

**DOCUMENTACION PARA LA DETERMINACION DE Ag, As, Cd, Cr, Pb Y Hg
EN AGUAS RESIDUALES, PULPAS DE FRUTAS, Y SULFATO DE ALUMINIO
POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATÓMICA EN EL LABORATORIO
DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE
PEREIRA**

CARLOS EDUARDO VINASCO HERNÁNDEZ

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PEREIRA**

2011

**DOCUMENTACION PARA LA DETERMINACION DE Ag, As, Cd, Cr, Pb Y Hg
EN AGUAS RESIDUALES, PULPAS DE FRUTAS, Y SULFATO ALUMINIO POR
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATÓMICA EN EL LABORATORIO DE
AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA**

CARLOS EDUARDO VINASCO HERNANDEZ

TRABAJO DE GRADO

Requisito final para optar al título de Químico Industrial

DIRECTOR:

Carlos Humberto Montoya Navarrete

**UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PEREIRA**

2011
**NOTA DE ACEPTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO
DOCUMENTACION PARA LA DETERMINACION DE Ag, As, Cd, Cr, Pb Y Hg
EN AGUAS RESIDUALES, PULPAS DE FRUTAS, Y SULFATO ALUMINIO POR
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATÓMICA EN EL LABORATORIO DE
AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA**

**Presentado por:
CARLOS EDUARDO VINASCO HERNANDEZ**

Los suscritos director y jurado del presente trabajo de grado, una vez realizada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar:

La nota de:

Con la connotación:

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy:

Director:

Carlos Humberto Montoya Navarrete

Jurado:

Firma:

Jurado:

Firma:

DEDICATORIA

La realización de este documento y todo el esfuerzo necesario para alcanzar este logro tan importante en mi vida esta dedicado a **Dios** que lo hizo posible, a traves del incondicional apoyo mis padres y en las favorables condiciones en las que he vivido.

Dedicado a mi padre **Carlos Arturo Vinasco** y a mi madre **Particia Hernández**, mi eterna gratitud hacia ellos por el gran amor que me han dado en la vida, e infinito cariño a mis hermanos **Lina Fernanda** y **Jose Daniel Vinasco** por los que tambien me esforzaré cada vez mas en búsqueda del bienestar de toda mi familia.

Agradezco enormemente a mis amigos y compañeros de programa Carlos **Andres Estupiñan** y **Nataly Villa** por su incondicional ayuda y valiosa compañía tanto en las buenas como en las malas situaciones.

Tambien agradezco al profesor **Carlos Humberto Montoya** por su disposición constante para brindarme su asesoramiento y compartir sus conocimientos.

Al personal del Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira por su amabilidad, al profesor Ariel Felipe Aracila por sus colaboraciones y conocimientos brindados.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	12
	13
INTRODUCCION	
	15
1. JUSTIFICACION	
2. OBJETIVOS	
2.1. OBJETIVO GENERAL	16
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	16
3. MARCO DE REFERENCIA	
	18
3.1. MARCO TEORICO	
3.1.1. METALES PESADOS	18
3.1.1.1. Quimica de los metales pesados	18
3.1.1.2. Contaminación con metales pesados	20
3.1.1.3. Fuentes de contaminación por metales pesados	21
3.1.2. AGUAS RESIDUALES	23
3.1.2.1. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales	24
3.1.2.2. Contaminación del agua por metales pesados	25
3.1.3. PULPAS DE FRUTA	26
3.1.3.1 Composición de las puplas de furta	26
3.1.4. SULFATO DE ALUMINIO	29
3.1.4.1. El sulfato de aluminio en el tratamiento de aguas residuales	29
3.1.4.2. Acción del sulfato de aluminio sobre el agua residual	31
3.1.4.3. Especificaciones del sulfato de aluminio	31
3.1.5. EFECTOS DE LOS METALES PESADOS EN EL MEDIO AMBIENTE Y SERES HUMANOS	33
3.1.5.1. Toxicidad de metales pesados	34
3.1.6. TECNICA INSTRUMENTAL	35
3.1.6.1. Principio	35
3.1.6.2. Fundamento	36
3.1.6.3. Instrumentación	37
3.1.6.4. Aplicaciones	41
3.1.6.5. Interferencias	41
	44
3.2. MARCO LEGAL	
3.2.1. NORMATIVIDAD COLOMBIANA DE AGUAS RESIDUALES	45

3.2.2. NORMATIVIDAD PARA EL SULFATO DE ALUMINIO	46
3.2.3. NORMATIVIDAD PARA PULPAS DE FRUTA	47
	49
4. METODOLOGÍA	52
5. DATOS EXPERIMENTALES	52
5.1. MATERIALES	52
5.1.1. REACTIVOS	53
5.1.2. EQUIPOS	53
5.1.3. MATERIAL DE VIDRIO	54
5.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS	54
5.2.1. PREPARACION DE LOS BLANCOS	54
5.2.1.1. Blanco para la determinación de Hg en pulpas de fruta y agua residuales	54
5.2.1.2. Blanco para la determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en guas residuales	54
5.2.1.3. Blanco para la determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb pulpas de fruta	55
5.2.1.4. Blanco para la determinación Ag, As, Cd, Cr , Pb y Hg en sulfato de aluminio tipo b	55
5.2.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS CONTAMINADAS.	55
5.2.2.1. Determinación de Hg en pulpas de fruta y aguas residuales	55
5.2.2.2. Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en aguas residuales	56
5.2.2.3. Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en pulpas de fruta	58
5.2.2.4. Determinación de Ag, As, Cd, Cr, Pb y Hg en sulfato de aluminio tipo b	61
6. RESULTADOS Y ANALISIS	63
6.1. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS METODOS	64
6.2. RESULTADOS EXPERIMENTALES	71
6.2.1. CONCENTRACIONES HALLADAS	72
6.3. PORCENTAJES RECUPERACION OBTENIDOS	78
6.3.1. AGUA RESIDUAL	79
6.3.2. PULPAS DE FRUTA	80
6.3.3. SULFATO DE ALUMINIO	82
6.4. ANALISIS DE RESULTADOS	83
6.4.1. CÁLCULO DE LOS VALORES DE RECUPERACION	84
6.4.2. EXACTITUD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCION	86
6.4.2.1. Precisión de los métodos para pulpa de fruta	87
6.4.2.2. Veracidad de los métodos para pulpa de fruta	88
6.4.2.3. Precisión del método de la NTC 531 para sulfato de aluminio tipo b.	89
6.4.2.4. Veracidad del método NTC 531 para sulfato de aluminio tipo b	90
6.4.2.5. Precisión de los métodos para aguas residuales	92
6.4.2.6. Veracidad de los métodos para agua residual	93

7. CONCLUSIONES	96
8. RECOMENDACIONES	98
9. ANEXOS	101
10. BIBLIOGRAFIA	134

Lista de tablas

	pág.
Tabla 1. Metales pesados asociados a minerales primarios sulfurosos	22
Tabla 2. Metales pesados asociados a minerales secundarios	22
Tabla 3. Fuentes antrópicas de metales pesados	23
Tabla 4. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales y posibles actividades generadoras	24
Tabla 5. Contaminantes importantes en el tratamiento de aguas residuales	25
Tabla 6. Requisitos generales para jugos y pulpas de fruta	26
Tabla 7. Características Físico-químicas de las pulpas de fruta	27
Tabla 8. Límites de concentración de metales en pulpas de fruta	28
Tabla 9. Requisitos químicos del sulfato de aluminio	32
Tabla 10. Límites de concentración para el control de carga para las sustancias de interés sanitario	45
Tabla 11. Límites de concentración de metales en sulfato de aluminio	46
Tabla 12. Valores máximos de metales pesados en pulpas de fruta	47
Tabla 13. Especificaciones de patrones de cada metal analizado	53
Tabla 14. Resumen de la fortificación de las muestras de agua residual	57
Tabla 15. Diluciones necesarias de cada metal para la determinación experimental	57
Tabla 16. Resumen de la fortificación de cada metal en pulpa de fruta excepto Hg	60
Tabla 17. Resumen de la fortificación de cada metal en sulfato de aluminio	61
Tabla 18. Concentraciones para Cd en las tres matrices	73
Tabla 19. Concentración para Cd 5 µg/L en pulpa de fruta (Segunda experimentación)	74
Tabla 20. Concentraciones de Cr en pulpa de fruta y sulfato de aluminio por horno de grafito	74
Tabla 21. Concentración de Cr en agua residual por llama acetileno-óxido nítrico	74
Tabla 22. Concentración de Hg en las tres matrices por generador de hidruros	75
Tabla 23. Concentración Hg en sulfato de aluminio tipo b (Segunda experimentación)	75
Tabla 24. Concentración de As en las tres matrices	76
Tabla 25. Concentración de Ag en las tres matrices	77
Tabla 26. Concentración de Pb en las tres matrices	78
Tabla 27. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en agua residual (Segunda experimentación)	79
Tabla 28. Recuperación de Hg en agua residual	79

Tabla 29. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en pulpa de fruta (Segunda experimentación)	81
Tabla 30. Recuperación de Hg en pulpa de fruta	81
Tabla 31. Recuperación de Cd en pulpa de fruta (Segundo ensayo (5 µg/L))	81
Tabla 32. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en sulfato de aluminio tipo b	82
Tabla 33. Recuperación de Hg en sulfato de aluminio fortificado con 1,5 µg/L según la NTC 531	82
Tabla 34. Recuperación de Hg en sulfato de aluminio (Segunda experimentación con 5 µg/L)	83
Tabla 35. Desviación estándar para los metales en pulpa de fruta	87
Tabla 36. Desviación estándar y coeficiente de variación para Cd a 5ug/L	88
Tabla 37. Desviación estándar y coeficiente de variación del método para Hg	88
Tabla 38. Veracidad del método de calcinación para cada metal	89
Tabla 39. Desviación estándar y coeficiente de variación del método	90
Tabla 40. Desviación estándar y coeficiente de variación para el mercurio a 5 µg/L	90
Tabla 41. Veracidad del método de la NTC 531 para mercurio 5 µg/L	91
Tabla 42. Desviación estándar y coeficiente de varianza de los tres métodos evaluados	92
Tabla 43. Desviación estándar y coeficiente de variación para Hg	93
Tabla 44. Veracidad de los tres métodos evaluados para agua residual	93
Tabla 45. Veracidad del método de digestión con KMnO ₄ para determinar de Hg	94

Lista de Figuras

	pág.
Figura 1. Componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica	38
Figura 2. Curva de calibración de As para pulpa de fruta, agua residual y sulfato de aluminio tipo b	64
Figura 3. Curva de calibración de Ag para pulpa de fruta, agua residual y sulfato de aluminio tipo b	65
Figura 4. Curva de calibración de Cr para pulpa de fruta y sulfato de aluminio por horno de grafito	66
Figura 5. Curva de calibración de Cr para agua residual por llama acetileno-óxido nítrico	66
Figura 6. Curva de calibración de Hg en pulpa de fruta y agua residual por generador de hidruros	67
Figura 7. Curva de calibración de Hg para sulfato de aluminio granulado tipo b	67
Figura 8. Curva de calibración de Cd en sulfato de aluminio y agua residual	68
Figura 9. Curva de calibración de Cd en pulpa de fruta	69
Figura 10. Curva de calibración de Pb en pulpa de fruta y agua residual	70
Figura 11. Curva de calibración de Pb en sulfato de aluminio granulado tipo b	70

Lista de anexos

	pág.
Anexo 1. Instructivo de digestión de aguas crudas y residuales en sistema abierto para la determinación de mercurio.	102
Anexo 2. Instructivo de digestiones a aguas crudas y residuales en sistema abierto para la determinación de As, Ag, Cd, Cr y Pb.	108
Anexo 3. Instructivo de pretratamiento a muestras de pulpas de fruta congeladas para la determinación de mercurio.	116
Anexo 4. Instructivo de digestión a muestras de pulpas de fruta para la determinación de As, Ag, Cd, Cr Y Pb.	122
Anexo 5. Instructivo de pretratamiento a muestras de sulfato de aluminio para la determinación de As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg según la NTC 531.	128

RESUMEN

Determinar los metales en diferentes matrices suele ser difícil y poco exacto, por lo que se hace necesario realizar un pretratamiento a las muestras para este tipo de análisis, buscando eliminar interferencias mejorando su detección y cuantificación analítica para las diferentes matrices. Si no se realiza un pretratamiento adecuado a la muestra, se corre el riesgo de que en la determinación de estos metales, se obtengan valores de concentración diferentes a los que realmente están contenidos en estas, debido a que éste contenido de metales casi siempre se encuentra en concentraciones trazas o muy bajas, dificultando así su detección y cuantificación.

Se realizó un trabajo de investigación utilizando métodos de diversas fuentes confiables relacionados con los tratamientos previos necesarios a tres tipos específicos de muestra: agua residual, pulpa de fruta y sulfato de aluminio granulado tipo b. Esto con el objeto de preparar adecuadamente las muestras para el análisis instrumental, de tal forma que la cantidad real de analito allí contenida sea la que se determine el espectrofotómetro de Absorción atómica ofreciendo así valores de concentración más acertados.

El desarrollo del trabajo inició con la búsqueda de distintos tipos de pretratamientos en diferentes fuentes bibliográficas de origen confiable y seguro.

Se evaluó cada uno de estos pretratamientos, llevando a cabo la determinación de los valores de concentración de cada una de las muestras preparadas bajo las condiciones requeridas por cada procedimiento, teniendo en consideración los límites máximos de concentración permitidos para cada metal analito por las entidades legales competentes nacionales e internacionales. Luego se hallaron los correspondientes porcentajes de recuperación para cada metal en cada método y después de analizar los datos obtenidos se procedió a clasificar y organizar la información seleccionada en forma de instructivos que le facilite al Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira realizar los análisis y garantizar resultados confiables a los clientes que requieran de este servicio.

Palabras clave: porcentaje de recuperación, agua residual, pulpa de fruta, sulfato de aluminio, pretratamiento, LMR's (límites máximos de residuos), sustancias de interés sanitario, metales pesados.

INTRODUCCION

Hace unos 250 años la humanidad existía en un número relativamente pequeño y con una tecnología bastante limitada. Cualquier perturbación ambiental causada por personas era local y generalmente estaba dentro de la misma naturaleza para absorberla. El aumento de la población e industrialización han dado origen a la urbanización, lo cual contribuye a intensificar los problemas ambientales en función a la densidad de personas e industrias, además del crecimiento explosivo del uso de energía y la introducción de nuevos productos, [1].

Este crecimiento, en particular en los países desarrollados, ha estado acompañado de nuevos procesos industriales que con sus desperdicios, en muchos casos altamente tóxicos (plaguicidas, grasas, metales pesados, entre otros) afectan el entorno y pueden crear grandes problemas de tipo ambiental y sanitario.

Dentro de éstas sustancias consideradas altamente tóxicas, los metales pesados se encuentran entre los contaminantes elementales más perjudiciales por lo que su determinación es de particular interés por su gran toxicidad y bioacumulación en los seres humanos, [2].

Debido a su naturaleza no biodegradable y persistente, los metales pesados son acumulados en los órganos vitales del cuerpo como riñones, huesos e hígado y se asocian a numerosas y graves trastornos de la salud humana, [3].

Sus efectos en agua potable y agua residual oscilan de benéficos a peligrosamente tóxicos dependiendo de su concentración, ya que pueden afectar adversamente el agua de los consumidores, sistemas de tratamiento de aguas residuales, y aguas receptoras, [4], al emplearse en la agricultura por parte de industrias formales y clandestinas que evacúan sus efluentes al alcantarillado municipal que, con o sin autorización y sin ningún tratamiento se usan para el riego,[5], de cultivos que al incorporar los metales presentes en estas aguas, se acumulan en sus frutos, siendo estos últimos también objeto de contaminación.

A su vez, la presencia de impurezas como metales pesados en el tratamiento del agua está influenciada en gran medida por los métodos de producción y la calidad de las materias primas. Las impurezas contenidas en los químicos incorporados al agua se transfieren a ésta igualmente, [6], como es el caso del sulfato de aluminio, un producto empleado en la potabilización del agua como agente floculante para eliminar los sólidos suspendidos que puedan estar presentes en ésta, lo que implica una posible contaminación directa a el agua tratada con este producto.

La NTC 531 es la norma que se debe referenciar para el cumplimiento de la calidad del sulfato de aluminio; en ella se establecen los límites de sustancias

contaminantes que pueda éste contener y que puedan poner en riesgo la calidad del agua en tratamiento y la salud de la comunidad.

Por parte de las pulpas de fruta, la resolución 7992 de 1991 expone las características físico-químicas y de calidad que deben presentar estos productos, incluidas sustancias las contaminantes como los metales pesados, que son el analito de interés para este trabajo.

En cuanto al agua, el ministerio de Protección Social, Medio Ambiente y Vivienda emitió el decreto 1575 de 2007, en el cual se establece el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano y se exponen las características físico-químicas y microbiológicas que debe tener el agua potable, [7]. De igual forma el ministerio emitió el decreto 1594 de 1984 acerca de los usos del agua y residuos líquidos, [30], el cual reglamenta las características físico-químicas y microbiológicas para las aguas residuales, las cuales manejan los valores de concentraciones máximas permitidas, del orden de partes por millón (mg/L), lo que implica un método analítico con un buen nivel de detección.

Durante las últimas décadas, el aumento de la demanda de seguridad alimentaria ha estimulado la investigación sobre el riesgo asociado con el consumo de productos alimenticios como las frutas contaminadas con plaguicidas, metales pesados y/o toxinas, [8].

Para eliminar estas potenciales fuentes de contaminación debería hacerse un efectivo control de calidad tanto a las aguas residuales, al sulfato de aluminio, y a las frutas que también son objeto indirectamente de esta contaminación; evaluando el contenido de metales pesados presentes en estas matrices, y empleando métodos de extracción de los cuales se tenga certeza acerca de su confiabilidad, reflejada en la obtención de valores de recuperación dentro de los rangos de los criterios de calidad más comúnmente aceptados.

La Universidad Tecnológica de Pereira posee el mejor laboratorio de análisis de aguas y alimentos en la región, el cual está en capacidad de llevar a cabo una identificación y cuantificación de estos contaminantes utilizando tecnología de punta, estableciendo los métodos necesarios previos al análisis instrumental de las matrices, que permitan una efectiva extracción del analito, siendo más fácil y confiable su cuantificación a través de la espectroscopia de absorción atómica.

1. JUSTIFICACION

En búsqueda de obtener resultados confiables en los análisis, el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira debe optar por los métodos más apropiados para los análisis que emplea en sus experimentaciones. Estos tratamientos de la muestra previos al análisis instrumental, se basan por ejemplo, en la transferencia del analito de una matriz compleja a una solución mucho más simple, [9], por ejemplo el uso de digestiones de las muestras con ácidos fuertes, buscando concentrar los analitos, o por medio de una calcinación que elimine la materia orgánica casi en su totalidad, obteniendo una extracción más efectiva del analito, metales en este caso. Sin embargo estos procedimientos involucran potencial pérdida de analito ya sea porque una proporción sustancial del analito permanezca en la matriz después de la extracción o que se quede presente en el material de análisis, además de otros limitantes, por lo que la transferencia es incompleta, y la correspondiente medición arrojaría un valor inferior a la concentración real en la matriz de análisis original. Debido a esto un acertado pretratamiento de las muestras es muy importante para extraer efectivamente el analito, disminuyendo interferencias en el análisis y mejorando así el porcentaje de recuperación.

Posteriormente las muestras se presentan a la determinación instrumental, empleando una técnica analítica comúnmente empleada para este tipo de analitos en matrices de diversa naturaleza; la espectroscopia de absorción atómica y sus técnicas más empleadas de atomización como por llama, horno de grafito o el generador de hidruros. La confiabilidad de estos pretratamientos es sustentada en el porcentaje de recuperación del método, un parámetro empleado para validación de técnicas analíticas, [9]. La recuperación de un método corresponde a la proporción de la cantidad de analito, presente en la porción de la muestra ó adicionado a ésta, que es extraído y presentado a la determinación instrumental, [9].

De no realizarse un tratamiento de extracción adecuado de los analitos contenidos en la muestra, se pueden generar consecuencias importantes en la interpretación de los datos. Por lo que en la ejecución de un informe, la diferencia entre aplicar o no aplicar un factor de corrección a los datos de recuperación obtenidos experimentalmente, puede significar que un límite legislativo se supere, o que un resultado esté en el cumplimiento del límite de una norma ambiental o sanitaria, dando como resultado que valores errados de cuantificación de estos metales pongan en riesgo la salud de los consumidores además de los intereses del laboratorio.

De acuerdo a lo anterior, se hace evidente la necesidad de contar con un manual de procedimientos seleccionados adecuadamente, con el fin de contribuir en los tratamientos previos necesarios a las muestras para ser analizadas por la técnica analítica de espectroscopia de absorción atómica, ofreciendo una mejora en la prestación de servicios con calidad analítica para el Laboratorio Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar un manual de procedimientos para el pretratamiento de la muestra en la determinación de **Ag, As, Cd, Cr, Pb y Hg** en tres tipos de matrices: pulpas de frutas, aguas residuales y sulfato de aluminio tipo b granulado; mediante la técnica analítica de espectroscopia de absorción atómica con el fin de la implementación de dichos procedimientos en el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Investigar en diversas fuentes bibliográficas los diferentes procedimientos estandarizados para los pretratamientos de las muestras y de acuerdo a los requerimientos del análisis y disponibilidad de recursos del laboratorio, seleccionar de entre ellos, cuáles serán sometidos a evaluación analítica.
- Evaluar Mediante la técnica analítica de absorción atómica los procedimientos de pretratamiento preseleccionados para cada metal en cada matriz.
- Determinar la efectividad de los pretratamientos, estableciendo su porcentaje de recuperación para la determinación de Ag, As, Cd, Cr, Pb y Hg en agua residual, pulpa de fruta y sulfato de aluminio tipo b, bajos los criterios de exactitud de los métodos, disponibilidad de recursos técnicos, costos de los análisis y tiempo de ejecución, ofreciéndole al laboratorio un panorama claro acerca de la incorporación de estos pretratamientos a sus procedimientos analíticos mediante una posible validación.
- Elaborar a manera de instructivos los procedimientos evaluados, analizados y aceptados para el tratamiento previo de las muestras en el análisis físico-químico de espectrometría de absorción atómica.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1. MARCO TEORICO

3.1.1. Metales pesados.

Se considera metal pesado a aquel elemento con densidad igual o superior a 5 g/cm³ cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su concentración promedio en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos denominados metaloides y no metales que suelen englobarse con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados, además de ser considerados posibles causantes de problemas de contaminación como son los casos de Pb, Cr, Cd, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Sn, Ba, Hg. Dentro de los metales pesados hay dos grupos:

Oligoelementos o Micronutrientes. Requeridos en pequeñas cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, pasando cierto umbral son tóxicos. Dentro de este grupo se encuentra: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn, [10].

Metales pesados sin función biológica conocida. La presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son Principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi, [10]. Todos los metales pesados en concentraciones altas tienen fuertes efectos tóxicos y son una amenaza ambiental, [11].

3.1.1.1. QUIMICA DE LOS METALES PESADOS

3.1.1.1.1. Arsénico (As). Tercer elemento del grupo V A de la tabla periódica; tiene un número atómico de 33, peso atómico de 74.92 g/mol, y valencias de 3 y 5. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es 1.8 ppm; en suelos de 5.5 a 13 ppm; en corrientes de agua menor a 2 µg/L, y en aguas subterráneas es generalmente menor 100 µg/L. Se produce naturalmente en minerales sulfurosos como la piritita. El arsénico es empleado en aleaciones con plomo, en almacenamiento de baterías, en munición, además de pesticidas y conservantes para madera. No es un elemento esencial para las plantas pero sí lo es para algunas especies animales. Para la protección de la vida acuática, la concentración promedio de As³⁺ en el agua no debe exceder 72 µg/L y la máxima 140 µg/L. La organización de alimentos y agricultura de las Naciones Unidas

recomiendan un nivel máximo para aguas de irrigación de 100 µg/L. El MCL (definido por la EPA como máximo nivel permitido de un contaminante en agua potable) estándar de la U.S EPA para agua potable es 0.05mg/L, [4].

3.1.1.1.2. Cadmio (Cd). Segundo elemento del grupo IIB de la tabla periódica; tiene un número atómico de 48, y peso atómico de 112.41 g/mol, y una valencia de 2. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es 0.16 ppm; en suelos de 0.1 a 0.5 ppm; en ríos de 1 µg/L, y en aguas subterráneas de 1 a 10 µg/L. Se encuentra en minerales que también contienen zinc, plomo o cobre. Este metal es usado en galvanoplastia, baterías, pigmentos de pinturas y en aleaciones con otros metales. El cadmio es considerado como altamente tóxico. La organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura recomienda un nivel máximo de cadmio en aguas de irrigación de 10 µg/L. El MCL según la U.S EPA para agua potable es 10 µg/L, [4].

3.1.1.1.3. Cromo (Cr). Primer elemento del grupo VIB en la tabla periódica; tiene un número atómico de 24, su peso atómico es de 51.99 g/mol, y valencias del 2,3,4,5 y 6. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es de 122 ppm; en suelos, un rango de 11 a 22 ppm y en corrientes acuáticas un promedio de 1 µg/L. Es encontrado principalmente en mineral Cromo-Hierro (Fe.Cr₂O₃). Se emplea en aleaciones, galvanoplastia, y en pigmentos y los cromatos son frecuentemente adicionados a agua de enfriamiento para el control de la corrosión. El cromo es considerado no esencial para plantas, pero un elemento traza esencial para algunos animales. La organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura recomienda un nivel máximo para aguas de irrigación de 100µg/L. El MCL estándar de la U.S EPA para agua potable es 100µg/L para cromo total, [4].

3.1.1.1.4. Mercurio (Hg). Tercer elemento del grupo IIB en la tabla periódica; tiene un número atómico de 80, peso atómico de 200.59 g/mol, y valencias de 1 y 2. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es 0.09 ppm; en suelos de 30 a 160 ppb.; en ríos de 0.07 ppb, y en aguas subterráneas 0.5 ppb. El mercurio es usado en espejos, amalgamas, recubrimiento de espejos, lámparas de vapor, pinturas, dispositivos de medición (termómetros, barómetros, manómetros), farmacéuticos, pesticidas y fungicidas. Las especies acuosas comunes son Hg²⁺, Hg(OH)₂, Hg⁰, y complejos estables con ligandos orgánicos. El mercurio inorgánico puede ser metilado en sedimentos cuando estén presentes sulfuros para formar metil-mercurio, (CH₃)₂Hg). El mercurio es considerado altamente toxico. El principal MCL estándar para agua potable de la U.S EPA es 2 µg/L, [4].

3.1.1.1.5. Plata (Ag). Segundo elemento del grupo IB de la tabla periódica; número atómico 47; un peso atómico de 107.87 g/mol, y valencias de 1 y 2. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es 0.08 ppm; en suelos <0.01 a 0.5 ppm; en ríos de 0.3 µg/L; en agua potable de U.S es de 0.23 µg/L, y en agua subterránea <0.1 µg/L. Se produce naturalmente y en combinación con elementos no metálicos tales como la argentita (Ag₂S) y los minerales de plomo y cobre pueden también ofrecer considerable presencia de ésta. La plata es ampliamente empleada en fotografía, cubiertas de plata, joyería, espejos y baterías. El yoduro de plata ha sido utilizado en el sembrado de nubes, y el óxido de plata hasta cierto punto es usado como un desinfectante para el agua. En solución ácida la Ag⁺ predomina, y en aguas con alta cantidad de cloruros puede formar una serie de complejos. La plata no es esencial para plantas y animales y para la vida acuática de agua dulce, la plata recuperable no debe exceder los 1.2 mg/L, [4].

3.1.1.1.6. Plomo (Pb). Quinto elemento del grupo IVA en la tabla periódica. Tiene un número atómico de 82, y peso atómico de 207.9 g/mol, y valencias de 2 y 4. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es 13 ppm; en suelos de 2.6 a 25 ppm; en corrientes acuáticas de 3 µg/L, y aguas subterráneas es generalmente <0.1 mg/L. Es obtenido principalmente de la galena (PbS). Empleado en baterías, munición, soldadura, tuberías, pigmentos, insecticidas, y aleaciones. El plomo también fue usado en gasolina por muchos años como un agente anti-detonador en la forma de plomo tetraetil. Su presencia en abastecimientos de agua puede provenir de descargas industriales, mineras, de hornos de fundición o de la disolución de algunas tuberías. El plomo es altamente tóxico por lo que la administración de alimentos y drogas regula el contenido de plomo en alimentos y en pinturas para los hogares bajo la norma plomo-cobre. La norma U.S EPA para agua potable es 15µg/L, [4].

3.1.1.2. Contaminación con metales pesados. Los metales pesados son unas de las formas de contaminación más peligrosas del medio ambiente. Esta se explica primero, porque no presenta ningún tipo posible de degradación química o biológica, además pueden ser bioacumulados de diversas formas (orgánicas e inorgánicas) y permanecer en los organismos por largos periodos. Los metales como el Cu, Pb, Hg, etc., se caracterizan por su alta conductividad eléctrica, y a medida que se desplazan hacia los metales preciosos (Au, Hg y Ag) sus óxidos metálicos se hacen más estables que los hidróxidos correspondientes; además forman complejos con diferentes iones y moléculas. Su toxicidad es debido a su alta afinidad con los grupos amino y sulfidril. Al reaccionar dichos metales con

estos grupos, se forman complejos metálicos y las enzimas pierden toda su efectividad para controlar las reacciones metabólicas, [12].

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 pueden tener un nivel similar de toxicidad, incluso en bajas concentraciones bajo condiciones dadas; por lo que ellos requieren supervisión en sistemas de tratamiento de aguas, [13].

La industria, con muy pocas excepciones, no hace tratamiento a sus desechos líquidos, por falta de tecnología de “limpieza” adecuadas, de fácil acceso y bajo costo. Como caso concreto se tiene la industria del cuero cuyos residuos contribuyen enormemente al deterioro de fuentes de agua como el río Bogotá y Medellín, y la bahía de Cartagena, [14].

3.1.1.3. Fuentes de contaminación por metales pesados. Los metales pesados son probablemente los tóxicos más antiguos conocidos por el hombre. 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. Debido a la actividad industrial, disminuye el tiempo de permanencia de los metales en los minerales, pudiendo formar nuevos compuestos, y variar la distribución mundial de estos metales, [15]. Las fuentes de estos elementos se pueden clasificar en:

3.1.1.3.1. Fuentes naturales. Las naturales a su vez se clasifican según su origen ya sean producto del interperismo (meteorismo) o por emisiones volcánicas. Los metales pesados se encuentran en los minerales primarios (constituyentes de las rocas) y coprecipitados con los minerales secundarios (cristalización de productos del intemperismo), [16].

Tabla 1. Metales pesados asociados a minerales primarios sulfurosos

Minerales primarios sulfurosos	Metales pesados asociados
Galena (Pbs)	Ag, Au, As, Ba, Bi, Cr, Hg y Ni
Esfarelita (ZnS)	Sb, Sn, Te y Tl
Calcopirita (CuFeS ₂)	Ag, Co, Ge, In, Mn, Ni, Se y Sn
Pirita (FeS ₂)	Ag, As, Au, Co, Cu, Ni, Pb, Ti y Tl
Arsenopirita	Co, Mn y Ni

Fuente: Bautista Z, Francisco. 1999

Tabla 2. Metales pesados asociados a minerales secundarios

Minerales secundarios	Metales pesados asociados
Óxidos de hierro	V, Mn, Cu, Zn y Mo
Óxidos de manganeso	Fe, Co, Ni, Zn y Pb
Carbonato de calcio	V, Mn, Fe, Co, Cd y Pb
Esmectitas	Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co y Ni
Vermiculitas	Ti, Mn y Fe

Fuente: Bautista Z, Francisco. 1999

Conociendo el tipo de roca y los minerales que la conforman pueden deducirse los metales pesados que pudieran encontrarse. Por ejemplo en las rocas sedimentarias hay mayores probabilidades de encontrar As, Hg y Se que en las ígneas; en el granito es más posible encontrar Pb y Tl que en el Basalto, [16].

