ ) en todos los niveles de concentración.
- La secuencia de análisis describe: el proceso de preparación de la muestra, elaboración de la curva de calibración y finalmente la determinación del analito ITE-AQLAB-04 y el ITE-AQLAB-33.

### 4.3. Discusiones Específicas

#### *Discusión sobre la determinación de Cadmio en aguas.*

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 99,78% al 104,35%, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del  $\% R$  85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,1799; pendiente mínima 0,1591; el intercepto máximo 0,0013 y el intercepto mínimo -0,0008.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 0,05; 0,08; 0,10; 0,20; 0,30; 5,0 mg/l, considerando matrices puras, forticadas y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración fue de 0,05 mg/l por este motivo el rango de validación empezó con este valor siendo 0,05 – 5,000 mg/l.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 8 – 20 %, por tanto, se determina que la U del método de Cadmio en Aguas es 20 %, ya que este valor abarca todo el rango de trabajo.

### ***Discusión sobre la determinación de Cadmio en suelos.***

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 96,39 % al 100,00 %, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del % R 85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,1799; pendiente mínima 0,1591; el intercepto máximo 0,0013 y el intercepto mínimo -0,0008.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 1,17; 2,34, 2,45; 2,50; 2,75; 11,75 mg/kg considerando matrices puras, y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración fue de 1,17 mg/kg por este motivo el rango de validación empezó con este valor siendo 1,17 – 12,0 mg/kg.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 6 - 25 %, por tanto, se determina que la U del método de Cadmio en Suelos es 25 %, ya que este valor abarca todo el rango de trabajo.

### ***Discusión sobre la determinación de Niquel en aguas.***

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 96,02 % al 104,24%, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del % R 85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,0372; pendiente mínima 0,0329; el intercepto máximo 0,0022 y el intercepto mínimo -0,0014.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 0,10; 0,30; 0,50; 1,00; 2,00; 5,00 mg/l, considerando matrices puras, fortificadas y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración es de 0,10 mg/l por este motivo el rango de validación empezó con este valor siendo 0,10 – 5,000 mg/l.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 4 – 31 %, por tanto, se determina que la U del método de Niquel en Aguas es 31 %, ya que este valor abarca todo el rango de trabajo.

#### ***Discusión sobre la determinación de Niquel en suelos.***

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 98,71 % al 100,00 %, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del % R 85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,0372; pendiente mínima 0,0329; el intercepto máximo 0,0022 y el intercepto mínimo -0,0014.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 12,35; 12,50; 13,13; 18,47; 31,29; 46,57; 132,23 mg/kg considerando matrices puras, y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración fue de 13,0 mg/kg por este motivo el rango de validación empezó con este valor siendo 13,0 – 120,0 mg/kg.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 4 - 19 %, por tanto, se determina que la U del método de Niquel en Suelos es 19 %, ya que este valor abarca todo el rango de trabajo.

#### ***Discusión sobre la determinación de Plomo en aguas.***

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 97,54 % al 106,77 %, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del % R 85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,0398; pendiente mínima 0,0355; el intercepto máximo 0,0057 y el intercepto mínimo -0,0008.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 0,20; 0,368; 0,50; 1,0; 3,0 mg/l, considerando matrices puras, forticadas y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración es de 0,20 mg/l, en este caso se establecen dos rangos debido al elevado % SDR, por tanto, los rangos establecido son: Rango 1: 0,20 – 0,40 mg/l y Rango 2: 0,41 – 3,00 mg/l.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 15 – 32 %, por tanto, se determina que la U del método de Plomo en Aguas es 32 % para el rango 1 y 24% para el rango 2.

#### ***Discusión sobre la determinación de Plomo en suelos.***

El porcentaje de recuperación en todos los niveles de concentración comprenden del 89,36 % al 103,20 %, es decir que cumple con el rango establecido en los objetivos de validación del % R 85 – 115%.

Para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determina que la pendiente máxima es 0,0398; pendiente mínima 0,0355; el intercepto máximo 0,0057 y el intercepto mínimo -0,0008.

La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 24,38; 39,03; 40,62; 89,03; 616,41 mg/kg considerando matrices puras, y estándares.

El límite de cuantificación fijado o definido de la recta de calibración fue de 25,0 mg/kg por este motivo el rango de validación empezó con este valor siendo 25,0 – 610,0 mg/kg.

El porcentaje de la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad se encuentran con valores  $\leq 10\%$  en todos los niveles de concentración, es decir que cumple con el objetivo de validación establecido en los objetivos de validación.

La incertidumbre tiene una variabilidad del 3 - 14 %, por tanto, se determina que la U del método de Plomo en Suelos es 14 %, ya que este valor abarca todo el rango de trabajo.

## CONCLUSIONES

- Se validaron los métodos 3030B, 3111 B, 3111 D, para la determinación de plomo, cadmio y níquel en aguas, lixiviados y suelos siendo estos los adecuados. Es por esto que se declararon como métodos validados y aprobados por la Dirección Técnica e ingresados al Sistema de Gestión de Calidad del Laboratorio AqLab de la Ciudad de Orellana.
- Se estableció la secuencia de análisis para la determinación de Cadmio, Níquel y Plomo en aguas, lixiviados y suelos en los Instructivos Técnicos de Ensayo ITE-AQLAB-33 y el ITE-AQLAB-04; mismos que se aprobaron e ingresaron a las listas maestras del Sistema de Gestión de Calidad del Laboratorio AqLab en la Ciudad de Orellana.
- Se establece que los parámetros críticos en la validación de metales pesados son: función respuesta/linealidad del método, porcentaje de desviación estándar  $< 10\%$ , porcentaje de recuperación 85 - 115% y finalmente que la incertidumbre del método declarada sea menor al 33%; valores que determinaron que la validación fue robusta y que los métodos de análisis son repetibles y reproducibles.
- Se calculó la incertidumbre para cada uno de métodos y se determinó que las contribuciones a ésta son: U de resolución del equipo, U material volumétrico y preparación de estándares, U de la función respuesta y la U reproducibilidad por tanto se declara que la incertidumbre final de los métodos es: 20% cadmio en aguas, 25% cadmio en suelos, 31% níquel en aguas, 19% níquel en suelos, 32% plomo en aguas y finalmente 14% plomo en suelos.

