

**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO
NECESARIOS PARA LA VALIDACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS DE
CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS Y MATERIA ORGÁNICA EN
AGUAS MARINAS Y/O ESTUARINAS**

NIGIRETH PAOLA SUÁREZ VARGAS

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA
2011**

**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO
NECESARIOS PARA LA VALIDACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS DE
CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS Y MATERIA ORGÁNICA EN
AGUAS MARINAS Y/O ESTUARINAS**

NIGIRETH PAOLA SUÁREZ VARGAS

**Trabajo de grado realizado en la modalidad de práctica empresarial como
requisito para optar el título de:**

INGENIERO QUÍMICO

Directores:

Dr. FERNANDO VIEJO ABRANTE

Universidad Industrial de Santander

M.Sc.ROBINSON CASANOVA ROSERO

Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico CCCP

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2011

DEDICATORIA.

A Dios.

Por permitirme llegar hasta este punto y haberme dado constancia y sabiduría para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis Padres y Hermanos.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante, por sus sacrificios para alcanzar mi felicidad, pero más que nada, por su amor incondicional.

A mis familiares.

Quienes me apoyaron mutuamente en mi formación profesional.

A Gonzalo.

Por ayudarme a creer que nunca es tarde para alcanzar nuestras metas.

A amigos.

Por la alegría de contar con ellos.

Nigireth Paola Suárez Vargas

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Industrial de Santander y a la Escuela de Ingeniería Química, por su espíritu de lucha en la formación de profesionales que aportan en el desarrollo de la región.

A todo el personal del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico, en especial al Área Técnica y el Laboratorio de Química, por su incansable labor y ayuda.

Agradecimientos muy especiales a mi Director el M. Sc Robinson Casanova Rosero, por su colaboración, dedicación y orientación ante las dificultades e inquietudes, por brindarme su valiosa amistad y sabiduría.

A mi director Dr. Fernando Viejo A., por corregir, aconsejar y compartir sus conocimientos de la manera más cordial y desinteresada.

A mis más queridos amigos del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico, Mónica, Alfreyamar y Mileth, quienes siempre transformaron lo difícil en experiencias divertidas y llenas de sabiduría.

En general, a quienes con su carisma, hicieron de éste proyecto un reto enriquecedor como enseñanza de vida.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	13
2.	CONTEXTO TEÓRICO	15
2.1.	DETERMINACIÓN METALES PESADOS EN AGUAS.....	15
2.2.	DETERMINACIÓN OXIDABILIDAD QUÍMICA DE LA MATERIA ORGÁNICA..	16
2.3.	VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO	17
2.3.1.	Parámetros analíticos necesarios para validar un método.....	17
2.3.2.	Etapas validación	20
3.	METODOLOGÍA	22
3.1.	DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA ..	22
3.2.	DETERMINACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	25
4.	RESULTADOS.....	27
4.1.	DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA ..	27
4.1.1.	Curvas de Calibración. Determinación de Linealidad.....	27
4.1.2.	Límite de Detección.....	31
4.1.3.	Exactitud y precisión.....	31
4.1.4.	Estimación de Incertidumbre	32
4.2.	DETERMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA POR OXIDACIÓN CON KMnO_4 ..	34
4.2.1.	Límite de Detección.....	34
4.2.2.	Exactitud y precisión.....	35
4.2.3.	Estimación de Incertidumbre	36
4.3.	METALES PESADOS Y MATERIA ORGÁNICA EN UNA MUESTRA DE AGUA DE MAR (MUELLE GUARDACOSTAS)	38
5.	CONCLUSIONES	40

6.	RECOMENDACIONES	41
7.	PRODUCTO DE LA PASANTÍA.....	42
8.	ACTIVIDADES DE LA ESTRATEGIA DE COMUNICACIÓN.....	43
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estimación de la incertidumbre	20
Figura 2 Diagrama de flujo determinación de metales pesados	23
Figura 3 Diagrama de flujo determinación materia orgánica.....	25
Figura 4 Curva Calibración Cadmio	28
Figura 5 Curva Calibración Cobre.....	28
Figura 6 Curva Calibración Hierro.....	28
Figura 7. Curva Calibración Plomo	29