3.1.1.3.2. 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., [16].

Tabla 3. Fuentes antrópicas de metales pesados

Fuentes	Metales pesados
Lodos residuales	Cd, As, Pb, Cr, Zn, Co, B, Be, Br, Ce, Cu, Mn, Ge, Hg, Mo, Ni, Rb, Sn, Sr, V y Zr.
Riego	Cd, Pb, Se
Fundidoras	Cd, Pb, Se, As, Sb, In y Hg
Plaguicidas	Pb, As, Hg, Br, Cu, V y Zn
Fertilizantes	Cd, As, B, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Sr, Se, Sc, Sn, Te, U, V, Zn y Zr.
Minas	Pb, Cd, As, Hg.
Abonos	As, Se, Ba, Br, Co, Cr, Cu, F, Ge, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn y Zr
Automóviles	Pb
Pinturas	Pb, Cd
Carbonatos	As, B, Ba, Ce, Cr, Cu, F, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn y Zr.
Combustión de carbón	As, Se, Sb, Pb

Fuente: Bautista Z, Francisco. 1999

3.1.2. AGUAS RESIDUALES

Se denominan aguas residuales aquel conjunto de líquidos procedentes de usos domésticos, comerciales o industriales que son conducidos a través de la red de alcantarillado que llevan, disueltas o en suspensión sustancias orgánicas e inorgánicas, algunas de ellas tóxicas y su depuración constituyen el gran reto ambiental de los últimos años por el impacto negativo a los ecosistemas, y en especial a la hidrosfera, [17].

Según el Banco Mundial, más de 300 millones de habitantes de ciudades en Latinoamérica producen 225,000 toneladas de residuos sólidos cada día. Sin embargo, menos del 5% de las aguas de alcantarillado de las ciudades reciben tratamiento. Con la ausencia de tratamiento, las aguas negras son por lo general vertidas en aguas superficiales, creando un riesgo obvio para la salud humana, la ecología y los animales. En Latinoamérica, muchas corrientes son receptoras de descargas directas de residuos domésticos e industriales, [18].

Actualmente las instalaciones de depuración existentes en la mayoría de los centros urbanos controlan estos problemas, sin embargo, el creciente desarrollo

de la sociedad hace aumentar continuamente la cantidad y tipos de fuentes de contaminación ambiental. Numerosos efluentes industriales con metales, plaguicidas y otros productos químicos utilizados en la agricultura arrastrados por las lluvias, contribuyen al deterioro de la calidad de las aguas, [14].

La calidad de las aguas residuales está dada por su caracterización con base en sus parámetros físicos, químicos y biológicos, así como su flujo. Dentro de estos parámetros hay algunos de valor indicativo en la selección del tratamiento adecuado para la purificación del agua. Las características de las aguas residuales de una comunidad tienen grandes variaciones que dependen de factores como el consumo de agua potable, el tipo de sistema de alcantarillado, la existencia de sistemas individuales de disposición de excretas y la presencia de desechos industriales, [19].

3.1.2.1. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales.

Tabla 4. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales y posibles actividades generadoras

Características	Parámetros	Actividad generadora del contaminante
Físicas	Olor, color, sólidos, temperatura, conductividad, turbidez, material flotante, densidad, aspecto.	La mayoría de las características son de origen domestico, agua residual, industrial, descomposición de residuos industriales, degradación de materia orgánica, erosión del suelo e infiltraciones.
Químicas	Orgánicos: Carbohidratos, fenoles, tensoactivos, proteínas, COV's, plaguicidas, grasas y aceites.	Estos tienen su origen en descargas domésticas, comerciales, vertidos industriales, residuos agrícolas y degradación natural de materia orgánica.
	Inorgánicos: Alcalinidad, cloruros, metales pesados, pH, nitrógeno, azufre, fósforo.	Residuos domésticos, industrial, algunas filtraciones de aguas subterráneas, vertidos industriales, residuos agrícolas.
	Gases: Sulfuro de hidrogeno, metano, amoníaco.	Descomposición de residuos domésticos y/o industriales.
Biológicas	Animales, plantas, protistas, virus.	Efluentes de plantas de tratamiento.

Fuente: Ramos, Raudel. Sepúlveda, Rubén. Y otros, 2003.

De acuerdo a la anterior tabla, existen unos parámetros que indican el grado de calidad del agua residual y a su vez, los posibles tratamientos a los cuales se debería someter dicha agua para su reutilización o para disminuir considerablemente su impacto en el medio ambiente. Dentro de estos parámetros se encuentran algunos compuestos que son considerados contaminantes de gran importancia para su remediación ya que ponen en riesgo el bienestar de las personas y el medio ambiente requiriendo en, casos tratamientos especiales o poco convencionales, los cuales se presentan a continuación:

Tabla 5. Contaminantes importantes en el tratamiento de aguas residuales

Sólidos en suspensión	Los sólidos en suspensión pueden dar lugar al desarrollo de depósitos de fango y de condiciones anaeróbicas cuando se vierten aguas residuales sin tratamiento al entorno acuático.
Materia orgánica biodegradable	Compuesta principalmente por proteínas, carbohidratos, grasa animales. En la mayoría de las ocasiones en función de la DBO(demanda bioquímica de oxígeno) y de la DQO(Demanda química de oxígeno). Si se descargan al entorno sin tratar su estabilización biológica pueden agotar los recursos naturales de oxígeno y al desarrollo de condiciones sépticas.
Patógenos	Pueden transmitirse enfermedades contagiosas por medio de los organismos patógenos presentes en el agua residual
Nutrientes	Tanto el oxígeno como el fósforo y el carbono, son nutrientes esenciales para el crecimiento. Cuando se vierten al entorno acuático, estos nutrientes pueden favorecer el crecimiento de una vida acuática indeseada. Cuando se vierten al terreno cantidades excesivas, también pueden provocar la contaminación del agua subterránea.
materia orgánica refractaria	Esta materia orgánica tiende a resistir los métodos convencionales de tratamiento. Por ejemplo agentes tensoactivos, fenoles y pesticidas agrícolas
Sólidos inorgánicos disueltos	Los constituyentes inorgánicos como el calcio, sodio y los sulfatos se añaden al agua de suministro como consecuencia del uso del agua, y es posible que deben eliminarse si se va a reutilizar el agua residual el agua residual.
Metales pesados	Son frecuentemente añadidos al agua residual en el curso de ciertas actividades comerciales e industriales y puede ser necesario eliminarlos si se pretende reutilizar el agua residual.

Fuente: Reynolds, Kelly A. 2002

Como se pudo observar en la tabla 5, unas de las sustancias de mayor importancia ambiental y sanitaria son los metales pesados dado la alta toxicidad de algunos de estos elementos tales como el bario, cadmio, cobre, mercurio, plomo, arsénico, plata, cromo, entre otros.

3.1.2.2. Contaminación del agua por metales pesados. Con el desarrollo acelerado del proceso de industrialización se ha producido paralelamente una

descarga de contaminantes en el medio acuático. A raíz de ese aumento, se han organizado congresos con el fin de reglamentar la descarga en el medio acuático de todo tipo de sustancia, que pueden repercutir negativamente sobre los organismos y el hombre mismo. Entre 1974 y 1975 se creó un convenio entre países europeos para reglamentar los mecanismos para prevenir y proteger el océano atlántico y el mar del norte de la contaminación, desde entonces se dio a conocer las sustancias que deben ser descargadas bajo estricta restricción. La llamada “lista negra” comprende sustancias que por su persistencia, toxicidad o facilidad de bioacumulación son tan peligrosas que no deben ser introducidas en ningún sistema (Hg, Cd). Una segunda lista es la “lista gris” que incluyen sustancias que pueden ser descargadas en el medio acuático, pero con extremas medidas de seguridad(As, Cr, Cu, Pb, Ni Y Zn),[10]. Como existe una gran variedad de procesos industriales que se generan en este tipo de contaminación, el control de la presencia de metales pesados en agua es difícil, [14].

3.1.3. PULPAS DE FRUTA

Son el producto pastoso, no diluido, ni concentrado, ni fermentado, obtenido por la desintegración y tamizado de la fracción comestible de frutas frescas, sanas, maduras y limpias.

3.1.3.1. Composición de las pulpas de fruta. Los jugos y pulpas de frutas deben presentar las siguientes características

3.1.3.1.1. Requisitos generales.

Tabla 6. Requisitos generales para jugos y pulpas de fruta

Residuos plaguicidas	Según Códex Alimentarius
Antioxidantes	Acido ascórbico, Limitado por BPM
Acidificantes	Citrico-Fumarico-Malico, limitados por BPM
Edulcorantes artificiales	Según Codex Alimentarius o Legislacio nacional
Colorantes	Artificiales no permitidos
Azúcar	Máximo 5 %
Conservantes	Acido ascórbico, Benzoico y sus sales, 1000 ppm. En mezcla 1250 ppm. Esteres del acido p-hidroxibenzoico, 1000 ppm
Materias extrañas	Max. 20 puntos negros, menores de 2 mm, en 10 gramos
Vitaminas	Según legislación nacional
Insectos o restos	No permitidos

Fuente: Colombia. Ministerio de salud. Resolución 7992.1991

3.1.3.1.2. Requisitos específicos.

Tabla 7. Características Físico-químicas de las pulpas de fruta

Frutas	Acidez titulable expresada como ácido cítrico anhidro (% m/m Mínimo)	Porcentaje mínimo de sólidos disueltos; lectura refractométrica a 20°C (Brix)
Banano	0.3	18
Curuba	1.0	8.0
Durazno	0.3	11.5
Fresa	0.65	7.0
Guanábana	0.2	13.0
Guayaba	0.5	8.0
Lulo	1.0	6.0
Mamey	0.2	13.0
Mandarina	0.5	9.0
Mango	0.3	12.5
Manzana	0.4	10.0
Mora	0.8	6.5
Papaya	0.05	7.0
Pera	0.2	10.0
Tamarindo	1.0	18.0
Tomate de Árbol	1.6	10.0

Fuente: República de Colombia. Resolución 7992.1991

3.1.3.1.3. Requisitos para contaminantes. Según la **resolución 7992 de 1991** en su **artículo 8**; en las pulpas de frutas no se permiten la adición de sustancias y aditivos diferentes a los indicados a continuación:

- Antioxidantes

Ácido ascórbico limitado por Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Cuando se declare como vitamina C en el producto, se debe adicionar mínimo el 60% de la recomendación fijada en la resolución No 11488 de 1984.

- Conservantes:

Se permite la adición de conservantes solo en pulpas no congeladas.

Ácido benzoico y sus sales de calcio, potasio y sodio en cantidad máxima de 1.000 mg/kg expresado como ácido benzoico.

Ácido sórbico y sus sales de calcio, potasio y sodio en cantidad máxima de 1.000 mg/kg expresado como ácido sórbico.

Cuando se empleen mezclas de ellos, su suma no deberá exceder de 1250 mg/kg

Anhídrido sulfuroso, en cantidad máxima de 60 mg/kg en productos elaborados a partir de concentrados

- Enzimas Grado Alimenticio.

De acuerdo con las permitidas en el Codex Alimentarius.

El artículo 9 establece un límite de defectos para las pulpas de fruta consistentes en un máximo de diez (10) defectos visuales, no mayores de 2 mm en 10 g de muestra analizada. En 100 g de producto no se admite presencia de insectos o sus fragmento, [20].

El **artículo 10** establece los límites para algunas de estas sustancias anteriormente mencionadas como contaminantes; los metales pesados en pulpas de fruta:

Tabla 8. Límites de concentración de metales en pulpas de fruta

Metales	Máximo mg/kg
Cobre	5
Plomo	0.3
Arsénico	0.1
Estaño	150

Fuente: República de Colombia. Resolución 7992.1991

Dada la constante generación de una gran cantidad de residuos y contaminantes provocados por la actividad humana a través de diversos procesos domésticos, industriales, agrícolas, comerciales, entre otros; la composición natural de las frutas ha variado, de tal forma que ya es necesario tener en cuenta la presencia de otras sustancias consideradas como contaminantes que puedan ser perjudiciales y en algunos casos tóxicas ya que ponen en riesgo la salud de las personas y el bienestar del medio ambiente.

3.1.3.1.3.1. Metales pesados en pulpas de fruta. Los seres humanos se animan a consumir más verduras y frutas, que son una buena fuente de vitaminas, minerales, fibras y además de otros beneficios para su salud. Sin embargo, estas plantas contienen metales esenciales y tóxicos en una amplia gama de concentraciones. La contaminación con metales pesados en frutas puede ocurrir por la irrigación de los cultivos con agua contaminada, adición de fertilizantes y pesticidas con metales, emisiones industriales, transporte, procesamiento de las cosechas, almacenamiento, venta, etc., [8].

Las plantas los captan de los suelos ya contaminados, así como de depósitos sobre partes de la planta expuestas al aire en un ambiente contaminado y cuya absorción se da principalmente en las raíces y frutos, [22].

Algunos metales son utilizados tanto en forma orgánica como forma inorgánica en fungicidas y en otros productos agroquímicos, por ejemplo compuestos organomercuriales como antifúngicos para semillas y el arsénico como herbicida de contacto, [15].

Manteniendo el punto de vista de la toxicidad potencial, la naturaleza persistente y el comportamiento acumulativo de los metales pesados, así como el consumo de verduras y frutas, es necesario probar y analizar estos alimentos para garantizar que los niveles de estos contaminantes cumple con los requisitos acordados internacionalmente. La publicidad en relación con el alto nivel de metales pesados en el medio ambiente ha creado una cierta aprensión y temor en la población en cuanto a la presencia de residuos de metales pesados en su alimentación diaria. El público está confundido y alarmado por su seguridad alimentaria, [8].

3.1.4. SULFATO DE ALUMINIO

El sulfato de aluminio es el producto obtenido generalmente por la reacción entre el ácido sulfúrico y una materia prima rica en aluminio como la bauxita. Este producto puede presentarse en forma sólida o líquida, [6].

El sulfato de aluminio se prepara a partir de hidróxido de aluminio, trihidrato de alúmina o minerales aluminíferos, tales como la arcilla y la bauxita. El mineral de aluminio se muele muy finamente y la digestión se hace con ácido sulfúrico a temperaturas elevadas. Los materiales insolubles se retiran mediante sedimentación. La solución flotante se decanta y vende en forma líquida o concentrada y se deja cristalizar en un producto sólido, seco e hidratado. El contenido de óxido de aluminio del sulfato en solución es limitado a un valor tal que evite la cristalización durante su transporte y almacenamiento, [6].

El sulfato de aluminio, producido en grandes cantidades, tiene la fórmula $Al_2(SO_4)_3 \times nH_2O$, en donde n tiene aproximadamente 14 aguas de cristalización en lugar de 18, que es la verdadera forma cristalina. El propósito de producir una forma de sulfato de aluminio que tenga 14 aguas de cristalización es doble. Primero, es estable y gana o pierde agua lentamente en condiciones de almacenamiento adversas. Segundo, el sulfato de aluminio que tiene 14 aguas de cristalización es aproximadamente 12 % más fuerte que el sulfato de aluminio con 18 aguas de cristalización, [6].

3.1.4.1. El sulfato de aluminio en el tratamiento de aguas residuales. Las principales operaciones unitarias que intervienen en el tratamiento de aguas residuales son las de tamizado, coagulación-floculación, sedimentación, filtración y desinfección. El proceso físico-químico de coagulación-floculación mediante el cual las partículas que son demasiado pequeñas para separarse por

sedimentación simple; requiere la adición de un producto químico coagulante que aporte iones con carga positiva al agua que contiene coloides con carga negativa. El coagulante más comúnmente empleado es el sulfato de aluminio, [1].

La coagulación de partículas coloidales y suspendidas en agua, utilizando diversas formas de sulfato de aluminio, se conoce desde el siglo XVII. Aunque no se poseen detalles históricos, en los primeros días en la purificación del agua mediante coagulación, se disolvían trozos o tabletas de sulfato de aluminio y se agregaban al agua. Los servicios públicos de Sommerville, en N.J., probablemente fueron los primeros en usar este método de tratamiento de agua con una base más o menos continua. Poco tiempo después, numerosas plantas adoptaron este método, incluyendo la Hackensack, la compañía de agua de N.J., y las de la antigua American Water Works y la Compañía Eléctrica, [6].

3.1.4.1.1. Coagulación. La coagulación es el proceso por medio del cual se desestabilizan las cargas eléctricas de los coloides, neutralizando las fuerzas que los mantienen separados. Los coagulantes cancelan las cargas eléctricas sobre la superficie del coloide. Esto se logra al añadir coagulantes químicos y aplicar energía de mezclado. Para complementar la acción del coagulante se requiere de la agitación y, de esta manera, destruir la estabilidad del sistema coloidal, esto hace que las partículas se aglomeren y choquen. Las especies coloidales que comúnmente se encuentran en el agua cruda pueden incluir arcillas, sílice, hierro y otros metales, además de sólidos orgánicos. Los coloides también pueden producirse en los procesos industriales de precipitación como, por ejemplo, el ablandamiento del agua con cal. Debido a su pequeño tamaño, los coloides siempre necesitan coagularse para poder flocular, alcanzar un mayor tamaño y una mayor velocidad de asentamiento, [20].

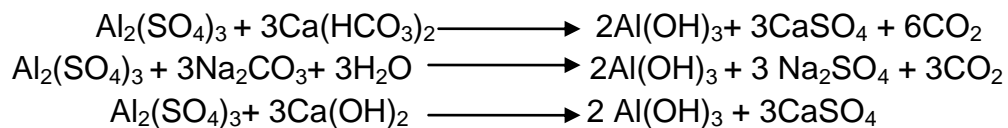
3.1.4.1.2. Floculación. La floculación es el proceso por medio del cual se llevan a cabo uniones efectivas entre las partículas o coloides previamente desestabilizadas en su carga eléctrica, forman así, aglomerados de partículas o coloides llamados flócs.

Puede ser que el flóc formado por la aglomeración de varios coloides no sea lo bastante grande como para asentarse con la rapidez deseada. Un coagulante, además de ayudar con la desestabilización de las cargas eléctricas, propicia la aglomeración de partículas en una red formando puentes de una superficie a otra y enlazándolas en flóc mayores. El objetivo de la floculación es formar grandes aglomerados que se sedimenten y puedan ser filtrados fácilmente.

Tanto la coagulación, como la floculación son estimuladas por un mezclado lento, que junta poco a poco los flócs formados, [20].

3.1.4.2. Acción del sulfato de aluminio sobre el agua residual. La mayoría de los coagulantes puede desarrollar la función de coagulante y floculante en forma conjunta. Su trabajo primario es la neutralización de la carga, coagulación, pero frecuentemente actúa simultáneamente en más de un coloide, formando puentes entre ellos y ayudando, de esta forma, a flocular.

Se requiere de alcalinidad para que la reacción del sulfato de aluminio proceda con éxito. La alcalinidad es una medida del contenido de bicarbonatos, carbonatos e iones hidróxido. Si el agua no cuenta con alcalinidad suficiente, al consumirse iones hidroxilo del agua, disminuirá el pH. Si este fuera el caso, el pH se puede volver más bajo del que se necesita para que el ion aluminio (Al^{3+}) se convierta en hidróxido de aluminio, así que si la alcalinidad natural del agua es inadecuada para la dosis de sulfato de aluminio, habrá que agregar algún producto con alto contenido de alcalinidad. El sulfato de aluminio es aplicable como coagulante en un rango de pH de 5.5 a 8.0 y reacciona al agregarle alcalinidad para producir un floc de hidróxido de aluminio, tal y como se ilustra en las siguientes reacciones:



Cuando se añade sulfato de aluminio al agua, ocurren una serie de reacciones con el agua misma, o con iones contenidos dentro del agua. La neutralización de la carga ocurre inmediatamente después de la adición del sulfato de aluminio al agua. Los iones de aluminio son formados casi instantáneamente después de la adición al agua, que al reaccionar pasan a formar parte de una serie de hidróxidos cargados. Los hidróxidos de aluminio positivamente cargados rápidamente adsorben en su superficie las partículas negativamente cargadas, neutralizándolas, [20].

3.1.4.3. Especificaciones del sulfato de aluminio. En Colombia la norma que establece los requisitos que debe cumplir y los ensayos a los cuales debe someterse el sulfato de aluminio utilizado para el tratamiento de aguas y otros procesos industriales, cuyo agente coagulante sea el Al_2O_3 ; es la norma NTC 531, Productos químicos de uso industrial, Sulfato de aluminio.

3.1.4.3.1. Requisitos físicos. El sulfato de aluminio es el producto de la reacción entre el ácido sulfúrico y un mineral rico en aluminio como la bauxita. El ácido sulfúrico empleado en la reacción no deberá ser residual. El sulfato de aluminio en

estado sólido deberá estar seco, limpio, en forma de terrón, grano o polvo. El sulfato de aluminio en agua corresponde a una solución saturada del mismo.

3.1.4.3.1.1. Sulfato de aluminio en terrón. Tendrá un tamaño de partícula tal que el 100 % pase a través de una malla de 7,62 cm y que por lo menos el 75 % quede retenido en el tamiz de 1,27 cm (véase la norma ASTM E11).

3.1.4.3.1.2. Sulfato de aluminio en forma de grano: Este sulfato de aluminio tendrá un tamaño de partícula tal que mínimo el 90 % pase a través del tamiz N°10, que el 100 % pase a través del tamiz N°4 y que por lo menos el 90 % quede retenido en el tamiz número 100.

3.1.4.3.1.3. Sulfato de aluminio en polvo: Este sulfato de aluminio tendrá un tamaño de partícula tal que el 100 % pase a través de un tamiz de malla número 10 (2 mm).

3.1.4.3.2. Requisitos químicos. Los requisitos químicos del sulfato de aluminio en cuanto al contenido de Al_2O_3 soluble, hierro soluble, material insoluble y basicidad que debe de cumplir según el **certificado de cumplimiento** son:

Tabla 9. Requisitos químicos del sulfato de aluminio

Sulfato requisitos	Grado papel		Tipo A		Tipo B	
	Sólido	Solución	Sólido	Solución	Sólido	Solución
% Al_2O_3 mínimo	17	8,2	17	17	15,2	7,3
Hierro como Fe_2O_3	0,008	0,004	0,75	0,75	2	1,2
% Materia insoluble	0,1	0,05	0,5	0,5	8	0,1
% Al_2O_3 (b)mínimo	0,05	0,025	0,05	(1)	0,05	(1)

Fuente: Norma técnica colombiana 531. 1995

(1) Acordado entre el vendedor y comprador

Según esta norma las directrices que deben consultarse como referencia para el rechazo son las normas **ASTM E11** y la **ASTM E200**, las cuales en su última versión forman parte de la norma incluyendo sus especificaciones. En caso de conflicto las especificaciones de esta norma prevalecerán, [6].

3.1.4.3.3. Impurezas del sulfato de aluminio. La presencia de impurezas en el agua tratada con químicos está muy influida por el método de manufactura y calidad de los materiales utilizados.

El sulfato de aluminio agregado al agua no debe contener sustancias orgánicas o inorgánicas, en cantidades capaces de producir deterioro o efectos nocivos para la salud de los consumidores del agua que ha sido tratada apropiadamente con dicho producto, ya que estas impurezas contenidas en los químicos incorporados al agua, se transfieren a ella igualmente. El comité de la norma AWWA de las sales de hierro y aluminio reconoció que el establecimiento de los requerimientos de purzas relacionados con la salud para el sulfato de aluminio depende de la toxicidad de los contaminantes y del modo de uso de dichos químicos.

3.1.4.3.3.1. Impurezas generales. El sulfato de aluminio, puede contener materiales no solubles o sustancias orgánicas en cantidades que no produzcan deterioro y efectos en la salud del consumidor del agua que va a tratarse con el sulfato de aluminio.

3.1.4.3.3.2. Impurezas específicas. El sulfato de aluminio no debe contener estas sustancias en cantidades que excedan los límites de las normas correspondientes: arsénico, cadmio, cromo, plomo, mercurio, selenio, plata y monómero residual.

Estos elementos como ya se pudo observar son contaminantes de importancia en el medio ambiente por lo que es importante que los compradores y los proveedores trabajen conjuntamente para asegurar que las impurezas que contengan los químicos utilizados en el tratamiento del agua tengan niveles de seguridad para la salud. Los límites de impurezas han estado basados en los contenidos máximos recomendados e identificados para el sulfato de aluminio en la última edición de la wáter Chemical Códex, [6].

3.1.5. EFECTOS DE LOS METALES PESADOS EN EL MEDIO AMBIENTE Y SERES HUMANOS

La exposición a metales pesados en determinadas circunstancias es la causa de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales e, incluso, de daños directos en el hombre. Hoy día se conoce mucho más sobre los efectos de estos elementos, cuya exposición está relacionada con problemas de salud como retrasos en el desarrollo, varios tipos de cáncer, daños en el riñón, e, incluso, con casos de muerte. Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse, [23].

Desde el punto de vista biológico, los metales pesados están recibiendo gran atención debido a su potencial toxicidad. Aunque no suelen abundar en estado natural, salvo en zonas localizadas, por su interés industrial, la acumulación de residuos y concentración en los fangos de depuradoras están generando una notable creciente contaminación antropogénicas de la biosfera. La toxicidad de los metales pesados se basa en que estos influyen de diversas formas en los procesos fisiológicos de los organismos. Los metales más peligrosos para toda forma de vida son el mercurio, el cadmio y el plomo, [12].

Los metales pesados procedentes de la actividad industrial penetran en el suelo por deposición o como dispersión directa, que actúa como vector para la contaminación de las aguas y el suelo; pasa a los vegetales y animales siguiendo la cadena alimenticia a los humanos, [24].

En los seres humanos, los metales pesados intoxican numerosos procesos químicos del cuerpo. Los sitios más vulnerables son los nervios, las hormonas y la producción de energía. Debido a la magnitud y la generalización de sus efectos, la toxicidad de los metales pesados se puede manifestar con una serie de condiciones. Ellos puede ser la causa primaria de enfermedades, tales como el autismo, ADD, retrasos del desarrollo, la esclerosis múltiple, fatiga crónica, neuropatía y la demencia; y pueden agravar una condición de co-existencia, tales como alergias, insomnio, depresión y cáncer. Los síntomas pueden varían de semana a semana debido a otros factores como el estrés, cambios hormonales, la dieta, la exposición a otras sustancias tóxicas y otras enfermedades, [25].

3.1.5.1. Toxicidad de metales pesados. Los metales pesados son de toxicidad extrema porque, como iones o en ciertos compuestos, son solubles en agua y el organismo los absorbe con gran facilidad. Dentro del cuerpo, tienden a combinarse con las enzimas y a inhibir su funcionamiento. Hasta dosis muy pequeñas producen consecuencias fisiológicas o neuronales graves, [24].

El contenido excesivo de estos metales en los alimentos se asocia con la etiología de un número de enfermedades, sobre todo con enfermedades cardiovasculares, renales, nerviosas así como enfermedades de los huesos, [8].

Una importante fuente de confusión sobre la toxicidad de los metales pesados, es que algunas personas son más afectadas que otros. Las toxinas se estudian una a una, y por lo tanto los efectos de cientos son prácticamente inconmensurables, y varían de persona a persona. Por lo tanto, cuando las grandes poblaciones se estudian, los efectos tóxicos en algunas personas se pueden desestimar gracias a la salud relativa de la mayoría, [25].

Un grave envenenamiento puede surgir de la ingestión de cantidades cercanas a 100 mg de trióxido de arsénico; al cual se le atribuyen propiedades

carcinogénicas. El cadmio es extremadamente tóxico y acumulable en los riñones e hígado y con el consumo prolongado de bajos niveles, conlleva a disfunciones renales. Por su parte los compuestos hexavalentes de cromo han demostrado ser carcinogénicos por inhalación y corrosivos para los tejidos, [4].

El envenenamiento por mercurio en Japón en las décadas de los 50 s se dio como resultado del consumo de mariscos que habían acumulado mercurio, provocando severos daños neurológicos, locura y defectos congénitos incapacitantes, [24], por lo que es considerado como un contaminante altamente tóxico, [4]. En cuanto a la plata, ésta puede causar Argyria, una coloración azul-verdosa de la piel que imparte una apariencia fantasmal. Efectos tóxicos sobre peces en agua dulce han sido observados a concentraciones tan bajas como $0.17\mu\text{g/L}$, [4].

El plomo es considerado como altamente tóxico por ingestión y un veneno acumulativo que hace que el retraso mental debido al saturnismo provocado por el plomo sea actualmente bien conocido, [24].

3.1.6. TECNICA INSTRUMENTAL

La técnica instrumental empleada para determinar las concentraciones de plata, arsénico, cadmio, cromo, plomo y mercurio fue la de espectroscopia de absorción atómica, con lámpara de cátodo hueco, debido a que esta técnica ha sido el método más ampliamente utilizado en el último medio siglo para la determinación de elementos metálicos en muestras analíticas, [26].

Esta técnica permite la determinación de, al menos, unos 70 elementos en cantidades tan bajas como 10^{-14} g con razonable selectividad, pequeña manipulación y mínimo tamaño de muestra, además de la relativa facilidad y rapidez para utilizar el espectrofotómetro de absorción atómica. Aunque inicialmente se utilizó solo para la determinación de elementos metálicos, se han desarrollado métodos indirectos que permiten la cuantificación de una gran variedad de aniones y compuestos orgánicos, [27].

3.1.6.1. Principio. Los principios teóricos de la absorción atómica fueron establecidos en 1840 por Kirchhoff y Bunsen en sus estudios del fenómeno de auto-absorción en el espectro de los metales alcalinos y alcalinos-térreos. La base de la espectroscopia de absorción atómica (EAA) la entregó Kirchhoff al formular su ley general: « *cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda* ». El significado práctico de esto fue recién desarrollado en 1955 por el australiano Walsh, apareciendo los primeros instrumentos comerciales a principios de 1960, [28].

Las técnicas espectroscópicas atómicas consisten en transformar la muestra en átomos en estado vapor y medir la radiación electromagnética absorbida o emitida

por dichos átomos. La absorción atómica es el proceso que ocurre cuando átomos en estado fundamental absorben energía radiante a una longitud de onda específica. La cantidad de radiación absorbida aumenta al hacerlo el número de átomos del elemento presente en el camino óptico, utilizándose esto con fines analíticos cuantitativos. En la práctica las muestras se vaporizan y se convierten en átomos libres, proceso denominado atomización. Sobre el vapor atómico originado se hace incidir la radiación electromagnética que será absorbida parcialmente por el analito. Para la obtención del vapor atómico pueden utilizarse distintas fuentes, tales como una llama, energía eléctrica o un plasma, dando lugar a distintas técnicas, [27].

3.1.6.2. Fundamento. 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”. Si un átomo que se encuentra en un estado fundamental absorbe una determinada energía, éste experimenta una transición hacia un estado particular de mayor energía. Como este estado es inestable, el átomo regresa a su configuración inicial, emitiendo una radiación de una determinada frecuencia. La frecuencia de la energía radiante emitida corresponde a la diferencia de energía entre el estado excitado (E_1) y el estado fundamental (E_0) como se encuentra descrito en la ecuación de Planck:

$$E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

h = constante de Planck

ν = Frecuencia

c = velocidad de luz

λ = longitud de onda

Según la teoría atómica, el átomo puede alcanzar diferentes estados (E_1, E_2, E_3, \dots) y de cada uno de ellos emitir una radiación ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \dots$) característica, obteniéndose así un espectro atómico, caracterizado por presentar un gran número de líneas discretas. De la ecuación de Planck, se tiene que un átomo podrá absorber solamente radiación de una longitud de onda (frecuencia) específica. En absorción atómica interesa medir la absorción de esta radiación de resonancia al hacerla pasar a través de una población de átomos libres en estado fundamental. Estos absorberán parte de la radiación en forma proporcional a su concentración atómica, [28].

