



***Implementación del método cuantitativo de Absorción
Atómica para Cromo y Plomo con estándares trazables en
muestras ambientales***

**ANGELICA BIANEY SEGURA BELTRÁN
TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito para optar por el título de
MICROBIÓLOGO INDUSTRIAL**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
Bogotá D. C. Colombia
Mayo de 2015**



Implementación del método cuantitativo de Absorción Atómica para Cromo y Plomo con estándares trazables en muestras ambientales

ANGELICA BIANEY SEGURA BELTRÁN

CONCEPCIÓN PUERTA B., PhD
Decana Facultad de Ciencias

MARCELA FRANCO
Directora Carrera de Microbiología
Facultad de Ciencias



Implementación del método cuantitativo de Absorción Atómica para Cromo y Plomo con estándares trazables en muestras ambientales

ANGÉLICA BIANEY SEGURA BELTRÁN

Crispín Astolfo Célis Ph.D.
Director

Ricardo Vera
Par evaluador

Andrés E. Ortiz
Co-director



AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a Dios por ser mi refugio y fortaleza. Gracias a mis padres y hermano por su apoyo moral y económico para llegar a este punto de mi carrera. Gracias a Alejandro por su apoyo y compañía incondicional. Gracias a mis amigos y familia que siempre estuvieron dándome ánimo.

Además, agradezco al laboratorio de absorción atómica de la Pontificia Universidad Javeriana y en especial a Crispín Celis por permitirme llevar a cabo este proyecto. De igual manera a Andrés Ortiz por su acompañamiento y seguimiento durante todo el proceso.



TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	13
3. MARCO TEÓRICO	14
3.1 Metales traza	14
3.1.1 Cromo	14
3.1.2 Plomo	15
3.2 Embalse del Muña y legislación	15
3.3 Métodos de concentración de muestras	16
3.3.1 Evaporación	16
3.3.2 Rota evaporación	16
3.4 Digestión química de muestras	17
3.4.1 Digestión ácida	17
3.4.2 Digestión UV	17
3.5 Método espectrométrico de absorción atómica	17
3.5.1 Absorción atómica de llama	18
3.5.2 Absorción atómica electrotérmica	19
3.5.3 Método de plasma de acoplamiento inductivo	19
3.6 Parámetros estadísticos de control	20
3.6.1 Límite de detección y cuantificación	20
3.6.2 Precisión	20
3.6.3 Exactitud	20
4. OBJETIVOS	21
4.1 Objetivo general	21
4.2 Objetivos específicos	21
5. METODOLOGÍA	22
5.1 Materiales y reactivos	22
5.2 Equipos	22
5.3 Curvas de calibración	22
5.4 Análisis estadístico	22
5.4.1 Límite de detección y cuantificación	22
5.4.2 Precisión	23
5.4.3 Exactitud	23
5.5 Recolección y concentración de muestras	23
5.6 Pretratamiento y digestión ácida de muestras	24



6. RESULTADOS	24
6.1 Determinación de curvas de calibración	25
6.2 Determinación de límite de detección y cuantificación	27
6.3 Determinación de Cr y Pb en muestras ambientales	29
6.4 Determinación de manuales de operación básicos	29
7. DISCUSIÓN	31
8. CONCLUSIONES	34
9. RECOMENDACIONES	35
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
11. ANEXOS	43



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva de calibración de Cr, relacionando Concentración (mg/L) Vs Absorbancia promedio

Figura 2. Curva de calibración de Pb, relacionando Concentración (mg/L) Vs Absorbancia promedio



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos tenidos en cuenta para la realización de la curva de calibración de Cr, todas las réplicas y repeticiones mostraron $p < 0.05$; 95% por prueba de ANOVA, indicando validez de las mismas

Tabla 2. Datos tenidos en cuenta para la realización de la curva de calibración de Pb, todas las réplicas y repeticiones mostraron $p < 0.05$; 95% por prueba de ANOVA, indicando validez de las mismas

Tabla 3. Absorbancias de distintos blancos, promediados y con su desviación estándar para la determinación de Límite de detección y cuantificación de Cr

Tabla 4. Absorbancias de distintos blancos, promediados y con su desviación estándar para la determinación de Límite de detección y cuantificación de Pb

Tabla 5. Determinación de Cr y Pb en las muestras totales

Tabla 6. Comparación de los LOD, según las técnicas para determinación de Cr

Tabla 7. Comparación de los LOD, según las técnicas para la determinación de Pb



ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA	Absorción Atómica
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
C	Carbono
Cd	Cadmio
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
GF-AAS	Espectrometría de absorción atómica de Horno de grafito
HG-AAS	Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruro
H	Hidrógeno
H₂O	Agua
H₂O₂	Peróxido de Hidrógeno
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
HNO₃	Ácido nítrico
ICP-OES	Espectrometría de plasma de acoplamiento inductivo de emisión óptica
ICP-MS	Espectrometría de plasma de acoplamiento inductivo de masa
KNO₃	Nitrato de Potasio
N₂	Nitrógeno molecular
Ni	Níquel
Pb	Plomo
Pb (NO₃)₂	Nitrato de Plomo
Pt	Platino
O₂	Oxígeno
UV	Ultra Violeta
Zn	Zinc



LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1. Validación de réplicas de las curvas de calibración

Anexo 2. Validación de réplicas de las muestras de agua y suelo para la determinación de Cr y Pb

Anexo 3. Correlaciones de Pearson

Anexo 4. Prueba bondad de ajuste

Anexo 5. Regresión lineal y modelo estadístico de predicción

Anexo 6. Manuales de Operación Básicos



RESUMEN

Uno de los aspectos más importantes que determinan la calidad del agua y el suelo es la presencia de metales pesados, entre ellos: el Cromo y Plomo, debido al impacto ambiental que generan a las poblaciones expuestas, haciendo necesaria su cuantificación y control en muestras ambientales (agua residual y suelo). La espectrometría de absorción atómica de llama es el método más empleado para la determinación de metales en una amplia variedad de matrices, esto se debe a su especificidad, sensibilidad y facilidad de operación. En esta investigación se desarrolló un método analítico para la determinación de Cromo y Plomo con ayuda de la Espectrometría de Absorción Atómica de llama. Se tomaron muestras de agua y suelo del embalse del Muña en el Municipio de Sibaté, Cundinamarca a las cuales se les realizó un pre-tratamiento, que incluyó una concentración para agua y una digestión ácida para ambos tipos de muestra. Los LOD de Cr y Pb fueron de 0,1271 mg/L y 0,03061 mg/L respectivamente. Las réplicas de las curvas de calibración y las muestras fueron validadas por un test de normalidad, homogeneidad de varianzas y ANOVA. Se realizó una correlación de Pearson que demostró una relación directamente proporcional de Plomo en el agua y suelo, en cuanto a las concentraciones de Cromo no se halló ninguna relación.

PALABRAS CLAVES:

Espectrometría, absorción atómica, Cromo, Plomo, Embalse del Muña



1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación comprende el análisis de la Espectrometría de absorción atómica de llama como método cuantitativo para la determinación de Cr y Pb en muestras ambientales (agua y suelo) del Embalse del Muña, teniendo en cuenta el límite de detección y de cuantificación, precisión y exactitud como parámetros de control para el análisis.

Es importante realizar un control constante en la calidad del agua y del suelo, que haga referencia a sus componentes químicos, físicos y microbiológicos. Los metales hacen parte de esta composición y dependiendo de su concentración, se constituyen como contaminantes; entre ellos se encuentran el Pb y el Cr (Marcovecchio et al. 2007). Esta contaminación, deriva de la explotación y fundición de metales, insumos agrícolas, lodos y sedimentos residuales, combustión del carbón y del petróleo y de la inadecuada disposición de desechos industriales, entre otros (Siebe 1994, Orozco et al. 2005, Muchuweti et al. 2006).

La espectrometría de absorción atómica en 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 entre los 1,500 – 3,000°C son suficientes para producir la atomización y cambio de estado de un gran número de elementos permitiendo su cuantificación espectrofotométrica (Van 1980).

Por tanto, se utilizó la técnica mencionada anteriormente con el fin de obtener mediciones precisas, tendientes a la exactitud. A su vez, se realizaron las digestiones químicas correspondientes a cada muestra, para reducir la interferencia de la materia orgánica y llevar el metal asociado a las partículas a una forma medible por espectrometría de absorción atómica. Estos procedimientos fueron contenidos finalmente en un Manual de Operaciones Básico que indica cómo implementar dicha técnica en la determinación de Cr y Pb en aguas residuales y suelo.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El agua es un elemento esencial para el sostenimiento de la vida (Vanloon 2005) lo que hace necesario el control constante de esta. Uno de los aspectos más importantes acerca de su calidad es la presencia de metales pesados, entre ellos: el Cromo y Plomo, que generan toxicidad a nivel ambiental y en la salud de las poblaciones expuestas a los mismos (Kotaz, Stasicka 2000).

La calidad del suelo y especialmente su grado de contaminación, puede afectar la salud de seres humanos y ecosistemas de diferentes maneras (Chen et al. 2010, Malik et al. 2010, Zhang et al. 2011). Los suelos contaminados con metales pesados constituyen la mayor parte del problema ambiental, ya que pueden resultar en exposiciones significativas a diferentes poblaciones generando intoxicaciones de tipo crónico y agudo (Zhuang et al. 2009, Abel et al. 2010, Dao et al. 2010, Yaylali-Abanuz 2011,).

El Pb, genera enfermedades en las articulaciones, riñones, sistema circulatorio y daños severos en el cerebro, además, produce un impacto negativo al ambiente, debido a que genera envenenamiento en especies acuáticas, plantas y animales. Por otra parte, el Cr (VI) a altas concentraciones (0,01mg/L), es tóxico y generador de enfermedades en los seres humanos como el cáncer, problemas a nivel respiratorio, afectaciones al sistema nervioso central, daños en el sistema autoinmune y riñones (Alfaro et al. 2002).

Debido a las consecuencias que acarrea el Pb y el Cr, es necesario utilizar herramientas analíticas de medición precisas para su control. Una de las técnicas ampliamente utilizadas es la absorción atómica (AA). A partir de dicha técnica se pueden determinar las concentraciones de Cr y Pb en diferentes tipos de muestras (Soylak et al. 2002, Fan et al. 2009). Sin embargo, en muchos casos la determinación de estos metales en muestras de agua es especialmente difícil debido a las bajas concentraciones y la alta complejidad de la matriz en sí. Por lo general, es necesario llevar a cabo un pre-tratamiento de la muestra compuesto por etapas de separación, concentración y digestión, únicas y específicas para cada tipo de matriz y metal a determinar (Soylak et al. 2002, Dobrowolski et al. 2010). Lo anterior, hace necesario el compendio de estos procedimientos en un manual de operaciones básico, que indique los lineamientos para la recepción, manipulación, análisis y almacenamiento de muestras para la determinación de Cr y Pb en aguas residuales y suelo.



3. MARCO TEÓRICO

3.1 Metales traza

Los elementos traza pueden ser clasificados en dos grupos: metales traza esenciales y metales traza no esenciales. El criterio más importante para realizar esta clasificación está basado en que la ausencia de un elemento esencial puede provocar una deficiencia específica en un organismo vivo, la cual puede ser reversible al introducir dicho elemento en particular (Santiago 2007).