## RECOMENDACIONES

- La adición de ácido nítrico a los patrones preparados, incluyendo las diluciones necesarias, las muestras fortificadas y a las muestras blanco es muy importante para asegurar la solubilidad uniforme de los metales la cual se consigue alrededor de  $\text{pH}=2$  y garantiza una transferencia de analito mas uniforme y segura.
- El analista deberá ser cuidadoso y tomar las precauciones necesarias tales como evitar al máximo las salpicaduras de la muestra mientras se realiza un procedimiento con calentamiento porque implica una potencial pérdida de analito. No dejar secar totalmente la muestra también es importante porque podría perderse analito por la adherencia de éste a las paredes del material de trabajo, además, asegurarse de que la muestra no entre en contacto con cualquier otra sustancia que pueda contaminarla es igual de importante.
- El ajuste a cero en las curvas de calibración es importante para compensar algunas desviaciones negativas o positivas que se presentan y pueden ser evidenciadas en un desplazamiento negativo o positivo, del origen de la curva de calibración en el eje de las ordenadas o de absorbancia.
- Es de suma importancia conocer qué tipo de interferencias presentan los ácidos utilizados en el tratamiento de las muestras, para que no haya un solapamiento de los metales objeto de análisis.
- Al momento de llevar a cabo la preparación de patrones, se debe trabajar con material volumétrico de alta calidad, el cual garantice una medida adecuada de las alícuotas necesitadas para la preparación de cada muestra.
- Se recomienda al Laboratorio no descuidar el mantenimiento de los equipos ya que de esto depende su buen funcionamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ALMUDENA**. “Agua Propiedades Físicas y Químicas” 2006. [Consulta: 16 enero 2017]. Disponible en: <http://www.todomonografias.com/ecologia-y-medioambiente/agua-propiedades-fiscas-y-quimicas/>.
2. **BAUTISTA Francisco**. Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. UADY, 1999. pp. 35-38.
3. **BITSTREAM**. “Estudio de la contaminación por metales pesados”. 2013. España. [Consulta: 13 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://ww.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6978/02INTRODUCCION.pdf?sequence=2>.
4. **BRIDGEWATER, Laura**. Métodos Estándar para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales. 22a ed. Washigton – Estados Unidos. Eugene W. APHA. 2012. pp. 14-20.
5. **CASTAÑO Alfredo**, “Validación de la metodología para el análisis de los metales cadmio y plomo en agua tratada por absorción atómica con horno de grafito en el laboratorio de análisis de aguas y alimentos”. Pereira. 2012. [Consulta: 11 de Diciembre 2016]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3145/1/5430858R666.pdf>.
6. **Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos**. Guía de validación de métodos analíticos. México A. C.2002, pp.34.
7. **DOLER,K**. “Propiedades Físicas del suelo”.2017.[Consulta:12 de febrero 2017].Disponible en: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-fisicas/es/>.
8. **DE LA FUENTE, Leopoldo**. “El Suelo”. México Universidad Autónoma de Tamaulipas. 2010. [Consulta: 10 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos6/elsu/elsu.shtml#ixzz2LIZkJuXP>.
9. **Ecuador. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN)**. Agua Potable. 5a Ed. Quito – Ecuador. INEN. 2014. pp. 2-4.
10. **Ecuador. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN)**. Requisitos

generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. 3a Ed. Quito – Ecuador. INEN. 2006. pp. 14-28.

11. **Ecuador. REGLAMENTO AMBIENTAL DE ACTIVIDADES HIDROCARBURÍFERAS.** Registro Oficial 265 Aguas y Suelos. Quito – Ecuador. MINISTERIO DE MINAS Y PETRÓLEOS. 2010. pp. 49-56.
12. **Ecuador. TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE.** Libro VI Anexo 1 Acuerdo Ministerial 097. Quito – Ecuador. MINISTERIO DEL AMBIENTE. 2015. pp. 10-26.
13. **Ecuador. TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE.** Libro VI Anexo 2 Registro Oficial 270. Quito – Ecuador. MINISTERIO DEL AMBIENTE. 2015. pp. 117-119.
14. **EUGENE, W.** Standard Methods. American Public Health Association. Washington, 2012, pp.200-204.
15. **Feller, W.** An Introduction to probability Theory and its Applications. 3rd Edition. Vol. 1. New York: Wiley, 1968, pp 48-50
16. **FERIA, Jhon. et al.** Heavy metals in Sinú river, Revista Facultad de Ingeniería Departament de Córdoba, 2010, pp. 44 -55.
17. **FRANCO Freddy.** “Acueductos y Alcantarillados”. Bogotá – Colombia. 2013. Universidad Nacional de Colombia. [Consulta: 13 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/manizales/4080004/contenido/Capitulo\\_7/Pages/calidad\\_agua.htm](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/manizales/4080004/contenido/Capitulo_7/Pages/calidad_agua.htm).
18. **GARCÍA I. et al.** “Contaminación por metales pesados Departamento de Edafología y Química Agrícola”. 2001. España [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/>.
19. **HURJUAN.** “El Análisis en el Agua”. 2013. [Consulta: 19 Febrero 2013], Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/7132267/Analisis-Agua> .
20. **Iturriaga, H.A** Simple Meted for Spectrophotometric Determination of twoComponents with Overlapped Spectra. Journal of Chemical Education, 1989.

pp.178-180.