La mayor parte de la información útil desde el punto de vista analítico se obtiene operando en las regiones del ultravioleta, visible y la correspondiente a los rayos X. A diferencia de los espectros moleculares en las regiones UV y visible, que suelen consistir en una serie de bandas anchas, los espectros atómicos están constituidos por picos estrechos y bien definidos, originados por transiciones entre distintos niveles de energía electrónica (en los átomos aislados no existen, evidentemente, niveles vibracionales ni rotacionales, esto explica la gran selectividad que suelen presentar estas técnicas). Así mismo, la sensibilidad también suele ser elevada y depende del número de átomos en estado fundamental (técnicas de absorción) y en estado activado (técnicas de emisión). Estos tipos de átomos pueden estimarse empleando la ecuación de Boltzmann,

$$N^* = N \cdot e^{-\Delta E/kT}$$

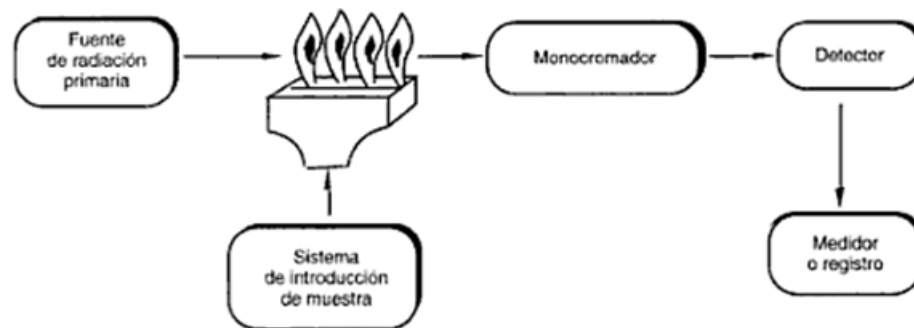
Donde N^* es el número de átomos excitados, N el número de átomos en estado fundamental, A , una constante para cada sistema particular, ΔE la diferencia de energía entre dos niveles, k la constante de Boltzmann y T la temperatura.

A temperaturas relativamente bajas (inferiores a 4000°C) la fracción de átomos en estado fundamental suele ser muy elevada para casi todos los elementos, lo cual hace que no sea necesario controlar rigurosamente la temperatura, [27]. La relación entre absorción y concentración se encuentra definida en la Ley de Lambert-Beer. Como la trayectoria de la radiación permanece constante y el coeficiente de absorción es característico para cada elemento, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes, [28].

3.1.6.3. Instrumentación. A continuación los principales componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica:

- Una **fuentes de radiación** que emita la línea espectral del elemento de interés
- Un **sistema de atomización**, que suministre energía suficiente para la disociación del analito y la formación de átomos libres.
- Un **monocromador** para aislar la línea espectral medida.
- Un **detector acoplado** con un sistema medidor o de registro de los datos obtenidos

Figura 1. Componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica



Analogamente a lo que sucede con los espectrofotómetros que miden absorción molecular, existen comercializados instrumentos de absorción atómica de haz sencillo y de doble haz. En los de haz sencillo se mide el cambio producido en la intensidad del haz procedente de la fuente de radiación cuando interacciona con el vapor atómico del elemento a analizar. En los sistemas de doble haz, el haz procedente de la fuente de radiación se divide en dos, mediante un espejo giratorio, haciendo pasar uno a través de la muestra (vapor atómico en llama) y desviando el otro alrededor de la llama o el horno de grafito. Ambos haces se recombinan posteriormente y se mide la relación entre ellos.

Operando con el sistema de doble haz se compensa cualquier fluctuación de la fuente de radiación, así como del detector como del sistema electrónico. Sin embargo es evidente que no se corrige el ruido de fondo producido en la llama, ya que ésta se encuentra únicamente en uno solo de los haces. En la práctica ordinaria, muchos espectrofotómetros AA operan con haz sencillo, ya que para bajos valores de absorbancia, se obtienen, límites de detección más favorables, si bien cuando es necesario una corrección de fondo, los instrumentos de doble haz posibilitan la incorporación de sistemas para realizar dicha compensación, [27].

3.1.6.3.1. Fuente de radiación. La parte más crítica de un instrumento de absorción atómica es la fuente, ya que es muy difícil medir con buena exactitud líneas de absorción tan estrechas como las que presentan los átomos. El problema fue resuelto aplicando el principio de que *cada especie química es capaz, en condiciones adecuadas, de absorber sus propias radiaciones*. Bajo esta premisa se han desarrollado las lámparas de cátodo hueco y las lámparas de descarga sin electrodos.

3.1.6.3.1.1. Lámpara de cátodo hueco. Consiste en un tubo de vidrio conteniendo argón o neon a baja presión (1-5 torr) y dos electrodos. El ánodo

suele ser de wolframio, y el cátodo, de forma cilíndrica, está constituido con el metal que desea determinar. Cuando se aplica una diferencia de potencial suficiente entre los dos electrodos tiene lugar la ionización del gas y los cationes gaseosos son acelerados hacia el cátodo, adquiriendo suficiente energía para arrancar algunos átomos metálicos del material catódico. Algunos de estos átomos metálicos son excitados al chocar con los iones gaseosos, y al retornar a su estado fundamental emiten radiación característica.

3.1.6.3.1.2. Lámpara de descarga sin electrodo. Consiste en tubo de cuarzo herméticamente cerrado conteniendo unos pocos miligramos del elemento de interés y un gas inerte a baja presión. Cuando el gas noble se ioniza, y los iones producidos son acelerados por el campo de radiofrecuencia hasta que adquieren la energía suficiente para excitar los átomos del metal, [27].

3.1.6.3.2. Sistemas de atomización. Se utilizan atomizadores con y sin llama para producir átomos libres del metal en el haz de la radiación. El atomizador con llama está compuesto de un nebulizador y un quemador. La solución de la muestra es convertida primero a un fino aerosol, y luego llevada a la llama que entrega la energía suficiente para evaporar el solvente y descomponer los compuestos químicos resultantes en átomos libres en su estado fundamental. Las mezclas de gases más usadas para producir la llama adecuada son: aire/propano, aire/acetileno y óxido nítrico/acetileno. Generalmente, la elección dependerá de la temperatura requerida para la disociación de los compuestos y de las características químicas del elemento a determinar. Las técnicas para generar la atomización más empleadas para determinar la mayoría de estos metales en diferentes tipos de matrices son:

3.1.6.3.2.1. Atomización 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, [28].

3.1.6.3.2.2. Atomización con vaporizadores electrotermos. Un vaporizador electrotermico (ETV) es un evaporador situado en una cámara cerrada a través de la cual un gas inerte, como el argón, transporta la muestra vaporizadora al

atomizador. Una pequeña muestra líquida o sólida se sitúa sobre un conductor, como un filamento de tantalio o una barra de carbono. Una corriente eléctrica entonces evapora la muestra rápida y completamente mezclándola con el argón. El sistema electrotermico produce una señal discreta en vez de una continua. Es decir la señal de la muestra atomizada aumenta hasta un máximo y disminuye hasta cero hasta que la muestra sale del atomizador. Estos atomizadores presentan diversas ventajas, como una alta eficiencia en generar vapor atómico, permite el empleo de pequeños volúmenes de muestra y análisis directo de muestras sólidas, [28]. El Shimadzu AA- 7000 dispone de tres tipos de horno de grafito que se pueden emplear dependiendo del estado de las muestras y la naturaleza del analito; el high-density graphite tube; apropiado para todos los elementos, efectivo especialmente para aquellos de bajo punto de ebullición, el pyro-coated graphite tube; efectivo para elementos que forman carburos rápidamente; y el Platform tube que restringe ciertas interferencias químicas debidas a sustancias coexistentes por lo que es efectivo para muestras ambientales tales como agua de mar o de carácter residual.

3.1.6.3.2.3. Atomización con generación de hidruros. La técnica de generación de hidruros proporciona un método para inducir muestras que contienen As, Sb, Sn, Se, Bi, y Pb en un atomizador en forma de gas. Dicho procedimiento mejora los límites de detección de estos elementos de 10 a 100 veces. Debido a que varias de estas especies son altamente tóxicas, es de considerable importancia su determinación a concentraciones bajas. Generalmente se pueden producir rápidamente hidruros volátiles adicionando una disolución acuosa acidificada de la muestra a un volumen pequeño de una disolución acuosa del 1 % de borohidruro de sodio en un frasco de vidrio. El hidruro volátil es arrastrado a la cámara de atomización por un gas inerte. La cámara generalmente es un tubo de sílice en un horno o una llama, donde se descompone el hidruro originándose los átomos del analito. La concentración del mismo se determina por la medida de la absorción o de la emisión. El Shimadzu AA-7000 consta de un generador de hidruros el HGV-1 que se acopla sin mayores inconvenientes al espectrofotómetro, sin embargo es fundamental cerciorarse del correcto funcionamiento del sistema de mangueras que emplea para transportar reactivos y muestra.

3.1.6.3.3. Monocromadores. La única finalidad del monocromador es aislar la línea de resonancia del elemento de interés. Para la mayor parte de los elementos, el problema suele ser sencillo, pues las diferentes líneas suelen estar bastante separadas, ello hace que no sea necesario un monocromador de muy alta resolución, y, en consecuencia, no demasiado costoso, siendo este uno de los

factores que han contribuido a que la técnica sea muy utilizada en la práctica ordinaria del análisis. Las anchuras de rendija juegan un papel importante, al determinan la fracción del espectro que incide en el detector. Algunos instrumentos comerciales están provistos de dos tipos de rendijas, para usarlas con llama o con atomización electrotérmica respectivamente, [27].

3.1.6.3.4. Detectores. Como detector, se emplea un fotomultiplicador que produce una corriente eléctrica, la cual es proporcional a la intensidad de la línea aislada por el monocromador. Un amplificador selectivo amplifica la señal pasando luego a un dispositivo de lectura que puede ser un voltímetro digital o un registrador u otros, [23]. El detector universalmente utilizado es el tubo fotomultiplicador, ya que ningún otro sistema ofrece la misma sensibilidad en el margen de longitudes de onda empleadas en esta técnica, [27].

3.1.6.4. Aplicaciones. La EAA constituye una de las técnicas más empleadas para la determinación de más de 60 elementos, principalmente en el rango de $\mu\text{g/ml}$ - ng/ml en 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, [28].

3.1.6.5. Interferencias. Las interferencias que pueden producirse en la espectroscopia de absorción atómica se clasifican en físicas, químicas y espectrales. A continuación se consideran la influencia de estos factores sobre la absorbancia de los elementos y la forma de tratarlos adecuadamente, [28].

3.1.6.5.1. Interferencias físicas. Este tipo de interferencias está relacionado con la efectividad con que la solución es transportada a la llama y son causadas por diferencias en las propiedades físicas de las soluciones: viscosidad, tensión superficial o presión de vapor. Un ejemplo de estas interferencias se observa en la determinación de Mg y Ca en presencia de ácido fosfórico. A mayor concentración de H_3PO_4 la viscosidad de la solución aumenta, disminuyendo la velocidad de aspiración de ella y una fracción menor llega a la llama, produciéndose una absorbancia menor de la muestra.

También la presencia de solventes orgánicos produce este tipo de interferencias debido a un aumento en la eficiencia de la nebulización (menor viscosidad y menor tensión superficial), lo que produce un aumento de la absorbancia. Una forma de compensar este tipo de interferencia es preparar las soluciones estándar con los mismos componentes de la matriz de la solución problema, [28].

3.1.6.5.2. Interferencias químicas. Interferencia química es cualquier alteración en el número total de átomos libres formados por unidad de volumen debido a la formación de compuestos químicos termoestables. Las causas más comunes de éstas son:

3.1.6.5.2.1. Disociación incompleta de la molécula formada o formación de una sal difícil de fundir. El efecto del fosfato en la determinación de calcio es un ejemplo de este tipo de interferencia. El calcio con el fosfato forman el fosfato de calcio, el cual se transforma en pirofosfato de calcio, que es relativamente estable en una llama aire/acetileno. Así la cantidad de átomos libres de calcio generados en la llama será menor que la obtenida con una solución de calcio de igual concentración, pero sin presencia de fosfato, provocando una disminución de la señal.

Existen otros componentes refractarios que dan también una disminución de la señal de absorción del elemento de interés. Tal es el caso de silicatos, aluminatos y piro sulfatos de calcio, magnesio, estroncio y bario.

3.1.6.5.2.2. Reacción espontánea de los átomos libres con otros átomos o radicales presentes en el medio ambiente. Esta interferencia es causada por la formación de óxidos e hidróxidos u ocasionalmente carburos o nitruros, debido a la reacción de los átomos libres con los productos de la combustión de la llama. Aproximadamente unos 30 metales no se pueden determinar con llama aire/acetileno (ejemplo: aluminio, silicio, boro, elementos lantánidos, etc.). La magnitud de la interferencia va a depender del tipo de estequiometría de la llama. Las interferencias químicas pueden ser minimizadas por las siguientes formas:

Empleo de llamas con mayores temperaturas. Como ejemplo tenemos la llama acetileno/óxido nítrico, la que es capaz de descomponer totalmente los compuestos refractarios. Agregar a la solución muestra un elemento "buffer", el cual forma con el elemento interferente un compuesto más estable que con el elemento a determinar. El ejemplo más conocido es la adición de lantano o estroncio en la determinación de calcio en presencia de fosfato. Preparar las soluciones estándar de modo tal que su composición sea lo más semejante con la de la solución problema. Esta alternativa es difícil de aplicar debido a que requiere un conocimiento completo de la muestra, [28].

3.1.6.5.2.3. Interferencia de ionización. Un átomo neutro en su estado fundamental puede ser ionizado a temperaturas elevadas. Estos iones exhiben propiedades espectroscópicas diferentes a un átomo neutro y no pueden ser

determinados por espectroscopia de absorción atómica. Así, el número total de átomos disponibles para la absorción de la radiación por unidad de volumen disminuye, lo que produce una pérdida de sensibilidad. Esta interferencia depende tanto de la temperatura de la llama como del potencial de ionización del elemento en estudio.

La ionización puede ser detectada notando que la curva de calibración tiene una desviación negativa a concentraciones altas, dado que la fracción de átomos ionizados es menor a concentraciones mayores. Estas interferencias se pueden eliminar agregando a todas las soluciones estándar y a la muestra un exceso del elemento que sea fácilmente ionizable en la llama, por ejemplo: el sodio, potasio, litio o cesio, o mediante el empleo de una llama de menor temperatura, [28].

3.1.6.5.3. Interferencias espectrales. En este tipo de interferencias, la radiación del elemento a determinar es directamente influenciada, existiendo interferencias espectrales de línea e interferencias espectrales de banda:

3.1.6.5.3.1. Las interferencias espectrales de línea. Ocurren cuando hay superposición de dos líneas atómicas o cuando éstas no son resueltas por el monocromador. Un ejemplo para el primer caso se tiene en la determinación de trazas de zinc en una matriz de hierro, debido a que la línea de absorción del hierro (248.3 nm) se superpone a la línea de resonancia del zinc (213.9 nm). El empleo de lámparas multielementales fabricadas con una combinación inadecuada de elementos puede producir interferencias del segundo tipo, si dentro de la banda espectral del monocromador se encuentra una línea de resonancia de otro elemento junto a la del elemento a determinar.

En general este tipo de interferencias no son frecuentes debido a la naturaleza muy específica de la longitud de onda que se usa en espectroscopia de absorción atómica. Si se llegan a presentar se pueden eliminar seleccionando una segunda línea de resonancia del elemento de interés (probablemente se obtenga mayor sensibilidad o empleando una ranura del monocromador más angosta).

3.1.6.5.3.2. Las interferencias espectrales de banda. Se producen debido a la absorción de la radiación por moléculas o radicales, y por dispersión de la radiación por sólidos. Para ambos efectos, que en principio son distintos, se emplea el término absorción de fondo. Aquí existe una pérdida de radiación no específica que lleva a absorbancias mayores que la absorbancia obtenida por el analito. La señal está compuesta por la absorción del elemento a determinar más la absorción no específica.

La absorción molecular ocurre cuando una especie molecular en el atomizador posee un perfil de absorción que se superpone al del elemento de interés. El espectro molecular del hidróxido de calcio muestra un máximo de absorción en la línea de resonancia del bario. Este problema es más serio en la región espectral bajo los 250 nm, donde concentraciones altas de metales alcalinos y de otras sales muestran una alta absorción molecular. La dispersión de la luz ocurre cuando partículas de sólidos causan una deflexión de parte de la radiación de la fuente fuera del eje del sistema monocromador-detector. Estos problemas son relevantes con muestras conteniendo altas concentraciones de elementos refractarios, [28].

3.1.6.5.4. Corrección de la absorción de fondo (BG). Los métodos más empleados en la corrección de la absorción de fondo (BG) son:

3.1.6.5.4.1. Método de corrección de doble línea. En este método se realiza la medición de una línea de emisión no absorbida por el analito, cuyo valor se resta al valor de la medición obtenida a la longitud de onda de resonancia del analito. El método tiene la desventaja que a veces no es fácil disponer de una línea de no resonancia cercana a la línea de resonancia del analito.

3.1.6.5.4.2. Método de corrección continua de fondo. La forma más eficaz para medir la absorción de fondo es realizar la medición empleando una lámpara de deuterio o de hidrógeno que emite un espectro continuo bajo los 320 nm. En estos instrumentos ambas fuentes radiantes (lámpara de cátodo hueco (LCH) y de deuterio (LD) son moduladas a la misma frecuencia, pero desfasadas, recorriendo el mismo camino óptico a través de la muestra en el monocromador para llegar al detector. Este observa alternadamente en el tiempo las dos fuentes radiantes. La absorción de fondo disminuye la intensidad de ambas fuentes. La electrónica del instrumento separa ambas señales y compara la absorción de ambas fuentes entregando una señal corregida con respecto a la absorción de fondo, [28].

3.2. MARCO LEGAL

Para estar en capacidad de ejercer un control efectivo en el cumplimiento de las exigencias relacionadas con el respeto hacia el medio ambiente, el estado colombiano en la Constitución Política de 1991 tuvo en consideración, el manejo y conservación de los recursos naturales y el medio ambiente, a través de los siguientes principios fundamentales:

Derecho a un ambiente sano, en su Artículo 79, la Constitución Nacional (CN) consagra que: " Todas las personas tienen derecho a gozar de un ambiente sano.

Es deber del Estado proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las áreas de especial importancia ecológica y fomentar la educación para el logro de estos fines ”.

El medio ambiente como patrimonio común, la CN incorpora este principio al imponer al Estado y a las personas la obligación de proteger las riquezas culturales y naturales (Art. 8),

Desarrollo Sostenible, la CN consagró en su Art. 80 que: “ El Estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación o sustitución, [29].

3.2.1. NORMATIVIDAD COLOMBIANA DE AGUAS RESIDUALES

El ministro de salud, reglamentó por medio de el **decreto 1594 del 26 de junio de 1984** los usos del agua y residuos líquidos, [30].

En su **artículo 20** da a conocer las sustancias que son de interés sanitario y cataloga como *usuario de interés sanitario (artículo 21)*; aquel cuyos vertimientos contengan las sustancias señaladas en el **Artículo 20**.

Algunas de las sustancias de interés sanitario son:

- Arsénico
- Bario
- Cadmio
- Cianuro
- Cobre
- Cromo
- Mercurio
- Plomo
- Selenio
- Acenafteno
- Acroleína
- Acrilonitrilo
- Benceno
- Bencidina
- Níquel
- Tetracloruro de carbono
- Plata

El **capítulo VI** se enfoca en el vertimiento de residuos líquidos, el **artículo 73** en las normas mínimas que debe cumplir todo vertimiento a un cuerpo de agua. En el **artículo 74** expresa la concentración para el control de carga para las sustancias de interés sanitario, [30], las cuales son:

Tabla 10. Límites de concentración para el control de carga para las sustancias de interés sanitario

Sustancia	Expresada como	Concentración (mg/L)
Arsénico	As	0.5
Cadmio	Cd	0.1
Cromo	Cr ⁺⁶	0.5
Plata	Ag	0.5
Plomo	Pb	0.5
Mercurio orgánico	Hg	No detectable
Mercurio	Hg	0.02

Fuente: República de Colombia. Decreto número 1594.1984

Sin embargo éste decreto que en su momento reglamentó la prevención y control de la contaminación fue objeto de varias modificaciones en algunos de sus artículos, la última modificación realizada fue el decreto **3930 del 25 de octubre de 2010**. Sin embargo los artículos relacionados con los contaminantes y la concentración máxima permitida (**artículos 73 y 74**), no fueron objeto de ésta modificación.

3.2.2. NORMATIVIDAD PARA EL SULFATO DE ALUMINIO

El Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, **ICONTEC**, es el organismo nacional de normalización, según el Decreto 2269 de 1993. La **NTC 531 PRODUCTOS QUÍMICOS PARA USO INDUSTRIAL. SULFATO DE ALUMINIO** (Quinta actualización) fue ratificada por el Consejo Directivo de 1995-11-29.

Acerca de las **Impurezas** sugiere que el sulfato de aluminio suministrado de acuerdo con las especificaciones de esta norma, puede contener materiales no solubles o sustancias orgánicas en cantidades que no produzcan efectos y deterioro en la salud del consumidor del agua que va tratarse con el sulfato de aluminio. El Límite de impurezas específicas de esta norma, dice que no debe contener impurezas específicas que excedan límites (en masa), cuando la dosificación no exceda a 150mg/L calculado con base en $Al_2O_3(SO_3)_3 \cdot 14H_2O$. Cuando se considere la posibilidad de variar los niveles de dosificación, deberá consultarse el códex de la química del agua. Esta norma contiene química específica y recomienda los niveles máximos de impurezas permitidos para diferentes sustancias.

Tabla 11. Límites de concentración de metales en sulfato de aluminio

Metal pesado contaminante	Límite máximo de concentración (mg/Kg)
Arsénico	30
Cadmio	7
Cromo	30
Plomo	30
Mercurio	1
Selenio	7
Plata	30

Fuente: Norma técnica colombiana 531. 1995

No es posible establecer un nivel de impureza máximo para todas las posibles impurezas no comunes e inesperadas. El cálculo del nivel RMIC (contenido máximo de impurezas recomendado) incluye un factor de 10, el cual refleja el

hecho que especifica el comité del codex, acerca de que no más de un 10% del máximo valor del contaminante (MLC) puede ser aportado por una impureza en uno de los químicos empleados en el tratamiento del agua. Estos límites de impureza han estado basados en los contenidos máximos recomendados e identificados para el sulfato de aluminio en la última edición del wáter chemical codex, [6].

3.2.3. NORMATIVIDAD PARA PULPAS DE FRUTA

Al hablar de una dieta saludable, inherentemente se supone que los consumidores, mientras reciben los nutrientes adecuados, no deben desarrollar enfermedades transmitidas como consecuencia de consumir alimentos contaminados con sustancias nocivas. Para cumplir con esta expectativa, las frutas y los vegetales deben ser producidos en condiciones que cumplan con la calidad y los criterios pertinentes de seguridad e inocuidad. Dado esto los productores y los gobiernos han respondido en el interés de la protección del consumidor mediante el desarrollo de políticas para fomentar y apoyar el fortalecimiento de la garantía de calidad dentro de la industria de frutas y verduras. La comunidad internacional ha desarrollado los estándares de calidad y, más recientemente, en los aspectos de inocuidad de las frutas y verduras frescas a través de la Comisión del Codex Alimentarius (CAC). Las normas se han desarrollado para proteger a los consumidores y facilitar el comercio internacional. La Organización Mundial del Comercio (OMC) sobre Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MSF) ha alentado a los países miembros a basar sus medidas sanitarias y fitosanitarias en las normas internacionales desarrolladas, a fin de garantizar su justificación científica y avanzar en la armonización de normas sanitarias y fitosanitarias, [31]. Según la Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and vegetables of the European Union; Los niveles máximos de algunos de los metales pesados en pulpas de fruta, [32] son:

Tabla 12. Valores máximos de metales pesados en pulpas de fruta

Compuesto	Valor Máximo (ppb)
Arsénico	0.1
Plomo	0.2
Cobre	5.0
Zinc	5.0
Estaño	1.0
Mercurio	0.01
Cadmio	0.02

Fuente: AIJIN, 1996

A nivel nacional el ministerio de salud de Colombia en su resolución 7992 del 21 de Junio de 1991 por la cual reglamentó parcialmente el **Título V de la Ley 09 de 1979** en lo relacionado con la elaboración, conservación y comercialización de Jugos. Concentrados, Néctares, Pulpas, Pulpas Azucaradas y Refrescos de Frutas. Según esta resolución en el contenido de contaminantes máximo para arsénico en pulpas de fruta es 0,1 mg/kg y para el plomo es 0,3 mg/Kg, [21].

2. METODOLOGIA

Para el desarrollo del presente trabajo se realizó una serie de etapas, las cuales favorecieron la determinación experimental en el laboratorio, la correcta utilización de la información obtenida y su adecuada organización, las etapas cuatro etapas fueron las siguientes:

4.1. ETAPA 1. RECOPIACIÓN DE LA INFORMACIÓN NECESARIA DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.

Se investigaron de variadas fuentes confiables, tales como el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, manual del espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000 procedimientos que en este trabajo denominaremos cookbooks y la norma técnica colombiana 531 para sulfato de aluminio; los diferentes procedimientos relacionados con el pretratamiento de la muestra para la determinación de Ag, As, Cd, Cr, Hg y Pb en aguas residuales, pulpas de fruta y sulfato de aluminio tipo b.

Se seleccionaron como documentos base para su evaluación aquellos que brindaron mayor información útil acerca de pretratamientos para aguas residuales, pulpas de fruta y sulfato de aluminio, teniendo en consideración las características de interés de cada procedimiento para el laboratorio, como el porcentaje de recuperación, el tiempo requerido y facilidad de operación, además de los requerimientos técnicos tales como equipos, materiales y reactivos, y la seguridad y riesgos de los mismos, de tal forma que sea viable para el laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira la implementación de dichos métodos en sus procedimientos analíticos.

Además de los pretratamientos, se investigó en diferentes fuentes bibliográficas confiables como el codex alimentarius de la Fundación de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura FAO, el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, el IDEAM con un método para la determinación de mercurio y la normas técnica para el sulfato de aluminio; los aspectos ambientales y legales relacionados directamente con la presencia de estos metales en las muestras de análisis, teniendo en cuenta los valores obtenidos y sus implicaciones en relación a los respectivos límites máximos de concentración permitidos.

4.2. ETAPA 2. DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS PROCEDIMIENTOS.

Se prepararon las soluciones patrón a partir de cada estándar de concentración conocida de cada metal para elaborar las respectivas curvas de calibración en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Se prepararon las muestras de agua residual, de pulpa de fruta y de sulfato de aluminio tipo b, fortificándolas con cada patrón preparado a partir de cada estándar de concentración conocida de los metales analito. Además de sus correspondientes blancos.

Se determinaron los diferentes valores de concentración de cada muestra de análisis sometidas a los pretratamientos seleccionados para su evaluación experimental, empleando la técnica analítica de espectroscopia de absorción atómica utilizando tanto la atomización con llama, el horno de grafito y el generador de hidruros, según la naturaleza y concentración del analito, cumpliendo con las condiciones del equipo y de los procedimientos; así, para la determinación de As y Hg fue necesario el generador de hidruros, mientras que para el Cd, Cr, Ag y Pb se utilizó el horno de grafito, y en cuanto a la atomización con llama, se empleó sólo en la determinación de Cr en agua residual.

Se hallaron los diferentes valores de porcentaje de recuperación para cada pretratamiento seleccionado, con base en las curvas de calibración obtenidas, y por medio de los análisis pertinentes, se estableció la confianza arrojada por cada uno de los resultados obtenidos de dichos métodos a las concentraciones utilizadas para su evaluación.

Con el objeto de disminuir los costos de los análisis de las muestras, los análisis se realizaron de tal manera que los metales analito de las experimentaciones de éste trabajo coincidieran con los de las muestras del laboratorio para realizar el análisis instrumental, teniendo en cuenta que las concentraciones fueran similares, de manera que estuvieran dentro las curvas de calibración de cada metal.

4.3. ETAPA 3. ANÁLISIS DE LOS DATOS OBTENIDOS EN LAS EXPERIMENTACIONES

Las determinaciones se realizaron por triplicado y el tratamiento de los datos se realizó con base a los parámetros de interés establecidos por el laboratorio como el porcentaje del coeficiente de variación el cual debe ser menor a 10 %, como

indicador de precisión y el porcentaje de recuperación el cual debe estar dentro rango de 80-120% de recuperación como indicador de exactitud.

Se analizó estadísticamente la información obtenida de cada pretratamiento para brindar así el conocimiento suficiente acerca del rendimiento y exactitud de cada uno.

4.4. ETAPA 4. REDACCIÓN DE LOS INSTRUCTIVOS DE PROCEDIMIENTOS

De acuerdo a la información analizada y clasificada se procedió a la organización de los pretratamientos seleccionados en forma de instructivos de tratamiento a las muestras, previos a su análisis instrumental para el laboratorio.

Una vez estructurados de manera práctica y de fácil desarrollo, se procedió a la impresión de los instructivos de pretratamientos de muestras de sulfato de aluminio, aguas residuales y pulpas de fruta para su potencial implementación en el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira. **Estos procedimientos se encuentran en los anexos de este documento.**

3. DATOS EXPERIMENTALES

5.1. MATERIALES

A continuación se enumeran los materiales que fueron necesarios para la realización del presente trabajo, entre los cuales se encuentran reactivos, equipos y material de vidrio.

5.1.1. REACTIVOS

- Agua desionizada.

- Solución de KMnO_4 de 50 g/L.

Se disuelven 50 g permanganato de potasio, en agua desionizada, en un balón de 1 L.

- Solución de sulfato de hidroxilamina - cloruro de sodio.

Se disuelven 30 g de sulfato de hidroxilamina y 30 g de cloruro de sodio en agua desionizada, en un balón volumétrico de 250 mL.

- Solución de NaOH 1N

Se disuelven 8 g de hidróxido de sodio en lentejas, y se aforan con agua desionizada en un balón de 200 mL.

- Acido nítrico concentrado

- Solución de ácido clorhídrico 1+1.

Se toma una cantidad de HCL al 37 % y se añaden a la misma cantidad de agua desionizada.

- Solución de ácido nítrico 1 + 1.

Se toma una cantidad de HNO_3 al 65 % y se añade a la misma cantidad de agua desionizada.

- Solución de ácido sulfúrico 1 + 1.

Se toma una cantidad de H_2SO_4 al 98 % y se añaden a la misma de agua desionizada.

- Estándares puros de concentración 1000 mg/L de Ag, As, Cr, Cd, Pb y Hg cuya composición química corresponde a sales y óxidos de los metales de alta pureza.

A continuación, la composición de los estándares de los metales:

As: (As_2O_5 en H_2O). Concentración 1.000 ± 0.002 g/L.

Cd: [$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,05 N]. Concentración 1.000 ± 0.002 g/L.

Cr: [$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en HNO_3 0,05 N]. Concentración 1.000 ± 0.002 g/L.

Pb: [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en H_2O]. Concentración 1.000 ± 0.002 g/L.

Hg: [$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ en HNO_3 1 N]. Concentración 1.000 ± 0.002 g/L.