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Métodos determinación parámetros estadísticos requeridos validación ...	18
Tabla 2 Rangos de Operación del Espectrofotómetro UNICAM 919 AA	24
Tabla 3 Parámetros linealidad Cuantificación Metales Pesados.....	30
Tabla 4 Límites de detección del método utilizado para la determinación de los metales pesados analizados.....	31
Tabla 5. Exactitud y precisión del método utilizado para la determinación de los metales pesados analizados.....	32
Tabla 6 Fuentes de incertidumbre en la determinación de metales pesados.	33
Tabla 7 Estimación Incertidumbre Metales Pesados	34
Tabla 8 Exactitud y precisión del método utilizado para la determinación de materia orgánica.	35
Tabla 9 Fuentes de incertidumbre en la determinación de materia orgánica.....	36
Tabla 10 Estimación de incertidumbre en la determinación de materia orgánica. .	37
Tabla 11. Estimación de la incertidumbre en los métodos de determinación de metales pesados y materia orgánica	38

RESUMEN

TITULO: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO NECESARIOS PARA LA VALIDACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS DE CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS Y MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS MARINAS Y/O ESTUARINAS.*

AUTOR: Nigireth Paola Suárez Vargas**

PALABRAS CLAVES: Confiabilidad Analítica, Validación, metales pesados, oxidabilidad materia orgánica, Norma NTC-ISO/IEC 17025:2005, Quimiometría.

La calidad del agua marina y estuarina está determinada por un conjunto de variables físicas, químicas y biológicas, al igual que por el contenido de contaminantes y su valor de aceptación o de rechazo, los cuales deben cumplir con los estándares preestablecidos para proteger el hábitat de una especie o una comunidad en dichos ecosistemas. Así, para hacer un adecuado diagnóstico de la calidad ambiental marina, se hace necesario además de recolectar la información primaria y establecer las fuentes de contaminación, el estandarizar y validar los métodos de análisis utilizados conforme a lo dispuesto en la Norma NTC-ISO/IEC 17025 de 2005.

De esta manera el objetivo principal de la presente práctica realizada en el Laboratorio de Química del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico CCCP, fue la determinación de los parámetros de desempeño analíticos necesarios para validar los procedimientos de cuantificación de metales pesados (Cd, Cu, Fe y Pb), y la oxidabilidad química de la materia orgánica en aguas marinas y/o estuarinas mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama y oxidación con permanganato de potasio respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluyó que los métodos analíticos estudiados producen resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad (exactitud, precisión, límite de detección, linealidad y sensibilidad); y que adicionalmente, ofrecen resultados con incertidumbres lo suficientemente bajas para poder ser utilizados en diagnósticos ambientales y fenomenológicos.

* Práctica Empresarial

** Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ingenierías Físico-Químicas, Escuela de Ingeniería Química, Directores: Dr. Fernando Viejo Abrante, M. Sc. Robinson Casanova Rosero.

ABSTRACT

TITLE:DETERMINATION OF THE PARAMETERS OF ANALYTICAL PERFORMANCE VALIDATION REQUIRED FOR QUANTIFICATION PROCEDURES OF HEAVY METALS AND ORGANIC MATTER IN SEAWATER AND / OR ESTUARINE.*

AUTHOR:Nigireth Paola Suarez Vargas**

KEYWORDS:Analytical Reliability, Validation, Heavy metals, Oxidized Organic Matter, NTC-ISO/IEC Standard 17025:2005, Chemometrics.

The marine and estuarine water quality is determined by a set of physical, chemical and biological variables, as well by the content of pollutants and its value of acceptance or rejection, which must meet established standards to protect the habitat of a species or communities in these ecosystems. Thus, to properly diagnose marine environmental quality, it is also necessary to collect primary data to establish the water quality and identify and characterize the sources of pollution, to standardize and validate methods of analysis used as provided in Rule NTC-ISO/IEC 17025 2005.

The main objective of this practice conducted in the Chemical Laboratory of the Research Center of the Pacific Oceanographic and Hydrographic CCCP, was the determination of the analytical performance parameters required, in order to perform validation of procedures for quantifying heavy metals (Cd, Cu, Fe and Pb), and the oxidation chemistry of organic matter in marine waters and / or estuarine waters by flame atomic absorption spectrophotometry, and oxidation with potassium permanganate, respectively.