21. **JIMENEZ, Magaly.** “Análisis de metales en aceites lubricantes automotrices usados por espectroscopía de absorción atómica.” [Consulta: 24 Enero 2017]. Disponible en:  
<http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/8061/1/JIMENEZ%20MACIAS.pdf>.
22. **JURADO, José.** “Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analíticos”. 2008. [Consulta: 5 Enero 2017]. Disponible en:  
<http://personal.us.es/jmjurado/docs/AQAEXCEL.pdf>.
23. **LÓPEZ, Martha.** Optimización del sistema de calidad analítica en el laboratorio de análisis de aguas de la Carder. Manizales. 2003. p. 278.
24. **LORENS P.** Guía Eurachem Guía de Laboratorio para los Métodos de Validación. 2ª ed. Europa. Magnusson. 2014. pp. 41-59.
25. **LOZANO, José.** “El Suelo, Agua y aire en Nuestro Medio”. Colombia. [Consulta: 13 de enero 2017]. Disponible en:  
<http://educacionambientalacasinu.blogspot.com/2010/08/tema-3-el-suelo-agua-y-aire-en-nuestro.html>.
26. **MAROTO, Alicia.** Incertidumbre en métodos analíticos de rutina. Universitat Rovira I Virgili. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. France.2002,pp.304
27. **MORENO, Astier.** Derivación de indicadores de calidad de suelo en el contexto de la agricultura sustentable. Agrociencia 2002, pp.605-620.
28. **MILIARIUM,** “Indicadores de la Calidad del Suelo”. 2004. [Consulta: 15 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.miliarium.com/prontuario/Tablas/Suelos/IndicadoresSuelo.htm>.
29. **NEDELKOSKA, T. et al.** Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. Minerals engineer magazine. Bogotá. 2000. p. 30.
30. **NEWTON, Issac.** “Características del suelo.”2017. [Consulta: 20 Enero 2017]. Disponible en:<https://www.caracteristicas.co/suelo/>, com.

31. **PÉREZ, Julián.** “Definición de agua”.2010. [Consulta: 24 Enero 2017]. Disponible en:  
<http://definicion.de/agua.com/>
32. **PEREZ, Guillermo.** “Espectrometría”. [Consulta: 19 Febrero 2017]. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s04.htm>
33. **QUINTERO, G.** Suelos. 2ª ed. La Habana, Mimeorafiado. 1997. p. 7.
34. **RAMOS, Raudel. et al.** El agua en el medio ambiente: muestreo y análisis. 1ª ed. California. Plaza y Valdez. 2003. p. 15.
35. **RAZMILIC, Blago.** “Espectroscopia de Absorción Atómica”. [Consulta: 10 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S04.htm>
36. **ROBLES, Edward.** “Contaminación de metales pesados”.2010. [Consulta: 17 febrero 2017]. Disponible en: <http://cuidemos-el-planeta.blogspot.com/2010/11/contaminacion-por-metales-pesados.htm>.
37. **ROCHA, Castro.** Principios Básicos de Espectroscopía. México. Editorial UACH. 2000. pp. 123-203.
38. **ROMERO, Jairo.** Calidad de Agua. 1a ed. Colombia. Nomos S.A. p. 299.
39. **SKOOG, Douglas A. et al.** Principios de Análisis Instrumental. 5a ed. Madrid: McGraw-Hill / Interamericana España, S. A. U., 2001. pp. 321-325.
40. **SHERMER, Winson.** “El agua: propiedades químicas”. México. 2000. [Consulta: 20 Enero 2017]. Disponible en:<http://biologia.laguia2000.com/bioquimica/el-agua-propiedades-quimicas>.
41. **SCHMID, Wolfgang.** “Guía para estimar la Incertidumbre de la Medición”. México. 2000. [Consulta: 22 Enero 2017]. Disponible en:  
<http://www.paginaspersonales.unam.mx/files/473/Asignaturas/78/Archivo1.23.pdf>.
42. **SLAVIN, M.** Atomic Absorption Spectroscopy. John Wiley & Sons, New York. 1978.pp.45-80

43. **STRUEMPLER, A.** Adsorption characteristics of silver, leads, calcium, zinc and nickel on borosilicate glass, polyethylene and polypropylene container surfaces. 45<sup>a</sup> ed. Analytical Chemistry. 1973. pp. 1-3.
44. **TAMAYO, Marlen.** El agua: un preciado líquido. Museo Nacional de Historia Natural. La Habana, Cuba.2011.pp.4-6.
45. **TEDDINGTON, Middiesex.** “Eurachem a Focus Analytical Chemistry in Europa”.2005. [Consulta: 13 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/131037/mod\\_resource/content/1/Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/131037/mod_resource/content/1/Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf).
46. **TERRY, C.C.** Impactos ambientales de los constituyentes de las aguas residuales. Manejo de aguas residuales en la gestión ambiental. CIGEA. .2010, pp. 31-32.
47. **VÁZQUEZ Manuel.** Avances en seguridad alimentaria. 1<sup>a</sup> ed. Altaga. 2001. p.310.
48. **VILLANUEVA, Cañadas.**Determinación de metales por absorción atómica. Medicina Legal y Toxicología. 6<sup>a</sup> ed., Masson, Barcelona, 2004, pp.34-50.

## ANEXOS

### ANEXO A. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE CADMIO EN AGUAS.

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Aguas naturales Aguas de consumo Aguas residuales y lixiviados					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,1799				<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,1591		
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0013				<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,008		
<b>Coefficiente de Determinación (r<sup>2</sup>):</b>				≥0,995		
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	0,05		mg/l			
<b>Detección</b>	0,015		mg/l			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
0,050	0,0043	8,4089	0,0043	8,4089	100,00	20
0,050	0,0034	7,3721	0,0034	7,3721	99,78	17
0,100	0,0088	9,2638	0,0088	9,2638	100,00	18
0,200	0,0075	3,6160	0,0075	3,6160	104,35	8
0,200	0,0135	6,9120	0,0135	6,9120	100,00	14
0,300	0,0143	4,9276	0,0143	4,9276	100,00	10
0,080	0,0074	9,1228	0,0074	9,1228	100,88	20
5,000	0,2352	4,5102	0,2555	4,9008	100,00	10
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R= 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	0,05 – 5,0 mg/l				<b>U método</b>	20 %

**ANEXO B. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE CADMIO EN SUELOS.**

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Suelo agrícola Suelo Arcilla Suelo industrial y sedimentos					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,1799				<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,1591		
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0013				<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,008		
<b>Coefficiente de Determinación(r<sup>2</sup>):</b>				≥0,995		
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	1,17		mg/kg			
<b>Detección</b>	1,000		mg/kg			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
1,17	0,1468	10,001	0,1468	10,001	96,39	25
2,34	0,1951	8,348	0,1951	8,348	100,00	17
2,50	0,1795	8,412	0,1795	9,813	98,83	14
2,45	0,2248	9,193	0,2248	9,193	100,00	18
2,75	0,3433	7,968	0,3433	8,964	100,00	25
11,75	0,3784	3,219	0,3784	3,219	100,00	6
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R= 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	1,17 – 12,0 mg/kg				<b>U método</b>	25 %

ANEXO C. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE NIQUEL EN AGUAS.