Ag: [$\text{Ag}(\text{NO}_3)$ en HNO_3 1N]. Concentración 1.000 ± 0.002 g/L

Tabla 13. Especificaciones de patrones de cada metal analizado

Metal	Marca	R	S	Vencimiento
As	A.A PANREAC	45-E20/22	26-36-53-45	05/2013
Cd	A.A PANREAC	36/37/38-52	26-36/37-60-61	02/2014
Cr	SCHARLAU S.L	36/38	26-27	07/2013
Ag	SCHARLAU S.L	36/38	26-37	04/2012
Pb	A.A PANREAC	36/37/38	26-36	05/2012
Hg	A.A PANREAC	20/21/22- 33-36/37/38	26-36/37	03/2013

Fuente: Elaboración propia basada en las etiquetas de los reactivos

5.1.2. EQUIPOS

- Espectrofotómetro de absorción atómica marca Shimadzu AA-7000.
- Dispositivo Generador de hidruros marca Shimadzu HGV.
- Dispositivo horno de grafito marca Shimadzu.
- Lámpara de cátodo hueco de arsénico; cadmio; cromo; mercurio; plata y plomo.
- Medidor de pH. Marca Accumet Basic. Modelo AB15 pH meter.
- Plancha de calentamiento. Marca Schott. Modelo CERAN.
- Cabina de extracción de gases. Marca. Compañía de control ambiental. Modelo: C150x standart.
- Bomba para filtración al vacío. Marca Comecta S.A.
- Balanza analítica de precisión. Marca OHAUS. Modelo Adventurer.
- Mufia de calentamiento. Marca VULCAN 3-550. Marca NEY.
- Baño María. Marca Mermmet. Ref .WNB14

5.1.3. MATERIAL DE VIDRIO

- Matraces aforados de 50, 100, 200, 250, 500 y 1000 mL.
- Pipetas volumétricas de 1, 5, 10, 20, 25, 50 y 100 mL.
- Beakers de 100, 500, 1000 y 2000 mL.
- Erlenmeyer de 250, 500, 1000 y 2000 mL.
- Erlenmeyer con desprendimiento lateral.
- Crisoles
- Vidrios reloj
- Varillas de agitación
- Embudos en V.

5.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Para llevar a cabo el análisis fue necesaria la preparación de un total de 28 muestras, tanto fortificadas como las muestras blanco, estas a su vez, fueron distribuidas en cuatro lotes de la siguiente manera:

- Determinación de Hg en agua residual, pulpa de fruta: un total de 8 muestras. Seis correspondientes al triplicado de cada muestra, dos muestras a un blanco por matriz.
- Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en aguas residuales: 4 muestras. Tres por el triplicado y la otra como blanco.
- Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en pulpas de fruta: 8 muestras. Cuatro correspondiente al triplicado y el blanco para todos los metales. Las 4 restantes fueron de la segunda experimentación con Cd en pulpa de fruta con 5µg/L.
- Determinación de Ag, As, Cd, Cr, Pb y Hg en Sulfato de aluminio granulado tipo B: 8 muestras, de las cuales 4 corresponden al análisis de todos los metales y las 4 restantes a la segunda experimentación con Hg a 5µg/L, el triplicado y el blanco.

5.2.1. PREPARACION DE LOS BLANCOS

5.2.1.1. Blanco para la determinación de Hg en pulpas de fruta y agua residual (fecha elaboración 02-06/09/11). Un blanco de pulpa de fruta de naranja (provisto por la sección de microbiología del laboratorio de aguas y alimentos de la universidad tecnológica, Cuyo código es 410-1) constituido por 1g de pulpa de fruta, 1 mL de HNO₃ 65% para eliminar interferencias, mas la cantidad de agua desionizada necesaria para aforar al volumen total de 100 mL.

Un blanco para el agua residual (de las muestras obtenidas del afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad tecnológica de Pereira la fecha 22/08/11), el cual consistió en tomar 100 mL de muestra blanco para después someterlos al pretratamiento de digestión con KMnO₄ para determinar Hg y después ser aforados nuevamente a 100mL con 1 mL de HNO₃ al 65% y finalmente ser llevado al análisis instrumental.

5.2.1.2. Blanco para la determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en aguas residuales. Un blanco para el agua residual (muestras obtenidas del afluente de la P.T.A.R o planta de tratamiento de la Universidad tecnológica de Pereira la fecha 22/08/2011), el cual consistió en tomar 1L de agua residual como muestra blanco, adicionándoles 10 ml HNO₃ al 65% para después tomar las cantidades de muestra necesarias según los 3 pretratamientos de digestión evaluados para esta matriz.

5.2.1.3. Blanco para la determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb pulpas de fruta.

Un blanco de pulpa de fruta de naranja (código 410-1), constituido por 10 g de pulpa, 10 mL de HNO₃ al 65% para eliminar interferencias, mas la cantidad de agua desionizada necesaria para aforar a el volumen total de 1L.

5.2.1.4. Blanco para la determinación de Ag, As, Cd, Cr, Pb y Hg en sulfato de aluminio.

El blanco que fue utilizado para este método, consistió en pesar 1,5 gramos de sulfato de aluminio granulado tipo b, mas 10 mL de HNO₃ 65% y la cantidad necesaria de agua desionizada para aforar a 1L de muestra blanco. El código de la muestra fue el 522-1.

5.2.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS FORTIFICADAS

5.2.2.1. Determinación de Hg en pulpa de fruta y agua residual.

El procedimiento realizado corresponde un procedimiento obtenido del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios ambientales (IDEAM) para la determinación de mercurio en aguas y sedimentos. Estas muestras fueron preparadas el 06/09/11.

5.2.2.1.1. Preparación de los patrones de 10 mg/L y 100 µg/L de Hg.

Se creó un patrón de 10 mg/L de Hg a partir del estándar de 1000 mg/L, del cual se tomó 1 mL y se llevó a 100mL con agua desionizada y 1 mL de HNO₃ 65%. Luego se tomó 1 mL de éste patrón, se le adicionó 1 mL de HNO₃ 65% y se llevó a 100 mL con agua desionizada, para obtener un patrón de 100 µg/L de Hg_(aq) del cual se fortificaron las muestras según las concentraciones requeridas.

5.2.2.1.2. Determinación de Hg en agua residual.

Muestras provenientes del afluente de la P.T.A.R (planta de tratamiento de aguas residuales) de la Universidad Tecnológica de Pereira. Cuatro muestras fortificadas fueron preparadas, tomando una cantidad de agua residual en un matraz de 100 mL y adicionándoles 20 mL del patrón de 100 µg/L de Hg y aforando con más agua residual, para obtener así una concentración de 20 µg/L. Posteriormente se realizó el pretratamiento para este tipo de matriz (**ver anexo 1.Pretratamiento 1. (Determinación de Hg en aguas residuales)**), y se llevó a la determinación instrumental.

5.2.2.1.3. Determinación de Hg en pulpa de fruta.

Cuatro muestras fueron preparadas. Tres muestras correspondientes a los análisis por triplicado y la muestra restante a la preparación del blanco. Se pesó en sendos crisoles de a un

gramo por muestra y se les adicionó a cada una 5 mL del patrón de 100 µg/L. Se homogenizaron agitando los crisoles suavemente y se les realizó el procedimiento correspondiente. (**Ver anexo 3. Pretratamiento para determinar Hg en pulpas de fruta**). Finalmente se aforó a 100 mL, para obtener una concentración de 5 µg/L. Las masas ya taradas de las muestras fueron:

Masa 1° Ensayo = 1,0517 g

Masa 2° Ensayo = 1,0744 g

Masa 3° Ensayo = 1,0422 g

Masa del Blanco = 1,0557 g

5.2.2.2. Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en aguas residuales.

5.2.2.2.1. Preparación del patrón de 100 mg/L. Se realizó un patrón de 100 mg/L de Ag, As, Cd, Cr y Pb respectivamente, tomando 2 mL de cada patrón estándar de 1000 mg/L, adicionándoles 1 mL de HNO₃ 65% y finalmente aforando en un matraz de 20 mL con agua desionizada. De este patrón se tomaron las cantidades necesarias para fortificar la muestra recolectada.

5.2.2.2.2. Preparación de las muestras. Se tomaron 4 muestras del afluente de agua residual de la P.T.A.R de la Universidad tecnológica de Pereira el día 22/09/2011. Tres muestras de 1L denominadas **MAR1**, **MAR2** y **MAR3** correspondientes al triplicado se fortificaron en base a los límites de concentración de As, Ag, Cd, Cr y Pb considerados como sustancias contaminantes en el decreto 1594 de 1984. El otro litro de muestra se denominó **MARb** y se utilizó como el blanco del análisis.

5.2.2.2.3. Fortificación de las muestras. Se adicionaron las cantidades de patrón de 100 mg/L del respectivo metal a cada muestra de fortificación compuesta por 1 litro de muestra de agua residual y 10 mL de HNO₃ 65%. Por su parte a la muestra blanco se le adicionó únicamente 10 mL de HNO₃ 65% para garantizar la estabilidad de los metales en solución y se aforó a 1L con más muestra. Una vez realizado esto, las muestras estuvieron listas para comenzar a aplicar los pretratamientos seleccionados para agua residual y posteriormente ser llevadas a la determinación instrumental.

A continuación se muestra las concentraciones con las que se fortificaron de las muestras **MAR1 MAR2 y MAR3**:

Tabla 14. Resumen de la fortificación de las muestras de agua residual

Metal	Limites según res. 1594 de 1984 (mg/L)	Fortificación (mg/L)	V. Patrón (mL)	V. Aforo (L)
As	0,5	0,5	5 de 100 mg/L	1
Ag	0,5	0,5	5 de 100 mg/L	1
Cd	0,1	0,1	1 de 100 mg/L	1
Cr	0,5	0,5	5 de 100 mg/L	1
Pb	0,5	0,5	5 de 100 mg/L	1

Fuente: Elaboración propia

Las anteriores fortificaciones cumplen exactamente con los valores límite de concentración permitidos a nivel nacional expuestos en el **decreto 1594 del 26 de Junio de 1984 acerca de usos del agua y residuos líquidos, específicamente en su artículo 74**. En cuanto al cumplimiento de las óptimas concentraciones de análisis se realizaron diluciones necesarias para cada muestra y cada metal y así ingresar la concentración de la fortificación dentro del rango óptimo:

Tabla 15. Diluciones necesarias de cada metal para la determinación experimental

Metal	Fortificación (mg/L)	Dilución ($\mu\text{g/L}$)	V. Patrón (mL)	V. Aforo (L)
As	0,5	5	1 en 100	0,1
Ag	0,5	5	1 en 100	0,1
Cd	0,1	1	1 en 100	0,1
Pb	0,5	50	10 en 100	0,1

El cromo se determinó por llama, por lo que no fue necesaria realizar diluciones, sin embargo también se tuvo en cuenta tanto el límite de detección instrumental para cromo por llama el cual es 0.08 ppm, por lo que el límite inferior de la curva y la fortificación no debió ser menor a 0.5 ppm aproximadamente. Según el manual de operación del espectrofotómetro de absorción atómica, el rango óptimo de concentración de la curva por llama es 0.0-2 mg/L de cromo, [33], con un primer patrón intermedio de 0,5 mg/L que corresponde con el valor de la fortificación, por tal motivo no significó ningún inconveniente determinar el cromo por llama empleando acetileno-óxido nítrico.

5.2.2.2.4. Procedimientos realizados. Se evaluaron 3 métodos de extracción, que fueron tomados del manual de operación del espectrofotómetro de absorción atómica AA-700, el método 1 consistía en digestiones con ácido nítrico y el método 2 a digestiones de HNO_3 mas H_2SO_4 , y el método 3 que corresponde a la

calcinación de la muestra en mufla. (**Ver anexo 2. Pretratamientos para determinar Ag, As, Cd, Cr y Pb en aguas residuales**)

Se tomó 100 mL de muestra de **MAR1, MAR2, MAR3** fortificadas con As, Ag, Cd, Cr y Pb por cada muestra que fue sometida al procedimiento incluyendo la muestra blanco **MARb**. Se procesaron un total de 12 muestras que fueron preparadas y analizadas; 9 correspondientes al triplicado de los tres métodos y 3 muestras correspondientes al blanco de cada método. Después se determinaron sus concentraciones en el espectrofotómetro de absorción atómica.

5.2.2.2.4.1. Pretratamiento 1 (realizado el 22/09/2011). Consistente en una digestión suave en plancha de 100 mL de muestra concentrándola hasta unos 10-15 mL de solución con 5 mL de ácido nítrico 1+1. Después de someter las muestras a la digestión, se aforaron a 100 mL con 1 mL de HNO₃ 65% y se almacenaron en recipientes en espera de ser llevadas a la determinación experimental.

3.2.2.2.4.2. Pretratamiento 2 (realizado el 23/09/2011). Se trata de una digestión de 100 mL de muestra con 5 mL de HNO₃ y 5 mL H₂SO₄ ambos de concentración 1+1 hasta que se evidencie descomposición de la muestra al desprender humo blanco por acción del ácido sulfúrico. Se aforó a 100 mL con 1 mL de HNO₃ 65% y se almacenaron para ser analizados en el espectrofotómetro de absorción atómica.

3.2.2.2.4.3. Pretratamiento 3 (realizado el 24-25/03/2011). Este procedimiento consistió en someter a una evaporación y carbonización parcial de 100 mL de las muestras fortificadas con As, Ag, Cr, Cd y Pb, en un erlenmeyer, para después de transferir la muestra concentrada a un crisol, esta ser llevada a carbonización total en mufla. Posteriormente se disolvieron las sales con 4mL HCL 1+1 y se aforó a 100 mL con 1 mL de HNO₃ 65% y se almacenaron para ser analizados en el espectrofotómetro de absorción atómica.

5.2.2.3. Determinación de Ag, As, Cd, Cr y Pb en pulpas de fruta.

5.2.2.3.1. Preparación de patrón de 10 mg/L de Ag. Se tomó 1 mL del estándar de 1000mg/L de Ag y se llevó a 100 mL con la adición de 1 mL HNO₃ 65%.

Preparación de patrón de 1 mg/L de As, Cr y Pb: Se realizó un patrón de 1 mg/L de estos metales, tomando 1 mL de cada patrón estándar de 1000 mg/L, adicionándole 1 mL de HNO₃ 65% y aforando a 100 mL con agua desionizada. A partir de estos estándares se fortificó la muestra según.

Preparación de patrón de 0,1 mg/L de Cd: Se tomó 1 mL del estándar de 1000 mg/L de Cd y se llevó aforó a 100 mL con 1 mL de HNO₃ al 65%, resultando un patrón intermedio de 10 mg/L, del cual se tomó 1 mL y se aforó a 100 mL sin olvidar la adición 1 mL de HNO₃ 65 %.

5.2.2.3.2. Preparación de las muestras (ensayo se realizado el 25-26/ 08/11).

Para analizar este método, se procedió a fortificar tres muestras de pulpa de fruta código 410-1 con Ag, As, Cd, Cr y Pb, correspondientes a los 3 ensayos por cada metal cuyas concentraciones se fortificaron en relación a la resolución 7992 de 1991, NTC 404 y la AIJN asociación de los jugos de fruta y néctares (UE). Mientras otra muestra se empleó como el blanco de los análisis, para un total de 4 muestras procesadas. Las masas ya taradas y que se emplearon fueron las siguientes:

Muestras fortificadas:

Masa 1° Ensayo = 10,0578 g.

Masa 2° Ensayo = 10,0652 g.

Masa 3° Ensayo = 10,0574 g.

Masa del blanco = 10,1057 g.

Cada una de estas cantidades de muestra de pulpa, se vertieron en sendas cápsulas de porcelana, se disolvieron apropiadamente con un poco de agua desionizada y 1 mL HNO₃ 65 %. Después se fortificaron las tres muestras según las normas y posteriormente se sometieron al pretratamiento enfocando la atención en evitar pérdidas de muestra por salpicaduras durante el calentamiento además de la transferencia de muestra a los matraces. Un total de 4 muestras fueron preparadas y analizadas.

5.2.2.3.3. Fortificación de las muestras. Las fortificaciones para pulpa se realizaron en base a los límites de las normas competentes, no obstante se fortificó teniendo también en cuenta los límites de detección para cada metal y según la técnica empleada (llama, horno de grafito o generador de hidruros), además de los valores óptimos de las curvas de calibración de cada metal especificados en el manual del espectrofotómetro de absorción atómica (Shimadzu AA-7000).

La manera como se fortificaron las muestras fue la siguiente:

Tabla 16. Resumen de la fortificación de cada metal en pulpa de fruta excepto Hg

Metal	Según normas (mg/kg)	Según normas (µg/g)	según normas (µg/10g)	Fortificación (µg/10g/L)	V patrón (mL)
Ag	-----	----	----	20*	2 de 10mg/L
As	0,1	0,1	1	5	5 de 1 mg/L
Cd	0,02	0,2	2	0,5	5 de 0,1 mg/L
Cr	-----	----	----	5*	5 de 1 mg/L
Pb	0,2-0,3	0,2	2	5	5 de 1 m g/L

* *Teniendo en cuenta la poca información acerca de los límites de concentración en pulpas de fruta para Ag y Cr, se decidió fortificar las muestras con valores de concentración similares a los empleados para As, Cd y Pb según las normas.*

De acuerdo al anterior cuadro, cada muestra se preparó pesando 10 g de pulpa con el fin de poder fortificarlas según los valores de las normas y según las condiciones óptimas de operación del equipo, ya a que estos límites de concentración son bajos, y se torna difícil realizar fortificaciones precisas, pues entre más bajas sean las concentraciones, mas difícil es asegurar la transferencia total o suficiente del analito entre soluciones cada vez mas diluidas. Además de se debe tener en consideración que las pérdidas que se pudieran presentar durante el pretratamiento, porque también contribuyen considerablemente a variar las cantidades de analito en la muestra que finalmente medirá el equipo.

Los valores de presentados en la tabla 16, muestran la concentración de cada metal en µg /g de muestra, y su equivalencia con µg/10 g de muestra, porque de esta manera los valores de los límites aumentaron 10 veces, y facilitó la preparación de las muestras por las razones mencionadas anteriormente.

5.2.2.3.4. Procedimiento realizado. El método empleado para determinar As, Cd, Cr, Ag Y Pb en pulpa de fruta se obtuvo del manual de operación del espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000, [34]. Una vez fortificadas las muestras, se sometieron a éste pretratamiento, el cual consiste en una carbonización parcial en plancha y una posterior carbonización total en mufla. Una vez terminado el pretratamiento se les adicionó 10 ml HNO₃ 65% a cada muestra y se aforaron a 1 L. **(Ver anexo 4. Pretratamientos para la determinación de Ag, As, Cd, Cr Y Pb en pulpas de fruta).**

5.2.2.4. Determinación de Ag, As, Cd, Cr, Hg y Pb en sulfato de aluminio granulado tipo b.

Preparación de patrón de 10 mg/L de Ag, As, Cr y Pb: Se tomó 1 mL del estándar de 1000mg/L de Ag, As, Cr y Pb y se llevó a 100 mL con la adición de 1 mL HNO₃ 65%. Con cada patrón se fortificaron cada muestra de sulfato adicionando 4.5 mL y aforando a 1L, en presencia de 10 mL de HNO₃ 65%.

Preparación de patrón de 1 mg/L de Cd y Hg: Se realizó un patrón de 1 mg/L de estos metales, tomando 1 mL de cada patrón estándar de 1000 mg/L, adicionándole 1 mL de HNO₃ 65% y aforando a 100 mL con agua desionizada. Después se fortificaron las muestras con 10 mL del patrón de Cd y 1.5 mL del patrón de Hg, y finalmente se aforó a 1 L de muestra con la adición de 10 mL de HNO₃ 65%.

5.2.2.4.1. Preparación de las muestras (muestras preparadas el 19/08/11).

Siete muestras se pesaron que corresponden a una muestra blanco y tres como el triplicado del primer ensayo y las otras tres del segundo ensayo. El sulfato de aluminio tipo B que se procesó fue el de código 424-1. Estas fueron las cantidades que se pesaron por muestra:

Masa 1° Ensayo = 1,5146g

Masa 2° Ensayo = 1,5084g

Masa 3° Ensayo = 1,5090 g

Masa del blanco = 1,5054 g

5.2.2.4.2. Fortificación de las muestras. Las 3 muestras se fortificaron cumpliendo con el valor límite de concentración de contaminantes establecido en la norma NTC 531. A continuación se muestra la relación entre el límite de la norma y las fortificaciones realizadas en la experimentación:

Tabla 17. Resumen de la fortificación de cada metal en sulfato de aluminio

Metal	Concentración NTC 531 (mg/kg)	Concentración NTC 531 (mg/1.5 g)	Concentración en fortificación (µg/L)
Ag	30	0.045	45
As	30	0.045	45
Cd	7	0.010	10
Cr	30	0.045	45
Pb	30	0.045	45
Hg	1	0.0015	1.5

Debido a que algunas concentraciones de las fortificaciones están por fuera del rango óptimo de concentración de la curva de calibración, fue necesario en el momento de la determinación instrumental, realizar las diluciones necesarias para que los valores de concentración de las muestras ingresaran en dicho rango óptimo.

5.2.2.4.3. Procedimiento realizado. Una vez fortificadas las muestras, se sometieron al procedimiento de la NTC 531, el cual consiste en una precipitación, filtración y una suave evaporación en plancha. Después se les adicionó 10 mL de HNO₃ al 65%, y se aforaron a 1 L. Finalmente se almacenaron en recipientes en espera de la determinación instrumental de los metales fortificados. **(Ver anexo 5. Pretratamiento para determinar Ag, As, Cd, Cr, Hg y Pb sulfato de aluminio tipo b).**

6. RESULTADOS Y ANALISIS

Para la selección de los métodos desarrollados en este trabajo, fue necesaria la consideración de cuatro importantes aspectos:

- Los métodos de pretratamiento escogidos, se seleccionaron teniendo en cuenta las condiciones y requisitos recomendadas por el manual del espectrofotómetro de absorción atómica AA-7000, puesto que es necesario para un laboratorio asegurarse de que sus equipos se encuentren en condiciones óptimas de operación y correcto funcionamiento, logrando así obtener resultados confiables, de esta manera, se empleó el gas necesario en la atomización con llama (acetileno-aire, óxido nítrico, etc), en la atomización con horno de grafito el tubo de grafito que brindaba mayor utilidad (el pyro-coated empleado en la medición de Cd, el high density para Ag, As, Cd, Cr y Pb, en cuanto al platform tube no fue empleado porque el laboratorio no disponía de ellos en ese momento).
- A su vez fue necesario considerar todos los requisitos técnicos requeridos para llevar a cabo cada método de pretratamiento para los tres tipos de matriz, pues entre menos se varíen las condiciones de trabajo de un método, más representativos serán sus resultados, por lo que fue fundamental disponer de todos los equipos, materiales y reactivos necesarios para la ejecución de los procedimientos escogidos en el momento de su selección y por tanto para el desarrollo de este trabajo.
- Por otra parte las implicaciones de riesgo y seguridad de los pretratamientos seleccionados también fueron esenciales para su selección. Muchas clases de pretratamientos requieren del adecuado uso de algunos tipos de reactivos que necesitan cierto cuidado en su manipulación, como lo son, ciertos ácidos fuertes, empleados para realizar en muchas ocasiones, las digestiones necesarias a una muestra, con el fin de extraer todo el analito allí contenido. Estos reactivos implican riesgo debido a que pueden ser altamente corrosivos, inflamables, explosivos, etc. Un claro ejemplo es el ácido perclórico, ampliamente empleado como agente para digestiones ácidas, pero que puede ser explosivo si se somete a calentamiento e inflamable si entra en contacto con materias combustibles, por lo que puede provocar serias quemaduras y daños al analista, hizo que fuera muy importante considerar su uso, condicionando para este trabajo casi todos los métodos que lo requieren.

- Finalmente el aspecto financiero fue muy importante en este trabajo, puesto que es ideal para el laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira desarrollar sus métodos analíticos de tal forma que le permita realizar idóneamente sus instructivos de análisis siendo financieramente posibles de desarrollar. Constantemente en la literatura se pueden encontrar métodos que requieren del empleo de costosos equipos, materiales y/o reactivos que pueden ofrecer más confianza y facilidad de ejecución, no obstante se pueden obtener valores igual de representativos seleccionando adecuadamente aquellos métodos que requieran de recursos disponibles por el laboratorio y que cumplan con los estándares de calidad analítica.

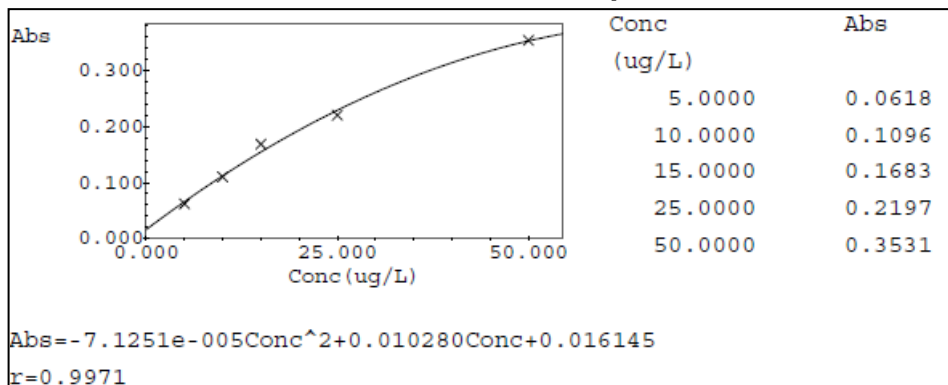
6.1. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS METALES MEDIDOS

Para el desarrollo del presente trabajo fue necesario la preparación de una serie de curvas de calibración que constó de por lo menos (cuatro –tres) patrones de calibración. Para el presente estudio se realizaron 10 curvas de calibración, todas mostraron una aceptable linealidad pues estaban por encima de 0.995, [35], ya sean de primer o segundo orden puesto que el manual del equipo muestra curvas de segundo orden como óptimas para algunos metales. En el caso del cromo por horno de grafito, la curva fue aceptada pues su (r) estuvo muy cerca de criterio aceptable de linealidad.

Las curvas de calibración empleadas para determinación de los seis metales en los tres tipos de pulpa, fueron las siguientes:

6.1.1. Curva de calibración de arsénico (193.7 nm) por generador de hidruros.

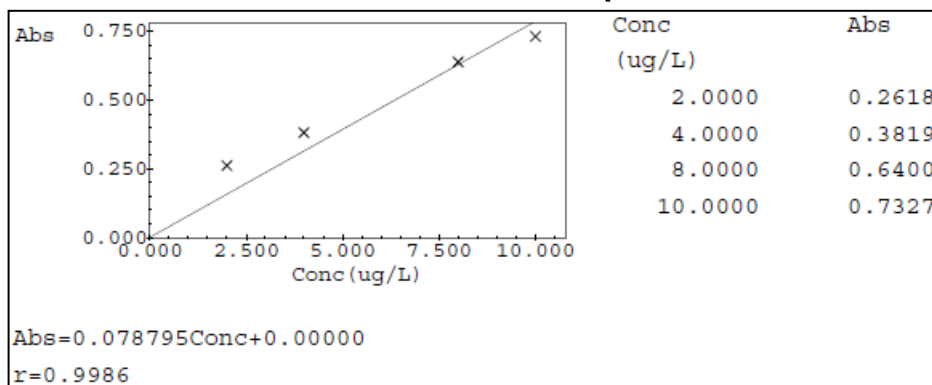
Figura 2. Curva de calibración de As para pulpa de fruta, agua residual y sulfato de aluminio tipo b



Cómo se pudo observar, esta curva de calibración presentó un comportamiento lineal bien definido hasta una concentración aproximada de 25 µg/L. Se manejó una relación entre los valores de concentración de los patrones aumentando 10 µg/L o 15 µg/L, por lo que se midió un patrón de 40 µg/L el cual quedó muy separado de la recta, motivo por el cual fue eliminado de la curva en el equipo, y otro de 50 µg/L, que a pesar de estar lejos del patrón de 25 µg/L y de restar un poco de linealidad a la curva, se mantuvo, debido a que todas las muestras de éste trabajo se midieron en conjunto con muestras del laboratorio de Aguas y Alimentos de la UTP, y para las cuales se maneja un cierto amplio rango de concentración con el fin obtener inicialmente un indicio de la concentración desconocida de analito en la muestra, y que una vez se haya identificado, se realiza ya sea una concentración o una dilución de la muestra. En su defecto otra curva de calibración con patrones más cercanos, con el fin determinar con más precisión la concentración desconocida del analito en las muestras.

6.1.2. Curva de calibración de plata (328,1 nm) por horno de grafito.

Figura 3. Curva de calibración de Ag para pulpa de fruta, agua residual y sulfato de aluminio tipo b



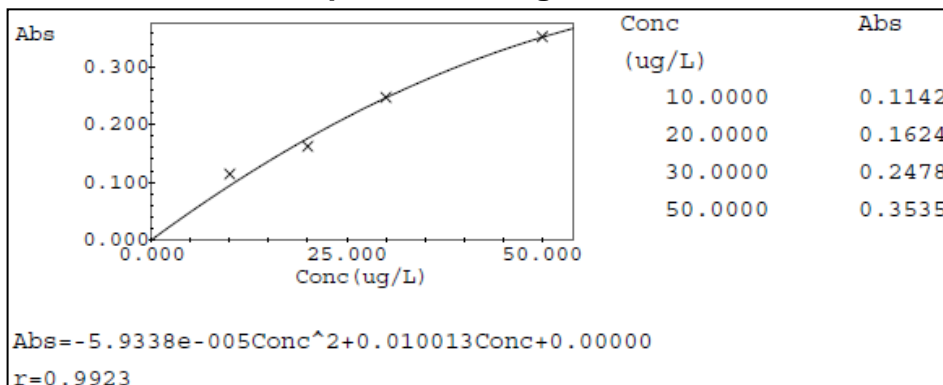
La curva para plata (Ag) por horno de grafito presentó un comportamiento con cierta desviaciones positivas en los patrones de 2 y 4 µg/L, sin embargo los dos patrones siguientes se comportaron de tal que la tendencia de la desviación se afectó en poca medida y finalmente se obtuvo un linealidad $r = 0.9986$, cuyo valor supera la referencia de linealidad $r \geq 0,995$, [35], citada en la literatura.

Se debe tener en cuenta además, que el laboratorio no había implementado la determinación de plata (Ag) por horno de grafito, por lo que es recomendable realizar más estudios acerca del comportamiento de este metal a concentraciones similares empleando esta técnica de atomización, puesto que algunos elementos son de naturaleza especial y se comportan de manera diferente. Por otra parte,

tomar procedimientos alternativos es buena opción, cómo la determinación de plata (Ag) e través de una técnica fotométrica, procedimiento que el laboratorio de aguas y alimentos de la UTP está implementando.

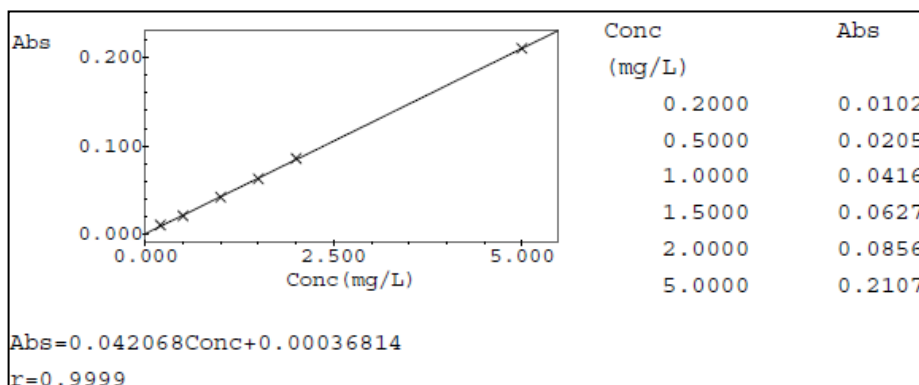
6.1.3. Curvas de calibración para cromo (357,9 nm).

Figura 4. Curva de calibración de Cr para pulpa de fruta y sulfato de aluminio por horno de grafito



Para el cromo (Cr) en pulpa de fruta y sulfato de aluminio por horno de grafito, la curva obtenida presentó una desviación positiva en el patrón de 10 µg/L, afectando en cierta medida la linealidad de la curva cuyo valor fue $r = 0,9923$, un valor ligeramente por debajo del criterio de linealidad de $r \geq 0,995$. Sin embargo la curva se aceptó dado la pequeña diferencia existente.