According to the results obtained, it was concluded that the analytical methods studied produced precise and accurate results within the specifications and quality attributes (accuracy, precision, detection limit, linearity and sensitivity), established results additionally provide enough uncertainties sufficiently low to be used in environmental assessments and phenomenological.

*Managerial Practice

**Universidad Industrial de Santander, Faculty of Physical and Chemical Engineering programs, School of Chemical Engineering, Directores: Dr. Fernando Viejo Abrante, M. Sc Robinson Casanova Rosero.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados es una de las mayores problemáticas del medio ambiente marino costero. El principal inconveniente que presentan los metales pesados es que no se degradan por la actividad microbiana. Por el contrario, algunos de ellos pueden ser estabilizados por los organismos que a veces forman complejos órgano-metálicos; otros, al estar en concentraciones que sobrepasan los niveles naturales, provocan serios problemas ecológicos como resultado de procesos de bio-acumulación.

Los problemas ambientales son tanto a nivel local como regional. La mayor pérdida y deterioro del suelo (tierras fértiles) se presenta en aquellas regiones de extracción aluvial (Choco, Nariño). En todas las regiones analizadas existe contaminación por derrames y pérdida de mercurio, tanto en el suelo como en las aguas y la atmósfera. Solamente en las regiones mineras donde se explota mineral de veta, existe contaminación por uso de cianuro en el beneficio. Como consecuencia de los inadecuados sistemas de explotación de la pequeña y mediana minería, grandes extensiones del suelo, que antes estuvieron dedicadas a usos agropecuarios o que contaban con zonas boscosas, en la actualidad se han convertido en zonas completamente estériles. Al mismo tiempo, los ecosistemas hídricos se han visto afectados por los residuos que se generan con el lavado intensivo de aluviones, pues los efluentes y las colas de los procesos utilizados no son dispuestos en lugares apropiados, sino que son descargados directamente, sin un tratamiento de descontaminación, a las quebradas y riachuelos (UPME, 2006).

Otro tópico que hay que tener en consideración es la contaminación de las aguas marinas por materia orgánica fácilmente oxidable de origen natural y/o antrópico, ya que ésta puede ser consumida como fuente de alimentación y energía por microorganismos degradadores y/o atacada durante los procesos de oxidación y

degradación natural. Este fenómeno disminuye la disponibilidad de oxígeno para el resto de organismos acuáticos de tal forma que, si la cantidad de materia orgánica a degradar es importante, puede conducir al medio hacia condiciones de hipoxia.

Actualmente, la comunidad científica se ha vuelto cada más exigente ante la aceptación de estudios que estén relacionados con la toma de decisiones ambientales, sobre todo en lo referente con los niveles de concentración de contaminantes con propiedades toxicológicas. Para determinar dichos niveles se hace necesario llevar a cabo procesos de estandarización y validación de las metodologías analíticas utilizadas, con objeto de cumplir con los requisitos de selectividad, sensibilidad, precisión y estimación de la incertidumbre fijados en las normas. De este modo, es de vital importancia validar tanto el método de análisis como el sistema instrumental utilizado, que va desde la preparación del material para la recolección de la muestra hasta la cuantificación final, obteniendo así, la caracterización del procedimiento.

Como respuesta a lo anterior la presente práctica tiene como propósito determinar los parámetros de desempeño analítico necesarios para la validación de dos procedimientos para la cuantificación de metales pesados (Cd, Cu, Fe y Pb) y materia orgánica, con el fin de consolidar, fortalecer y otorgar confiabilidad a la información generada en el Laboratorio de Química del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico, CCCP; y contribuir al cumplimiento de los mandatos establecidos en el Decreto 5057 de 2009 para los Centros de Investigación de la Dirección General Marítima.

2. CONTEXTO TEÓRICO

2.1. DETERMINACIÓN METALES PESADOS EN AGUAS

Los metales pesados pueden determinarse satisfactoriamente por absorción atómica y colorimetría. Éste último es de menor precisión y sensibilidad. La medición mediante absorción es preferible por su rapidez y porque los efectos asociados a matrices a menudo son controlables sin dificultad, además de evitar el empleo de técnicas tediosas de separación para eliminación de interferencias de otros metales.