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Aguas naturales Aguas de consumo Aguas residuales y lixiviados					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,0372				<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,0329		
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0022				<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,0014		
<b>Coefficiente de Determinación (r<sup>2</sup>):</b>				≥0,995		
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	0,10		mg/l			
<b>Detección</b>	0,05		mg/l			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
0,100	0,0050	4,9453	0,0050	4,9453	100,60	31
0,300	0,0056	1,8412	0,0056	1,8425	101,93	10
0,500	0,0137	2,7432	0,0137	2,7432	99,74	8
1,000	0,0191	1,9930	0,0191	1,9930	96,02	5
2,000	0,0361	1,8148	0,0361	1,8148	99,33	4
5,000	0,2032	3,8991	0,2288	4,3907	104,24	9
0,200	0,0085	4,1262	0,0085	4,1370	102,50	17
0,490	0,0174	3,5411	0,0174	3,5411	100,55	9
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R = 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	0,10 – 5,00 mg/l				<b>U método</b>	31 %

**ANEXO D. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE NÍQUEL EN SUELOS.**

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Suelo agrícola Suelo Arcilla Suelo industrial y sedimentos					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,0372				<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,0329		
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0022				<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,0014		
<b>Coefficiente de Determinación(r<sup>2</sup>):</b>				≥0,995		
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	13,00		mg/kg			
<b>Detección</b>	10,00		mg/kg			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
12,35	0,4828	3,909	0,6025	4,878	100,00	10
13,13	0,7849	2,508	1,2183	3,893	100,00	19
31,29	0,6420	4,890	0,6420	4,890	100,00	4
18,47	0,5906	3,197	0,8557	4,632	100,00	9
12,50	0,5106	4,138	0,5106	4,138	98,71	8
46,57	0,8395	1,803	0,8395	1,803	100,00	4
132,23	5,7366	4,338	5,7366	4,338	100,00	9
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R= 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	13,0 – 120,0 mg/kg				<b>U método</b>	19 %

**ANEXO E. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE PLOMO EN AGUAS.**

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Aguas naturales Aguas de consumo Aguas residuales y lixiviados					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,0398				<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,0355		
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0057				<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,0008		
<b>Coefficiente de Determinación (r<sup>2</sup>):</b>				≥0,995		
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	0,20		mg/l			
<b>Detección</b>	0,100		mg/l			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
0,200	0,0195	9,0313	0,0195	9,0313	108,10	28
0,368	0,0416	9,9798	0,0416	9,9798	106,77	32
0,500	0,0272	5,5863	0,0272	5,5863	97,54	15
1,000	0,0839	8,3157	0,0839	8,3157	100,88	24
1,000	0,0783	7,6827	0,0783	7,6827	101,95	22
3,000	0,1997	6,4077	0,1997	6,4077	103,88	19
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R = 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	0,20 – 0,40 mg/l		0,41 – 3,00 mg/l		<b>U método</b>	32 % 24%

**ANEXO F. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DE PLOMO EN SUELOS.**

<b>Método:</b>	Espectrometría de absorción atómica					
<b>Matrices:</b>	Suelo agrícola Suelo Arcilla Suelo industrial y sedimentos					
<b>LINEALIDAD / FUNCIÓN RESPUESTA</b>						
<b>Pendiente máxima (b):</b> 0,0398			<b>Pendiente mínimo (b):</b> 0,0355			
<b>Intercepto máximo (a):</b> 0,0057			<b>Intercepto mínimo (a):</b> -0,0008			
<b>Coefficiente de Determinación(r<sup>2</sup>):</b>			≥0,995			
<b>LÍMITES</b>						
	<b>Valor</b>		<b>Unidad</b>			
<b>Cuantificación</b>	25,00		mg/kg			
<b>Detección</b>	15,00		mg/kg			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD E INCERTIDUMBRE</b>						
Niveles de concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud % Recuperación	U expandida % U (K=2)
	Sr	%CVr	SR	%CVR		
24,38	1,1034	4,526	1,6378	6,718	100,00	13
39,03	0,8476	2,104	1,4613	3,628	89,36	7
40,62	0,7709	2,124	0,7709	2,124	103,20	4
89,03	1,2605	1,403	1,4651	1,631	100,91	3
616,41	42,1935	6,845	42,1935	6,845	100,00	14
<b>OBJETIVOS DE VALIDACIÓN</b>	% SDR < 10%				% R= 85 – 115%	U < 33%
<b>Rango de Trabajo</b>	25,0 – 610,0 mg/kg				<b>U método</b>	14 %

## ANEXO G: PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES Y MUESTRAS.

Preparación de estándares



Preparación de muestras fortificadas para aguas



Pesado de suelos



Preparación de muestras fortificadas para suelos



**ANEXO H: DIGESTIÓN, FILTRACIÓN Y AFORO DE MATRICES, MUESTRAS FORTIFICADAS Y ESTÁNDARES.**

Digestión



Filtración



Aforo



## ANEXO I: LECTURA DE MUESTRAS.

Ingreso de los datos de muestras, estándares al software.



Realización de la curva de calibración.



Medición de las muestras



## ANEXO J. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN SUELOS Y SEDIMENTOS

ITE-AQLAB-04.

Página 1 de 6

### 1. OBJETO

Describe la sistemática para la determinación de elementos metálicos como Cadmio, Niquel y Plomo en muestras sólidas mediante el método de Espectrometría de Absorción Atómica de llama aire acetileno.