Muchos metales, incluyendo los denominados metales pesados, son considerados elementos traza esenciales para el perfecto desarrollo de los organismos vivos como plantas y animales. Algunos metales que intervienen en funciones biológicas son el Cu, Mn, Fe, y Zn para plantas y animales; Cr, Co y Se solo para plantas. Cuando se superan los límites de concentración necesarios, el metal pasa a tener un efecto tóxico en el organismo. Así pues, debe alcanzarse un equilibrio entre exceso y la carencia en lo que se refiere a estos elementos esenciales. Dentro del grupo de los metales no esenciales se pueden incluir los siguientes: As, Cd, Hg y Pb, que provocan efectos tóxicos cuando las concentraciones superan el límite de tolerancia del organismo (Variables según el orden, género y especie del mismo), pero no causan desordenes de deficiencia a concentraciones bajas, como los esenciales (Santiago 2007).

Debido a esto, es de relevada importancia la determinación de elementos traza en muestras tanto biológicas como medio-ambientales, para elucidar la relación entre los elementos químicos y los seres vivos, comprender el nexo entre el estado de salud y los problemas de exposición ambiental, entre otros (Santiago 2007).

3.1.1 Cromo

El análisis de Cr como elemento traza en muestras biológicas y ambientales se está convirtiendo cada vez más en un tema de interés en técnicas analíticas, debido a sus características toxicológicas y biológicas relacionadas con sus estados de oxidación. Aunque el Cr puede tener diferentes estados de oxidación, sólo se conocen dos especies estables en solución Cr (III) y Cr (VI) (Katz y Salem 1993, Noroozifar et al, 2008)

El Cr (III) es esencial para los seres humanos, promoviendo la acción de la insulina (Panda y Choudhury 2005, Conceição et al. 2007, Cuberos et al. 2009), además, tiene un papel importante en el metabolismo de glucosa, lípidos y proteínas (Pobozy et al. 2003)

De forma opuesta, el Cr (VI) es conocido como una especie tóxica que puede penetrar fácilmente en la pared celular y ejercer influencia nociva en la célula. El impacto toxicológico de Cr (VI) es originado por su acción como agente oxidante, así como por la formación de radicales libres tipo peroxilo durante la reducción de Cr (VI) a Cr (III) que ocurre dentro de la célula. Este Cr (VI) causa otros efectos adversos debido a su alta capacidad de coordinar compuestos orgánicos, lo que resulta en la inhibición de algunos sistemas enzimáticos. (Kotaz & Stasicka 2000) Causando enfermedades en los seres humanos como cáncer, problemas a nivel respiratorio, daños en el sistema autoinmune, riñones, entre otros (Alfaro et al. 2002).



Este compuesto también produce contaminación en suelos y en agua, se halla en rocas, suelo, animales y plantas a concentraciones variables. Las concentraciones “normales” de Cr en sangre y orina no expuestas, están en el intervalo de 0,1 hasta 0,5 $\mu\text{g/L}$. El Cr se produce de forma ubicua en la naturaleza ($<0,1 \text{ mg/m}^3$ en el aire). Los niveles naturales en aguas no contaminadas van desde fracciones de 1 μg hasta unos pocos $\mu\text{g/L}$ (WHO 2000, Khalid et al. 2013).

3.1.2 Plomo

El Pb es un potencial veneno a medida que se va acumulando actuando como agente cancerígeno en los seres humanos (Bakare 2005). Además, causa enfermedades en articulaciones, riñones y sistema circulatorio, a altas concentraciones. Por esto el límite permitido por la Organización Mundial de la Salud es de 0,01mg/L, concentraciones superiores pueden causar daño severo en el cerebro, convulsiones, coma e incluso la muerte (Neal 2013, Khalid et al. 2013).

El Pb también puede interferir con la hemo-biosíntesis al inhibir la ácido d-aminolevulínico deshidratasa y la actividad ferroquelatasa, aumentando así en la sangre y plasma el ácido D-minolevulínico y protoporfirina eritrocitaria libre (ATSDR 2010) lo que conduce a la anemia. El envenenamiento por Pb puede resultar también en dolor abdominal, pérdida de apetito, vómitos, náuseas, estreñimiento y/o diarrea, puede causar daño a los nervios periféricos causando debilidad muscular. Además, se pueden generar cambios de comportamiento en la visión y discapacidad auditiva. Por otra parte, el Pb puede inhibir el receptor de N-metil-D-aspartato que se relaciona con el hipocampo, encargado del aprendizaje y la memoria, resultando en defectos en los procesos de la memoria del cerebro, causando déficit en la neurotransmisión (Neal et al. 2013).

3.2 Embalse del Muña y legislación

El embalse del Muña, fue construido en la década del 40 por la Empresa de Energía de Bogotá para alimentar dos cadenas de generación de energía. La capacidad hidráulica total del sistema es de 75 m^3/s , permitiendo generar 1150 MW/día. La Cuenca del Embalse del Muña está comprendida por el Embalse del Muña, Río Muña, Aguas Claras, y demás cuerpos de agua en la subcuenca, así: **a.** Cuerpos de agua en la Cuenca, no incluido el Embalse del Muña correspondiente a la Clase II. **b.** El Embalse del Muña propiamente dicho corresponde a la clase V. En este sentido, la Clase V uso otorgado al Embalse del Muña corresponde a valores de los usos para generación de energía y uso industrial. (Acuerdo No. 43 del 17 de octubre de 2006 “Por el cual se establecen los objetivos de calidad del agua para la Cuenca del Río Bogotá a lograr en el 2020” – CAR 2006)

Estudios previos de la CAR (2006) en la cuenca del Río Bogotá, demostraron que uno de los metales pesados de mayor relevancia es el Cromo, ya que presenta dos picos críticos correspondientes a los vertimientos de la industria de las curtiembres de los municipios de la cuenca alta y de la Cuenca del Tunjuelo. Por su parte, el Plomo no representa ninguna limitante para las actividades agrícola y de generación de energía eléctrica, ya que su concentración no es significativamente tóxica ya que es cercana a 0.05 mg/L.



A su vez, la Resolución 3957 de 2009 de la Secretaría de Ambiente de la Alcaldía Mayor de Bogotá D. C. “Por la cual se establece la norma técnica, para el control y manejo de los vertimientos realizados en la red de alcantarillado público en el Distrito Capital” establece 0,1 mg/L y 0,1 mg/L de Cr y Pb, respectivamente, como valores máximos permisibles en aguas residuales.

En cuanto a la normatividad ambiental sobre el recurso del suelo en Colombia, se encuentra el Decreto 2811 de 1974 Código de los recursos naturales; artículos 8, 178, 179, 180 y 182 que define los factores que deterioran el ambiente, como la degradación y la erosión; también la acumulación o disposición inadecuada de residuos, basuras, desechos y desperdicios y el uso inadecuado de sustancias peligrosas. De igual forma, plantea que los suelos que se encuentren con sujeción a limitaciones físico-químicas o biológicas que afecten la productividad se deben recuperar.

Por su parte, la ley 99 de 1993 por la cual se crea el Ministerio del Ambiente, entidad en Colombia encargada de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables. También, se organiza el Sistema Nacional Ambiental –SINA- y se establecen las funciones del Ministerio con relación a la protección y conservación del suelo. Y el decreto 1713 de 2002 donde se reglamenta la Gestión Integral de Residuos Sólidos en Colombia y específicamente los procedimientos y métodos para prevenir riesgos en la disposición final en los recursos agua, aire y suelo, sin embargo, en ninguna de estas normas se establecen valores de referencia de Cr y Pb en suelos, lo que limita el control y mejoramiento del recurso.

3.3 Métodos de concentración de muestras

Previo al análisis de las muestras, es necesario llevar a cabo procedimientos tales como la concentración, con el fin de transformar la muestra en una forma adecuada que facilite su análisis.

3.3.1 Evaporación

La evaporación se constituye como un método para la concentración de un analito de interés, mediante el cual se usa el fundamento de la destilación sencilla que consiste en el aumento de la temperatura de un líquido, hasta que la presión del vapor interna iguala a la presión externa que soporta el sistema, observando la evaporación (Lamarque et al. 2008). De esta forma hay un cambio en el estado de la materia en la matriz (líquido a gaseoso) permitiendo separarla del metal gracias a la amplia diferencia en los puntos de ebullición del analito versus la matriz, ya que a medida que va sucediendo la evaporación, el volumen de la muestra se ve reducida y por tanto concentrada.

3.3.1.1 Rotaevaporación

En la rotaevaporación hay una ebullición más rápida del líquido debido a la aplicación de vacío, ya que permite que la sustancia de interés se evapore a menores temperaturas, gracias a que las presiones se igualan en un menor tiempo, separando de esta manera el analito de interés de la matriz (Fieser 2004). Este método es el avalado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (1990) para la concentración de Cr o Pb en muestras de agua.



3.4 Digestión química de muestras

Luego de concentrar la muestra es necesario realizar un proceso de digestión, para generar las características adecuadas para el análisis químico, debido a que homogeneiza la muestra y proporciona la forma disponible del analito, como sal soluble. Para muestras de agua y suelo, la digestión es relativamente fácil y consiste en la adición de pequeñas cantidades de HNO_3 o HCl que eliminen la materia orgánica y permitan la solubilización del metal. Sin embargo, dependiendo de la composición de esta y el objetivo específico del análisis se escoge el método de digestión adecuado. Entre los procedimientos más utilizados se encuentran; digestión ácida, digestión UV, fusión e incineración (Chao y Sanzolone 1992, Eggins et al. 1997, Navarro et al. 2008). Además, se debe tener en cuenta el método menos complejo que permita alcanzar una recuperación completa y consistente, compatible con el método analítico y con el metal que se analiza.

3.4.1 Digestión ácida

La digestión ácida es un procedimiento en el cual se busca reducir la interferencia de la materia orgánica y convertir el metal asociado a las partículas en una forma que pueda determinarse por espectrometría de absorción atómica. Los factores que más influyen la digestión ácida incluyen el ácido utilizado y su concentración, el tiempo de duración, la fuerza motriz (es decir, calor, microondas u ondas ultrasónicas) y la naturaleza de los metales en la matriz de muestra.

Esta digestión puede desarrollarse con un solo ácido o la combinación de varios. La selección del ácido o la mezcla de ácidos depende de la forma química de los metales. Generalmente, el HCl es utilizado para carbonatos, fosfato, boratos, algunos óxidos y sulfuros, mientras el HNO_3 es utilizado por una amplia variedad de sales metálicas (Ramanathan, Ting 2015).

3.4.2 Digestión UV

La digestión UV es un mecanismo, en el cual el O_2 se excita y produce OH° radicales a partir del H_2O y H_2O_2 agregados a la muestra. Estos grupos se enlazan con H y C formando H_2O y CO_2 respectivamente. Teniendo en cuenta que conforme más fuerte es la radiación UV, menor es la cantidad de material orgánico restante en la muestra al final. La irradiación se lleva a cabo en recipientes de cuarzo a aproximadamente 90°C . Luego, la muestra se acidifica a pH 2 con H_2SO_4 , se agregan $10\mu\text{L}$ de H_2O_2 (30%), siendo expuesto alrededor de 60 minutos con una lámpara UV 500W (Thomas 2001).