Figura 5. Curva de calibración de Cr para agua residual por llama acetileno-oxido nitroso

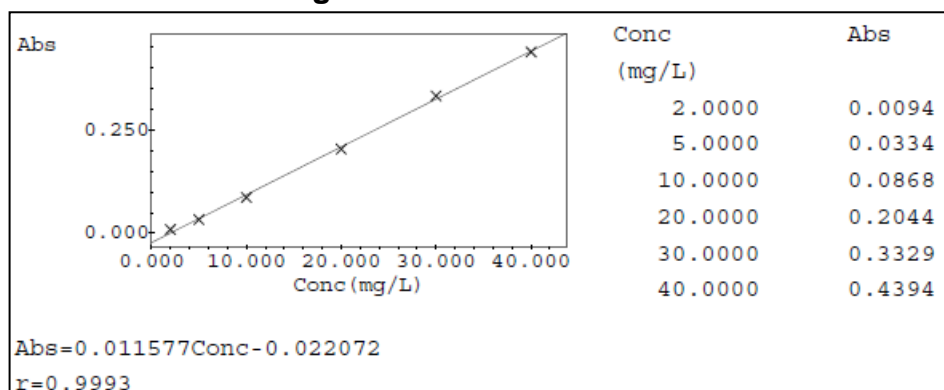


Esta curva de calibración presentó una ligera desviación positiva en el cero (0.0) de la curva por lo cual es recomendable realizar la correspondiente observación

del ajuste a cero en el equipo. No obstante al ser una desviación muy pequeña, la linealidad no se vio afectada considerablemente y su valor obtenido fue muy bueno, reflejado por ejemplo, en el hecho de que el patrón de 5 mg/L al estar lejos del patrón de 2.5 mg/L, se mantuvo dentro de la recta de linealidad cuyo valor fue $r = 0.9999$.

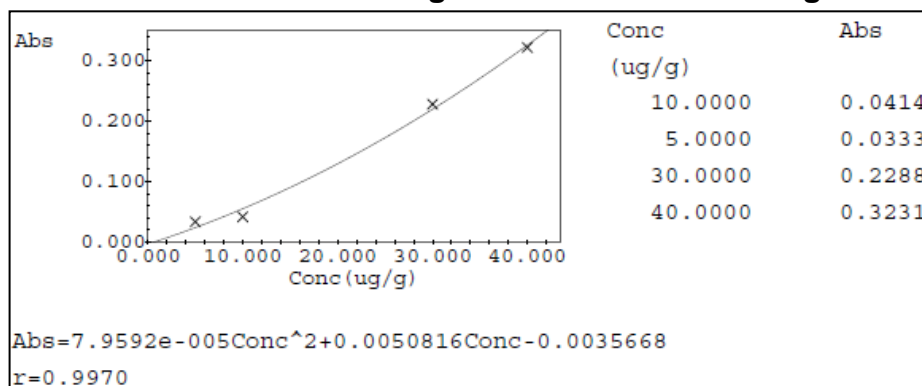
6.1.4. Curvas de calibración para mercurio (253,7 nm) por generador de hidruros.

Figura 6. Curva de calibración de Hg en pulpa de fruta y agua residual por generador de hidruros



Esta curva de calibración presentó una desviación positiva muy pequeña en el cero (0,0) de la gráfica y en el patrón de 2 µg/L, aunque fue muy pequeña, por lo que no fue muy representativa, siendo recomendable realizar para efectos de un posterior estudio, el ajuste a cero necesario, pese a esto la linealidad de la curva fue satisfactoria.

Figura 7. Curva de calibración de Hg en sulfato de aluminio granulado tipo b



Fue necesario eliminar de la curva el patrón de 20 µg/L debido a que quedó por fuera considerablemente de la línea de tendencia, con lo que se buscó mejorar la linealidad de la curva y por tanto su utilidad.

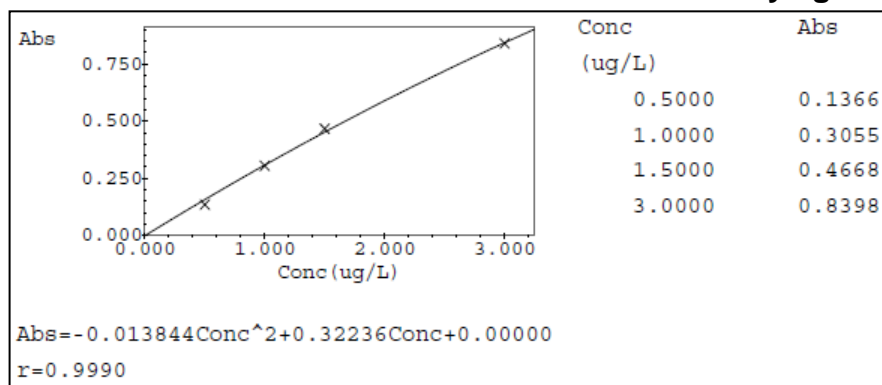
Esta curva presentó además, una desviación negativa en el segundo patrón quizás debida a interferencias de tipo químico, puesto que es posible la presencia de otras sustancias que pueden dificultar la producción del hidruro, sea que la muestra los tuviese ya incorporados o porque la reacción de formación del hidruro del metal no se completó y quedaron compuestos intermediarios como sales, óxidos, o moléculas orgánicas, creando interferencias químicas y espectrales.

Además es muy importante tener en cuenta que el dispositivo de generador de hidruros posee tres mangueras a través de las cuales transporta tanto la muestra, como el ácido clorhídrico y el borohidruro de sodio, que finalmente convergen en una celda de vidrio en donde se da la reacción de reducción, y que si no se está atento al flujo constante de cada una de estas sustancias, dicha reacción se puede descompensar y por tanto al variar la cantidad del elemento en estado fundamental, finalmente se cuantifica analito en menor cantidad en relación a las esperadas, obteniendo resultados errados. Debido a esto es importante tener en cuenta este tipo de interferencia física en esta técnica de atomización puesto que pueden ser definitivas en la obtención de buenos resultados.

La generación de hidruros involucra mayor cantidad de variables espectrales, físicas y químicas en relación a la atomización con llama y horno de grafito, por lo que su utilización requiere prestar mucha atención a este tipo de factores mientras se realiza la determinación instrumental.

6.1.5. Curvas de calibración para cadmio (228,8 nm) por horno de grafito.

Figura 8. Curva de calibración de Cd en sulfato de aluminio y agua residual

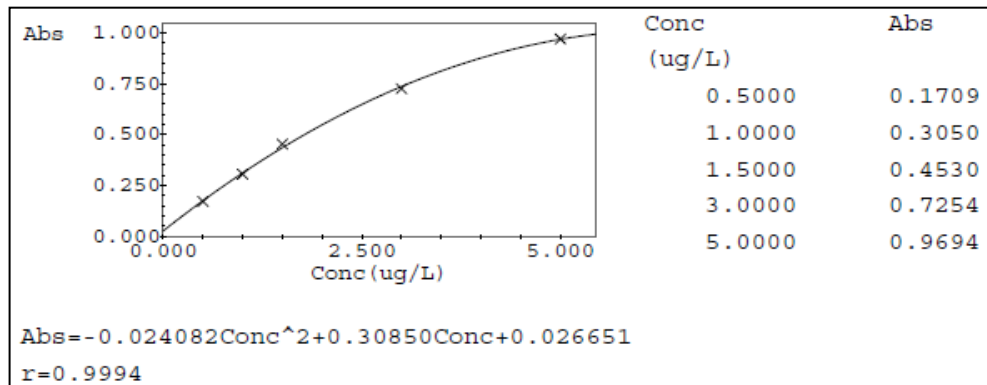


Se puede observar en la gráfica anterior que la curva presenta una pequeña desviación negativa en el patrón de 0,5 µg/L, la cual no afectó significativamente la

linealidad de la curva obteniéndose una curva satisfactoria. A pesar de que el patrón de 3 µg/L está alejado del anterior de 1,5 µg/L, conserva un comportamiento lineal, no obstante sería recomendable para definir el comportamiento del cadmio por horno de grafito a ese rango de concentraciones, realizar un patrón de 2 o 2,5 µg/L.

La siguiente curva de calibración corresponde a la realizada para la segunda experimentación con Cd en pulpa de fruta por horno de grafito:

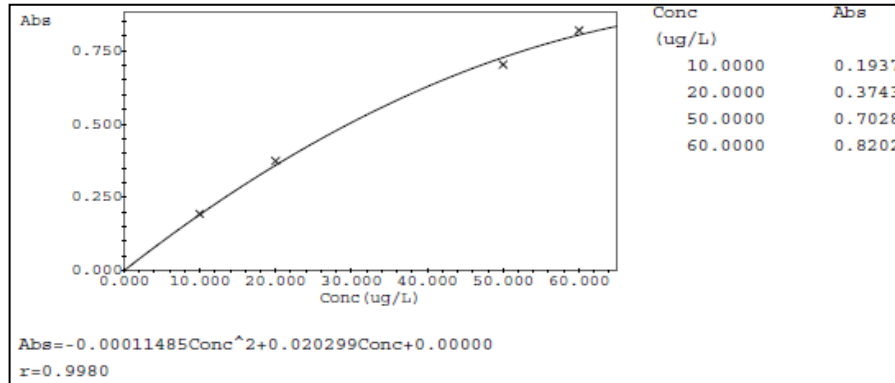
Figura 9. Curva de calibración de Cd en pulpa de fruta



La curva anterior muestra un comportamiento lineal considerable hasta una concentración aproximada de 3 µg/L, a partir de la cual se presenta una desviación negativa que afectó en la tendencia de la curva de calibración en esa zona y sugirió que la curva obtenida fue apropiada para la determinación de cadmio en pulpas de fruta por horno de grafito en el rango de las fortificaciones de las muestras. Teniendo en cuenta los bajos valores de concentración empleados en esta curva, es importante considerar el hecho de que preparar patrones cercanos a 0,5 µg/L fue un factor determinante en la cuantificación esperada del analito, pues entre más bajo el valor de concentración de patrón a preparar, más difícil es asegurar la obtención de un patrón con una concentración exacta.

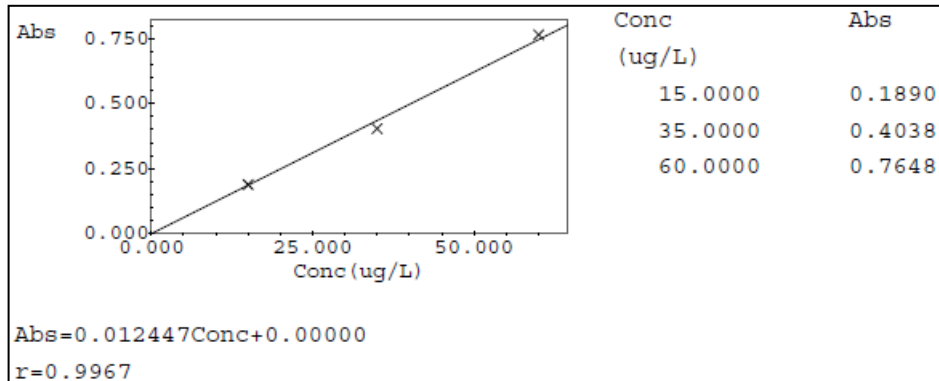
6.1.6. Curva de calibración para plomo (283.3 nm) por horno de grafito.

Figura 10. Curva de calibración de Pb en pulpa de fruta y agua residual



Esta curva presentó desviaciones negativas, principalmente en el patrón de 50 µg/L, pues el patrón de 35 µg/L fue eliminado porque su valor estuvo muy alejado de la línea de tendencia de la curva y afectaba significativamente su linealidad. Sin embargo la curva obtenida fue aceptada para la determinación de plomo en pulpa de fruta y agua residual en el rango de concentración manejado.

Figura 11. Curva de calibración de Pb en sulfato de aluminio granulado tipo b



Esta curva de calibración presentó una buena linealidad a pesar de la pequeña desviación negativa del patrón de 35 µg/L. No obstante la curva de calibración empleada para la determinación de plomo en sulfato de aluminio tipo b fue satisfactoria.

6.2. RESULTADOS EXPERIMENTALES

En las experimentaciones preliminares realizadas, cada muestra de cada metal se realizó por duplicado y las cuales a pesar de presentar porcentajes de

recuperación poco satisfactorios, pues los valores diferían considerablemente entre ellos para la mayoría de los metales en las tres matrices; fueron orientaciones hacia una forma correcta de desarrollar las experimentaciones y obtener resultados más concretos y confiables. En general los resultados de las experimentaciones de este estudio, mostraron una mayor precisión, además de mejores porcentajes de recuperación pues los valores de fortificación obtenidos fueron más exactos y precisos.

Las concentraciones halladas con signo negativo (–) se tomaron en este trabajo como un valor de 0,0 (cero) µg/L ó mg/L. Este ajuste se consideró ya que éste comportamiento negativo puede deberse principalmente a que en el momento en que el analito es llevado a su estado fundamental, y recibe la luz proveniente del monocromador, la línea espectral del analito estaba acompañada de un amplio conjunto de líneas espectrales que seguramente no fueron aisladas efectivamente, atravesando con mayor intensidad de la esperada la celda de la muestra, por lo que en el sistema de detección, la transmitancia puede aumentar considerablemente, incluso superar el 100 %T, provocada por una descompensación en la celda que contiene el blanco o la solución de referencia utilizada para el ajuste de 100% T, y que recibe el nombre de celda de referencia en relación a la celda que contiene la muestra, [36], como es el caso del espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000 que consta de un sistema óptico de doble haz. En lo posible estas celdas deben ser idénticas, con el mismo paso óptico y la misma transparencia a la región espectral utilizada.

El porcentaje de transmitancia $\% T = I / I_0$ donde I_0 es igual a la Intensidad de la radiación que llega al detector después de pasar por la celda de referencia e $I =$ Intensidad de la radiación que llega al detector después de pasar por la celda de la muestra. Al presentarse éste aumento en la transmitancia se tiene que si I es mayor que I_0 entonces el % T es mayor a 100. Esto afecta negativamente el valor de la absorbancia. Por ejemplo, si el porcentaje de transmitancia (% T) = 110%, entonces:

$$\text{Absorbancia} = 2 - \log \% T$$

$$A = 2 - (\log (110))$$

$$A = 2 - (2.041)$$

$$A = - 0,041$$

Obteniéndose un valor negativo de la absorbancia, el cual puede afectar la relación lineal de la ley de Bourguer-Lambert-Beer entre absorbancia y concentración.

La deducción de la ley de Bourguer-Lambert-Beer supone radiación monocromática y los monocromadores en realidad proporcionan una banda de longitudes de onda, [36], hecho que se debe tener en la determinación

instrumental de cualquier metal y motivo por el cual se debe entrar a modificar las variables del monocromador como el ancho de rendija de entrada y salida, los colimadores, etc., con el fin de contrarrestar este tipo de inconvenientes.

Por otra parte, el **método de adición estándar** es una muy buena alternativa para analizar muestras cuya matriz compleja hace altamente probable la presencia de interferencias no espectrales, [37]. Consiste en la preparación de diferentes soluciones, mediante la adición de diferentes volúmenes de una disolución patrón a una misma alícuota de muestra. Todas las soluciones se llevan a un volumen final fijo. Las medidas, se van haciendo en la muestra original y después de cada adición del patrón en la muestra. La determinación de la concentración de la muestra se realiza mediante la extrapolación de la curva ajustada (señal versus concentración de patrón agregado a la muestra) hasta un valor de señal igual a cero.

Al emplear esta técnica de calibración, se tiene la seguridad de compensar y solventar los efectos que producen las interferencias debidas a las diferencias en las propiedades físicas de las soluciones patrones y la muestra y algunas interferencias por parte de la matriz, [37].

No obstante el objetivo de un pretatamiento es llevar el analito presente en una matriz compleja por la presencia de sustancias de diferente naturaleza, a una solución en la cual el analito quede expuesto casi en su totalidad y por tanto mucho más fácil de detectar efectivamente en el equipo, de esta manera el pretratamiento cumple con su principal objetivo, y el hecho de realizar el método de adición estándar en el cual la curva de calibración tiene la misma composición de la muestra, compromete dicho objetivo, pues se compensan las interferencias.

Así mismo, otras interferencias no espectrales que se originan por la matriz de la muestra, como algunas de tipo químico, no siempre se compensan por lo que, aún aplicando esta técnica de calibración, existe la probabilidad de que la determinación cuantitativa sea errónea, [37].

6.2.1. CONCENTRACIONES HALLADAS

A continuación se muestran los resultados de las muestras fortificadas. En la columna de concentración leída se encuentran los valores de concentración arrojados por el equipo, mientras que la columna a su derecha corresponde a una corrección consistente en multiplicar la concentración de la muestra leída por el factor de dilución de 10 o de 100, según haya sido el caso. La corrección se muestra en las siguientes tablas de resultados en aquellas celdas donde la concentración leída está acompañada de un asterisco (*) y cuya corrección se puede observar en la columna de concentración corregida.

6.2.1.1. Lecturas de cadmio. Se realizaron diluciones para el cadmio en las muestras de sulfato de aluminio tipo b (10 mL en 100 mL) y de agua residual (1 mL en 100 mL) con el objeto de ingresar el valor de la fortificación dentro del rango de la curva de calibración. Los siguientes resultados corresponden la experimentación realizada para cadmio en las tres matrices:

Tabla 18. Concentraciones para Cd en las tres matrices

Muestra	Concentración de Cd leída (µg/L)	Concentración de Cd corregida (µg/L)
blanco pulpa	0,1260	0,1260
Pulpa 1	1,1658	1,1658
Pulpa 2	0,8902	0,8902
Pulpa 3	0,6823	0,6823
Blanco sulfato	0,0413	0,0413
Sulfato 1	1,2295 *	12,2950
Sulfato 2	1,2548 *	12,5480
Sulfato 3	1,0459 *	10,4590
Blanco Agua R	0,6886	0,6886
Agua R 1 método	1,3984 *	139,8400
Agua R 1 método	1,5432 *	154,3200
Agua R 1 método	0,8966 *	89,6600
Blanco Agua R	0,0706	0,0706
Agua R 2 método	1,4507 *	145,0700
Agua R 2 método	0,8446 *	84,4600
Agua R 2 método	0,7819 *	78,1900
Blanco Agua R	0,3669	0,3669
Agua R 3 método	1,4033 *	140,3300
Agua R 3 método	1,1962 *	119,6200
Agua R 3 método	1,4631 *	146,3100

Tabla 19. Concentración para Cd 5 µg/L en pulpa de fruta (Segunda experimentación)

Muestra	Concentración de Cd leída (µg/L)
Blanco Pulpa	-0,0823
Pulpa 1°	5,0162
Pulpa 2°	4,7590
Pulpa 3°	5,2513

6.2.1.2. Lecturas de Cromo. Los siguientes resultados corresponden a la experimentación realizada para cromo en pulpa de fruta y sulfato de aluminio tipo b por medido por horno de grafito:

Tabla 20. Concentraciones de Cr en pulpa de fruta y sulfato de aluminio por horno de grafito

Muestras	Concentración de Cr leída (µg/L)
blanco pulpa	0,0599
Pulpa 1	3,9052
pulpa 2	4,3041
pulpa 3	4,4305
Blanco sulfato	2,6171
Sulfato 1	37,8500
Sulfato 2	37,0599
Sulfato 3	31,6044

Tabla 21. Concentración de Cr en agua residual por llama acetileno-oxido nitroso

Muestras	Concentración de Cr leída mg/L
Blanco Agua R	0,0245
Agua R método 1	0,5713
Agua R método 1	0,5594
Agua R método 1	0,5309
Blanco Agua R	-0,0183
Agua R método 2	0,5190
Agua R método 2	0,5285
Agua R método 2	0,5237
Blanco Agua R	-0,0135
Agua R método 3	0,5166
Agua R método 3	0,4595
Agua R método 3	0,5190

6.2.1.3. Lecturas de Mercurio. Los siguientes resultados corresponden a las experimentaciones realizadas para mercurio en agua residual, pulpa de fruta y sulfato de aluminio tipo b, empleando el generador de hidruros.

Tabla 22. Concentración de Hg en las tres matrices por generador de hidruros

Muestras	Concentración de Hg leída (µg/L)
blanco pulpa	2,5284
Pulpa 1°	6,6228
Pulpa 2°	5,8627
Pulpa 3°	6,3723
Blanco sulfato	1,8374
Sulfato 1°	2,2693
Sulfato 2°	2,1656
Sulfato 3°	2,2779
Blanco Agua R	2,2002
Agua Residual 1°	19,5624
Agua Residual 2°	20,8494
Agua Residual 3°	20,4434

Tabla 23. Concentración Hg en sulfato de aluminio tipo b (Segunda experimentación)

Muestras	Concentración de Hg leída (µg/L)
Blanco sulfato	-1,4154
Sulfato 1°	4,5151
Sulfato 2°	4,2209
Sulfato 3°	4,0990

6.2.1.4. Lecturas de Arsénico. Se realizaron diluciones para el arsénico en las muestras de agua residual (1 mL en 100 mL), con el objeto de ingresar el valor de la fortificación dentro del rango de la curva de calibración:

Tabla 24. Concentración de As en las tres matrices

Muestras	Concentración de As leída (µg/L)	Concentración de As corregida (µg/L)
blanco pulpa	-2,58	-2,58
Pulpa 1	5,01	5,01
pulpa 2	4,59	4,59
pulpa 3	4,86	4,86
Blanco sulfato	-2,58	-2,58
Sulfato 1	34,84	34,84
Sulfato 2	35,07	35,07
Sulfato 3	35,60	35,60
Blanco Agua R	-1,18	-1,18
Agua R 1 método	3,29 *	329,06
Agua R 1 método	5,05 *	504,57
Agua R 1 método	4,30 *	429,68
Blanco Agua R	-0,71	-0,71
Agua R 2 método	5,34 *	533,92
Agua R 2 método	4,90 *	489,95
Agua R 2 método	4,07 *	406,96
Blanco Agua R	-0,92	-0,92
Agua R 3 método	2,55 *	255,05
Agua R 3 método	4,23 *	423,48
Agua R 3 método	4,41 *	441,07

6.2.1.5. Lecturas de Plata. Se realizaron diluciones para la plata en las muestras de agua residual (1 mL en 100 mL), con el objeto de ingresar el valor de la fortificación dentro del rango de la curva de calibración:

Tabla 25. Concentración de Ag en las tres matrices

Muestras	Concentración de Ag leída (µg/L)	Concentración de Ag corregida (µg/L)
blanco pulpa	0,0076	0,0076
Pulpa 1	15,8590	15,8590
Pulpa 2	15,9503	15,9503
Pulpa 3	15,9960	15,9960
Blanco sulfato	-0,0063	-0,0063
Sulfato 1	36,0680	36,0680
Sulfato 2	35,2560	35,2560
Sulfato 3	35,8150	35,8150
Blanco 1 Agua R	0,0000	0,0000
Agua R 1 método	2,6347 *	263,4700
Agua R 1 método	2,1804 *	218,0400
Agua R 1 método	2,5687 *	256,8700
Blanco 2 Agua R	-0,0038	-0,0038
Agua R 2 método	3,8899 *	388,9900
Agua R 2 método	3,8987 *	389,8700
Agua R 2 método	4,1272 *	412,7200
Blanco 3 Agua R	-0,0013	-0,0013
Agua R 3 método	4,0383 *	403,8300
Agua R 3 método	3,9952 *	399,5200
Agua R 3 método	3,7998 *	379,9800

6.2.1.6. Lecturas de Plomo. Se realizaron diluciones para el plomo en las muestras de agua residual (10 mL en 100 mL), con el objeto de ingresar el valor de la fortificación dentro del rango de la curva de calibración:

Tabla 26. Concentración de Pb en las tres matrices

Muestras	Concentración de Pb leída (µg/L)	Concentración de Pb corregida (µg/L)
blanco pulpa	0,2368	0,236
Pulpa 1	5,0563	5,056
pulpa 2	5,0719	5,07
pulpa 3	5,0824	5,08
Blanco sulfato	-0,1527	-0,152
Sulfato 1	50,3104	50,31
Sulfato 2	50,5836	50,58
Sulfato 3	53,4598	53,46
Blanco 1 Agua R	1,2403	1,24
Agua R 1 método	28,2656	282,66
Agua R 1 método	32,3442	323,44
Agua R 1 método	30,9626	309,63
Blanco 2 Agua R	0,3356	0,335
Agua R 2 método	35,3381	353,38
Agua R 2 método	38,5289	385,29
Agua R 2 método	39,3746	393,75
Blanco 3 Agua R	0,2170	0,217
Agua R 3 método	38,8971	388,97
Agua R 3 método	38,6163	386,16
Agua R 3 método	37,7231	377,23

6.3. PORCENTAJES DE RECUPERACION OBTENIDOS

Cuando se realizó una serie de experimentaciones preliminares para cada metal en los tres tipos de matriz bajo determinadas condiciones de fortificación, y de operación en el equipo, como la técnica de atomización necesaria en relación al límite de detección instrumental y a la concentración de las muestras fortificadas; se obtuvieron resultados poco satisfactorios en cuanto la exactitud de los porcentajes de recuperación. No obstante esta información obtenida fue útil en la búsqueda de mejores resultados de los cuales se pudiera obtener información que ayudara a optimizar el rendimiento de estos métodos de extracción. Posteriormente esta experimentación realizada para los seis metales en las tres matrices de análisis por triplicado, se llevó a cabo con concentraciones de las fortificaciones sujetas a las normas ambientales y de calidad pertinentes en la

mayoría de los casos, hasta cuando los límites de las condiciones óptimas de operación del equipo lo permitían. A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada metal según la matriz y el pretratamiento empleado:

6.3.1. AGUA RESIDUAL

Para el agua residual se evaluaron tres métodos de extracción o pretratamientos, denominados 1° método, 2° método y 3° método, (**Ver anexo 2**) llevando a cabo tres experimentaciones, y fortificando según los límites del decreto 1594 de 1984. Los porcentajes de recuperación hallados son los siguientes:

Tabla 27. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en agua residual

Metal	1° Método			2° Método			3° Método		
	Descomposición con HNO ₃			Descomposición con HNO ₃ + H ₂ SO ₄			Calcinación		
	% de recuperación			% de recuperación			% de recuperación		
	1° *	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
As	65,82	100,92	85,94	106,78	97,99	81,39	51	84,68	88,2
Cd	139,15	153,63	88,97	144,99	84,38	78,11	139,96	119,25	145,94
Cr	109,36	106,98	101,28	103,8	105,7	104,74	103,32	91,9	103,8
Ag	52,69	43,6	51,37	77,79	77,97	82,54	80,766	79,9	75,99
Pb	67,49	75,15	72,61	84,68	85,99	87,34	86,61	86,16	84,71

Fuente: elaboración propia

1° = Ensayo 1 del triplicado, aplica para el resto de celdas con esta numeración

Tabla 28. Recuperación de Hg en agua residual

Metal	Método IDEAM		
	Descomposición con KMnO ₄		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Hg	93,4	91,21	108,14

6.3.1.1. Descripción de los métodos.

Método para Hg por digestión con KMnO₄ del IDEAM:

Se tomó la cantidad necesaria de muestra y se disolvió en agua para después aforar a 100 mL. Posteriormente se realizó una digestión con KMnO₄ en baño maría por dos horas, adicionando éste reactivo hasta que se obtuvo una digestión completa, evidenciada por la persistencia del color púrpura del KMnO₄ en la solución. Una vez se completó la reacción se adicionó 5 mL de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-cloruro de sodio para detener la completamente la

oxidación. Después se aforó con agua desionizada a 100 mL nuevamente y se llevó al espectrofotómetro de absorción atómica. **(Ver anexo 1).**

Primer método (Descomposición con HNO₃):

Se agitó apropiadamente la muestra. Se tomó 100 ml de esta y se le adicionó 5 ml de HNO₃ (1:1). Se le adicionó la cantidad de patrón del metal en análisis para obtener la concentración requerida en la fortificación. Se calentó moderadamente en plancha y concentró hasta 15 ml aproximadamente. Se aforó a 100 mL y finalmente se llevó al espectrofotómetro de absorción atómica.

Segundo método (Descomposición con HNO₃ +H₂SO₄):

Se homogenizó adecuadamente la muestra. Se tomó 100 mL y se le adicionó la cantidad de patrón del metal en análisis para obtener la concentración requerida en la fortificación. Posteriormente se le adicionó 5 mL HNO₃ (1:1) y después de 20 minutos de digestión se le adicionó 5 mL de H₂SO₄ (1:1). Se continuó con el calentamiento hasta que la muestra produjo una especie humo blanco indicando que la acción del ácido estaba descomponiendo efectivamente la materia orgánica. Se aforó hasta 100 mL y se llevó al espectrofotómetro de absorción atómica.

Tercer método: (Calcinación)

Se homogenizó con fuerza la muestra. Se tomó 100 mL de ésta y se le adicionó la cantidad de patrón del metal en análisis para obtener la concentración requerida en la fortificación. Se calentó en plancha hasta sequedad, llegando a una carbonización parcial. Luego se sometió a una carbonización total en una mufla, llevando hasta 500 °C con rampa de 100°C/h. Después se solubilizaron las sales resultantes adicionando HCL (1:1) y con agua desionizada se aforó a 100 mL. Finalmente la muestra tratada se llevó a la determinación instrumental en el equipo de absorción atómica.

6.3.2. PULPAS DE FRUTA

Los métodos de extracción para pulpa de fruta evaluados para As, Cd, Cr, Ag y Pb fue extraído del manual de operación del espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000, mientras que para la extracción del mercurio se evaluó un método de digestión con KMnO₄ extraído de las publicaciones del IDEAM acerca de la determinación de mercurio en aguas residuales,[38].

Los resultados de las dos experimentaciones llevadas a cabo en pulpa de fruta están en la siguiente con la descripción del método empleado:

Tabla 29. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en pulpa de fruta

Metal	1° Método		
	Calcinación		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
As	100,28	91,74	97,15
Cd	207,96	152,84	111,26
Cr	76,9	84,88	87,41
Ag	79,25	79,71	79,94
Pb	96,39	96,70	96,91

Fuente: elaboración propia

Tabla 30. Recuperación de Hg en pulpa de fruta

Metal	Calcinación manual del equipo		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Hg	82,68	66,68	76,87

**Tabla 31. Recuperación de Cd en pulpa de fruta
(Segundo ensayo (5 µg/L))**

Metal	Calcinación manual del equipo		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Cd	100,32	95,18	105,03

6.3.2.1. DESCRIPCION DE LOS METODOS

Método para determinar Ag, As, Cd, Cr y Pb en pulpa de fruta. Procedimiento realizado:

Se descongeló y homogenizó apropiadamente una muestra de pulpa de maracuyá y se pesó un gramo ésta para cada ensayo. Se adicionó la cantidad de patrón del de cada metal, de acuerdo a la cantidad necesaria de éste para obtener la concentración de la fortificación deseada. Simultáneamente se realizó el blanco correspondiente. Luego en un crisol se calentó en plancha moderadamente hasta carbonización parcial, teniendo especial cuidado con la pérdida de analito por salpicaduras. Se sometió a un calentamiento mayor en mufla hasta una temperatura máxima de 500 °C, con rampa de 100°C/h. Se le adicionó agua desionizada y se continuó con el calentamiento con el fin de no permitir que la

muestra se seca totalmente. Después se adicionó HCl para disolver las sales, y se llevó aforó a 100 mL con agua desionizada. **(Ver anexo 4).**

Método para mercurio por digestión con KMnO₄ del IDEAM:

Se tomó la cantidad necesaria de pulpa y se disolvió en agua para después aforar a 100 mL. Posteriormente se realizó una digestión con KMnO₄ en baño maría por dos horas, adicionando éste reactivo hasta que se obtuvo una digestión completa, evidenciada por la persistencia del color púrpura del KMnO₄ en la solución. Una vez se completó la reacción se adicionó 5 mL de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-cloruro de sodio para detenerla totalmente. Después se aforo a 100 mL nuevamente. **(Ver anexo 3).**

6.3.4. SULFATO DE ALUMINIO

En la primera experimentación para determinar As, Cd, Cr, Ag, Pb y Hg se evaluó la NTC 531 consistente en una precipitación, filtración y una posterior evaporación ligera de la muestra hasta reducir un pequeño volumen de ésta. Los resultados de las experimentaciones con sulfato de aluminio granulado tipo b, se presentan a continuación:

Tabla 32. Recuperación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en sulfato de aluminio tipo b

Metal	Método NTC 531 Digestión liviana		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
As	77,42	77,9	79,11
Cd	122,53	125,06	104,17
Cr	78,29	76,53	64,41
Ag	80,15	78,34	79,58
Pb	111,8	112,4	118,79

Tabla 33. Recuperación de Hg en sulfato de aluminio fortificado con 1,5 µg/L según la NTC 531

Metal	Método NTC 531 Digestión liviana		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Hg	28,79	21,88	29,36

**Tabla 34. Recuperación de Hg en sulfato de aluminio
(Segunda experimentación con 5 µg/L)**

Metal	Método NTC 531 Digestión liviana		
	% de recuperación		
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Hg	90,302	84,418	81,98

6.3.4.1. DESCRIPCION DE LOS METODOS

Método de la norma NTC 531:

Se pesaron 1,5 g de sulfato de aluminio granulado (en base seca). Se llevó a un volumen de 1.1 L y agitando vigorosamente se diluyó la muestra. Se adicionó la cantidad requerida patrón del metal en análisis para obtener la fortificación necesaria. Luego se llevó a un matraz de 2 L y se ajustó el pH a 6 con NaOH (1 N). Se dejó reposar la muestra por una hora y se filtro con papel GFC. Posteriormente se ajustó el pH a 2 con HNO₃ concentrado. Después se sometió a calentamiento suave, llevando el volumen hasta no menos de 1 L, luego se dejó enfriar y finalmente se aforó a éste volumen. **(Ver anexo 5).**

6.4 ANALISIS DE RESULTADOS

Este trabajo se realizó con el objeto de ofrecer al Laboratorio de Aguas y Alimentos de la UTP, una posibilidad de tener una perspectiva clara acerca de la efectividad de los métodos seleccionados para la determinación de estos metales en agua residual, pulpa de fruta y sulfato de aluminio granulado tipo b, y dejar el estudio a disposición del laboratorio para que este tome la decisión de validar estos procedimientos para su implementación en los procesos analíticos del Laboratorio de Aguas y alimentos de la Universidad tecnológica de Pereira.