### 2. ALCANCE

El método Espectrometría de Absorción Atómica de llama aire acetileno es aplicable a muestras de suelos y sedimentos. El rango de trabajo comprende niveles de concentración detallados a continuación:

Parámetro	Rango en mg/Kg
Cadmio, Cd	1,17 – 12,0
Niquel, Ni	13,0 – 120,0
Plomo, Pb	25,0 – 610,0

#### Interferencia:

Una de las interferencias más problemáticas en Absorción Atómica es la usualmente denominada “química” y es causada por pérdida de absorción de los átomos enlazados a combinación molecular en la llama. Este fenómeno ocurre cuando la llama no es lo suficientemente caliente para disociar a las moléculas, como es el caso de las interferencias del fosfato con el magnesio, o cuando el átomo disociado es oxidado inmediatamente a un compuesto que no puede disociarse posteriormente a la temperatura de la llama.

La adición de Lantano (nitrato de lantano) llega a vencer a las interferencias causadas por el fosfato en determinaciones de magnesio, calcio y bario. De forma similar, la interferencia de la sílica en la medición de manganeso puede ser eliminada por adición de calcio. La mezcla gaseosa de óxido nítrico – acetileno, puede usarse para prevenir interferencias por compuestos refractarios

Las interferencias químicas también pueden eliminarse al separar el metal del material interferente. Es así que se usa agentes complejantes para incrementar la sensibilidad del análisis, y se puede usar para eliminar o reducir dicha interferencia.

La presencia de altas concentraciones de sólidos disueltos en la muestra, puede generar una interferencia de absorbancia no atómica. En ausencia de corrección de fondo, esta puede generar falsos positivos o falsea valores relevados. Si la corrección de fondo no es posible, la longitud de onda de no absorbancia deberá ser chequeada.

**Interferencias de Ionización:** estas ocurren cuando la temperatura de la llama no es lo suficientemente alta para generar la remoción de un electrón de un átomo neutro, dando un ión positivo. Este tipo de interferencia se controla generalmente por la adición de un exceso (1,000 mg/L) de un agente fácilmente ionizable, tal como K, Na, Li o Cs. Cada muestra y estándar deberá contener 2 mL. de KCl por cada 100 mL. de solución. “Emplee 95 g de KCl en un litro de agua para eliminar interferencias.

**Interferencias espectrales:** estas ocurren cuando la longitud de onda de absorción de un elemento presente en la muestra que está siendo analizada, no cae dentro de la línea de absorción del elemento de interés.

Los resultados de la determinación serán erróneamente altos, debido a la contribución del elemento interferente de la señal de absorción atómica. La interferencia también puede ocurrir cuando la energía resonante de otro elemento en una lámpara multielemento o de impurezas en la lámpara de cátodo hueco. Este tipo de interferencia puede ser reducida mediante el acercamiento de "Slit".

El analista debe conocer las diferencias de viscosidad y/o la cantidad alta de sólidos suspendidos presentes durante la aspiración.

### Interferencias de analitos individuales.

**Cadmio:** Altas concentraciones de silicatos interfieren en la determinación de cadmio.

**Níquel:** las altas concentraciones de hierro, cobalto o cromo pueden interferir, requiriendo usar llama de óxido nítrico – acetileno. Una respuesta no lineal a 232.14 nm causa curvas de calibración no lineales a concentraciones moderadamente altas de níquel, con lo cual se requerirá dilución de las muestras o usar una línea a 352.4 nm.

## 3. DESCRIPCIÓN

### 3.1. Reactivos

**Agua destilada** de conductividad inferior a 3 uS/Cm y pH 7±0.2.

**Ácido nítrico concentrado** HNO<sub>3</sub>, 68.5%

**Solución HNO<sub>3</sub>, 0.5N** Diluir 92 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado con a.d. a 2000ml.

**Ácido clorhídrico** (1:1 v/v), HCl. Preparado a partir de agua destilada y ácido clorhídrico concentrado.

**Peróxido de hidrógeno** (30%), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Combustible y oxidante:** Acetileno de Alta pureza es generalmente aceptable. El aire puede ser suministrado de una línea del compresor, o un cilindro de aire comprimido al cual se le debe limpiar y secar.

**Soluciones estándar de metales:** Soluciones de metales pesados grado de absorción atómica. Estas soluciones son de 1000 mg/L.

**Estándar de trabajo.-** Se prepara a partir de un estándar madre de 1000 mg/L respectivo a cada metal, detallado a continuación:

Previa a la preparación del estándar de trabajo para cada metal diluya 1 ml de la solución madre de 1000 mg/L del analito a determinar en un matraz aforado de 100 ml con solución de HNO <sub>3</sub> 0.5N, la concentración de esta solución es de 10 mg/L.			
Elemento	Volumen (ml) Estándar 10 mg/l	Concentración (mg/kg) Estándar de trabajo	Volumen de Aforo (ml)
Cadmio	0,5	2,50	50
Níquel	2,5	12,5	50
Plomo	7,5	37,5	50

**Nota:** Este volumen de estándar de trabajo, se debe añadir a los 2g de suelo (blanco) y proceder con la digestión, para finalmente filtrar y aforar a 50ml.

### **3.2. Preparación de la muestra**

Antes de la medición, se deberá dejar que se estabilicen a temperatura ambiente tanto la muestra como los materiales de referencia y el blanco. El equipo de absorción Atómica Perkin Elmer 300 deberá ser operado según lo señala el instructivo ITU-AQLAB-04.

### **3.3. Condiciones Ambientales.**

Las condiciones óptimas de operación recomendadas son:

Temperatura:  $\leq 35^{\circ}\text{C}$

Humedad:  $\leq 85\%$  HR

## **4. Realización**

### **4.1. Procedimientos preliminares**

Siempre es necesario el tratamiento preliminar de muestras sólidas debido a la complejidad y variabilidad de las matrices. Los sólidos, lodos y material suspendido podrían sujetarse a proceso de estabilización antes del análisis. Estos procedimientos pueden variar debido a la naturaleza de la muestra y de los metales a determinarse.