3.5 Método espectrométrico de Absorción atómica

Las técnicas de espectrometría de absorción atómica consisten en dirigir un haz luminoso a través de una llama hacia un monocromador y sobre un detector que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. Dado que cada metal tiene su propia longitud de onda y por ende absorción característica, se utiliza como fuente luminosa una lámpara de cátodo hueco compuesta de dicho elemento; esto proporciona un método relativamente libre de interferencias espectrales o de radiación. La cantidad de energía absorbida en la llama a una longitud de onda



característica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, en un intervalo de concentraciones limitado (Lajunen 2004).

El espectrómetro de absorción atómica consiste en una fuente luminosa que emite el espectro de líneas de un elemento (lámpara de cátodo hueco), un dispositivo para vaporizar la muestra (normalmente una llama), medio de aislamiento de la línea de absorción (monocromador o filtro y rejilla ajustable) y un detector fotoeléctrico con su equipo electrónico de amplificación y medida asociado (Lajunen 2004).

3.5.1 Absorción atómica de llama

La mayor parte de los espectrómetros de llama utilizan un mechero de premezcla, caracterizado porque el combustible, el oxidante y la muestra se mezclan antes de introducirlos en la llama. La disolución de la muestra se introduce con un nebulizador neumático haciendo pasar una fuerte corriente de oxidante (normalmente, aire) por el extremo de un capilar, por el que se aspira la muestra. El líquido se rompe en una fina niebla de gotas a medida que sale del capilar. El nebulizado se proyecta a gran velocidad contra una bola de vidrio (esfera de impacto), donde las gotas se rompen en partículas aún más pequeñas. La formación de estas gotas se llama nebulización. La suspensión de partículas líquidas (o sólidas) en un gas se llama aerosol. La finalidad del nebulizador es transformar la muestra líquida en un aerosol. La niebla formada, el oxidante y el combustible chocan con pantallas (impelentes), que aumentan el grado de mezcla y retienen las gotas más gruesas. El exceso de líquido se va recogiendo en el fondo de la cámara de nebulización y se elimina por drenaje (Lajunen 2004).

La combinación más frecuente de combustible-oxidante es acetileno y aire, que produce una llama con una temperatura de 2400-2700 ° K. Cuando se necesita generar mayor energía de ionización para atomizar elementos de alto punto de ebullición, se usa, acetileno y óxido de dinitrógeno (>3000°K). La llama consta de una región de precalentamiento, por donde penetra el gas procedente de la cabeza del mechero y que se calienta por conducción y radiación de la zona primaria de reacción (el cono azul de la llama). La combustión se completa en el cono exterior, donde llega aire arrastrado hacia la llama (Lajunen 2004).

Las gotas que llegan a la llama se evaporan; entonces el sólido que queda se vaporiza y se descompone en átomos. Muchos elementos forman óxidos e hidróxidos a medida que ascienden por el cono exterior. Las moléculas no tienen el mismo espectro que los átomos, de modo que la señal atómica disminuye. Si la llama es relativamente rica en combustible, el carbón en exceso tiende a reducir los óxidos e hidróxidos metálicos y por tanto aumenta la sensibilidad. Una llama pobre, es decir, con exceso de oxidante, es más caliente. Para determinar un elemento en su forma óptima se precisa una llama determinada, rica o pobre, según los casos, a dicha relación entre el oxidante y el reductor se le denomina “estequiometría de la llama” y la optimización de la misma es fundamental para un buen análisis. La altura en la llama en la cual se observa la máxima emisión o absorción atómica depende del elemento que se mida y de los caudales de muestra, combustible y oxidante (Lajunen 2004).



3.5.2 Absorción atómica electrotérmica

La espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica, se basa en el mismo principio que la atomización directa en llama, con la diferencia que en este caso se emplea un atomizador calentado eléctricamente (horno de grafito) en lugar del quemador de llama. Normalmente el calentamiento de la muestra se realiza en varias etapas, a temperaturas crecientes: secado, calcinación, atomización y limpieza. Tras la etapa de atomización, se obtienen átomos en estado elemental del elemento a medir. Estos átomos absorben radiación monocromática procedente de la fuente (lámpara de cátodo hueco), siendo esta absorción proporcional a la cantidad de átomos elementales en el trayecto óptico (interior del tubo de grafito). Para reducir al mínimo las interferencias en la medida, se suelen añadir modificadores de matriz (Lajunen 2004).

El horno de grafito es un tubo calentado eléctricamente, permitiendo una mayor sensibilidad que la llama y requiriendo menor cantidad de muestra. Las muestras entre 1 y 100 μL , son inyectadas al tubo de grafito a través de un hoyo de diámetro pequeño localizado en la parte superior del tubo. La atomización se logra en tres fases. Primero, la mezcla es secada usando una corriente que eleva la temperatura del tubo de grafito a 110°C. En la segunda etapa, que se llama calcinado, la temperatura es incrementada a 350-1200°C, a estas temperaturas cualquier material orgánico es convertido en CO_2 y H_2O , y materiales inorgánicos son volatilizados. Estos gases son removidos por una corriente de gas inerte (argón). En la etapa final, la muestra es atomizada rápidamente incrementando la temperatura a 2000-3000°C (Lajunen 2004).

La atomización electrotérmica provee una significativa mejora en la sensibilidad atrapando el analito gaseoso en un pequeño volumen en el tubo de grafito mediante adsorción. La concentración del analito resultante en el vapor puede ser 1000 veces más grande que la producida en la atomización a la flama. El avance en sensibilidad y en la detección de límites, es compensado por una significativa pérdida en la precisión. La eficiencia de la atomización está fuertemente influenciada por el contacto de la muestra con el tubo de grafito, en el que es difícil controlar la reproducibilidad (Lajunen 2004).

3.5.3 Método de plasma de acoplamiento inductivo

Este método alcanza una temperatura mucho más alta que el de las llamas ordinarias de combustión. La elevada temperatura, la estabilidad y el entorno químico inerte del Ar eliminan gran parte de las interferencias que se encuentran en la llama. El instrumento de plasma es más caro y cuesta más su mantenimiento que el de un equipo de llama (Lajunen 2004).

El quemador de un plasma acoplado por inducción, posee dos bobinas de inducción de radiofrecuencia, arrollada alrededor de la salida superior de un aparato de cuarzo. Se alimenta una entrada del plasma con gas Ar de alta pureza. El gas Ar se ioniza mediante una chispa procedente de un alambre Tesla y los electrones libre formados se aceleran en el potente campo de radiofrecuencia de 27MHz, que oscila alrededor de la bobina de carga. Los electrones acelerados chocan con los átomos, comunicando su energía a todo el gas. Una vez inicia el proceso, los electrones absorben suficiente energía de la bobina para mantener el plasma a una temperatura de 6000 a 10000 °K (Lajunen 2004).



3.6 Parámetros estadísticos de control

3.6.1 Límite de detección y cuantificación

Se trata de la concentración mínima de analito que puede ser detectado e identificado con un determinado grado de certidumbre. El límite de detección se define también como la concentración mínima que puede distinguirse del ruido de fondo con un determinado grado de confianza. Para estimar el límite de detección pueden utilizarse varios métodos, todos los cuales dependen del análisis de especímenes en blanco y el examen de la relación entre la señal y el ruido. El límite de detección no es un parámetro robusto y puede resultar afectado por cambios menores del sistema analítico (por ejemplo, temperatura, pureza de los reactivos, efectos de matriz, condiciones instrumentales). Por tanto, es importante que este parámetro sea siempre verificado por laboratorios que hayan adoptado métodos previamente validados (UNODC 2010).

3.6.2 Precisión

La precisión es una medida del grado de concordancia entre los análisis múltiples de una muestra dada. Se evalúa mediante análisis de réplicas, análisis repetidos de un estándar estable o análisis de adiciones conocidas sobre las muestras. La precisión se especifica por la desviación estándar de los resultados. Si se desea obtener la precisión global de un estudio, hay que analizar muestras duplicadas. En esta valoración se incluyen los errores aleatorios implicados en la toma de muestras, así como los errores en la preparación y análisis de muestras (APHA 2012)

3.6.3 Exactitud

La exactitud es una combinación del sesgo y la precisión de un procedimiento analítico, que refleja la proximidad de un valor medido a un valor verdadero (APHA 2012). En este estudio se realizó una prueba de bondad de ajuste con CHI cuadrado como determinación de exactitud, la cual es una medida de proximidad existente entre el resultado experimental y el resultado esperado o teórico (Harvey, 2002).



4. OBJETIVOS

4.1 General

Implementar el método de Absorción Atómica para la cuantificación de Cromo y Plomo con estándares trazables en muestras ambientales.

4.2 Específicos

- Establecer los parámetros de control: límite de detección y cuantificación del análisis del Cr y Pb por el método de AA en aguas y suelos.
- Realizar la digestión ácida para el análisis de Cr y Pb en aguas superficiales y suelo por el método de AA.
- Comparar y correlacionar estadísticamente los resultados.
- Establecer un manual operativo básico para cada una de las técnicas utilizadas.



5. METODOLOGÍA

5.1 Materiales y reactivos

Para la elaboración de las curvas patrón de Cr y Pb se utilizaron soluciones stock de 1000 mg/L \pm 2 mg/L de Pb (Merck) y Cr (J. T. Baker), se utilizó agua ultrapura tipo 1 para el aforo. El lavado del material se realizó con agua y jabón, luego se enjuagó con abundante agua, se agregó agua tipo 1 con ácido nítrico al 10 % v/v y finalmente se enjuagó 3 veces con agua Tipo 1 a fin de eliminar todas las trazas contaminantes.

* El agua Tipo 1: es agua exenta básicamente de contaminantes constituidos por iones disueltos o coloidales y materias orgánicas. Es apropiada para los requisitos de análisis más exigentes.

5.2 Equipos

Se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica en llama (aire acetileno) Varian AA 140, con lámparas de cátodo hueco monoelemento de Cr y Pb. La longitud de onda para la determinación de Pb fue 217,0 nm y para Cr fue 357.9 nm. En la configuración del equipo se realizaron las lecturas de 3 réplicas, tiempo de integración de 3 segundos y tiempo de retraso en la lectura de 2 segundos (Varian 1989).

5.3 Curvas de calibración

En la elaboración de las curvas patrón para Cr y Pb se tomaron 5 puntos en un rango de concentración de 1 mg/L a 5 mg/L (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mg/L). Además se incluyó el blanco que contenía agua tipo 1. Se tuvieron en cuenta sólo las curvas de calibración con un coeficiente de correlación mayor o igual a 0,995.

5.4 Análisis estadístico

Usando el programa IBM SPSS statistics 20, se realizó una regresión lineal de cada curva de calibración, obteniendo un modelo estadístico de predicción. La homogeneidad de varianza y la distribución normal fueron verificadas para cada curva de calibración mediante el programa Sigmaplot 11 por medio del test de Shapiro-Wilk y test de Levene. Los niveles de Cr y Pb en muestras de agua y suelo fueron analizados mediante un análisis de varianza ANOVA y un test de Tukey posterior que detectó las diferencias estadísticamente significativas entre los análisis. Se realizó una correlación de Pearson entre las concentraciones de Cr en agua y las de Cr en suelo, y entre las concentraciones de Pb en agua y Pb en suelo a fin de definir el tipo de relación/dependencia entre los dos eventos (Marques et al. 2009)

5.4.1 Determinación de límite de detección y cuantificación

Para hallar el límite de detección, se realizó la lectura de 4 blancos, a partir de estas mediciones se calculó la absorbancia promedio y esta se sumó al producto de 3 veces la desviación estándar.