En este sentido, la espectroscopia de absorción atómica constituye un medio sensible para la cuantificación de más de 60 elementos en muestras muy variadas tales como rocas, suelos, aguas, vegetales, muestras biológicas, productos petrolíferos, etc. (OPS Y CEPIS, 1995)

La absorción atómica es el proceso que ocurre cuando átomos de un estado fundamental absorben energía radiante a una longitud de onda específica y luego la pierden en forma de calor, de esta manera las muestras se vaporizan y se convierten en átomos libres en un proceso llamado atomización. Luego, sobre el vapor atómico originado, se hace incidir la radiación electromagnética que será absorbida parcialmente por el analito.

La técnica básicamente consiste en hacer pasar un haz de luz a través de una llama a un monocromador y a un detector que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. Dicha energía es proporcional a la concentración del elemento en la muestra. Debido a que cada metal tiene su longitud de onda característica a la cual absorbe, se usan lámparas compuestas del elemento que se está midiendo, esto hace al método relativamente libre de interferencias espectrales (Hernández y González, 2002)

Para cualquier procedimiento que se aplique, se recomienda pretratamiento específico de las muestras, de acuerdo con los resultados que se quiera alcanzar a través de la determinación.

2.2. DETERMINACIÓN OXIDABILIDAD QUÍMICA DE LA MATERIA ORGÁNICA

Los procedimientos más comunes para estimar la contaminación orgánica se basan en la determinación global de las materias oxidables presentes en el agua y que son susceptibles de oxidarse a partir del oxígeno del medio, pues los métodos que determinan específicamente cada una de las sustancias orgánicas presentes son más laboriosos. En el agua de mar la indicación y determinación de la contaminación orgánica se realiza a través de una metodología simple e indirecta que es la oxidación con permanganato de potasio (Montalvo, et al., 2004).

La reacción de oxidación con permanganato puede ser en medio ácido, básico o neutro. Si el agua analizada contiene muchos cloruros, el medio ácido no puede ser aplicado, porque bajo estas condiciones los cloruros se oxidan acompañados de la liberación de cloro. Por esta razón, la oxidación de aguas marinas y estuarinas por contener concentraciones de cloruros mayores de 300 mg.L^{-1} se realiza en medio básico (UNE–EN ISO 8467, 1995).

El permanganato de potasio oxida en gran medida sustancias orgánicas como los carbohidratos y fenoles, en menor medida productos proteicos. Sin embargo, no oxida los detergentes y productos residuales de la síntesis orgánica en el campo de los plásticos.

El principio del método aplicado se basa en la oxidación de reintegradores (recuperadores) orgánicos, que están en las aguas bajo condiciones especiales por oxidadores químicos activos. El valor de la oxidación se determina por la cantidad del oxidante gastado y se expresa por el número de miligramos de oxígeno que es necesario para oxidar las sustancias en un litro de agua.

El método del permanganato es aplicable en el rango establecido entre 0,5 – 10 mg O₂.L⁻¹, las muestras que presenten valores por encima de lo estipulado deberán diluirse antes del análisis. (UNE–EN ISO 8467, 1995).

2.3. VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO

La validación es el proceso mediante el cual se garantiza que las características representativas del método analítico cumplan con las especificaciones para su aplicación por medio de estudios de laboratorio. El objetivo de la validación de un método analítico es demostrar que el procedimiento, produce resultados que se ajustan al propósito previsto del método.

2.3.1. Parámetros analíticos necesarios para validar un método

Dentro de la evaluación de una metodología analítica se deben especificar los parámetros de calidad. Estos parámetros describen, los rangos y condiciones de trabajo de las técnicas, sus atributos e interferencias; en los siguientes ítems se describen algunos de los más importantes.

- Exactitud: Indica qué tan cercana está una medición de su valor “verdadero” o aceptado, puede expresarse con base en el porcentaje de recuperación (%R) en un método analítico de una cantidad conocida del analito o como la diferencia entre el valor medio obtenido en la valoración y el valor aceptado como real (%Error relativo) (IDEAM, 1999).

- Precisión: mide el grado de dispersión entre una serie de resultados replicados de una misma muestra, aplicando el mismo procedimiento experimental bajo condiciones preestablecidas, usualmente se expresa en términos de coeficiente de variación %CV. (IDEAM, 1999).