Todos los ensayos mediante absorción atómica deberán ser ejecutados usando una adecuada forma de corrección del fondo. Generalmente se utilizará una lámpara de arco de deuterio, cuando la longitud de onda a la cual se trabaje este por debajo de los 240 nm.

En general, luego de escoger la lámpara adecuada para el análisis, permita que la lámpara se caliente por unos 15 minutos.

Durante este periodo, centrar el mechero, posicionar el monocromador a la longitud de onda correcto, seleccione la abertura adecuada del monocromador (slit), y haga los ajustes necesarios según las recomendaciones del fabricante del equipo.

Regule la luz de la llama y el flujo del combustible y oxidante. Ajuste el mechero y el flujo del nebulizador hasta el porcentaje máximo de absorción y estabilidad.

Construya la curva de calibración del elemento por lo menos utilizando 5 estándares de diferente concentración (Abs vs [concentración]) verificar la curva con un estándar preparado de otro lote o preparado nuevamente por otro analista a su vez con MR.

Aspire la muestra y determine la concentración mediante la curva de calibración. Los estándares deberán medirse cada vez que se analice un conjunto de muestras.

### **4.2. Extracción de muestras.**

#### **4.2.1. Digestión de muestras solidas**

Mediante la aplicación de este procedimiento de preparación de sedimentos, lodos y suelos se puede determinar por FLAA Cd, Ni, Pb.

Este método no es una técnica de digestión total para la mayoría de muestras. Esta es una digestión ácida muy fuerte que disolverá casi a todos los elementos que llegarían a ser "ambientalmente disponibles".

**Procedimiento.**

- Previa secada al ambiente triturado y tamizado a la muestra homogenizar para permitir uniformidad de las partículas, de ser apropiado y necesario, use un tamiz para obtener partículas del mismo tamaño. Todos los equipos usados para la homogenización deben ser limpiados correctamente para minimizar contaminación externa.
- Por cada procedimiento de digestión, pese lo más cercano posible a  $2\text{ g} \pm 0,0100\text{g}$  y transfiera a un tubo de digestión.

**Nota:** Todos los pasos requieren el uso de ácidos, el personal entrenado deberá trabajar con los equipos de seguridad adecuados, dentro de la campana extractora de gases. El uso de la campana extractora minimizará al riesgo de exposición.

- Para cada muestra añada 10 ml de ácido nítrico concentrado, 10 ml de agua destilada, de 2 a 3 perlas de ebullición y someta a calentamiento de reflujo abierto en el bloque de digestión a  $150 \pm 5^\circ\text{C}$  durante 30 minutos.

**Nota:** Adicionalmente, luego que la digestión se ha completado y se ha enfriado la muestra, se puede añadir 3 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% para continuar la degradación faltante por presencia de material orgánico. Debe poner especial atención cuando se añada el peróxido, ya que puede provocar pérdidas debido a la vigorosa efervescencia generada por el reactivo.

- Después de enfriar la muestra, diluya a 50 ml con agua destilada. Las partículas presentes en el extracto son removidas por filtración (embudo vástago de plástico con papel filtro whatman 40 o su equivalente) mediante papel filtro cuantitativo de filtración lenta.

**Nota:** Altas concentraciones de sales metálicas pueden generar que durante el enfriamiento éstas precipiten. Para evitar que esto ocurra, añada 10 ml de HCl concentrado para disolver el precipitado y luego diluya a 50 ml con agua destilada.

El extracto obtenido está listo para ser medido inmediatamente en el Equipo. Si no es posible la medición en ese instante, puede refrigerar el extracto por varias semanas manteniéndolo en recipientes plásticos bien tapado.

Todos los valores de los analitos en cuestión serán reportados en base a sustancia seca.

**4.2.2. Medición de las muestras**

Una vez que la muestra esté preparada se debe verificar que la curva de calibración este realizada y cumpla con el rango de trabajo; el capilar ubicado en el nebulizador introducirlo en la muestra y esperar unos 3 segundos que este se homogenice para proceder a la lectura en el monitor del equipo.

Se debe realizar una medición a un blanco, un estándar control que este dentro de la curva del elemento a ser analizado y proseguir con el lote de muestras.

En caso de que el valor este fuera de la curva se debe proceder a realizar una dilución la cual debe estar especificada en la información del número de muestra.

En la herramienta SAMPLE INFO, colocar el volumen de aforo en ml, peso en g, y colocar el PESO DE LA MUESTRA, corregida con él % de la sustancia seca.

La medición en suelos se la realizara en mg/Kg y se reportara en estas unidades, en caso exista una dilución se deberá multiplicar el valor de la lectura por el número de la dilución que se realizó.

#### 4.2.3. Preparación de la curva de calibración

A partir de un patrón de 1000 mg/L para cada elemento se preparará los estándares necesarios para la elaboración de la curva del analito a determinar.

**Cadmio.** Diluya 1 ml de la solución madre de 1000 mg/L en un matraz aforado de 100 ml con solución de HNO<sub>3</sub> 0,5N, la concentración de esta solución es de 10 mg/L.

# ESTANDAR	VOLUMEN (ml) STD 10 mg/L	CONCENTRAC. FINAL (mg/l)	VOLUMEN DE AFORO (ml)
1	0,15	0,015	100
2	0,50	0,050	100
3	1,00	0,10	100
4	2,00	0,20	100
5	3,00	0,30	100

**Niquel.** Diluya 1 ml de la solución madre de 1000 mg/L en un matraz aforado de 100 ml solución de HNO<sub>3</sub> 0,5N, la concentración de esta solución es de 10 mg/L.

# ESTANDAR	VOLUMEN (ml) STD 10 mg/L	CONCENTRAC. FINAL (mg/l)	VOLUMEN DE AFORO (ml)
1	1	0,10	100
2	3	0,30	100
3	5	0,50	100
4	10	1,00	100
5	20	2,00	100

**Plomo.** Diluya 1 ml de la solución madre de 1000 mg/L en un matraz aforado de 100 ml con solución de HNO<sub>3</sub> 0,5N, la concentración de esta solución es de 10 mg/L.