Al valor resultante se restó la absorbancia promedio y se dividió entre la pendiente de la curva de calibración, obteniendo el límite de detección en mg/L (UBA 2012)

Para determinar el límite de cuantificación, se realizó la lectura de 4 blancos, a partir de estas mediciones se calculó la absorbancia promedio y esta se sumó al producto de 5 veces la desviación estándar. Al valor resultante se restó la absorbancia promedio y se dividió entre la pendiente de la curva de calibración, obteniendo el límite de detección en mg/L (UBA 2012)

5.4.2 Precisión

En cuanto a la precisión, se calcularon las desviaciones estándar y los coeficientes de variación de las curvas de calibración realizadas, buscando obtener valores menores o iguales al 5% en los coeficientes de variación (AEFI 2001).

5.4.3 Exactitud

Para la determinación de la exactitud se realizó una prueba de bondad de ajuste de CHI cuadrado, en la cual se analizaron muestras de concentración conocida 1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mg/L para cada curva de calibración de Cr y Pb, evaluando su proximidad con respecto a la concentración teórica.

5.5 Recolección de muestras

El punto de muestreo se encuentra ubicado en las coordenadas 4°30'28.9"N 74°16'01.4"W, en el Embalse del Muña, cada muestra de agua fue tomada en 3 horas diferentes para posteriormente ser mezcladas, obteniendo como producto una muestra compuesta de 1000mL. Este procedimiento se realizó en 3 fechas diferentes para un total de 3 muestras a analizar. Del mismo modo, se procedió con las muestras de suelo, las cuales fueron tomadas simultáneamente con las de agua, por su parte, la muestra compuesta final de suelo fue de 1000g.

Una vez tomadas las muestras, estas fueron conservadas por un corto plazo (cerca a 6 meses), añadiéndoles 1,5mL de HNO₃ conc./L de muestra (APHA 2002) y luego se llevaron a refrigeración a una temperatura de 4°C, evitando el cambio de volumen ocasionado por la evaporación.

Los recipientes utilizados para la recolección de muestras fueron limpiados cuidadosamente, primeramente, por detergente no iónico, enjuagados con agua de llave, sumergidos en ácido nítrico 10% (v/v) por 12 horas y enjuagados con agua ultrapura Tipo I. (APHA 2002)



5.6 Pretratamiento y digestión ácida de muestras

Para concentrar la muestra, se evaporaron 1000 mL de muestra de agua hasta 100 mL. A 15mL de esta solución se le agregaron 10 mL de HNO_3 (65% v/v) y 10 mL de HCl (37% v/v). Cuando su volumen se redujo a 15mL se filtró 3 veces en papel Watman # 1 y se aforó a 25 mL con agua tipo 1. Teniendo en cuenta que la temperatura no superó los 150°C .

Se pusieron 10 g de la muestra de suelo en un crisol, esto se llevó por 24 horas a 120°C en una mufla. De allí se tomaron 2,5g de muestra de suelo previamente seco se agregaron 10mL de HNO_3 (65% v/v), se calentó y se dejó en ebullición por alrededor de 10 minutos. Se adicionó 5mL de agua tipo 1 más 5 mL de HCl (37% v/v), seguidamente, se repitió el proceso. Cuando el volumen fue reducido a la mitad se filtró 3 veces en papel Watman #1 y se aforó con 25mL de agua tipo 1 Teniendo en cuenta que la temperatura no superó los 150°C .



6. RESULTADOS

6.1 Determinación de curvas de calibración

Para cada metal se realizaron 4 curvas de calibración, cada una con 3 réplicas para un total de 12, las cuales fueron validadas por un test de homogeneidad de varianza, normalidad y ANOVA, ver Anexo 1. Las absorbancias promedio de cada curva se observan en la Tabla 1 y 2. Se determinó la repetibilidad mediante cada curva realizada, bajo las mismas condiciones de medición, hallando en coeficiente de variación y la desviación estándar, ver Tabla 1 y 2.

Tabla 1. Datos tenidos en cuenta para la realización de la curva de calibración de Cr, todas las réplicas y repeticiones mostraron $p < 0.05$; 95% por prueba de ANOVA, indicando validez de las mismas.

Concentración (mg/L)	Absorbancia (nm)		Abs. Prom	Desv. Est.	CV %
0	0,0010	0,0009	0,0011	0,0002	19,64
	0,0011	0,0014			
1	0,0062	0,0051	0,0058	0,0005	8,88
	0,0062	0,0057			
1,5	0,0086	0,0078	0,0084	0,0004	4,61
	0,0086	0,0084			
2	0,0112	0,0108	0,0109	0,0004	3,59
	0,0112	0,0104			
2,5	0,0146	0,0138	0,0138	0,0007	4,95
	0,0138	0,0129			
3	0,0170	0,0173	0,0162	0,0011	6,78
	0,0158	0,0149			



Tabla 2. Datos tenidos en cuenta para la realización de la curva de calibración de Cr, todas las réplicas y repeticiones mostraron $p < 0.05$; 95% por prueba de ANOVA, indicando validez de las mismas.

Concentración (mg/L)	Absorbancias		Abs. Prom	Desv. Est.	CV %
0	0,0001 0,0001	0,0002 0,0001	0,000125	0,0001	40,0
1	0,0050 0,0046	0,0041 0,0049	0,0047	0,0004	8,31
1,5	0,0085 0,0066	0,0065 0,0066	0,0071	0,0010	13,64
2	0,0100 0,0096	0,0098 0,0090	0,0096	0,0004	4,30
2,5	0,0119 0,0128	0,0119 0,0114	0,0120	0,0006	5,10
3	0,0147 0,0158	0,0145 0,0140	0,0148	0,0007	5,03

A partir de las absorbancias promedio se realizó la curva de calibración de cada metal por medio del programa Origin 6.0, ver Figuras 1 y 2.

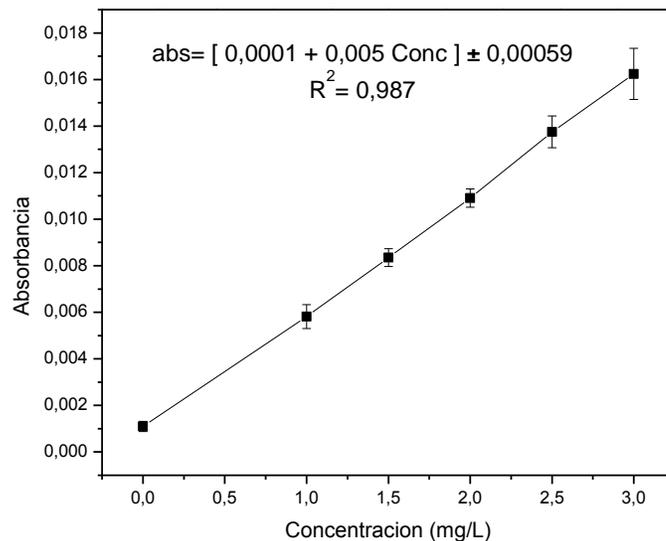


Fig. 1. Curva de calibración de Cr, relacionando Concentración (mg/L) Vs Absorbancia promedio

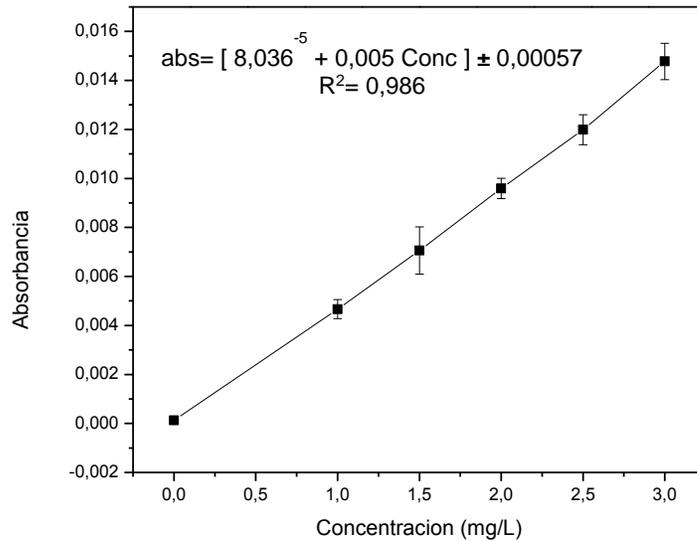


Fig. 2. Curva de calibración de Pb, relacionando Concentración (mg/L) Vs Absorbancia promedio

Por medio del programa IBM SPSS statistics 20 se realizó una regresión lineal y se obtuvieron los modelos estadísticos: $abs = 0,001 + 0,005 \text{ Conc} + 0,00059$ con un $R^2 = 0,987$ para Cr y $abs = 8,036^{-5} + 0,005 \text{ Conc} + 0,00057$ con un $R^2 = 0,986$ para Pb, según Anexo 5.

6.2 Determinación de límite de parámetros de control

Los límites de detección y cuantificación fueron hallados mediante las siguientes ecuaciones (Moghadam et al. 2011):

$$LOD = ([abs \bar{x} + (DS * 3)] - abs \bar{x})/m$$

$$LOQ = ([abs \bar{x} + (DS * 5)] - abs \bar{x})/m$$

Donde:

- $abs \bar{x}$: Absorbancia promedio de los blancos
- DS: Desviación estándar
- m: Pendiente de la curva de calibración

Los límites de detección y cuantificación obtenidos para Cr fueron de: 0,1271 mg/L y 0,2118 mg/L, respectivamente, los cuales se obtuvieron a partir de la absorbancia de los blancos y el modelo estadístico de predicción $abs = 0,0001 + 0,005 \text{ Conc} \pm 0,00059$, ver Tabla 3.



Tabla 3. Absorbancias de distintos blancos, promediados y con su desviación estándar para la determinación de Límite de detección y cuantificación de Cr

Absorbancia	Promedio	Desv. Est.	YL LoD	YL LoQ	LoD (mg/L)	LoQ (mg/L)
0,001 0,0009 0,0011 0,0014	0,0011	0,0002	0,0017	0,0022	0,13	0,21

Y_L LoD= Mínima absorbancia detectada que se puede diferenciar de la absorbancia del blanco
 Y_L LoQ= Mínima absorbancia cuantificada que se puede diferenciar de la absorbancia del blanco
 LoD= Límite de Detección; LoQ= Límite de Cuantificación

Los límites de detección y cuantificación de Pb fueron: 0,03061 mg/L y 0,05102 mg/L, respectivamente, los cuales se obtuvieron a partir de las absorbancias de los blancos y el modelo estadístico de predicción $abs = 8,036^{-5} + 0,005 \text{ Conc} \pm 0,00057$, ver Tabla 4.