La experimentación se llevó a cabo por triplicado y fortificando las muestras con valores de concentración iguales o muy cercanos a los límites de concentración permitidos para estos metales en cada matriz de análisis, según las normas pertinentes. Además se tuvo en consideración las condiciones óptimas de operación del equipo, también para la fortificación de las muestras, pero hasta donde las condiciones de trabajo lo permitieron. Condiciones como la preparación de los patrones de bajas concentraciones pues entre más se diluya el analito más se compromete la certeza de que la concentración esperada sea la que realmente se transfiere entre las diluciones necesarias para preparar los patrones.

Para comprender algunos factores por los cuales se producían resultados poco satisfactorios en las experimentaciones preliminares, en contraste con los resultados obtenidos de esta experimentación, se deben tener en cuenta factores como posibles interferencias en las determinaciones instrumentales, y la forma de cómo se ejecutaron los análisis en cuanto a la preparación de la muestra y la determinación instrumental, además de otros; como las condiciones de trabajo relacionadas con las concentraciones de las fortificaciones de las muestras y ligeras variaciones en los métodos de extracción empleados para cada metal, reflejadas en mayor precisión y exactitud, además de mejores porcentajes de recuperación.

Debido a que el trabajo no tiene carácter de validación, en cuanto a la certificación de calidad de los datos obtenidos, se realizó un análisis que permitiera tener cierta certeza de que los valores determinados en el equipo son aceptables o no en referencia al valor verdadero o teórico de fortificación. Se halló la exactitud de los métodos, bajo los criterios de precisión y veracidad, para considerar como confiables los valores de recuperación hallados, ya que ésta fue el principal parámetro de calidad que se tuvo en consideración para establecer la utilidad de los métodos de extracción evaluados.

6.4.1. CÁLCULO DE LOS VALORES DE RECUPERACION

La recuperación es la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada antes de la determinación experimental, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar se comparan y halla la recuperación del método de extracción. El cálculo de porcentaje de recuperación se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$\%R = [(CF - CU) / CA] \times 100$$

Donde:

CF = concentración de la sustancia medida en la muestra fortificada

CU = concentración de la sustancia medida en la muestra sin fortificar

CA = concentración de la sustancia agregada (valor teórico) en la muestra fortificada, [39].

El porcentaje de recuperación para arsénico por ejemplo, del método para pulpas se calculó así:

CU = - 2,5752 µg/L

CF = 4,8577 µg/L

CA = 5 µg/L

El porcentaje de recuperación hallado para el arsénico en pulpa fue:

$$\% \text{ recuperación} = \frac{4,8577, -0}{5} * 100\% = 97,15\%$$

El valor de concentración negativa para la muestra blanco, se asumió en todos los casos como una concentración de cero mg/L y/o cero µg/L., por las razones anteriormente mencionadas.

En las fuentes bibliográficas se pueden encontrar varios parámetros de aceptabilidad de resultados de porcentaje de recuperación de un método de extracción, se encuentra principalmente que la recuperación debe estar entre 70% y 130% enmarcado para la mayoría de controles de calidad, [40].

Mientras que un rango más estrecho sugiere que el porcentaje de recuperación del método para ser aceptado debe ser lo más cercano a 100 %, y son aceptables valores de ± 20% sobre el ideal a recuperar, para muestras complejas, [35], por lo que se un rango de 80-120 % de recuperación, fue el criterio utilizado como indicador de la veracidad del método, que junto a la desviación estándar y porcentaje de desviación estándar relativa relacionadas con la precisión del método sumados, arrojaron la exactitud de los método analizados. Sin embargo el Laboratorio de Aguas y Alimentos de la UTP maneja ± 5 % del rango de recuperación ya mencionado, por lo que fueron admitidos aquellos valores que quedaron cobijados por este otro criterio de análisis.

En este trabajo se manejan matrices relacionadas con alimentos y con sustancias incorporadas al agua de consumo y a aguas residuales, por lo que es de mucha importancia para el laboratorio obtener resultados más exactos. Un valor por debajo del rango de porcentaje recuperación indica que el método es poco exacto y por tanto poco confiable, y que presenta problemas por la posible pérdida de analito durante el tratamiento o pérdidas en la preparación de los patrones y en la fortificación de la muestra, puesto que las concentraciones son muy bajas, del orden de partes por billón (ppb) o µg/L, lo cual aumenta la posibilidad de pérdida de analito tanto en la preparación de la muestra como en la ejecución del tratamiento.

Por su parte un valor por encima del rango de porcentaje de recuperación también es indicio de poca exactitud y tan poco es aceptable, además. Este resultado se puede dar gracias al aumento en la absorbancia por la presencia de otras sustancias ya sean de carácter inorgánico como metales presentes con líneas de

absorción similar, tanto como por la posible materia orgánica remanente después de haber sometido la muestra a los tratamientos de extracción seleccionados, generando posibles interferencias espectrales de línea y de banda.

6.4.2. EXACTITUD DE LOS MÉTODOS EVALUADOS

Cada método fue considerado como exacto o poco exacto en su defecto, empleando la precisión y la veracidad halladas (sesgo) para cada método según el metal y la matriz de análisis en cuestión y por tanto si es factible la validación de los métodos evaluados.

La exactitud (de acuerdo a la definición de ISO 3534-1) expresa la proximidad de un resultado al valor verdadero. La exactitud tiene en cuenta dos componentes: veracidad y precisión. Es más simple no utilizar el término exactitud, ya que puede confundirse con otras definiciones, es mejor en su lugar hablar de sus componentes: veracidad y precisión, asociados al error total, el máximo sesgo que puede tener un dato, [41].

$$\text{Exactitud} = \text{Incertidumbre} = \text{Precisión} + \text{Veracidad}$$

La precisión es la medida de cuán cerca o dispersos están los resultados unos de otros, y se expresa normalmente como la desviación estándar (SD) y porcentaje desviación estándar relativa o coeficiente de varianza (%CV) ya que se acepta la varianza como el mejor indicador de la dispersión: a menor varianza, mayor precisión, [41], por tanto éste fue uno de los criterios empleados para considerar confiable un método de extracción. El laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnología de Pereira emplea un coeficiente de variación que debe ser igual o menor al 10%.

El siguiente componente, **la veracidad** del método es una expresión de cuán cerca está la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) del valor verdadero. La veracidad se expresa normalmente en términos del sesgo. El cálculo del sesgo puede hacerse de diferentes maneras:

- Utilizando materiales de referencia certificados
- Validando por comparación con otro método ya validado
- Participando en estudios colaborativos
- En el caso de no disponer de las alternativas anteriores, se recomienda usar para comparar las muestras utilizadas en pruebas de desempeño, de las cuales se disponga de los resultados del ejercicio interlaboratorio, [41].

En la práctica para establecer la veracidad se efectúa la comparación de la media de los resultados del método con valores conocidos, o sea, ésta se establece contra un valor de referencia. El porcentaje de recuperación es solo un componente de la veracidad, útil en los laboratorios para decidir la carta de control que se emplea en el monitoreo de la calidad en muestras con matrices complejas que presentan grandes interferencias, [41] como por ejemplo aguas residuales y pulpas de fruta, y en algunos casos el sulfato de aluminio granulado tipo b, dependiendo de su procedencia.

Para este estudio, un rango de porcentaje de recuperación para métodos de extracción, utilizado en la mayoría de los controles de calidad, fue el utilizado como criterio de referencia para comparar los resultados obtenidos de cada metal en cada matriz de análisis, cuyo rango de referencia es de 80-120% de recuperación, aunque el laboratorio maneja un $\pm 5\%$ de este rango, que en términos prácticos corresponde a 75-125 % de recuperación.

6.4.2.1. Precisión de los métodos para pulpa de fruta. A continuación se muestran la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (%CV) del método de calcinación tomado del manual de operación del espectrofotómetro de absorción atómica, para la determinación de As, Cd, Cr Ag y Pb fortificados en pulpa de fruta:

Tabla 35. Desviación estándar para los metales en pulpa de fruta

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	promedio	SD	% CV
As	100,28	91,74	97,15	94,44	3,82	4,05
Cd	207,96	152,84	111,26	157,35	48,50	30,82
Cr	76,9	84,88	87,41	83,06	5,48	6,603
Ag	79,25	79,71	79,94	79,63	0,351	0,441
Pb	96,39	96,70	96,91	96,66	0,261	0,270

Según los datos de la tabla anterior, el método de calcinación fue considerado preciso para As, Ag, Cr y Pb a las concentraciones fortificadas, pues ningún dato de coeficiente de varianza fue mayor a 10 %. Por el contrario, el Cd cuyo valor fue aproximadamente el triple del criterio permitido, hizo necesario realizar nuevamente una experimentación con el fin de tener más certeza acerca de la exactitud del método para determinar Cd. Esta nueva experimentación se realizó fortificando con 5 $\mu\text{g/L}$ en contraste con la primera, que fue de 0,5 $\mu\text{g/L}$, una concentración difícil de obtener con alta exactitud empleando pipetas volumétricas de hasta un mínimo de 1 mL, ya haya sido que se produjo un error en la preparación de los patrones de la curva, en la misma fortificación de las muestras

ó durante el desarrollo del tratamiento de extracción evaluado. Por este motivo no se fortificó con 0,02 µg/L el límite según normas europeas o en relación al rango óptimo de la curva de calibración del manual del equipo que es de 0,1 a 0,5 µg/L y en vez de ello se fortificó con una concentración mayor, de 5µg/L, una concentración 10 veces la anterior, la cual fue más fácil de preparar, logrando mayor exactitud en la fortificación y facilidad para detectarla efectivamente en el equipo, por lo cual se pudo evaluar mejor la recuperación del método. Como se puede observar a continuación, la precisión aumentó considerablemente:

Tabla 36. Desviación estándar y coeficiente de variación para Cd a 5ug/L

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	promedio	SD	% CV
Cd	100,32	95,18	105,03	100,18	4,92	4,92

Dado que el coeficiente de varianza (%CV) es mucho menor que criterio del 10% manejado por el laboratorio, el método de calcinación se considera preciso. Por su parte el método para determinar Hg en pulpas de fruta arrojó los siguientes resultados de desviación estándar y coeficiente de variación (% CV):

Tabla 37. Desviación estándar y coeficiente de variación del método para Hg

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	promedio	SD	% CV
Hg	82,68	66,68	76,87	75,41	8,100	10,740

El método de digestión en baño maría con KMnO₄ para mercurio aplicado a pulpas de fruta arrojó un % CV igual al límite del criterio del 10 de %CV empleado por el laboratorio, lo cual significa que el método a pesar de estar enfocado hacia aguas residuales, presenta para pulpa de fruta una precisión aceptable.

6.4.2.2. Veracidad de los métodos para pulpa de fruta. En cuanto a la veracidad (sesgo) de los resultados de cada metal en pulpa de fruta, estos fueron los datos obtenidos:

Tabla 38. Veracidad del método de calcinación para cada metal

Metal	media [] en la muestra	Media porcentaje recuperación	Veracidad 80-120 % recuperación
As (µg/L)	4,8197	94,45	+
Cd 0,5 (µg/L)	0,9128	157,35	-
Cd 5(µg/L)	5,0080	100,1767	+
Cr (µg/L)	4,2133	83,06	+
Ag (µg/L)	15,9361	79,63	+
Pb (µg/L)	5,0702	96,67	+
Hg (µg/L)	6,2859	75,41	+

Como se muestra en la tabla, el arsénico, el cromo, la plata y el plomo están dentro del rango de referencia del 80-120%, y a su vez la recuperación del mercurio estuvo dentro del criterio del laboratorio del ± 5 % del rango referencia, cumpliendo con la veracidad del método con concentraciones equivalentes a los límites de las normas. Por su parte, la nueva medición de Cd arrojó un muy buen valor de recuperación para este metal, por lo que se acepta la veracidad del método para Cd en pulpa de fruta a 5 µg/L o concentraciones estrechamente cercanas.

Dado los valores aceptables de precisión y veracidad obtenidos para los seis metales en pulpa de fruta a excepción del Cadmio a 0,5 µg/L pero evaluado nuevamente a 5µg/L, el método de extracción por calcinación para pulpa de fruta en la determinación de As, Ag, Cd, Cr, Pb y el método de digestión con KMnO_4 para Hg presentaron ambos un buen nivel de exactitud que ofrece al Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira una perspectiva clara para incorporar estos dos métodos de extracción en sus procedimientos analíticos mediante una validación en una futura investigación.

6.4.2.3 Precisión del método de la NTC 531 para sulfato de aluminio granulado tipo b. Las fortificaciones se realizaron en base a los límites de impurezas establecidos en la NTC 531. La precisión del método determinando As, Cd, Cr, Ag Pb y Hg se muestra a continuación:

Tabla 39. Desviación estándar y coeficiente de variación del método de la NTC 531

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Promedio	SD	% CV
As	77,42	77,9	79,11	78,14	0,87	1,11
Cd	122,53	125,06	104,17	117,25	11,40	9,72
Cr	78,29	76,53	64,41	73,07	7,55	10,34
Ag	80,15	78,34	79,58	79,35	0,923	1,17
Pb	111,8	112,4	118,79	114,33	3,87	3,39
Hg	28,79	21,88	29,36	26,67	4,16	15,61

Como se puede observar, el método de la NTC 531 arrojó para As, Ag y Pb en sulfato de aluminio valores de SD y %CV que cumplen claramente con los criterios de aceptabilidad, no obstante el Cr y el Cd a pesar de que están prácticamente sobre el límite aceptabilidad del 10 % de coeficiente de variación, presentan una precisión aceptable.

En contraposición, el método presentó para Hg, un valor poco aceptable por estar sustancialmente por encima del criterio del 10%, correspondiente a la fortificación con 1,5 µg/L en cumplimiento de la NTC 531. Por lo tanto fue necesaria una nueva experimentación, en la cual el sulfato de aluminio tipo b se fortificó con 5 µg/L de Hg, una concentración tres veces la establecida en la norma, ya que es más fácil de obtener en la fortificación y detectar efectivamente en el espectrofotómetro de absorción atómica, y tener la posibilidad de hallar con mayor certeza la recuperación del método a una concentración un poco mayor. Los resultados obtenidos de esta nueva experimentación fueron los siguientes:

Tabla 40. Desviación estándar y coeficiente de variación para el mercurio a 5 µg/L

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Promedio	SD	% CV
Hg	90,302	84,418	81,98	85,56	4,27	4,999

Como se observa, el método es mucho más preciso para una concentración de 5µg/L de Hg puesto que su coeficiente de varianza cumple apropiadamente con el criterio manejado por el laboratorio.

6.4.2.4. Veracidad del método de la NTC 531 para sulfato de aluminio tipo b.

En cuanto a la veracidad (sesgo) de los resultados del método en la determinación de cada metal en sulfato de aluminio granulado tipo b, estos fueron sus datos valores:

Tabla 41. Veracidad del método de la NTC 531 para mercurio 5 µg/L

Metal	Concentración en la muestra (µg/L) Promedio	% recuperación Promedio	Veracidad (80-120 % de recuperación)
As	35,17	78,14	+
Cd	11,77	117,25	+
Cr	35,50	73,25	-
Ag	35,71	79,36	+
Pb	51,45	114,33	+
Hg 1°	2,24	26,68	-
Hg 2°	4,28	85,57	+

Estos resultados muestran un cumplimiento positivo en el criterio de veracidad y por tanto exactitud apropiada del método en la determinación de As, Cd, Ag y Pb, pues están dentro del rango del criterio de porcentaje de recuperación aceptable. En la determinación de Cr, el método a pesar de estar sólo un poco por debajo del criterio de ± 5 % del criterio de veracidad, podría estar cobijado por un criterio más flexible como el de 70-130 % de recuperación, y ser posiblemente aceptable para otras entidades, además presenta un %CV en el límite del criterio de precisión que sumado a lo anterior hace que sea recomendable un estudio posterior de este caso y concretar si el método es realmente apropiado o no para determinar Cr en sulfato de aluminio granulado tipo b según el límite de la NTC 531.

Por otra parte el método en la determinación del Hg fortificado según la NTC 531 arrojó un resultado poco satisfactorio tanto en la precisión como en la veracidad, quizás por ser éste un elemento metálico volátil y fácilmente se pudo perder por esta razón en el calentamiento suave de la muestra llevado a cabo en el desarrollo del método. Mientras que en la segunda experimentación fortificando con 5 µg/L ambos componentes de la exactitud mejoraron considerablemente, calificando apropiadamente el método para su utilización.

Según la información obtenida de exactitud y cuyo criterio se fundamentó en la precisión y veracidad obtenidas, este método es confiable en la determinación de As, Cd, Cr, Ag y Pb a concentraciones iguales a los límites de de la NTC 531. De igual manera se considera confiable este método para la determinación de Hg pero a concentraciones cercanas a los 5µg/L, en vez de 1,5 µg/L, el valor del límite según la norma.

6.4.2.5. Precisión de los métodos para aguas residuales. Las fortificaciones se realizaron en base a los límites de contaminantes del decreto 1594 de 1984 establecidos en la NTC 531. La precisión de los métodos para determinar As, Cd, Cr, Ag, Pb y Hg en aguas residuales aquí expresada en términos de desviación estándar y coeficiente de variación, se tiene a continuación:

Tabla 42. Desviación estándar y coeficiente de varianza para los tres métodos

Método 1 Digestión con HCl	Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Promedio	SD	% CV
	As	65,82	100,92	85,94	84,23	17,61	20,91
	Cd	139,15	153,63	88,97	127,25	33,93	26,67
	Cr	109,36	106,98	101,28	105,87	4,15	3,92
	Ag	52,69	43,60	51,37	49,22	4,91	9,98
	Pb	56,28	64,44	61,75	60,82	4,16	6,84
Método 2 Digestión Con H₂SO₄	Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Promedio	SD	% CV
	As	106,78	97,99	81,39	95,39	12,89	13,52
	Cd	144,99	84,38	78,11	102,49	36,94	36,04
	Cr	103,80	105,70	104,74	104,75	0,95	0,91
	Ag	77,79	77,97	82,54	79,43	2,69	3,39
	Pb	70,60	76,99	78,68	77,84	1,20	1,54
Método 3 Calcinación	Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Promedio	SD	% CV
	As	51,00	84,68	88,20	74,63	20,54	27,52
	Cd	139,96	119,25	145,94	135,05	14,01	10,37
	Cr	103,32	91,90	103,80	99,67	6,74	6,76
	Ag	80,77	79,90	75,99	78,89	2,54	3,23
	Pb	77,75	77,18	75,40	76,78	1,23	1,60

La primera observación evidente, son los valores de SD y %CV que presentaron los tres métodos en la determinación de As y Cd, en especial el tercer método cuyos valores de %CV estuvieron en gran medida por encima del criterio del 10 %, el Cd con un 20% y el As con un lejano 27,52%. El caso del As muy probablemente se deba a pérdidas por volatilización durante la carbonización de la muestra en plancha y posteriormente en la mufla dada la naturaleza volátil de este metal. El primer método arrojó resultados un tanto mejores para As y Cd aunque también lejanos del criterio de coeficiente de variación del 10%.

De los tres métodos evaluados, el segundo arrojó el valor más cercano al criterio de %CV y por tanto mayor precisión para la determinación de As dado una cercanía importante del coeficiente hallado con el criterio establecido.

En cuanto al método para determinar Cd, la precisión más aceptable la arrojó el tercer método pues su % CV fue igual al criterio de establecido de 10%.

Por parte del método de digestión con KMnO_4 para la determinación de Hg, la precisión hallada fue:

Tabla 43. Desviación estándar y coeficiente de variación para Hg

Metal	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	promedio	SD	% CV
Hg	86,81	93,4	91,21	90,47	3,35	3,70

La precisión hallada para este método fue buena pues su coeficiente de variación es tres veces menor al criterio de evaluación del 10% de CV.

6.4.2.6. Veracidad de los métodos para agua residual.

Tabla 44. Veracidad de los tres métodos evaluados para agua residual

Método 1	Metal	Promedio concentración de la muestra	Promedio porcentaje recuperación	Cumplimiento 80-120 % recuperación
	As	421,10	84,23	+
Cd	127,94	127,25	-	
Cr	553,87	105,87	+	
Ag	246,13	49,22	-	
Pb	305,24	60,82	-	
Método 2	Metal	Promedio concentración de la muestra	Promedio porcentaje recuperación	Cumplimiento 80-120 % recuperación
	As	476,94	95,39	+
Cd	102,57	102,49	+	
Cr	523,73	104,75	+	
Ag	397,19	79,43	+	
Pb	377,47	86,00	+	
Método 3	Metal	Promedio concentración de la muestra	Promedio porcentaje recuperación	Cumplimiento 80-120 % recuperación
	As	373,1333	74,63	+
Cd	135,4200	135,05	-	
Cr	498,3667	99,67	+	
Ag	394,4433	78,89	+	
Pb	384,1216	76,78	+	

El método 1 presentó veracidad aceptable para cromo, seguido por el arsénico dentro del rango de recuperación de 80-120 %, mientras que para el Cd estuvo por encima del rango, posiblemente atribuido a un error en la fortificación de la

muestra o por interferencias relacionadas con la presencia de materia orgánica en la muestra después de haber sido sometida a una digestión con HNO₃.

La Ag y el Pb determinados por este método, muestran una diferencia significativa en relación al valor esperado de recuperación, están alejados del rango óptimo de recuperación, por lo que se infiere poca utilidad para el laboratorio en la determinación de estos 2 metales en base a este método de extracción.

El método 3 mostró veracidad válida para Cr, con un promedio casi igual al 100% de recuperación, seguido en orden decreciente por la Ag, el Pb y el As, cuyos valores estuvieron en límite inferior del rango óptimo y cubiertos por el margen de ± 5 % manejado por el laboratorio.

Finalmente se halló que el método que presenta mayor veracidad para la determinación de todos los metales excepto mercurio para el cual corresponde otro método de extracción; fue el método 2 consistente en la digestión de la muestra con H₂SO₄ y HNO₃. En contraste con el método 1 y 2 de los cuales difiere significativamente, todos los metales estuvieron dentro del rango óptimo de recuperación, ofreciendo mayor utilidad para el laboratorio puesto que con un solo método de extracción se puede determinar los cinco metales (As, Cd, Cr, Ag Pb) sin necesidad de utilizar otros pretratamientos según el metal, ahorrando tiempo y materiales pues en una muestra se pueden determinar los cinco metales con buena confiabilidad.

En cuanto la veracidad del método de digestión con KMnO₄ del IDEAM para determinación Hg, el método arrojó buena veracidad como se muestra a continuación:

Tabla 45. Veracidad del método de digestión con KMnO₄ para determinar Hg

Metal	Media [] en la muestra	Media porcentaje recuperación	Veracidad 80-120 % recuperación
Hg	21,1712	97,58	+

Sumado a la buena precisión obtenida para este método, se considera como apropiado y confiable para determinar Hg en aguas residuales, y ofrece un buen panorama acerca de la posibilidad de validar el método para ser incorporado en los procedimientos analíticos del laboratorio.

De igual forma se consideró el método 2 para determinar As, Cd, Cr, Ag y Pb, cuya exactitud hallada es mayor respecto al método 1 y método 3, y que se evidencia en los buenos valores de precisión y veracidad hallados, por lo cual se halló como el mejor procedimiento de extracción para la determinación de As, Cd, Cr, Ag y Pb en aguas residuales.

7. CONCLUSIONES

- Se determinó efectivamente la confiabilidad de los pretratamientos seleccionados y se desarrollaron como instructivos para la determinación de estos metales en las diferentes matrices bajo los criterios de porcentaje de recuperación relacionada con la exactitud y la precisión de los métodos de extracción, además de los costos de los análisis, seguridad del analista y el tiempo requerido.
- Teniendo en cuenta el rango óptimo de recuperación de 80-120% utilizado como referencia de calidad por la mayoría de controles de calidad; en general, los métodos que presentaron mejor rendimiento para aguas residuales fueron los que se basaron en digestiones con ácido nítrico, en especial el que involucra además ácido sulfúrico, debido principalmente a que el ácido nítrico hace parte de la composición química de los estándares de 1000 mg/L de los metales, eliminando así posibles interferencias entre los patrones de la curva y la muestra, conjuntamente, el ácido sulfúrico ofrece más capacidad de oxidación, por lo que la materia orgánica se elimina con mayor efectividad, reduciendo en gran medida las interferencias espectrales. El método que involucra altas temperaturas presentó resultados poco acertados debido principalmente a la pérdida de analito por acción de la volatilización de los metales más volátiles, pérdidas por salpicadura y la posible adherencia de muestra con analito al material de análisis. En definitiva el método más confiable para determinar As, Cd, Cr, Ag y Pb en aguas residuales fue el método 2. El pretratamiento de digestión con KMnO_4 para determinar Hg en aguas residuales, también es apropiado para aguas residuales, por lo cual es factible para el laboratorio de aguas y alimentos considerar incorporar estos dos métodos de extracción a sus procedimientos analíticos.
- El procedimiento de calcinación para pulpa de fruta es confiable según la exactitud y precisión halladas, al igual que el método de digestión con permanganato de potasio para determinar Hg, por lo que son buenos prospectos para que el laboratorio de aguas y alimentos los incorpore a sus procedimientos analíticos.
- El pretratamiento para determinar As, Cd, Ag, Pb y Hg según la NTC 531, arrojó valores satisfactorios de recuperación y se consideró apropiado y confiable la posible implementación como procedimiento analítico del laboratorio. En el caso del Cr, se debería evaluar nuevamente para encontrar la posibilidad de obtener un mejor rendimiento dado la estrecha cercanía de su recuperación con el rango óptimo de porcentaje de recuperación.

- Se lograron disminuir los costos de los análisis de las muestras al analizar en la misma determinación instrumental los metales analito del presente trabajo con muestras del laboratorio que tuvieran los mismos metales con valores muy cercanos de concentración entre ellos.
- Se organizaron y presentaron en forma de instructivos los procedimientos seleccionados teniendo en cuenta los resultados de recuperación obtenidos, los requerimientos de los análisis y la disponibilidad de recursos tanto técnicos como financieros del Laboratorio de Aguas y Alimentos de La Universidad Tecnológica de Pereira.
- Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de la evaluación de la recuperación de los procedimientos de extracción, se concluyó que los pretratamientos a las muestras deben de ser llevados a cabo cuidadosamente, teniendo en cuenta las recomendaciones para la correcta ejecución de estos, pues en este tipo de procedimientos analíticos la pérdida de analito, la contaminación de la muestra y/o el blanco, la preparación deficiente de patrones y por tanto de las fortificaciones de las muestras, esto suele ocurrir a menudo si el analista no permanece atento durante toda la experimentación.
- Para el llevar a cabo correctamente cada pretratamiento, fue necesario mantener presente dos aspectos importantes para los resultados: el alto contenido de materia orgánica genera interferencias en el análisis espectrofotométrico por lo que se debe asegurar al máximo de eliminarla efectivamente y dejar el analito libre para su cuantificación, el segundo es la precaución necesaria debido a las pérdidas de analito al manipular inapropiadamente la muestra durante el desarrollo del procedimiento como pérdidas por salpicaduras durante las digestiones o bien, la contaminación de la muestra fortificada o de la muestra blanco con sustancias que contengan el analito de interés, ya que varia el verdadero valor de concentración y se cuantifica valores errados.

8. RECOMENDACIONES

- Se debe tener en cuenta las medidas de seguridad necesarias para la elaboración de estos pretratamientos ya que requieren el uso de algunos reactivos de alto riesgo y los residuos generados son de carácter ácido, corrosivo, oxidante y las reacciones involucradas son exotérmicas generando desprendimiento de algunos vapores nocivos.
- 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.
- 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.
- Cuando se realiza un patrón o una fortificación, el analista deberá ser muy preciso en la adición del patrón a la muestra, siendo mayor la atención necesaria cuando se trabaja con bajas concentraciones, del orden de partes por billón, ya que una pequeña imprecisión generaría una gran diferencia respecto del valor original esperado y por tanto el analista tendría menos confianza acerca de la veracidad de los porcentajes de recuperación obtenidos.
- No sobrepasar un máximo de temperatura en mufla de 550°C es muy importante al momento de realizar aquellos pretratamientos que requieren calcinación porque la posibilidad de pérdida de ciertos elementos metálicos que empiezan a volatilizarse a temperaturas un poco mayores a ésta, es alta, haciendo necesario considerar la temperatura de volatilización del metal a determinar.
- En las determinaciones realizadas con el generador de hidruros, es fundamental estar atento en cada momento de que el flujo permanezca constante en cada una de las tres mangueras a través de las cuales se transporta la muestra, el ácido clorhídrico y el borohidruro de sodio, que finalmente reaccionan en una celda de

vidrio y generan el hidruro del metal, de lo contrario, se corre el riesgo de que se detenga el flujo en alguna de estas mangueras y descompense la cantidad de los reactivos en la celda provocando que la reacción se detenga o se generen compuestos diferentes que puedan generar interferencias y errores en la cuantificación del analito. Como complemento se recomienda realizar una prueba con un indicador de permanganato cuya coloración refleja la presencia suficiente de ácido y borohidruro, lo cual garantiza que la reacción con la muestra se dé completamente.

- En cuanto a la utilización del horno de grafito es muy importante verificar siempre, antes del análisis, que la muestra está siendo inyectada correctamente en el interior del horno de grafito, con el fin de asegurar que una buena parte del analito este llevándose al estado fundamental. Esto se realiza moviendo electrónicamente desde el equipo la posición del brazo del automuestreador ASC-7000 que ingresa en el horno de grafito y deposita la muestra en su interior. ayudado de una cámara de video propia del equipo que enfoca el interior del horno y hace posible asegurarse de ello.

- En la absorción atómica por llama es aconsejable determinar elementos de altas concentraciones, aproximadamente del orden de 0,5 mg/l en adelante puesto que este tipo de atomización involucra en ocasiones pérdidas de analito en la atomización.

- Es apropiado para efectos de un futuro trabajo de validación que requiera de mas parámetros analíticos, realizar el correspondiente estudio estadístico para establecer tanto el límite de detección como el de cuantificación del método de extracción, que son importantes para determinar con mayor certeza la concentración de muestras con bajas concentraciones del analito o bien, los blancos del análisis.