# ESTANDAR	VOLUMEN (ml) STD 10 mg/L	CONCENTRAC. FINAL (mg/l)	VOLUMEN DE AFORO (ml)
1	1,5	0,15	100
2	5	0,50	100
3	10	1,00	100
4	20	2,00	100
5	30	3,00	100

#### 4.2.4. Tratamiento de resultados

El espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER presenta los resultados directamente en unidades de mg/kg, los resultados serán reportados considerando el factor de dilución si aplica, en el protocolo ITE0401. Los resultados de los análisis serán expresados con una cifras decimales.

#### 5. Medidas de seguridad

En cuanto a la limpieza y mantenimiento del laboratorio, éste debe estar en condiciones de estricta higiene. Lavarse las manos antes y después de cada operación para evitar la contaminación o la penetración de cualquier sustancia. Tomar en cuenta las medidas de seguridad y elementos de protección personal para trabajar con el equipo de absorción atómica. Usar el Epp para la digestión de las muestras, para evitar los vapores de los ácidos durante la digestión

#### 6. Criterios de aceptación rechazo

Cada análisis se realizarán duplicados de las muestras con una aceptación de margen de variación detallado a continuación, este criterio será para todo el rango de trabajo y se registra en ITE0401, se grafica en una carta de control, caso contrario se prepara un nuevo estándar y si no cumple se realiza una nueva curva de calibración.

El criterio de aceptación y rechazo del estándar control y duplicados en todo el rango se detallan a continuación para cada parámetro y se registraran en el formato ITE0401.

Parámetro	Estándar control (mg/Kg)	Aceptación rechazo	% Criterio de Duplicados
Cadmio, Cd	2,50	± 0,576	25 %
Níquel, Ni	12,5	± 0,994	9 %
Plomo, Pb	37,5	± 1,89	13 %

El porcentaje de recuperación para todo el rango de trabajo tanto en estándar y matriz son:

Parámetro	% Recuperación
Cadmio, Cd	25 %
Níquel, Ni	9 %
Plomo, Pb	13 %

Los Criterios de Aceptación y rechazo de las curvas de calibración son:

Parámetro	Pendiente		Intercepto	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Cadmio, Cd	0,1799	0,1591	0,0013	-0,0008
Níquel, Ni	0,0372	0,0329	0,0022	-0,0014
Plomo, Pb	0,0399	0,0355	0,0057	-0,0008

## ANEXO K. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN AGUAS Y LIXIVIADOS.

ITE-AQLAB-33.

Página 1 de 5

### 1. OBJETO

Describe la sistemática para la determinación de elementos metálicos como Hierro, Cromo, Níquel, Manganeso, Cobre, Cadmio y Plomo en muestras acuosas mediante el método de Espectrometría de Absorción Atómica de llama aire acetileno.

### 2. ALCANCE

El método Espectrometría de Absorción Atómica de llama aire acetileno es aplicable a muestras de aguas de consumo, natural, residual y lixiviado. El rango de trabajo comprende niveles de concentración detallados a continuación:

Parámetro	Rango en mg/L
Níquel, Ni	0,10 – 5,0
Cadmio, Cd	0,05 – 5,0
Plomo, Pb	0,20 – 3,00

### 3. DESCRIPCIÓN

#### 3.1. Reactivos

**Agua destilada** de conductividad inferior a 3 uS/Cm y pH 7.

**Ácido nítrico concentrado** HNO<sub>3</sub>, 65%

**Solución HNO<sub>3</sub> 0,5N.** 92 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado, diluido a 2000ml con agua destilada.

**Ácido clorhídrico** (1:1 v/v), HCl. Preparado a partir de agua destilada y ácido clorhídrico concentrado.

**Peróxido de hidrógeno** (30%), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Combustible y oxidante:** Acetileno de Alta pureza es generalmente aceptable. El aire puede ser suministrado de una línea del compresor, o un cilindro de aire comprimido al cual se le debe limpiar y secar.

**Soluciones estándar de metales:** Soluciones de metales pesados grado de absorción atómica. Estas soluciones son de 1000 mg/L.

**Estándar de trabajo.-** Se prepara a partir de un estándar madre de 1000 mg/L respectivo a cada metal, detallado a continuación:

Previa a la preparación del estándar de trabajo para cada metal diluya 1 ml de la solución madre de 1000 mg/L del analito a determinar en un matraz aforado de 100 ml con solución de HNO <sub>3</sub> 0,5N, la concentración de esta solución es de 10 mg/L.			
Elemento	Volumen (ml) Estándar 10 mg/l	Concentración (mg/l) Estándar de trabajo	Volumen de Aforo (ml)
Cadmio	2	0,20	100
Níquel	2	0,20	100
Plomo	5	0,50	100

### 3.2. Preparación de la muestra

Antes de la medición, se deberá dejar que se establezcan a temperatura ambiente tanto la muestra como los materiales de referencia y el blanco. El equipo de absorción Atómica Perkin Elmer 300 deberá ser operado según lo señala el instructivo ITU-AQLAB-04.

### 3.3. Condiciones Ambientales.

Las condiciones óptimas de operación recomendadas son:

Temperatura:  $\leq 35^{\circ}\text{C}$

Humedad:  $\leq 85\%$  HR

## 4. Realización

### 4.1. Procedimientos preliminares

Ver referencia ITE-AQLAB-04.

### 4.2. Extracción de muestras.

#### 4.2.1. Digestión de muestras acuosas

Este procedimiento de digestión es usado para la preparación de muestras acuosas, extracciones de fases móviles, y descargas que contengan sólidos suspendidos, para análisis mediante Absorción Atómica en Llama (FLAA). El procedimiento es usado para determinar metales totales.

Las muestras preparadas por este método pueden ser analizadas por FLAA para determinar los siguientes componentes.