Tabla 4. Absorbancias de distintos blancos, promediados y con su desviación estándar para la determinación de Límite de detección y cuantificación de Pb

Absorbancia	Promedio	Desv. Est.	YL LoD	YL LoQ	LoD (mg/L)	LoQ (mg/L)
0,0001 0,0002 0,0001 0,0001	0,00013	0,00005	0,00028	0,00038	0,03	0,05

Y_L LoD= Mínima absorbancia detectada que se puede diferenciar de la absorbancia del blanco
 Y_L LoQ= Mínima absorbancia cuantificada que se puede diferenciar de la absorbancia del blanco
 LoD= Límite de Detección; LoQ= Límite de Cuantificación

La prueba de bondad de ajuste de CHI cuadrado demostró que las concentraciones experimentales para la curva de calibración de Cr y de Pb se distribuyen con respecto a las teóricas de la misma forma a una significancia de $p=0,9960$ (Cr) y $p=0,9098$ (Pb), aceptando el supuesto que son tendientes a la exactitud. Ver Anexo 4.



6.3 Determinación de Cr y Pb en muestras ambientales

Las réplicas de cada muestra fueron validadas en el programa SigmaPlot 11 por medio del test de Shapiro-Wilk y por ANOVA, lo cual demostró que se distribuyen normalmente. A partir de las concentraciones halladas de cada una de las muestras (Tabla 5), se realizó un análisis de varianza, el cual, definió que existen diferencias significativas entre las concentraciones de las muestras de agua y suelo de Cr y Pb. Una vez determinadas estas diferencias entre las medias, la prueba de rango post hoc de Tukey permitió establecer qué medias difieren (ver Anexos 2), por consiguiente, en la determinación de Pb tanto en agua como en suelo, la muestra 03 difiere respecto a las demás y en la muestra de Cr tanto en agua como en suelo, la muestra 01 difiere respecto a las restantes.

Tabla 5. Determinación de Cr y Pb en las muestras

Muestra	Cr Muestra Total (mg/L)	Pb Muestra total (mg/L)	Volumen total (mL)
Agua 01	0,35	0,09	1000
Agua 02	0,32	0,08	1000
Agua 03	0,31	0,12	1000
Suelo 01	0,62	0,12	1000
Suelo 02	0,54	0,10	1000
Suelo 03	0,65	0,14	1000

*Los valores no cumplen con la resolución 3957 de 2009 de la Alcaldía Mayor de Bogotá D.C.

6.4 Determinación de manuales de operación básicos

Se establecieron los manuales para cada una de las siguientes técnicas (ver Anexo 6):

1. Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de agua
2. Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de suelo
3. Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de agua
4. Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de suelo



Cada Manual de Operaciones Básico contiene los siguientes ítems:

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE CROMO EN AGUAS RESIDUALES	
Objetivo	Definir los lineamientos para la recepción, manipulación, análisis y almacenamiento de muestras para la determinación de Cr o Pb
Alcance	Aplica a muestras de agua residual o suelo reunidas al departamento de química de la Pontificia Universidad Javeriana para la determinación de Cr o Pb en el equipo Varian AA 140.
Definiciones	Cromo total: es el contenido total de cromo en sus estados de oxidación III y VI
Fundamento	La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica
Condiciones generales	El empleo de este método está limitado al uso por personal bajo control o supervisión adecuada de personal experimentado y capacitado. Cada analista debe demostrar su capacidad para generar resultados aceptables con este método
Materiales, reactivos y equipos	<ul style="list-style-type: none">- Materiales: Balón aforado de diferentes volúmenes, erlenmeyer o vaso de precipitados (Beaker) de 100 – 120 mL, puntas para micropipetas, guates de nitrilo, papel filtro Watman # 1.- Reactivos: HNO₃ 65 % (v/v), grado analítico, HCl 37 % (v/v) grado analítico solución estándar, agua ultra pura Tipo 1.- Equipos: Espectrofotómetro Varian AA 140, micropipetas (calibradas)
Descripción del procedimiento	<ul style="list-style-type: none">- Condiciones generales: reglas generales, control, blanco, réplicas- Preparación de soluciones: estándares de calibración a altas concentraciones, criterios de aceptación en la estandarización- Digestión de la muestra- Determinación directa
Cálculos y expresión de resultados	<ul style="list-style-type: none">- Límites De Cuantificación (LOQ) Y Límites De Detección (LOD)- Determinación de Cr o Pb en la muestra
Referencias bibliográficas	<ul style="list-style-type: none">- Universidad de Buenos Aires – UBA (2012) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Guía de Laboratorio para la Calibración y Límite de Detección en Técnicas Instrumentales. http://www.qi.fcen.uba.ar/materias/ai/laboratorio/calibracion.pdf. Consultado Mayo 6 2015- American Public Health Association (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. WA, USA, pp 3.9-3.12.- Varian (1989) Flame Atomic Absorption Spectrometry –Analytical Methods. Mulgrave Victoria, AUS



7. DISCUSIÓN

Las Tablas 1 y 2 muestran el promedio de las absorbancias de cada una de las 4 curvas de calibración que se realizaron para cada metal. Estas réplicas fueron validadas en el programa SigmaPlot 11 por medio del test de Shapiro-Wilk y por ANOVA, lo cual demostró que las réplicas se distribuyen normalmente y además no hay una diferencia estadísticamente significativa entre estas (ver Anexo 1).

Para hacer un acercamiento más real a los valores obtenidos se realizó una regresión lineal que permitió obtener modelos estadísticos de predicción (Anexo 5), sin embargo, los coeficientes de correlación dados por el modelo fueron menores a los arrojados por Excel, ya que disminuyeron de $R^2= 0,999$ y $R^2= 0,9988$ a $R^2= 0,987$ y $R^2= 0,986$ para Cr y Pb respectivamente, lo cual se debe a que el R^2 dado por el modelo de regresión se ajusta de mejor forma a la relación entre las variables. A pesar de esto, los modelos estadísticos fueron tenidos en cuenta para la determinación de las concentraciones, debido a que sí hay una correlación lineal para cada curva.

En las Tablas 1 y 2 se observan los coeficientes de variación de cada una de las curvas, en donde, es posible apreciar que en las concentraciones más bajas de patrón, los CV % son más altos, esto puede deberse a la baja precisión del equipo. Es por esto, que encontramos CV % mayores al 5% en las concentraciones de 0 a 1,5 mg/L, tanto en Cr como en Pb. Estos valores, hacen referencia a la precisión del método, por lo que se puede decir que este tiene una precisión moderada.

Por su parte, el LOQ obtenido para Cr fue = 0,2118 mg/L, el cual, es un valor alto comparado con otros reportados, esto se puede deber a las técnicas utilizadas, a la vida útil del equipo y de la lámpara. Moghadam, Dadfarnia & Haji (2011) obtuvieron un LOQ = 0,020 $\mu\text{g/L}$, el cual es significativamente menor al obtenido en este estudio, y un LOD = 0.006 $\mu\text{g/L}$ para Cr. La técnica que utilizaron fue la espectrometría de absorción atómica de horno de grafito y la microextracción líquido-líquido, lo cual proporcionó un significativo cambio en el LOD y el LOQ, esto, indica que el LOD y el LOQ puede ser disminuido mediante la modificación de las técnicas de cuantificación y de concentración, así, como lo muestra la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de los LOD, según las técnicas para determinación de Cr

Técnica	LOD (ng/mL)	Referencia
FAAS	0,08	Hemmatkiah, Bidari, Jafarvand, Hosseini & Assadi (2009)
ICP-MS	0,01	Chen, Zhu, Lu, Cheng & Zhou (2010)
GF-AAS	0,003	Cerutti, Gasquez, Olsina & Martinez (2006)

En la curva de calibración de Pb el LOQ hallado fue de 0,05102 mg/L y el LOD fue de 0,03061 mg/L. Yaman (2005) obtuvo un LOQ = 0,035 mg/L para Pb y a su vez Kaya y Yaman (2008) obtuvieron un LOQ = 0,030 mg/L, los cuales son similares al obtenido en este estudio, sin embargo, muestran que hay técnicas de determinación que pueden llegar a límites de cuantificación menores. Por otro lado, la Tabla 7. Presenta los distintos LOD reportados según las



técnicas que se pueden utilizar para la determinación de Pb, donde la técnica ICP- MS es la más sensible y presenta el menor LOD.

Tabla 7. Comparación de los LOD según las técnicas para la determinación de Pb

Técnica	LOD (ng/mL)	Referencia
ICP-OES	35,9	Feist et al. (2008)
ICP-MS	0,1	Zhang et al. (1997)
GF-AAS	0,25	Cabon (2002)
HG-AAS	4,5	Maleki, Safavi, Ramezani y Anal (1999)

Una vez establecidos los parámetros de control (LOD, LOQ, precisión y exactitud) para cada técnica, se llevó a cabo su aplicación, mediante muestras de agua y suelo, tomadas del Embalse del Muña. Para estas determinaciones, se tuvieron en cuenta los reportes emitidos por CAR (2006), los cuales expresan que el Embalse del Muña presenta una concentración de 0,050 mg/L de Cr y 0,034 mg/L de Pb. Teniendo en cuenta estas determinaciones, se realizó un proceso de concentración de la muestra, previendo, que los límites obtenidos de cuantificación y detección no fueron lo suficientemente bajos para realizar una medición directa de la muestra. Esta concentración se llevó a cabo mediante una evaporación, en la cual se pasó de 1000 mL a 100 mL de muestra y se supuso un 100% de recuperación, posteriormente, se realizó el proceso de digestión con ácido nítrico, por ser un método sencillo, que permite la recuperación completa, consistente y compatible con la técnica de absorción atómica en llama para Cr y Pb.

Aunque el método de evaporación es sencillo y eventualmente puede alcanzar porcentajes de recuperación altos, no es común encontrarlo como técnica utilizada actualmente, puesto que hay otros métodos optimizados que pueden ser más sensibles. Por ejemplo, Dasçbasçi et al. (2015) desarrollaron un procedimiento de extracción de fase sólida para la determinación de Cd(II) y Pb(II) en muestras de agua y alimentos por absorción atómica, los resultados mostraron que el método es simple, rápido y preciso para la espectrometría de absorción atómica de llama. Comparando estos resultados, se puede analizar que manteniendo la técnica de AA de llama pero variando las condiciones de pretratamiento de la muestra, se pueden llegar a mediciones más precisas y sensibles, además, es pertinente tener en cuenta para futuros análisis la determinación de parámetros como el pH y el volumen de la muestra, que pueden interferir en las concentraciones finales.

Teniendo en cuenta las concentraciones obtenidas en muestras de agua (Tabla 7.) y el Acuerdo Número 43 Del 17 De Octubre De 2006 de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) que especifica que los valores de clase V, es decir, los referentes a la calidad de aguas para generación de energía y uso Industrial ubicadas dentro de la cuenca del río Bogotá, no deben superar los 0,1 mg/L de Cr ni 0,1 mg/L de Pb, se observa que todas las muestras incumplen el valor máximo permisible de Cr y con respecto a los valores de Pb, sólo la muestra 03 lo incumple, aunque todas las muestras se encuentran cercanas al límite.