- En lo posible trabajar con curvas de calibración de buena tendencia lineal, empleando la zona de mayor linealidad, buscando cumplir con la ley de Beer y por tanto obtener valores de concentración más representativos.

- Es recomendable realizar el método de adición estándar para determinar el analito en las muestras fortificadas disminuyendo los problemas de interferencias, ya que permite obtener la señal de patrones y muestra bajo las mismas condiciones de matriz.

- 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.

9. ANEXOS

ANEXO 1

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y ALIMENTOS

Establecer el procedimiento del pretratamiento a muestras de aguas crudas tratadas y residuales para la determinación de su contenido de mercurio Hg y su posterior determinación a través de la espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros.

1. CONTENIDO

Para reducir las interferencias con materia orgánica y convertir todo el metal asociado con las partículas a una forma libre determinable por espectrofotometría atómica, un alícuota representativo de la muestra (100 ml). En un winkler se realiza una digestión con KMnO_4 en baño maría por dos horas, adicionando éste reactivo hasta que la sea digestión completa, evidenciada por la persistencia del color púrpura del KMnO_4 en la solución. Una vez se completa la reacción se adiciona hidroxilamina para detener totalmente la reacción. La muestra se deja enfriar y se afora a 100 mL con agua desionizada nuevamente.

Para la determinación de mercurio total se utilizara el Espectrómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 empleando el generador hidruros, ubicado en la zona de análisis instrumental del laboratorio de Aguas y Alimentos.

ANEXO 1

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

2.0 INFORMACION ANTES DE INICIAR EL PROCESO

2.1 Interferencias

Evite el contacto de la muestra con algún material metálico como pinzas, espátulas, aros, evite cualquier salpicadura de la solución durante la digestión, utilice utilice solo acido clorhidrico y borohidruo de sodio de alta pureza, lave todo el material con acido nítrico al 10% y enjuague con abundante agua desionizada.

Estas precauciones, con el objetivo de disminuir la contaminación o pérdida de los metales en estudio.

En caso donde los límites requeridos no sean alcanzados con la medida directa en el espectrofotómetro de absorción atómica, es necesario recurrir a la concentración de las muestras, el factor de concentración dependerá de cada muestra en particular, siendo posible en la mayoría de las veces, concentrar en un orden de máximo 10.

Cuando las muestras son concentradas durante la digestión, determine el porcentaje de recuperación mediante la adición del metal en estudio, con el objeto de determinar si existen interferencias respecto a la matriz.

Prestar atención constantemente a la continuidad del flujo de los reactivos y de muestra en las mangueras que los transporta hasta la celda de reacción del generador de hidruos, de lo contrario la reacción se descompensa y la cantidad de analito disponible en la detección será menor que la real, provocando errores en la cuantificación total del analito.

2.2. Recolección y preservación de la muestra

Limpiar los recipientes de muestras con ácido nítrico al 10% y enjuagar con agua destilada. Refrigerar adecuadamente la muestra de pulpa una vez ha sido obtenida.

ANEXO 1

INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO

Para una determinación precisa usar un recipiente separado para la recolección de la muestra.

2.3. Características del método

2.3.1. Límite de Detección: No Aplica.

2.3.2. Incertidumbre: No Aplica

2.4. MATERIALES Y REACTIVOS

2.4.1 Reactivos.

Nombre	Almacén	P	D	R	S	CAS
Ácido nítrico concentrado	Blanco	C	12	35	23-26-36/37/39-45	7697-37-2
Cloruro de sodio				-----	-----	7647-14-5
Sulfato de Hidroxilamina				2-21/22-36/38-40-43-48/22-50	2-36/37-61	10039-54-0
Permanganato de potasio				8-22-50/53	2-60-61	7722-64-7

2.4.2 Materiales

Planchas de calentamiento capaz de alcanzar temperaturas superiores a 150°C.

Vasos winlker de 250ml

Pipetas graduadas de 5 mL

Embudos de vidrio, filtros de papel Whatman # 41 o su equivalente.

Recipientes plásticos de mínimo 100 ml de capacidad.

ANEXO 1

INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO
2.5 Residuos Generados

Nombre	Código de colector	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución ácida	D	35	26-30-45
Solución de sales de metales pesados	E	35	26-30-45
Residuos de sales metálicas regenerables	H	35	23-26-30-36/37/39-45
Residuos de sales de mercurio	G	35	26-30-45

3.0 NORMAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

Lavar todo el material de vidrio tanto del laboratorio como los recipientes utilizados para la toma de la muestra y lectura del equipo con ácido nítrico al 10 %.(**Llevar el residuo generado al Colector D**).

La acidificación de las muestras que contienen materiales reactivos puede dar lugar a la generación de gases tóxicos se recomienda trabajar en la cabina de extracción.

Usar siempre el extractor de gases mientras este la llama encendida, utilizar siempre bata, lentes de seguridad y guantes resistentes a ácidos.

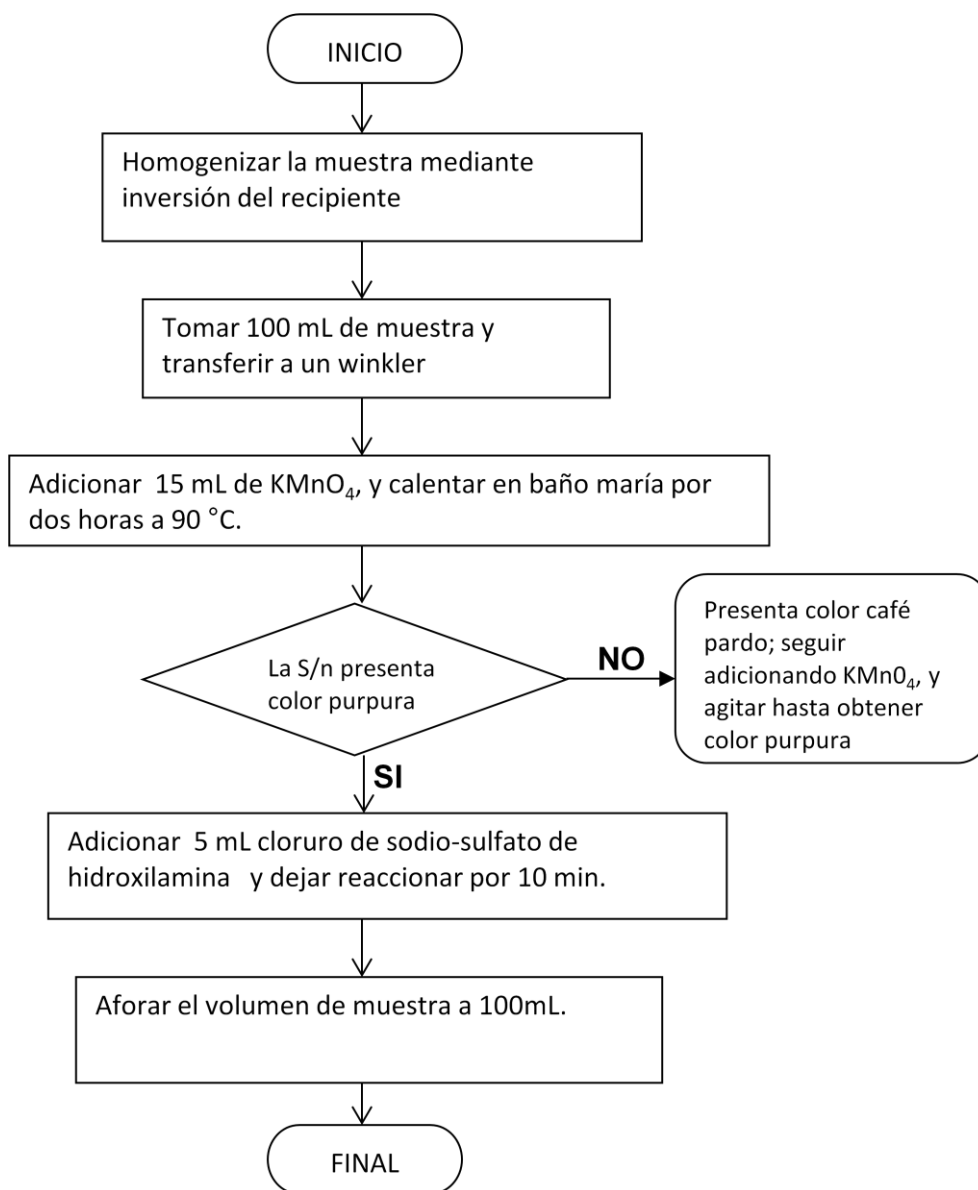
Siempre que fuese necesario el agregado de ácido durante la digestión, esperar que la temperatura descienda y hacer deslizar la solución sobre las paredes del erlenmeyer para evitar proyecciones.

Evitar sobre pasar la temperatura de reacción en el baño maría porque puede ocurrir adsorción del analito de interés a las paredes del erlenmeyer Y/o pérdida de mercurio volátil por sobrecalentamiento.

ANEXO 1

INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO

4. PROCEDIMIENTO



**INSTRUCTIVO DE DIGESTION DE AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

5.0 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Control de la exactitud: Siempre que sea posible evaluarla mediante la fortificación de muestra y su posterior digestión.

En el caso en el que se realice concentración de muestra, realizar fortificación del metal en estudio de al menos una muestra cada diez.

6.0 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

NTC-ISO 9000:2000 Sistema de gestión de calidad. Fundamentos y vocabulario.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 21^h Edition. Washington, 2005, seccion 3030 B, D, E F, y G pp 3-7 a 3-9

GTC-2. Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad del Agua. Determinación de metales por Espectrometría de Absorción Atómica Pág. 64.

Subdirección de estudios ambientales; grupo de acreditación. Determinación de mercurio total en aguas y sedimentos por espectrofotometría atómica – vapor frio y emisión por plasma. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia. 2009.

ANEXO 2

**INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb**

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y ALIMENTOS

Establecer el procedimiento del pretratamiento a muestras de aguas crudas tratadas y residuales para la determinación de metales salvo mercurio, y su posterior determinación a través de la espectrofotometría de absorción atómica por llama, horno de grafito o generador de hidruros según los requerimientos del análisis.

1. CONTENIDO

Para reducir las interferencias con materia orgánica y convertir todo el metal asociado con partículas a una forma libre determinable por espectrofotometría atómica, una alícuota representativa de la muestra (100 ml), se digiere en erlenmeyer, en plancha de calentamiento, en presencia de ácidos según sea el caso. Una vez fría la muestra, es aforada para la determinación. Para analizar metales disueltos, filtre acidifique, y analice directamente, para analizar metales suspendidos filtre, lleve a digestión la solución y analice.

En cuanto a la determinación de metales totales, realice digestión total con ácidos fuertes o una calcinación en mufla de la muestra, filtre y analice.

Estos métodos aplican para la determinación ciertos metales pesados como Ag, Cd, Cr y Pb, empleando la atomización con llama o con horno de grafito según la concentración del analito. Por otra parte, para la determinación As, el generador de hidruros es el sistema de atomización más indicado.

Para la determinación de metales se utilizara el espectrómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 ubicado en la zona de análisis instrumental del laboratorio de Aguas y Alimentos. La técnica de atomización varía de acuerdo a las concentraciones esperadas en las muestras y la naturaleza del analito, puesto que la llama es útil a concentraciones del orden de mg/L, mientras que el horno de grafito lo es en µg/L, además, el generador de hidruros es el apropiado para metales como el As y el Hg, al cual corresponde otro instructivo, por lo queda a consideración del analista decidir qué técnica emplear.

ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

2.0 INFORMACION ANTES DE INICIAR EL PROCESO

2.1 Interferencias

Evite el contacto de la muestra con algún material metálico como pinzas, espátulas, aros, evite cualquier salpicadura de la solución durante la digestión, trabaje solo con ácido de alta pureza, lave todo el material con ácido nítrico al 10% y enjuague con abundante agua desionizada.

Todo esto con el objetivo de disminuir la contaminación o pérdida de los metales en estudio.

En caso donde los límites requeridos no sean alcanzados con la medida directa en el espectrofotómetro de absorción atómica, es necesario recurrir a la concentración de las muestras de agua, el factor de concentración dependerá de cada muestra en particular, siendo posible en la mayoría de las veces, concentrar en un orden de máximo 10.

Cuando las muestras son concentradas durante la digestión, determine el porcentaje de recuperación mediante la adición del metal en estudio, con el objeto de determinar si existen interferencias respecto a la matriz.

Asegurarse de que se está empleando el tipo de llama requerido según la naturaleza del metal, para llevarlo con mayor seguridad a su estado fundamental, disminuyendo de esta manera, inconvenientes por interferencias químicas y espectrales.

Si en la determinación instrumental el horno de grafito es utilizado, asegurarse antes del análisis de que el horno de grafito esté recibiendo la cantidad total de muestra ingresada en él a través del automuestreador del equipo. Con la videocámara del equipo, que enfoca el interior del horno de grafito, se realiza el ajuste necesario, dirigido desde el software del espectrofotómetro de absorción atómica.

Prestar atención constantemente a la continuidad del flujo de los reactivos y de muestra en las mangueras que los transporta hasta la celda de reacción del generador de hidruros, de lo contrario la reacción se descompensa y la cantidad de analito disponible

ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

en la detección será menor que la real, provocando errores en la cuantificación total del analito.

2.2. Recolección y preservación de la muestra

Limpiar los recipientes de muestras con ácido nítrico al 10% y enjuagar con agua destilada. Para una determinación precisa usar un recipiente separado para la recolección de la muestra. Tratar con ácido al momento de la recolección para llevar a solución el metal y prevenir adsorción o deposición en las paredes del recipiente de muestra (ajustando a pH menor a 2 con ácido nítrico indicándolo en la etiqueta). Tener en cuenta el ácido adicionado en la medición de las porciones para el análisis. La adición de ácido a la muestra puede eliminar la necesidad de añadir ácido antes de la digestión.

2.3. Características del método

2.3.1. Límite de Detección: No Aplica.

2.3.2. Incertidumbre: No Aplica

2.4. MATERIALES Y REACTIVOS

2.4.1 Reactivos.

Nombre	Almacén	P	D	R	S	CAS
Ácido nítrico concentrado	Blanco	C	12	35	23-26-36/37/39-45	7697-37-2
Ácido sulfúrico concentrado	Blanco	C	12	35	26-30-45	7664-93-9
Acido Clorhídrico	Blanco	C	12	23/35	36/37/39	7647-01-0

2.4.2 Materiales

Planchas de calentamiento capaz de alcanzar temperaturas superiores a 150°C.

Erlenmeyer de Vidrio de 125 a 250ml

ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

Pipetas graduadas de 5 mL

Embudos de vidrio, filtros de papel Whatman # 41 o su equivalente.

Recipientes plásticos de mínimo 100 ml de capacidad.

2.5 Residuos Generados

Nombre	Código de colector	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución ácida	D	35	26-30-45
Solución de sales de metales pesados	E	35	26-30-45
Residuos de sales metálicas regenerables	H	35	23-26-30-36/37/39-45

4.0 NORMAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

Lavar todo el material de vidrio tanto del laboratorio como los recipientes utilizados para la toma de la muestra y lectura del equipo con ácido nítrico al 10 %.(**Llevar el residuo generado al Colector D**).

La acidificación de las muestras que contienen materiales reactivos puede dar lugar a la generación de gases tóxicos se recomienda trabajar en la cabina de extracción.

Usar siempre el extractor de gases mientras este la llama encendida, utilizar siempre bata, lentes de seguridad y guantes resistentes a ácidos.

Siempre que fuese necesario el agregado de ácido durante la digestión, esperar que la temperatura descienda y hacer deslizar la solución sobre las paredes del erlenmeyer para evitar proyecciones.

Evitar las salpicaduras de la muestra y la evaporación completa porque puede ocurrir adsorción del analito de interés a las paredes del erlenmeyer y/o pérdida de metales volátiles por sobrecalentamiento en plancha, agregando pequeñas cantidades de agua desionizada periódicamente, o estableciendo un límite de temperatura de 500°C en la calcinación, por debajo del cual no se volatilizan la mayoría de los metales pesados.

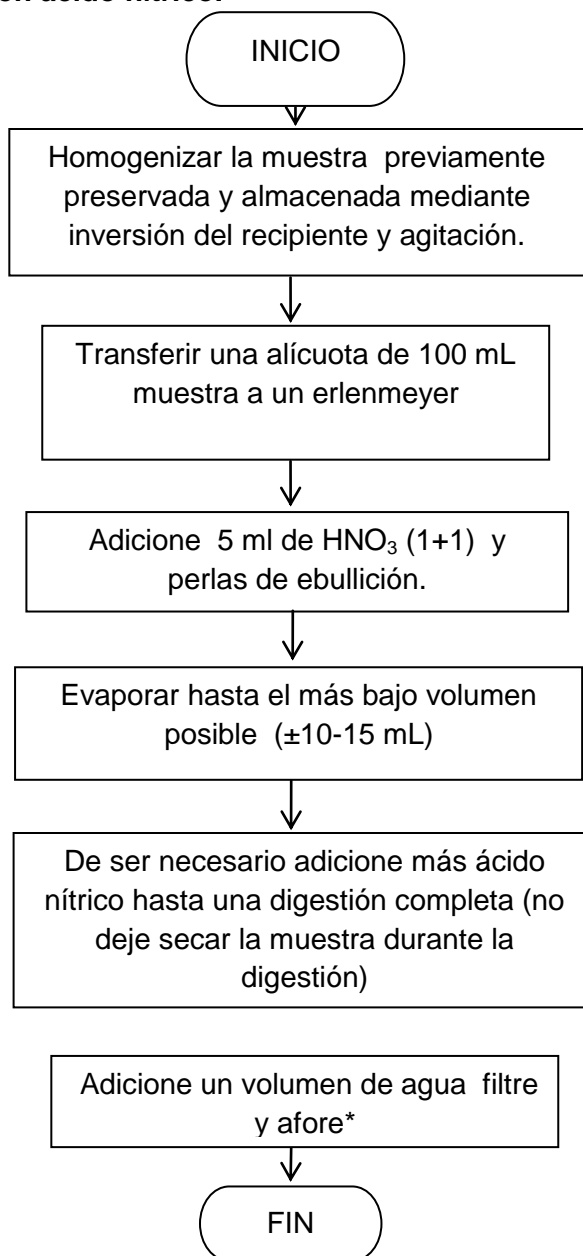
ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

4. PROCEDIMIENTOS DE PRETRATAMIENTO PARA EXTRACCION DE METALES

4.1 Digestión con ácidos fuertes

4.1.1 Digestión con ácido nítrico.

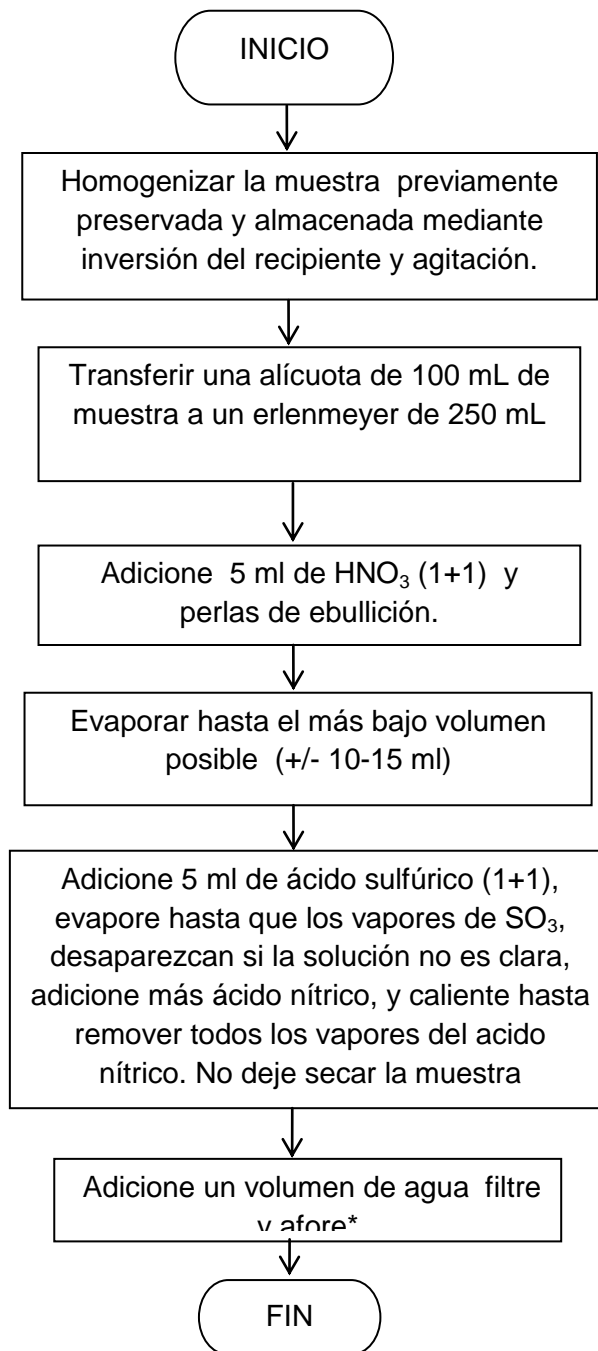


* Nota: tenga en cuenta la adición de algún reactivo antes del aforo ej: adicione KCl o solución de carbonato caso de hierro y manganeso.

ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

4.1.2 Digestión con ácido nítrico y sulfúrico

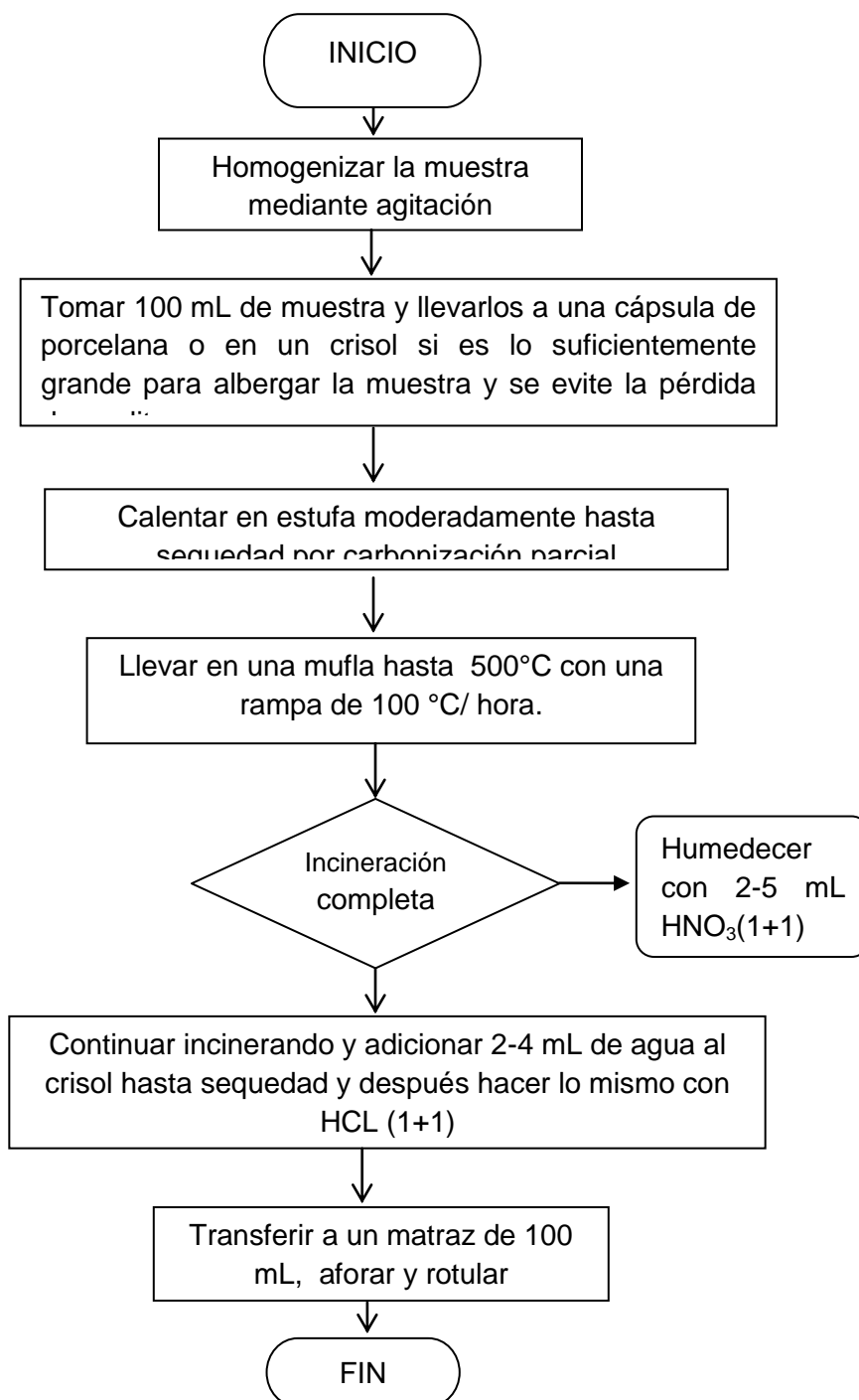


Nota*: tenga en cuenta la adición de algún reactivo antes del aforo.

ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA
ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

4.2 Procedimiento de calcinación



ANEXO 2

INSTRUCTIVO DE DIGESTIONES A AGUAS CRUDAS Y RESIDUALES EN SISTEMA ABIERTO PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr y Pb

5.0 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Control de la exactitud: Siempre que sea posible evaluarla mediante la fortificación de muestra y su posterior digestión.

En el caso en el que se realice concentración de muestra, realizar fortificación del metal en estudio de al menos una muestra cada diez.

6.0 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

NTC-ISO 9000:2000 Sistema de gestión de calidad. Fundamentos y vocabulario.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 21^h Edition. Washington,2005, seccion 3030 B, D,E F,y G pp 3-7 a 3-9

GTC-2.Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad del Agua. Determinación de metales por Espectrometría de Absorción Atómica Pág. 64.

Instructivo de operación de Espectrómetro de Absorción Atómica. 123-LASA-INT-23
Cook book. Equipo Absorción Atómica. Marca Shimadzu.

Código	123-LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	11/10/2011
Página	116 de 138

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y ALIMENTOS

Establecer el procedimiento del pretratamiento a pulpas de fruta para la determinación de su contenido de mercurio Hg y su posterior determinación a través de la espectrofotometría de absorción atómica empleando el generador de hidruros.

1. CONTENIDO

Con el propósito de reducir las interferencias con materia orgánica e inorgánica y convertir todo el metal asociado con partículas a una forma libre determinable por espectrofotometría atómica, se pesa 1 gramo de pulpa de fruta y se disuelve en agua desionizada para después aforar a 100 mL. Posteriormente se realiza una digestión con KMnO_4 en baño maría por dos horas, adicionando éste reactivo hasta que la digestión sea completa, evidenciada por la persistencia del color púrpura del KMnO_4 en la solución. Una vez se completa la reacción se adiciona hidroxilamina para detener totalmente la reacción. La muestra se deja enfriar y se afora a 100 mL con agua desionizada nuevamente.

Para la determinación de mercurio total en pulpas de fruta se utilizará el espectrómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 ubicado en la zona de análisis instrumental del laboratorio de Aguas y Alimentos, empleando el generador de hidruros como sistema de atomización del analito.



Código	123- LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	11/10/2011
Página	117 de 138

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

2.0 INFORMACION ANTES DE INICIAR EL PROCESO

2.1 Interferencias

Evite el contacto de la muestra con algún material metálico como pinzas, espátulas, aros, evite cualquier salpicadura de la solución durante la digestión, utilice solo ácido clorhídrico y borohidruro de sodio de alta pureza, lave todo el material con ácido nítrico al 10% y enjuague con abundante agua desionizada.

Estas precauciones, con el objetivo de disminuir la contaminación o pérdida de los metales en estudio.

En caso donde los límites requeridos no sean alcanzados con la medida directa en el espectrofotómetro de absorción atómica, es necesario recurrir a la concentración de las muestras, el factor de concentración dependerá de cada muestra en particular, siendo posible en la mayoría de las veces, concentrar en un orden de máximo 10.

Cuando las muestras son concentradas durante la digestión, determine el porcentaje de recuperación mediante la adición del metal en estudio, con el objeto de determinar si existen interferencias respecto a la matriz.

Prestar atención constantemente a la continuidad del flujo de los reactivos y de muestra en las mangueras que los transporta hasta la celda de reacción del generador de hidruros, de lo contrario la reacción se descompensa y la cantidad de analito disponible en la detección será menor que la real, provocando errores en la cuantificación total del analito.

2.2. Recolección y preservación de la muestra

Limpiar los recipientes de muestras con ácido nítrico al 10% y enjuagar con agua destilada. Refrigerar adecuadamente la muestra de pulpa una vez ha sido obtenida.

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

Para una determinación precisa usar un recipiente separado para la recolección de la muestra.

2.3. Características del método

2.3.1. Límite de Detección: No Aplica.

2.3.2. Incertidumbre: No Aplica

2.4. MATERIALES Y REACTIVOS

2.4.1 Reactivos.

Nombre	Almacén	P	D	R	S	CAS
Ácido nítrico concentrado	Blanco	C	12	35	23-26-36/37/39-45	7697-37-2
Cloruro de sodio				----	----	7647-14-5
Sulfato de Hidroxilamina				2-21/22-36/38-40-43-48/22-50	2-36/37-61	10039-54-0
Permanganato de potasio				8-22-50/53	2-60-61	7722-64-7

2.4.2 Materiales

Planchas de calentamiento capaz de alcanzar temperaturas superiores a 150°C.

Vasos winlker de 250ml

Pipetas graduadas de 5 mL

Embudos de vidrio, filtros de papel Whatman # 41 o su equivalente.

Recipientes plásticos de mínimo 100 ml de capacidad.

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**
2.5 Residuos Generados

Nombre	Código de colector	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución ácida	D	35	26-30-45
Solución de sales de metales pesados	E	35	26-30-45
Residuos de sales metálicas regenerables	H	35	23-26-30-36/37/39-45
Residuos de sales de mercurio		35	26-30-45

5.0 NORMAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

Lavar todo el material de vidrio tanto del laboratorio como los recipientes utilizados para la toma de la muestra y lectura del equipo con ácido nítrico al 10 %.(**Llevar el residuo generado al Colector D**).

La acidificación de las muestras que contienen materiales reactivos puede dar lugar a la generación de gases tóxicos se recomienda trabajar en la cabina de extracción.