Cadmio	Cromo	Manganeso	Níquel
Hierro	Cobre	Plomo	

#### Procedimiento.

- Transfiera una alícuota representativa de 50 mL de una muestra bien mezclada a un tubo de digestión y agregue 2 mL de ácido nítrico concentrado. Agregue unas perlas de ebullición al tubo de digestión y someta a calentamiento a reflujo abierto en el bloque de digestión a  $150\pm 5^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos.
- Si el producto digerido es claro o presenta un color estable, el proceso de digestión ha terminado. Si ocurre que aún existe partículas suspendidas que no han sido digeridas, nuevamente puede añadir más ácido nítrico y calentar nuevamente. Eventualmente podría añadirse ácido clorhídrico como auxiliar de digestión.
- Remueva el tubo del bloque de digestión y permita que se enfríe. Lave las paredes del tubo y, de ser necesario, filtre la muestra para remover cualquier material insoluble que pudiese obstruir el nebulizador.
- Ajuste el volumen final a 100 mL con agua destilada.

#### 4.2.2. Digestión de aguas para metales Totales, Recuperables y Disueltos.

Este método describe el procedimiento de digestión usado para la preparación de muestras de agua superficial y subterránea para el análisis mediante Absorción Atómica por llama aire acetileno para analizar los siguientes metales:

- Cadmio
- Cromo
- Manganeso
- Níquel
- Hierro
- Cobre
- Plomo

Cuando analice metales disueltos totales, filtre la muestra, en el mismo tiempo de recolección de la muestra previa la acidificación con ácido nítrico.

#### Procedimiento.

Para muestras acuosas en las que se determinará metales disueltos, solamente filtre la muestra por un filtro de 40  $\mu\text{m}$ , acidifíquela y analice por llama aire acetileno.

- Filtre aproximadamente 50 mL de una alícuota de una muestra bien mezclada a un vaso de precipitación.
- Coloque 2ml de ácido nítrico concentrado y un balón aforado de 50ml, y afore con la alícuota que previamente fue filtrada.
- La muestra está lista para analizar por FLAA.

**Para muestras en las que se determinará metales totales recuperables, siga los siguientes pasos.**

- Transfiera 50 mL de una alícuota de una muestra bien mezclada a un tubo de digestión. Añada 2 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado.
- Someta a calentamiento la muestra a  $150 \pm 5^\circ\text{C}$  en el bloque de digestión por 30min
- Remueva el tubo del bloque de digestión y permita que se enfríe. Lave las paredes del tubo y, de ser necesario, filtre la muestra para remover cualquier material insoluble que pudiese obstruir el nebulizador.
- Ajuste el volumen final a 50 mL con agua destilada.

#### 4.2.3. Medición de las muestras

Una vez que la muestra esté preparada se debe verificar que la curva de calibración este realizada y cumpla con los criterios de aceptación y rechazo; el capilar ubicado en el nebulizador introducirlo en la muestra y esperar unos 3 segundos que este se homogenice para proceder a dar lectura en el monitor del equipo.

Se debe realizar una medición a un blanco, un estándar control que este dentro de la curva del elemento a ser analizado y proseguir con el lote de muestras.

En caso de que el valor este fuera de la curva se debe proceder a realizar una dilución la cual debe estar especificada en la información del número de muestra ID SAMPLE.

La medición en aguas se la realizara en mg/L y se reportara en estas unidades, en caso exista una dilución se deberá multiplicar el valor de la lectura por el número de la dilución que se realizó.

#### **4.2.4. Preparación de la curva de calibración**

A partir de un patrón de 1000 mg/L para cada elemento se preparará los estándares necesarios para la elaboración de la curva en cada elemento tal como lo indica el ANEXO N°2.

#### **4.2.5. Tratamiento de resultados**

El espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER 300 presenta los resultados directamente en unidades de mg/L, los resultados serán reportados considerando el factor de dilución si aplica, en el protocolo ITE3301-01. Formato para la determinación de los metales Pesados en Aguas y Lixiviados. Los resultados de los análisis serán expresados con dos cifras decimales

### **5. Medidas de seguridad**

Todo reactivo, muestra, solución o cualquier material deberá estar claramente identificado de acuerdo con las políticas de registros que el laboratorio establezca.

Lavarse las manos antes y después de cada operación. Se procuraran de estar libres de cortes y en su caso, se usará un apósito y guantes para evitar la contaminación o la penetración de cualquier sustancia.

Tomar en cuenta las medidas de seguridad y elementos de protección personal para trabajar con el equipo de absorción atómica.

De igual forma proceder con protección para el manejo de reactivos como en el caso del ácido nítrico, ácido clorhídrico y vapores de N que se emiten en la digestión.

### **6. Control de Calidad.**

Se efectuarán actividades de Control de Calidad según lo establecido en la Programación de Aseguramiento de la Calidad formato MC2201.

Se realizará curva de calibración cada lectura de analito y se verificará que la pendiente este entre el valor máximo y mínimo calculado en la validación del método y con una aceptación del coeficiente de correlación  $R \geq 0.99$ , en caso de no cumplir las condiciones se repetirá la curva.

#### **6.1. Criterios de aceptación rechazo**

Cada análisis se realizarán duplicados de las muestras con una aceptación de margen de variación detallado a continuación, este criterio será para todo el rango de trabajo y se registra en ITE3301, se grafica en una carta de control, caso contrario se prepara un nuevo estándar y si no cumple se realiza una nueva curva de calibración.

El criterio de aceptación y rechazo del estándar control y duplicados en todo el rango se detallan a continuación para cada parámetro y se registraran en el formato ITE3301.

Parámetro	Estándar control (mg/L)	Aceptación rechazo	% Criterio de Duplicados
Cadmio, Cd	0,20	± 0,032	9 %
Níquel, Ni	0,20	± 0,025	14 %
Plomo, Pb	0,50	± 0,058	16 %

El porcentaje de recuperación para todo el rango de trabajo tanto en estándar y matriz son:

Parámetro	% Recuperación
Cadmio, Cd	17 %
Níquel, Ni	14 %
Plomo, Pb	16 %

Los Criterios de Aceptación y rechazo de las curvas de calibración son:

Parámetro	Pendiente		Intercepto	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Cadmio, Cd	0,1799	0,1591	0,0013	-0,0008
Níquel, Ni	0,0372	0,0329	0,0022	-0,0014
Plomo, Pb	0,0399	0,0355	0,0057	-0,0008