Las concentraciones halladas de Cr y Pb en agua son mayores a las proporcionadas por CAR (2006), así como a las obtenidas por Matos et al. (2009) quienes determinaron por AA de llama en aguas contaminadas con desechos de curtiembres concentraciones de Cr en un rango de 0,0028 mg/L y 0,020 mg/L. Por su parte, las concentraciones de Pb también son mayores a las reportadas por Xu et al. (2013) quienes cuantificaron Pb en muestras de agua residuales tratadas y muestras de agua residuales sin tratar, obteniendo concentraciones en el rango de 0,0042 mg/L y 0,0235 mg/L. Estas concentraciones altas pueden darse por las cargas de Cr y Pb que recibe el Embalse diariamente, además, de las fracciones que puede recibir del aire y que eventualmente se depositan sobre el suelo y el agua.

Con respecto a las concentraciones obtenidas en la determinación de Cr y Pb en suelos, no hay una norma Colombiana que especifique los valores máximos permisibles, sin embargo, según la ATSDR (2010), el suelo no contaminado tiene concentraciones de Cr y Pb menores a 50 ppm, pero hay áreas urbanas en las que éstos llegan a exceder las 200 ppm, no obstante, Bowie & Thornton (1985) reportan concentraciones de Cr y Pb en suelo en un rango de 1 a 1500 ppm. Estos valores, son notoriamente mayores a los obtenidos en este estudio, por lo que se puede deducir que no es un suelo contaminado, aunque, hay que tener en cuenta que se pueden realizar procesos de extracción adicionales que garanticen un mejor porcentaje de recuperación en las determinaciones finales de Cr y Pb en suelos (Marques et al. 2009).

Adicionalmente, se realizó una correlación de Pearson entre las concentraciones de Cr en agua y Cr en suelo, la cual, determinó que no hay una correlación entre estas, ($P > 0,050$), probablemente, por las propiedades físicoquímicas del suelo, como el pH, la capacidad de intercambio catiónico y el contenido de arcilla, ya que juegan un papel importante en la movilidad y biodisponibilidad de Cr (Choppala et al. 2013). Igualmente Zhang et al. (2009) y Zhang et al. (2010) encontraron que las concentraciones de metales en agua y suelo no tienen correlaciones, esto principalmente se debe al flujo constante de agua y a que la mayor parte del Cr en el agua se adhiere a partículas del suelo y a otros materiales. No obstante, aunque las concentraciones de metales en los suelos son más altos que los de agua en el mismo sitio de muestreo, las correlaciones de los metales entre el agua y los suelos son débiles según el análisis de correlación de Pearson (Zhang et al. 2010).

Contrario a lo obtenido por Zhang et al. 2010, las concentraciones de Pb en agua y suelo, sí tienen una relación directamente proporcional ($P < 0,050$), esto, quiere decir que a medida que aumenta la concentración de Pb en agua, también aumenta en suelo, probablemente, se deba a que ambas muestras son tomadas del mismo sitio y por tanto reciban la misma carga de Pb que entra al Embalse, pero, además deben influir otras variables que no fueron analizadas en este estudio. Una de estas es la capacidad de intercambio catiónico, la cual puede influir de manera directa. Es necesario por tanto realizar futuros análisis de las características de las muestras de suelo y de agua con el fin de determinar qué variable está ocasionando esta correlación.



8. CONCLUSIONES

- Se implementó el método de absorción atómica para las muestras de agua y suelo colectadas en el embalse del Muña en el municipio de Sibaté, departamento de Cundinamarca.
- La implementación de dicho método permitió determinar el límite de detección de la técnica en 0,1271 mg/L para Cr y 0,03061 mg/L para Pb, a su vez el límite de cuantificación fue de 0,2118 mg/L y 0,05102 mg/L respectivamente para cada uno de los metales.
- Se encontró precisión intermedia (<5% de Coef. de Variación) a medida que aumentaba la concentración del analito, además de esto se determinó exactitud a nivel estadístico con la prueba de bondad de ajuste (χ^2) entre los valores experimentales y teóricos.
- A nivel estadístico se encontró una correlación positiva entre la concentración de plomo en agua frente a la concentración del mismo en suelo para las muestras analizadas.
- Se estableció el Manual de Operación Básico para cada técnica utilizada: Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de agua, Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de suelo, Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de agua y Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de suelo.



9. RECOMENDACIONES

La técnica de evaporación como método de concentración puede ser remplazada por la rotaevaporación ya que este último es el método avalado por la AOAC (1990) y puede obtener mejores porcentajes de recuperación.

En vista de las diferencias toxicológicas entre el Cr (III) y el Cr (IV) es necesario realizar un proceso de separación que permita determinar el Cr (IV) ya que representa mayor impacto ambiental.

La digestión ácida puede optimizarse por medio del ajuste gradual de los ácidos empleados, con el fin de aumentar los porcentajes de recuperación de las muestras.

Se recomienda en futuros análisis, realizar caracterizaciones físicas, químicas y microbiológicas a las muestras de suelo y agua tomadas, con el fin de determinar las variables que influyen en la determinación de Cr y Pb en las muestras ambientales y la correlación existente entre los análisis.



10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel MT, Suedel B, Presley SM, Rainwater TR, Austin GP, Cox SB (2010) Spatial distribution of lead concentrations in surface soils of New Orleans, Louisiana USA. *Environ Geochem Health* 32(5):379–389.
- Abollino O, Aceto M, Sarzanini C, Mentasti E (2000) The retention of metal species by different solid sorbents mechanisms for heavy metal speciation by sequential three column uptake. *Analytical Chimica Acta* 411:223–237.
- Ahmed SA (2007) Alumina physically loaded by thiosemicarbazide for selective preconcentration of mercury(II) ion from natural water samples. *Journal of Hazardous Materials* 156(1-3):521–529
- Alfaro R, García E, Montenegro O (2002) Niveles de contaminación de mercurio, cadmio, arsénico y plomo en suelos de la Cuenca Baja del Río Bogotá. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 4(2):66-71.
- Alloway BJ (1995) *Heavy Metals in Soil*, Blackie Academic and Professional, London, USA.
- Álvarez E, Fernández ML, Vaamonde C, Fernández MJ (2003) Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in the spontaneously occurring vegetation. *Sci. Total. Environ* 313:185–197.
- APHA (1992) American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. WA, USA, pp 3.9- 3.12.
- Arce, O (2005) *Contaminantes peligrosos en el agua*. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad de San Simón, Bolivia.
- ATSDR (2010) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/csem/lead/docs/lead.pdf> Consultado Enero 10 2015.
- Baia H, Zhoua Q, Xieb G, Xiao J (2010) Temperature-controlled ionic liquid–liquid-phase microextraction for the pre-concentration of lead from environmental samples prior to flame atomic absorption spectrometry *Talanta* 80:1638–1642
- Bakare MT (2005) Determination of some metallic impurities present in soft drinks marketed in Nigeria. *Nig J Pharm* 4:51-54
- Bowie S, Thornton (1985) *Environmental Geochemistry and Health*. Kluwer Academic, MA., USA.
- CAR (2006) Comisión Económica para América Latina y el Caribe. http://www.cepal.org/ilpes/noticias/paginas/6/40506/colombia_car_acuerdo43_2006.pdf. Consultado Abril 5 2015
- CAR (2010) *Evaluación Ambiental y Plan de Gestión Ambiental*
- Carya L, Surdyka N, Psarrasb G, Kasapakisb I, Chartzoulakisb K et al. (2015) Short-term assessment of the dynamics of elements in wastewater-irrigated Mediterranean soil and tomato



fruits through sequential dissolution and lead isotopic signatures. *Agricultural Water Management* 155 (2015) 87–99

Chao T, Sanzolone R (1992) Decomposition techniques. *Journal of Geochemical Exploration* 44:65–106.

Chen J (2007) Rapid urbanization in China: a real challenge to soil protection and food security. *Catena* 69:1–15.

Chen J R, Xiao S M, Wu X H, Fang K M, Liu W H (2005) Determination of lead in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *Talanta*, 67(5):992–996

Chen S, Zhu L, Lu D, Cheng X, Zhou X (2010) Separation and chromium speciation by single-wall carbon nanotubes microcolumn and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Acta* 169:123–128.

Choppala G, Bolan N, Park JH (2013) Chapter 2: Chromium contamination and its risk management in complex environmental settings. In: Donald LS (ed.) *Advances in Agronomy*. Academic Press, San Diego, USA, pp 129–172.

Conceição D, Jacques R, Bento F, Simonetti A, Selbach P, Camargo F (2007) Redução de cromo hexavalente por bactérias isoladas de solos contaminados com cromo. *Ciência Rural* 37(6):1661-1667.

Cristina IC, Joao LM, Jose LFC, Elias AG (2009) Liquid-liquid extraction in flow analysis: A critical review. *Analytical Chimica Acta* 652(12):54–65.

Cuberos E, Rodríguez A, Prieto E (2009) Niveles de cromo y alteraciones de salud en una población expuesta a las actividades de curtiembres en Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública* 11(2):278-289.

Dao L, Morrison L, Zhang C (2010) Spatial variation of urban soil geochemistry in a roadside sports ground in Galway, Ireland. *Sci Total Environ* 408:1076–1084.

Daşbaşı T, Sacmacı S, Ulgen A, Kartal S (2015) A solid phase extraction procedure for the determination of Cd(II) and Pb(II) ions in food and water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 174:591–596

De Gustavo RC, De Ilton LA, Paulo dos SR (2004) Synthesis, characterization and determination of the metal ions adsorption capacity of cellulose modified with p-aminobenzoic groups. *Materials Research* 7(2): 329–334

DeFries RS, Foley JA, Asner GP (2004) Land-use choices: balancing human needs and ecosystem function. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2:249-257.



Demirtaş I, Bakırdere S, Yavuz O (2015) Ataman Lead determination at ng/mL level by flame atomic absorption spectrometry using a tanta lum 38ater38rdizatio quartz tube atom trap. *Talanta* 138:218–224

Dobrowolski R, Adamczyk A, Otto M (2010) Comparison of action of mixed permanent chemical modifiers for cadmium and lead determination in sediments and soils by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta* 82:1325–1331

Durukan IS, Ahin CA, Paulo SR, Atiroglu N, Bektas S (2011) Determination of iron and copper in food samples by flow injection cloud point extraction flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal* 99:159–163.

Effland WR, Pouyat RV (1997) The genesis, classification, and mapping of soils in urban areas. *Urban Ecosystems* 1:217-228.

Eggins S, Woodhead J, Kinsley L (1997) A simple method for the precise determination of 40 trace elements in geological samples by ICPMS using enriched isotope internal 38ater38rdization. *Chemical Geology* 134:311–326.

Fieser L (2004). *Experimentos de química orgánica*. Editorial Reverté, primera edición, pp. 269-275

Fritz U, Wolfgang G, Yamamoto YS, Campbell FT, Pfefferkorn R, Rounsaville JF (1996) *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. VCH, New York.

Ghaedi M, Ahmadi F, Soylak M (2007) Preconcentration and separation of nickel, copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples. *Journal of Hazardous Materials* 147(1-2):226–231.

Gil RA, Cerutti S, Gasquez JA, Olsina RA, Martinez LD (2006) Preconcentration and speciation of chromium in drinking water samples by coupling of online sorption on activated carbon to ETAAS determination. *Talanta* 68:1065–1070.