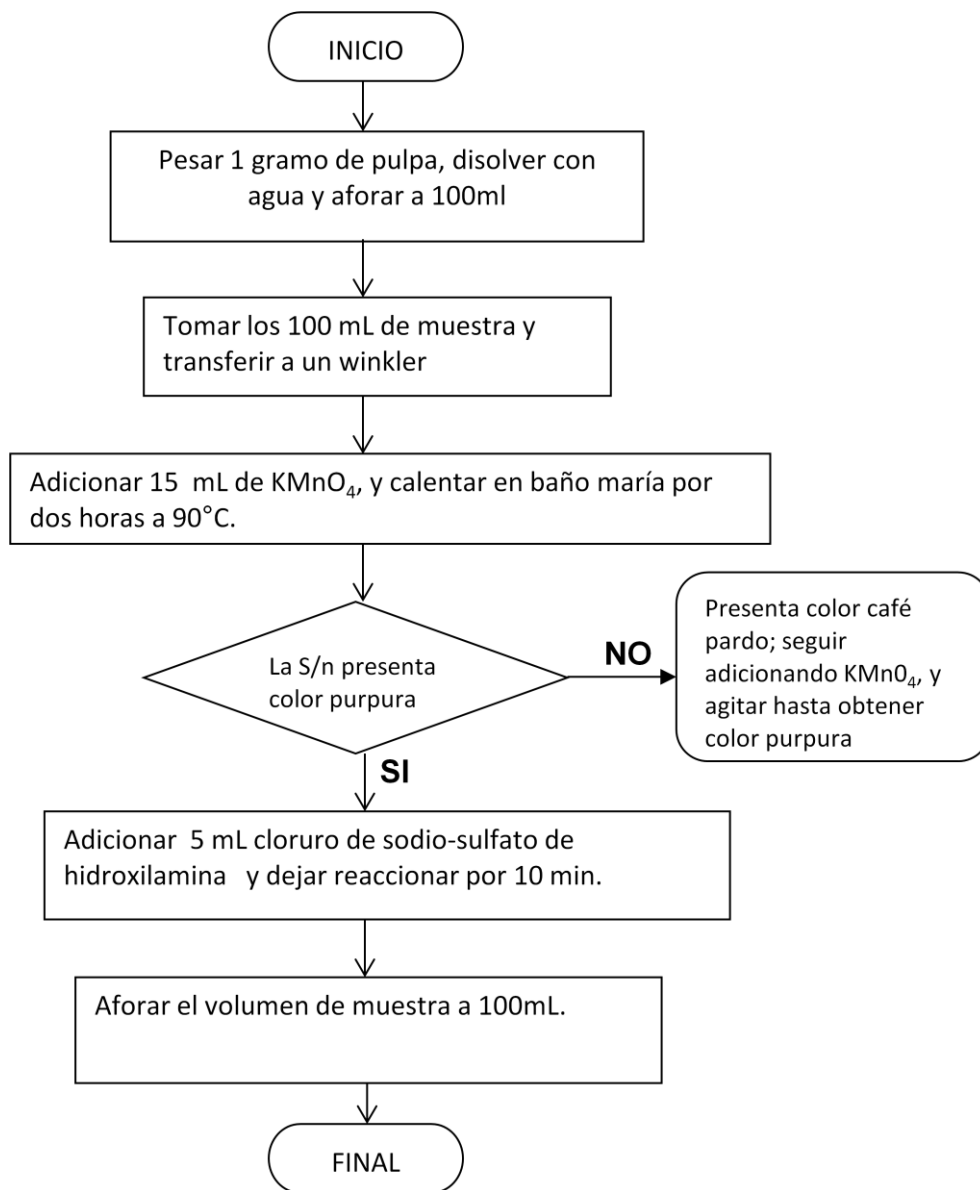
Usar siempre el extractor de gases mientras este la llama encendida, utilizar siempre bata, lentes de seguridad y guantes resistentes a ácidos.

Siempre que fuese necesario el agregado de ácido durante la digestión, esperar que la temperatura descienda y hacer deslizar la solución sobre las paredes del erlenmeyer para evitar proyecciones.

Evitar sobre pasar la temperatura de reacción en el baño maría porque puede ocurrir adsorción del analito de interés a las paredes del erlenmeyer y/o pérdida de mercurio volátil por un posible sobrecalentamiento.

4. PROCEDIMIENTO

INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO



**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA
CONGELADAS PARA LA DETERMINACION DE MERCURIO**

5.0 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Control de la exactitud: Siempre que sea posible evaluarla mediante la fortificación de muestra y su posterior digestión.

En el caso en el que se realice concentración de muestra, realizar fortificación del metal en estudio de al menos una muestra cada diez.

6.0 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

NTC-ISO 9000:2000 Sistema de gestión de calidad. Fundamentos y vocabulario.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 21^h Edition. Washington,2005, seccion 3030 B, D,E F,y G pp 3-7 a 3-9

GTC-2.Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad del Agua. Determinación de metales por Espectrometría de Absorción Atómica Pág. 64.

Subdirección de estudios ambientales; grupo de acreditación. Determinación de mercurio total en aguas y sedimentos por espectrofotometría atómica – vapor frio y emisión por plasma. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia. 2009.

Código	123- LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	
Página	122 de 138

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb**

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y ALIMENTOS

Establecer el procedimiento del pretratamiento a pulpas de fruta para la determinación de su contenido de metales y su posterior determinación a través de la espectrofotometría de absorción atómica por llama, horno de grafito o generador de hidruros según los requerimientos del análisis.

1. CONTENIDO

Con el objeto de reducir las interferencias con materia orgánica y convertir todo el metal asociado con partículas a una forma libre determinable por espectrofotometría atómica, se pesa 1 gramo de pulpa, se diluye en agua desionizada y se afora a 100 mL. Posteriormente en un crisol o capsula, esta solución se somete a carbonización parcial calentándola en plancha y después a carbonización total en mufla. Una vez fría la muestra, se solubiliza con ácido clorhídrico 1:1 y finalmente se afora.

Este método se aplica para la determinación ciertos metales como As, Ag, Cd, Cr y Pb, a excepción de Hg para el cual corresponde otro instructivo.

Para la determinación de metales se utilizara el es Espectrómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 ubicado en la zona de análisis instrumental del laboratorio de Aguas y Alimentos, empleando por lo general el horno de grafito, dado los bajos valores de concentración de metales esperados en pulpas de fruta, sin embargo es posible tener que utilizar la llama si el análisis lo requiere, en la determinación de Ag, Cd, Cr y Pb. En el caso del As, se emplea el generador de hidruros.

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb**

2.0 INFORMACION ANTES DE INICIAR EL PROCESO

2.1 Interferencias

Evite el contacto de la muestra con algún material metálico como pinzas, espátulas, aros, evite cualquier salpicadura de la solución durante la digestión, utilice solo ácido de alta pureza, lave todo el material con ácido nítrico al 10% y enjuague con abundante agua desionizada.

Estas precauciones, con el objetivo de disminuir la contaminación o pérdida de los metales en estudio.

En caso donde los límites requeridos no sean alcanzados con la medida directa en el espectrofotómetro de absorción atómica, es necesario recurrir a la concentración de las muestras, el factor de concentración dependerá de cada muestra en particular, siendo posible en la mayoría de las veces, concentrar en un orden de máximo 10.

Cuando las muestras son concentradas durante la digestión, determine el porcentaje de recuperación mediante la adición del metal en estudio, con el objeto de determinar si existen interferencias respecto a la matriz.

Asegurarse de que se está empleando el tipo de llama requerido según la naturaleza del metal, para llevarlo con mayor seguridad a su estado fundamental, disminuyendo de esta manera, inconvenientes por interferencias químicas y espectrales.

Si en la determinación instrumental el horno de grafito es utilizado, asegurarse antes del análisis de que el horno de grafito esté recibiendo la cantidad total de muestra ingresada en él a través del automuestreador del equipo. Con la videocámara del equipo, que enfoca el interior del horno de grafito, se realiza el ajuste necesario, dirigido desde el software del espectrofotómetro de absorción atómica.

En la determinación de As, es recomendable prestar atención constantemente a la continuidad del flujo de los reactivos y de muestra en las mangueras que los transporta hasta la celda de reacción del generador de hidruros, de lo contrario la reacción se

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb**

descompensa y la cantidad de analito disponible en la detección será menor que la real, provocando errores en la cuantificación total del analito.

2.2. Recolección y preservación de la muestra

Limpiar los recipientes de muestras con ácido nítrico al 10% y enjuagar con agua destilada. Refrigerar adecuadamente la muestra de pulpa una vez ha sido obtenida.

Para una determinación precisa usar un recipiente separado para la recolección de la muestra.

2.3. Características del método

2.3.1. Límite de Detección: No Aplica.

2.3.2. Incertidumbre: No Aplica

2.4. MATERIALES Y REACTIVOS

2.4.1 Reactivos.

Nombre	Almacén	P	D	R	S	CAS
Ácido nítrico concentrado	Blanco	C	12	35	23-26-36/37/39-45	7697-37-2
Ácido sulfúrico concentrado	Blanco	C	12	35	26-30-45	7664-93-9
Acido Clorhídrico	Blanco	C	12	23/35	36/37/39	7647-01-0

2.4.2 Materiales

Planchas de calentamiento capaz de alcanzar temperaturas superiores a 150°C.

Erlenmeyer de Vidrio de 125 a 250ml

Pipetas graduadas de 5 mL

**INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb**

Embudos de vidrio, filtros de papel Whatman # 41 o su equivalente.

Recipientes plásticos de mínimo 100 ml de capacidad.

Mufla.

2.5 Residuos Generados

Nombre	Código de colector	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución ácida	D	35	26-30-45
Solución de sales de metales pesados	E	35	26-30-45
Residuos de sales metálicas regenerables	H	35	23-26-30-36/37/39-45

6.0 NORMAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

Lavar todo el material de vidrio tanto del laboratorio como los recipientes utilizados para la toma de la muestra y lectura del equipo con ácido nítrico al 10 %.(**Llevar el residuo generado al Colector D**).

La acidificación de las muestras que contienen materiales reactivos puede dar lugar a la generación de gases tóxicos se recomienda trabajar en la cabina de extracción.

Usar siempre el extractor de gases mientras este la llama encendida, utilizar siempre bata, lentes de seguridad y guantes resistentes a ácidos.

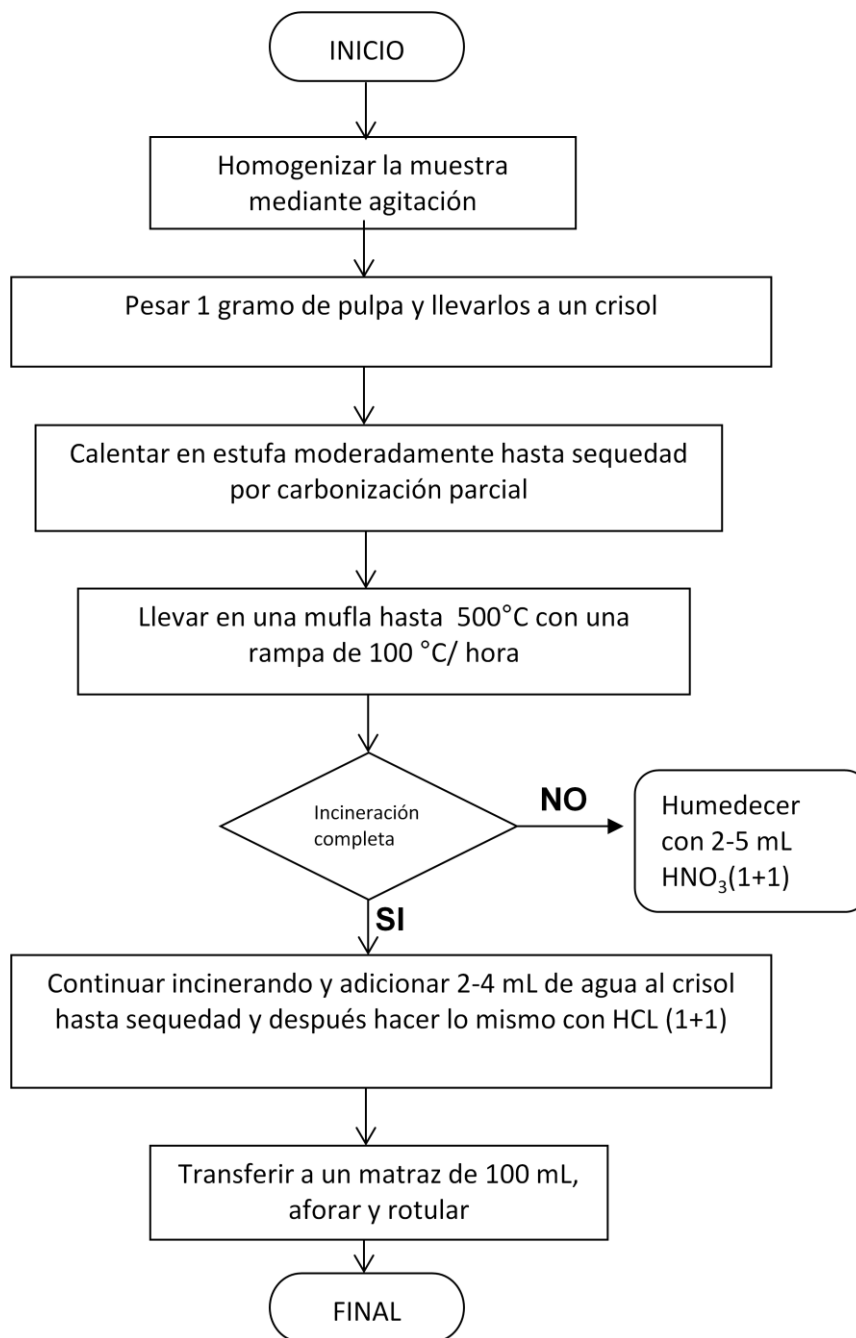
Siempre que fuese necesario el agregado de ácido durante la digestión, esperar que la temperatura descienda y hacer deslizar la solución sobre las paredes del erlenmeyer para evitar proyecciones.

Evitar la evaporación completa de la muestra porque puede ocurrir adsorción del analito de interés a las paredes del crisol y/o pérdida de metales volátiles por sobrecalentamiento en la calcinación, por lo que debe agregarse pequeñas cantidades de agua desionizada periódicamente.

ANEXO 4

INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb

4. PROCEDIMIENTO



**INSTRUCTIVO DE DIGESTION A MUESTRAS DE PULPAS DE FRUTA PARA LA
DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr Y Pb**

5.0 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Control de la exactitud: Siempre que sea posible evaluarla mediante la fortificación de muestra y su posterior digestión.

En el caso en el que se realice concentración de muestra, realizar fortificación del metal en estudio de al menos una muestra cada diez.

6.0 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

NTC-ISO 9000:2000 Sistema de gestión de calidad. Fundamentos y vocabulario.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 21^h Edition. Washington,2005, seccion 3030 B, D,E F,y G pp 3-7 a 3-9

GTC-2.Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad del Agua. Determinación de metales por Espectrometría de Absorción Atómica Pág. 64.

Instructivo de operación de Espectrómetro de Absorción Atómica. 123-LASA-INT-23

Cook book N° 6. Equipo Absorción Atómica. Marca Shimadzu.

Código	123- LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	06/07/2011
Página	128 de 138

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS Y ALIMENTOS

Establecer el procedimiento de digestión de muestras de sulfato de aluminio para la determinación de su contenido de metales y su posterior determinación a través de la espectrofotometría de absorción atómica.

1. CONTENIDO

Con el propósito de reducir las interferencias con materia orgánica e inorgánica y convertir todo el metal asociado con partículas a una forma libre determinable por espectrofotometría atómica, se pesa 1,5 gramos de sulfato de aluminio tipo b (en base seca), se diluyen en agua desionizada y se afora a 1.1 L. Posteriormente se ajusta el pH a 6 y se deja reposar la solución por 1 h. Después se filtra y se ajusta el pH a 2. Se somete a evaporación suave hasta no menos de 1L, se deja enfriar y se completa el aforo de 1 L.

Para la determinación de metales se utilizara el es Espectrómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 ubicado en la zona de análisis instrumental del laboratorio de Aguas y Alimentos.

Este método se aplica para la determinación ciertos metales pesados como Ag, Cd, Cr, Pb para los cuales se emplea la atomización con llama u horno de grafito y el generador de hidruros para la determinación de As y Hg.

Código	123- LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	06/07/2011
Página	129 de 138

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

2.0 INFORMACION ANTES DE INICIAR EL PROCESO

2.1 Interferencias

Evite el contacto de la muestra con algún material metálico como pinzas, espátulas, aros, evite cualquier salpicadura de la solución durante la digestión, utilice solo ácido de alta pureza, lave todo el material con ácido nítrico al 10% y enjuague con abundante agua desionizada.

Estas precauciones, con el objetivo de disminuir la contaminación o pérdida de los metales en estudio.

Asegurarse de que se está empleando el tipo de llama requerido según la naturaleza del metal, para llevarlo con mayor seguridad a su estado fundamental, disminuyendo de esta manera, inconvenientes por interferencias químicas y espectrales.

Si en la determinación instrumental el horno de grafito es utilizado, asegurarse antes del análisis de que el horno de grafito esté recibiendo la cantidad total de muestra ingresada en él a través del automuestreador del equipo. Con la videocámara del equipo, que enfoca el interior del horno de grafito, se realiza el ajuste necesario, dirigido desde el software del espectrofotómetro de absorción atómica.

Prestar atención constantemente a la continuidad del flujo de los reactivos y de muestra en las mangueras que los transporta hasta la celda de reacción del generador de hidruros, de lo contrario la reacción se descompensa y la cantidad de analito disponible en la detección será menor que la real, provocando errores en la cuantificación total del analito.

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

2.2. Recolección y preservación de la muestra

Limpiar los recipientes de muestras con ácido nítrico al 10% y enjuagar con agua destilada. Eliminar la humedad de la muestra, además de asegurarse de que ésta permanezca almacenada en un recipiente que la aisle efectivamente de cualquier contaminante, como lo sería un desecador.

2.3. Características del método

2.3.1. Límite de Detección: No Aplica.

2.3.2. Incertidumbre: No Aplica

2.4. MATERIALES Y REACTIVOS

2.4.1 Reactivos.

Nombre	Almacén	P	D	R	S	CAS
Ácido nítrico concentrado	Blanco	C	12	35	23-26-36/37/39-45	7697-37-2
Solución 1,0 N de hidróxido de sodio				35	1/2-3/7/8/9-18-24/25-27-37/39-45-50-	1310-73-2

2.4.2 Materiales

Planchas de calentamiento capaz de alcanzar temperaturas superiores a 150°C.

Balones de aforo de 1 L

Beakers de 2 L.

Pipetas graduadas de 5 mL

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

Embudos de vidrio, filtros de papel GFC o su equivalente.

Recipientes plásticos de mínimo 1L de capacidad.

Medidor de pH

2.5 Residuos Generados

Nombre	Código de colector	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución ácida	D	35	26-30-45
Solución de sales de metales pesados	E	35	26-30-45
Residuos de sales metálicas regenerables	H	35	23-26-30-36/37/39-45

7.0 NORMAS DE SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

Lavar todo el material de vidrio tanto del laboratorio como los recipientes utilizados para la toma de la muestra y lectura del equipo con ácido nítrico al 10 %.(**Llevar el residuo generado al Colector D**).

La acidificación de las muestras que contienen materiales reactivos puede dar lugar a la generación de gases tóxicos se recomienda trabajar en la cabina de extracción.

Usar siempre el extractor de gases mientras este la llama encendida, utilizar siempre bata, lentes de seguridad y guantes resistentes a ácidos.

Siempre que fuese necesario el agregado de ácido durante la digestión, esperar que la temperatura descienda y hacer deslizar la solución sobre las paredes del erlenmeyer para evitar proyecciones.

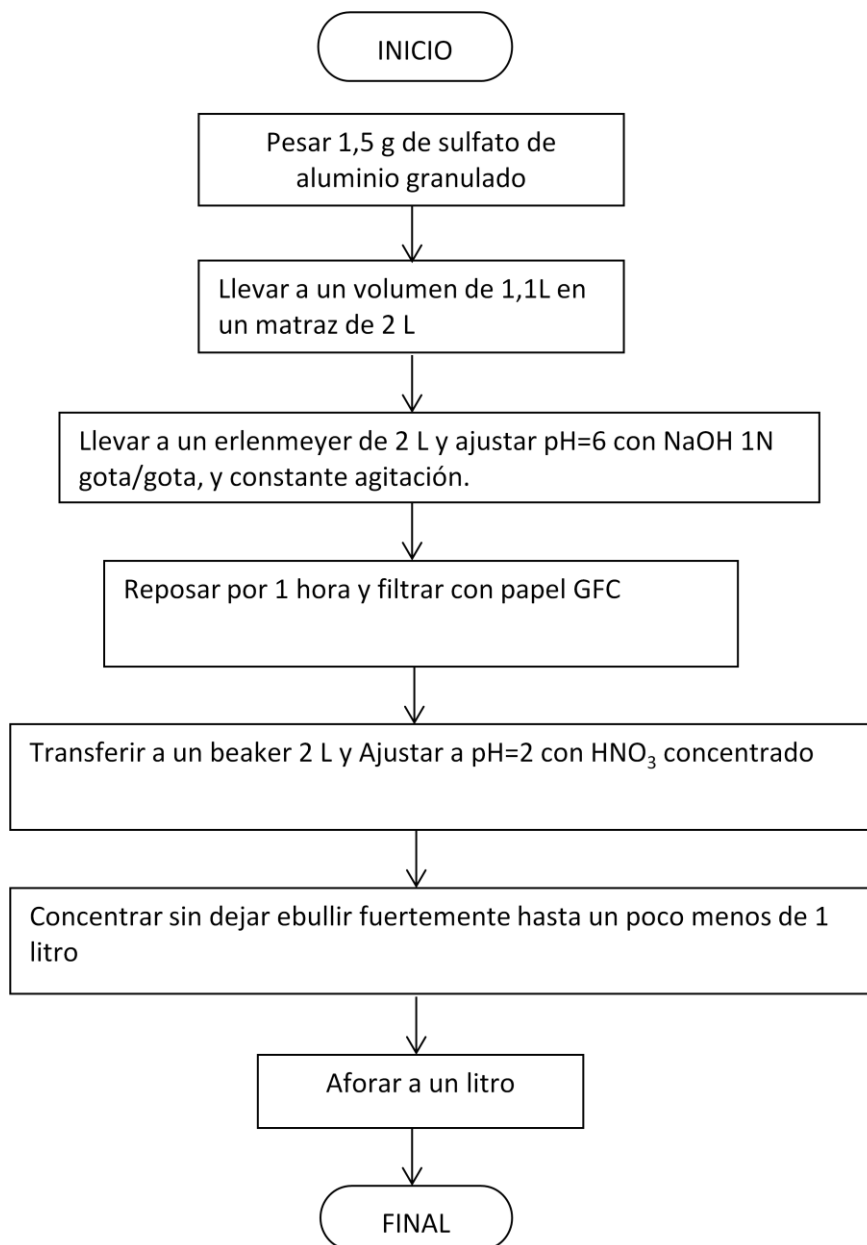
Evitar la ebullición de la muestra en el momento de la evaporación puesto que es muy posible la pérdida de analito por salpicaduras, debe agregarse pequeñas cantidades de agua desionizada periódicamente.

ANEXO 5

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

Es importante cumplir con los valores de pH empleados en el procedimiento debido a que se puede perder analito en la filtración posterior ya que los metales se pueden quedarse en la solución filtrada o bien en el precipitado que se retiene en el papel filtro.

4. PROCEDIMIENTO DE PRETRATAMIENTO



Código	123- LAA-INT-11
Versión	3
Fecha	06/07/2011
Página	133 de 138

**INSTRUCTIVO DE PRETRATAMIENTO A MUESTRAS DE SULFATO DE ALUMINIO
PARA LA DETERMINACION DE As, Ag, Cd, Cr, Pb y Hg SEGÚN LA NTC 531**

5.0 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

Control de la exactitud: Siempre que sea posible evaluarla mediante la fortificación de muestra y su posterior digestión.

En el caso en el que se realice concentración de muestra, realizar fortificación del metal en estudio de al menos una muestra cada diez.

6.0 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

NTC-ISO 9000:2000 Sistema de gestión de calidad. Fundamentos y vocabulario.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 21^h Edition. Washington,2005, seccion 3030 B, D,E F,y G pp 3-7 a 3-9

GTC-2. Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad del Agua. Determinación de metales por Espectrometría de Absorción Atómica Pág. 64.

NTC 531. Norma técnica Colombiana para productos químicos de uso industrial. Sulfato de aluminio.

10. BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Glynn. Henry; Gary W. Heinke. Ingeniería ambiental. 2 ed. Pearson Educación, 1999. 778 páginas.
- [2] Manahan, Stanley. E. Environmental chemistry. Séptima edición. Editorial Lewis publishers. New York. EEUU. 2000. Pág.
- [3] Singh, Anita; Kumar, S. Rajesh; Agrawal, Madhoolika; Marshall, Fiona. Health risk assessment of heavy metals via dietary intake of foodstuffs from the wastewater irrigated site of a dry tropical area of India. Food and Chemical Toxicology. 2009.
- [4] Eaton, Andrew; Clesceri, Leonore; Rice, Eugene; Greenberg, Arnold. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Centennial edition. 21 edición. 2005. Whashington.
- [5] Quím, María Luisa de Esparza. Asesora en desarrollo de laboratorios. Centro panamericano de Ingeniería sanitaria y ciencias del ambiente. División de salud y ambiente. Organización panamericana de la salud. Oficina sanitaria panamericana-oficina regional de la organización mundial de la salud. Lima. 1998.
- [6] Norma técnica colombiana 531 (quinta actualización). Productos químicos para uso industrial. Sulfato de Aluminio.
- [7] Ministerio de Protección Social. Bogotá Colombia. Decreto Número 1575 de 9 de Mayo del 2007. Bogotá, El Ministerio. 2007.
- [8] Radwan, Mohamed; Salama, Ahmed. Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables, Pesticide Chemistry Department, Residues Analysis Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Alexandria, Aflatoon St. El-Shatby, Alexandria, Egypt 2006.
- [9] Thompson, Michael; Ellison, Steven; Ale Fajgelj; Willetts, Paul; Wood, Roger. International Union of Pure and Applied Chemistry. Analytical, applied, clinical, inorganic and physical chemistry divisions. Interdivisional working party for harmonization of quality assurance schemes for analytical laboratories. Iupac/iso/aoac international/eurachem. Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. Technical report.

- [10] García, I; Dorronsoro, C. 2001. Contaminación por metales pesados. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada , España. (Visitado el 5 de Abril de 2007). < <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/>>.
- [11]Nedelkoska, T. V; Doran, P. M.. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potencial for phytoremediation and phytomining. Minerals engineer magazine. 2000.
- [12] Campos, Hernando. Los metales pesados, su contaminación y efectos toxicos. Revista contaminacion ambiental. 1987. Medellin (colombia), 9(17),p.63-70.
- [13] Feria, Jhon J; Marrugo, Jose L; Gonzalez, Humberto. Heavy metals in Sinú river, Departament of Córdoba, Colombia, Sudamerica. Revista Facultad de Ingenieria. Universidad de Antioquia N.º 55 pp. 35-44. Septiembre 2010.
- [14] Gil Pavas, Edison. Remocion y recuperación de metales pesados de aguas residuales industriales. Departamento de ingeniería de procesos. Universidad Eafit. Revista Facultd de inganieria. Universidad de Antioquia.
- [15] Vázquez, Manuel. Avances en seguridad alimentaria. Editorial Altaga, 2001 - 310 páginas.
- [16] Bautista Z, Francisco. Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. Ediciones de la universidad autónoma de Yucatan. UADY, 1999 . páginas 35-38.
- [17] Fraume, R. Nestor J. Diccionario ambiental. Ecoe ediciones. 2007. Pag 465.
- [18] MSPH, Ph.D. Reynolds, Kelly A. Laboratorio de Investigación Ambiental del Departamento de Suelos, Agua y Ciencias Ambientales. Universidad de Arizona, EE.UU. De la llave: Tratamiento de aguas residuales en Latinoamérica. Identificación del problema. Septiembre/octubre 2002. Volume 2, Number 5. <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/DeLaLaveSepOct02.pdf>
19. Ramos, Raudel; Sepulveda, Rubén; Villalobos, Francisco. El agua en el medio ambiente: muestreo y análisis. Universidad Autónoma de Baja California. Primera edición. Plaza y Valdez editores. 2003.
- [20] Grijalva de Ciudad Real, Claudia Fabiola. Análisis comparativo de un polímero coagulante catiónico vs. Sulfato de aluminio en la clarificación de agua en una

planta de elaboración de bebidas carbonatadas. Tesis. Facultad de ingeniería. Programa ingeniería química. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 2004.

[21] Resolución 7992 del 21 Julio 1991. Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979 en lo relacionado con la elaboración, conservación y comercialización de Jugos. Concentrados, Néctares, Pulpas, Pulpas Azucaradas y Refrescos de Frutas. Ministerio de salud. Anexo No. 4.68. Colombia.

[22] Angioni, Alberto; Cabitza, Maddalena; Russo, Maria T; Carboni Pierluigi. Influence of olive cultivars and period of harvest on the contents of Cu, Cd, Pb, and Zn in virgin olive oils. Dipartimento di Tossicologia, Università di Cagliari, via Ospedale 72, 09124 Cagliari, Italy. www.elsevier.com/locate/foodchem (visitado 02/05/2011).

[23] Arce G, Omar O. Metales pesados contenidos en el agua. Practica 4. Facultad de ciencias y tecnología Universidad de San Simón Cochabamba. Química del agua. Practica N°4. www.fcyt.umss.edu.bo/docentes/29/practicas/practica4

[24] Dr. Valdueña, Jose A. Enciclopedia de la ecología y la salud. Editorial Safeliz, 2001. Páginas 170-171.

[25] Cheikin, Michael. Heavy Metals: The Trump Card of Toxicity. Holistic Medicine and Physiatry. 2007. http://www.c4oh.org/articles_free/hmt.pdf.

[26] Skoog, Douglas A; Holler, F. James; Nieman, Timothy A. Principios de análisis instrumental. Quinta edición. Mc Graw-Hill/ INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. 2001.

[27] Hernández H, Lucas; González P, Claudio. Introducción al análisis instrumental. Editorial Ariel, 2002. Página 120.

[28] Razmilic Blago. Espectroscopia de absorción atómica. I Curso Regional de Capacitación (Santiago de Chile, 20/9-8/10/1993) organizado por el Proyecto AQUILA II y ejecutado por Fundación Chile. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-FAO. México D.F. Mayo de 1994© FAO. Cap4.

[29] Normatividad Ambiental y sanitaria. Unidad de planeación minero energética. http://www.upme.gov.co/guia_ambiental/carbon/gestion/politica/normativ/normativ.htm#BM1 NORMATIVIDAD GENERAL.

[30] Decreto número 1594 del 26 de junio de 1984. “por el cual reglamenta parcialmente el uso de agua y residuos líquidos”. Ministerio de salud. 1984

[31] Kenny, Mary. Nutrition Officer (Quality Assurance) in the Food Quality and Standards Service. Quality and safety of fresh fruits and vegetables along the production chain. Food and Nutrition Division. FAO. Disponible en <http://www.rlc.fao.org/es/inocuidad/codex/rla3013/tareas.htm>

[32] AIJN. “Code of Practice for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices”. Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and vegetables of the European Union. Brussels, Belgium. 1996.

[33] Atomic absorption spectrophotometry cookbook of Shimadzu AA-7000 spectrophotometer. Section 4. Measuring conditions by element of furnace analysis method. Shimadzu Corporation.

[34] Atomic absorption spectrophotometry cookbook of Shimadzu AA-7000 spectrophotometer. Section 6. Foodstuffs analysis fertilizer and feed Analysis. Shimadzu Corporation.

[35] Marrugo, Jose Luis; Ceballos, Edineldo Lans. Impacto ambiental por contaminación con níquel, mercurio y cadmio en aguas, peces y sedimentos en la cuenca del río San Jorge, en el departamento de Córdoba. Centro de investigaciones – ciuc. Montería 2006

[36] Dirección Nacional de Servicios Académicos Virtuales. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Facultad de ciencias. Curso virtual de Química analítica II. Medida de la absorción de la radiación o de la absorbancia. 2009. Disponible en www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2001184/docs_curso/profesor.html

[37] Universidad Central de Venezuela. Facultad de ciencias. Escuela de química. Métodos cuantitativos de análisis empleados EAA Y EAA con llama. Caracas. 2003.

[38] Subdirección de estudios ambientales; grupo de acreditación. Determinación de mercurio total en aguas y sedimentos por espectrofotometría atómica – vapor

frio y emisión por plasma. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia. 2009.

[39] Dr. Angelini, Nora. Consultora internacional de la FAO. Taller subregional sobre aseguramiento de calidad y validación de metodologías para análisis químicos. Proyecto de desarrollo de un sistema integral de aseguramiento de calidad para laboratorios de análisis de alimentos en América del Sur (TCP/RLA/3013 (A))

[40] Martínez LLadó, Xavier. Tesis doctoral. Programa de doctorat de recursos naturals i medi ambient. Presència, mobilitat i risc d'elementstraça en sòls naturals. Programa de doctorat de recursos naturals i medi ambient. Universitat Politècnica de Catalunya. Espanya. 2008.

[41] Crubellati, Ricardo; Di Risio, Cecilia D. Aspectos prácticos de la validación e incertidumbre en medidas químicas. Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. CYTED. Área de desarrollo sostenible 2009.