Hammer D, Nicolas M, & Andrey D (2005). Improved chromium determination in various food matrices using dynamic reaction cell ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 26:203–208.

Harvey D (2002) *Química Analítica Moderna*. McGraw-Hill, Madrid, ES.

He Q, Chang XJ, Huang XP, & Hu Z (2008). Determination of trace elements in food samples by ICP-AES after preconcentration with p-toluenesulfonylamide immobilized on silica gel and nanometer SiO₂. *Microchimica Acta* 160:147–152.

Hemmatkhan P, Bidari A, Jafarvand S, Hosseini M, Assadi Y (2009) Speciation of chromium in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry, *Microchim. Acta* 166:69–75.



Karadas C, Turhan O, & Kara D (2013). Synthesis and application of a new functionalized resin for use in an on-line, solid phase extraction system for the determination of trace elements in waters and reference cereal materials by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 141:655–661

Katz SA, Salem H (1993) The toxicology of chromium with respect to its chemical speciation: a review. *Toxicol* 13:217–224.

Kaya G, Yaman M (2008) Online preconcentration for the determination of lead, cadmium and copper by slotted tube atom trap (STAT)-flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 75:1127–1133

Khalid S, Addisu K (2013) Analysis of Copper, Zinc and Lead using Atomic Absorption Spectrophotometer in ground water of Jimma town of Southwestern Ethiopia. *International journal of chemical and analytical science* 4: 201-204

Kim MJ (2001) Separation of inorganic arsenic species in groundwater using ion exchange method. *Bull Environ Contam Toxicol* 67:46–51

Kotaz J, Stasicka Z (2000) Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental Pollution* 107:263-283

Krumins JA, Goodey NM, Gallagher F (2015) Plant-soil interactions in metal contaminated soils. *Soil Biology & Biochemistry* 80:224-231.

Lajunen L, Perämäki P (2004) *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Royal Society of Chemistry Cambridge, UK.

Lamarque A, Zygadlo J, Labuckas D, López L, Torres M, Maestri D. (2008) *Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica*. Encuentro grupo editor. Primera edición, pp 29-33

Li DD, Chang XJ, Hu Z, Wang QH, Tu ZF, Li R (2012) Selective solid-phase extraction of trace Au(III), Pd(II) and Pt(IV) using activated carbon modified with 2,6-diaminopyridine. *Microchimica Acta* 174(1):131–136.

Liu G, Chai X, Shao Y, Hu L, Xie Q, & Wu H (2011). Toxicity of copper, lead, and cadmium on the motility of two marine microalgae *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis chui*. *Journal of Environmental Sciences* 23(2):330–335.

Malik RN, Jadoon WA, Husain SZ (2010) Metal contamination of surface soils of industrial city Sialkot, Pakistan: a multivariate and GIS approach. *Environ Geochem Health* 32:179–191.

Manjusha R, Dash K, & Karunasagar D (2007). UV-photolysis assisted digestion of food samples for the determination of selenium by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). *Food Chemistry* 105: 260–265



Marcovecchio JE, Botte SE, Freije RH (2007) Heavy metals, major metals, trace elements. In: Nollet LM. Handbook of Water Analysis, London.

Markiewicz B, Komorowicz I, Sajnog A, Belter M, Barakiewicz D (2015) Chromium and its speciation in 40 water samples by HPLC/ICP-MS – technique establishing metrological traceability: A review since 2000. *Talanta* 132: 814–828

Marques A, Moreira H, Rangel A, Castro (2009) Arsenic, lead and nickel accumulation in *Rubus ulmifolius* growing in contaminated soil in Portugal. *Journal of Hazardous Materials* 165:174–179

Matos GD, Reis B, Costa ASC, Ferreira S (2009) Speciation of chromium in river water samples contaminated with leather effluents by flame atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration by cloud point extraction. *Microchemical Journal* 92:135–139

Mendie U (2005) The nature of water. In: *The Theory and Practice of Clean Water Production for Domestic and Industrial Use*. Lagos: Lacto-Medals Publishers

Moghadam MR, Dadfarnia S, Shabani S (2011) Speciation and determination of ultra trace amounts of chromium by solidified floating organic drop microextraction (SFODME) and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 186:169–174

Moreno S (2008) *Calidad del sistema hídrico de Bogotá*. Pontificia Universidad Javeriana: Alcaldía Mayor de Bogotá, Secretaria Distrital de Ambiente: Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, Btá, COL

Muchuweti M, Birkett J, Chinyanga E, Zvauya R, Scrimsha M, Lester J (2006) Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of waste water and sewage sludge in Zimbabwe: Implication for human health. *Agr. Ecosystems and Environment* 112:41-48.

Nascimento S, Insausti M, Band B, Lemos SG (2014) Simultaneous determination of Cu, Pb, Cd, Ni, Co and Zn in bioethanol fuel by adsorptive stripping voltammetry and multivariate linear regression. *Fuel* 137:172-178

Navarro M, Andrade S, Ulbrich H, Gomes C, Girardi V (2008) The direct determination of rare earth elements in basaltic and related rocks using ICP-MS: Testing the efficiency of microwave oven sample decomposition procedures. *Geostandards and Geoanalytical Research* 32:167-180.

Neal AP, Guilarte TR (2013) Mechanisms of lead and manganese neurotoxicity. *Toxicol Res* 2:99-114

Noroozifar M, Khorasani M, Gorgij MN, Naderpour HR (2008) Adsorption of Cr(VI) on modified natural zeolite by a new bolaform N-hexamethyl-1,9-nonanediammonium dibromide reagent. *Mater* 155:566–571.

Orozco C, Pérez A, González M, Rodríguez F, Alfayate J (2005). *Contaminación Ambiental. Una visión desde la química*. Thomson Editores, Madrid, ESPAÑA, pp 631-650.



- Panda S, Choudhury S (2005) Chromium stress in plants. *Plant Physiol.* 17(1):95-102.
- Parham H, Pourreza N, Rahbar N (2009) Solid phase extraction of lead and cadmium using solid sulfur as a new metal extractor prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 163(2/3):588–592.
- Pobozy E, Knell M, Kilian K, Katakay R, Trojanowicz M (2003) Capillary electrophoresis speciation of chromium in leather tanning liquor. *Electrophoresis* 24:2259–2263.
- Ramanathan T, Ting YP (2015) Selection of wet digestion methods for metal quantification in 2 hazardous solid wastes. *Journal of Environmental Chemical Engineering* (In press).
- Ramirez P (2005) Estudio Electroquímico preliminar para depositar Ag proveniente de los desechos sólidos de la industria fotográfica y radiográfica. Thesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hgo.
- Santiago S (2007) Contribución a la determinación de la fracción de metales traza ligados a las proteínas similares a las metalotioneínas en muestras de mejillón. Santiago de Compostela: Universidade. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico, 2007. ISBN: 978-84-9750-858-2
- Sha HQ, Si LZ, Zhen H, Mei X, Fei H (2009). Preconcentration of ultra-trace copper in water samples with nanometersize TiO₂ colloid and determination by GFAAS with slurry sampling. *Microchimica Acta* 166(3-4):251–254
- Siebe C (1994) Heavy metal contamination of soils irrigated with untreated sewage effluent in Central Mexico. *Soils Science* 3:98-399
- Soylak M, Sibel S, Latif E, Mehmet D (2002) Determination of trace metal ions in seawater by atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration with calmagite on amberlite Xad-1180. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 82(7): 225–231.
- Suleiman JS, Hu B, Peng HY, Huang CZ (2009) Separation/preconcentration of trace amounts of Cr, Cu and Pb in environmental samples by magnetic solid-phase extraction with Bismuthiol-II-immobilized magnetic nanoparticles and their determination by ICP-OES. *Talanta* 77(5):1579–1583
- Taillefert M, Luther GW, Nuzzio DB (2000) *Electroanalysis* 12(6):401
- Thomas FG (2001) *Introduction to Voltammetric Analysis*. CSIRO publishing, Australia
- Ulusoy HI, Gurkan R, Aksoy U, Akcay M (2011) Development of a cloud point extraction and preconcentration method for determination of trace aluminum in mineral waters by FAAS. *Microchemical Journal* 99(1):76–81
- Universidad de Buenos Aires – UBA (2012) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Guía de Laboratorio para la Calibración y Límite de Detección en Técnicas Instrumentales. <http://www.qi.fcen.uba.ar/materias/ai/laboratorio/calibracion.pdf>. Consultado Mayo 6 2015



Universidad Nacional de Colombia (2014) Química analítica. http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2001184/docs_curso/contacto.html. Consultado Enero 18 de 2015.

UNODC (2010) http://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf Consultado Mayo 5 2015.

Van JC (1980) Analytical Atomic Absorption Spectroscopy. Academic Press, NY, USA.

Vanloon GW, Duffy SJ (2005) The Hydrosphere Environmental Chemistry: A Global Perspective. Oxford University NY, USA.

Varian (1989) Flame Atomic Absorption Spectrometry –Analytical Methods. Mulgrave Victoria, AUS.

World Health Organization (2000). Fifty-third report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives, WHO Technical Report Series 896, Geneva, Switzerland.

World Health Organization (2008) Guidelines for drinking water quality thirdded Recommendations, Geneva.

Xu H, Wu Y, Wang J, Shang X, Jiang X (2013) Simultaneous preconcentration of cadmium and lead in water samples with silica gel and determination by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Environmental Sciences* 25:45–49

Yaman M (2005) The improvement of sensitivity in lead and cadmium determinations using flame atomic absorption spectrometry. *Analytical Biochemistry* 339:1–8

Yaylali-Abanuz G (2011) Heavy metal contamination of surface soil around Gebze industrial area, Turkey. *Microchem* 99(1):82–92.

Zhang J, Pu L, Peng B, Gao Z (2010) The impact of urban land expansion on soil quality in rapidly urbanizing regions in China: Kunshan as a case study. *Environ Geochem Health* 33(2):125–135.

Zheng H, Gao XZ, Song L, Guo HY, Yang SL, Chang XJ (2011) Preconcentration of trace aluminum(III) ion using a nanometer-sized TiO₂-silica composite modified with 4-aminophenylarsonic acid, and its determination by ICPOES. *Microchimica Acta* 175(3-4):225–231

Zhuang P, Zou B, Li NY, Li ZA (2009) Heavy metal contamination in soils and food crops around Dabaoshan mine in Guangdong, China: implication for human health. *Environ Geochem Health* 31(6):707–15.

Zodape G V, Dhawan V L, Wagh R R, Sawant A S (2011) Contamination of heavy metals in seafood marketed from Vile Parle and Dadar markets of suburban areas of Mumbai (west coast of) India. *International Journal of Environment Sciences* 6:1177–1185.



11. ANEXOS

Anexo 1. Validación de réplicas de las curvas de calibración

❖ Homogeneidad de varianza, normalidad y ANOVA de Cr

- 0 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,961)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,107)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,001000	0,0001000	0,0000577
Col 2	3	0	0,000867	0,000252	0,000145
Col 3	3	0	0,00107	0,000153	0,0000882
Col 4	3	0	0,00130	0,0001000	0,0000577

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000296	0,0000000986	3,698	<u>0,062</u>
Residual	8	0,000000213	0,0000000267		
Total	11	0,000000509			

- 1 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,862)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,137)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,00580	0,000721	0,000416
Col 2	3	0	0,00560	0,000693	0,000400
Col 3	3	0	0,00617	0,000321	0,000186
Col 4	3	0	0,00570	0,000300	0,000173

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000550	0,000000183	0,615	0,625
Residual	8	0,00000239	0,000000298		
Total	11	0,00000294			

- 1,5 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,344)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,888)



Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,00847	0,000493	0,000285
Col 2	3	0	0,00837	0,000503	0,000291
Col 3	3	0	0,00820	0,000600	0,000346
Col 4	3	0	0,00837	0,000404	0,000233

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000110	0,0000000367	0,144	0,931
Residual	8	0,00000204	0,000000255		
Total	11	0,00000215			

- 2 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,591)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,379)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,0112	0,000173	0,0001000
Col 2	3	0	0,0109	0,000493	0,000285
Col 3	3	0	0,0112	0,000551	0,000318
Col 4	3	0	0,0104	0,000100	0,0000577

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,00000135	0,000000450	3,066	0,091
Residual	8	0,00000117	0,000000147		
Total	11	0,00000252			

- 2,5 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,966)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,383)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,0140	0,00104	0,000601
Col 2	3	0	0,0138	0,000252	0,000145
Col 3	3	0	0,0138	0,000321	0,000186
Col 4	3	0	0,0135	0,000985	0,000569

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000330	0,000000110	0,198	0,895
Residual	8	0,00000444	0,000000555		
Total	11	0,00000477			

- 3 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1



Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,360)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,923)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,0161	0,00108	0,000623
Col 2	3	0	0,0168	0,00112	0,000644
Col 3	3	0	0,0163	0,000709	0,000410
Col 4	3	0	0,0157	0,00146	0,000841

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,00000166	0,000000554	0,440	0,730
Residual	8	0,0000101	0,00000126		
Total	11	0,0000117			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0,730).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050

The power of the performed test (0,050) is below the desired power of 0,800. Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

❖ **Homogeneidad de varianza, normalidad y ANOVA de Pb**

- **0 ppm**

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,242)

Equal Variance Test: Passed(P = 1,000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,000200	0,0001000	0,0000577
Col 2	3	0	0,000133	0,0000577	0,0000333
Col 3	3	0	0,000133	0,0000577	0,0000333
Col 4	3	0	0,0001000	0,000	0,000

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,0000000158	0,00000000528	1,267	0,349
Residual	8	0,0000000333	0,00000000417		
Total	11	0,0000000492			



- 1 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,625)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,286)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,00413	0,0000577	0,0000333
Col 2	3	0	0,00480	0,000200	0,000115
Col 3	3	0	0,00470	0,000300	0,000173
Col 4	3	0	0,00460	0,000624	0,000361

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000782	0,000000261	1,994	0,194
Residual	8	0,00000105	0,000000131		
Total	11	0,00000183			

- 1,5 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,864)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,287)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,00657	0,000252	0,000145
Col 2	3	0	0,00647	0,000208	0,000120
Col 3	3	0	0,00660	0,0001000	0,0000577
Col 4	3	0	0,00660	0,0001000	0,0000577

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,0000000358	0,0000000119	0,377	0,772
Residual	8	0,000000253	0,0000000317		
Total	11	0,000000289			

- 2 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,087)

Equal Variance Test: Passed(P = 1,000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,00977	0,000321	0,000186
Col 2	3	0	0,00957	0,000577	0,000333



Col 3	3	0	0,00903	0,0000577	0,0000333
Col 4	3	0	0,01000	0,000346	0,000200

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,00000153	0,000000510	3,641	0,064
Residual	8	0,00000112	0,000000140		
Total	11	0,00000265			

- 2,5 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,079)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,562)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,0119	0,000265	0,000153
Col 2	3	0	0,0128	0,000153	0,0000882
Col 3	3	0	0,0114	0,000153	0,0000882
Col 4	3	0	0,0119	0,00101	0,000584

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,00000337	0,00000112	3,941	0,054
Residual	8	0,00000228	0,000000285		
Total	11	0,00000565			

- 3 ppm

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,266)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,057)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	0,0145	0,000289	0,000167
Col 2	3	0	0,0149	0,00115	0,000664
Col 3	3	0	0,0150	0,00142	0,000819
Col 4	3	0	0,0147	0,000153	0,0000882

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0,000000316	0,000000105	0,122	0,944
Residual	8	0,00000689	0,000000861		
Total	11	0,00000720			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0,944).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050



The power of the performed test (0,050) is below the desired power of 0,800. Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Anexo 2. Validación de réplicas de las muestras de agua y suelo para la determinación de Cr y Pb

❖ Homogeneidad de varianza, normalidad, ANOVA y Tukey Test en agua para la determinación de Cr

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,964)

Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MX1	3	0	0,0182	0,0000577	0,0000333
MX2	3	0	0,0165	0,000200	0,000115
MX3	3	0	0,0159	0,0001000	0,0000577

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0,00000828	0,00000414	232,750	<0,001
Residual	6	0,000000107	0,0000000178		
Total	8	0,00000838			

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
MX1 vs. MX3	0,00227	3	29,445	<0,001	Yes
MX1 vs. MX2	0,00167	3	21,651	<0,001	Yes
MX2 vs. MX3	0,000600	3	7,794	0,004	Yes

❖ Homogeneidad de varianza, normalidad, ANOVA y Tukey Test en suelo para la determinación de Cr

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,269)

Equal Variance Test: Passed(P = 1,000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MX1	3	0	0,0319	0,000346	0,000200
MX2	3	0	0,0279	0,0000577	0,0000333
MX3	3	0	0,0335	0,000153	0,0000882

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0,0000510	0,0000255	522,068	<0,001



Residual	6	0,000000293	0,0000000489
Total	8	0,0000513	

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0,001$).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
MX3 vs. MX2	0,00567	3	44,390	<0,001	Yes
MX3 vs. MX1	0,00163	3	12,795	<0,001	Yes
MX1 vs. MX2	0,00403	3	31,595	<0,001	Yes

❖ Homogeneidad de varianza, normalidad, ANOVA y Tukey Test en agua para la determinación de Pb

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed ($P = 0,853$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0,208$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MX1	3	0	0,00417	0,000451	0,000260
MX2	3	0	0,00407	0,000208	0,000120
<u>MX3</u>	3	0	0,00577	0,000208	0,000120

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0,00000546	0,00000273	28,241	<0,001
Residual	6	0,000000580	0,0000000967		
Total	8	0,00000604			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0,001$).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,999

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
MX3 vs. MX2	0,00170	3	9,470	0,001	Yes
MX3 vs. MX1	0,00160	3	8,913	0,002	Yes
MX1 vs. MX2	0,000100	3	0,557	0,919	No



❖ **Homogeneidad de varianza, normalidad, ANOVA y Tukey Test en suelo para la determinación de Pb**

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,991)

Equal Variance Test: Passed(P = 0,586)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
MX1	3	0	0,00600	0,000436	0,000252
MX2	3	0	0,00497	0,0000577	0,0000333
MX3	3	0	0,00673	0,000379	0,000219

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0,00000473	0,00000236	21,059	0,002
Residual	6	0,000000673	0,000000112		
Total	8	0,00000540			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,002).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,993

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
MX3 vs. MX2	0,00177	3	9,134	0,002	Yes
MX3 vs. MX1	0,000733	3	3,792	0,081	No
MX1 vs. MX2	0,00103	3	5,343	0,022	Yes

Anexo 3. Correlaciones de Pearson

❖ **Correlación agua y suelo para la determinación de Cr**
Pearson Product Moment Correlation

Data source: Data 1 in Notebook1

Cell Contents:
Correlation Coefficient
P Value
Number of Samples

	Suelo
Agua	-0,0188
	<u>0,962</u>
	9

Suelo



There are no significant relationships between any pair of variables in the correlation table ($P > 0,050$).

❖ **Correlación agua y suelo para la determinación de Pb**

Pearson Product Moment Correlation

Data source: Data 1 in Notebook1

Cell Contents:
Correlation Coefficient
P Value
Number of Samples

SUELO
AGUA 0,821
0,00665
9

SUELO

The pair(s) of variables with positive correlation coefficients and P values below 0,050 tend to increase together. For the pairs with negative correlation coefficients and P values below 0,050, one variable tends to decrease while the other increases. For pairs with P values greater than 0,050, there is no significant relationship between the two variables.

Anexo 4. Prueba bondad de ajuste de CHI cuadrado

❖ **Prueba bondad de ajuste para la determinación de Cr**

Multinomial Test

Hypothesized Proportions Variable: V001 TEORICO
Observed Frequencies Variable: V002 EXPERIMENTAL

Category	Hypothesized Proportion	Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square Contribution
1	0,100000	1	0,90	0,01
2	0,150000	1	1,35	0,09
3	0,200000	2	1,80	0,02
4	0,250000	2	2,25	0,03
5	0,300000	3	2,70	0,03

Overall Chi-Square 0,19
P-Value 0,9960
Degrees of Freedom 4

❖ **Prueba bondad de ajuste para la determinación de Pb**

Multinomial Test

Hypothesized Proportions Variable: V001 TEORICO
Observed Frequencies Variable: V002 EXPERIMENTAL



Category	Hypothesized Proportion	Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square Contribution
1	0,100000	0	0,70	0,70
2	0,150000	1	1,05	0,00
3	0,200000	2	1,40	0,26
4	0,250000	2	1,75	0,04
5	0,300000	2	2,10	0,00

Overall Chi-Square	1,00
P-Value	<u>0,9098</u>
Degrees of Freedom	4

Anexo 5. Regresión lineal y modelo estadístico de predicción

❖ Modelo estadístico de regresión lineal de Pb

Resumen del modelo^b

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. De la estimación	Estadísticos de cambio				
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gl1	gl2	Sig. Cambio en F
1	,994 ^a	,987	,986	,00057	,987	1681,222	1	22	,000

a. Variables predictoras: (Constante), Conc

b. Variable dependiente: Abs

Coeficientes^a

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	<u>8,036E-005</u>	,000		-,350	,730
	Conc	,005	,000	,994	41,003	,000

a. Variable dependiente: Abs

- **Modelo estadístico de predicción:** $ABS = 8,036^{-5} + 0,005 \text{ Conc} + 0,00057$



❖ **Modelo estadístico de regresión lineal de Cr**

Resumen del modelo^b

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. De la estimación	Estadísticos de cambio				
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gl1	gl2	Sig. Cambio en F
1	,994 ^a	,988	,987	,00059	,988	1739,469	1	22	,000

a. Variables predictoras: (Constante), Conc

b. Variable dependiente: Abs

Coeficientes^a

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	,0001	,000		3,726	,001
	Conc	,005	,000	,994	41,707	,000

a. Variable dependiente: Abs

- **Modelo estadístico de predicción:** $ABS = 0,0001 + 0,005 \text{ Conc} + 0,00059$



Anexo 6. Manuales de Operación Básicos

A continuación se desarrollan los Manuales de Operación Básicos:

1. Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de agua
2. Manual de Operación Básico de Cromo en muestras de suelo
3. Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de agua
4. Manual de Operación Básico de Plomo en muestras de suelo