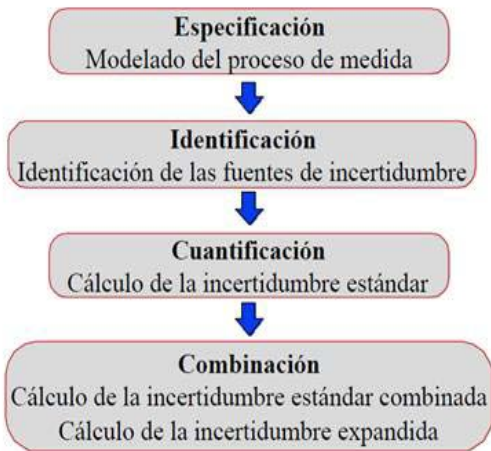
- Límite de Detección: Se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. De acuerdo con las definiciones de la ISO y la IUPAC, el límite de detección es un parámetro del método analítico definido a priori, porque se fija antes de que se realice la medida.(IDEAM, 1999).
- Linealidad: Muestra la proporcionalidad que existe entre la concentración de analito presente en la muestra y la señal ó respuestadel equipo. (IDEAM, 1999).
- Sensibilidad: Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración. Como valor se puede reportar el promedio de las curvas obtenidas en los ensayos de estandarización y en la medición de las muestras, indicando su desviación estándar. (IDEAM, 1999).
- Incertidumbre: Es un parámetro asociado con el resultado de esa medición, que caracteriza el intervalo de valores que puede ser razonablemente atribuido al mesurando. Es necesario identificar cada una de las fuentes de incertidumbre, evaluarlas y finalmente estimar el aporte de cada una frente a la incertidumbre total del análisis.. (IDEAM, 1999).

En la tabla 1. Se resumen los métodos empleados para determinar cada uno de dichos parámetros.

Tabla 1 Métodos determinación parámetros estadísticos requeridos validación

Parámetro	Método Empleado	Descripción General
Exactitud	% Error Relativo	Es la relación que existe entre el error absoluto y la magnitud medida, es adimensional, y suele expresarse

		<p>en porcentaje.</p> $Error\ Absoluto = \bar{X} - X_{Patr\acute{o}n}$ $\% Error\ Relativo = \left(\frac{Error\ Absoluto}{X_{Patr\acute{o}n}} \right) \times 100$ <p>Donde:</p> <p>\bar{X} es el valor promedio de las mediciones</p> <p>$X_{patr\acute{o}n}$ es el valor real de la magnitud</p>
Precisi3n	<p>*Ecuaci3n Horwitz</p> $CV = 2^{(1-0.5\log C)}$ $C = Concentraci3n [mg.L^{-1}]$	<p>Relaciona el coeficiente de variaci3n experimental con la concentraci3n media del analito expresada en $mg.L^{-1}$</p> $CV_{cal} = \left(\frac{s}{\bar{X}} \right) \times 100$ <p>Donde:</p> <p>\bar{X} es el valor promedio de las mediciones</p> <p>s es la desviaci3n estandar</p> <p>La precisi3n se considera aceptable cuando su CV_{cal} es inferior al valor te3rico hallado mediante la ecuaci3n de Horwitz*</p>
Linealidad	<p>t-Student</p> $t = \frac{ r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$ <p>$n = numero\ ensayos$</p> <p>$r = coeficiente\ correlaci3n$</p>	<p>Se calcula el valor de $t_{regresi3n}$ (test de regresi3n) con n-2 grados de libertad y un intervalo de confianza del 95% ($\alpha=0,05$) se compara con el valor de t_{tabla}(test tabulado) para el nivel de confianza requerido.</p> <p>α= probabilidad de cometer error (p)</p> <p>$1-\alpha$=grado de confianza</p> <p>Se evalúa:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ t calculado (t_{cal}) \geq ($t_{tab\ n-2}$), se confirma que existe una buena correlaci3n lineal ✓ La linealidad es corroborada por el coeficiente de correlaci3n (r); $0,98 \leq r \leq 1,0$ y $r^2 \geq 0,99$
L3mite detecci3n	<p>Análisis Quimiom3trico de la curva de calibraci3n (Miller y Miller, 2002)</p>	$LOD = Y_B + 3 S_B$ <p>$Y_B = a =$ intercepto de la curva de calibraci3n</p> <p>$S_b = S_{y/x} =$ Desviaci3n estandar de la pendiente</p>
	<p>LOD</p>	<p>Se determina involucrando todos los factores que afectan la medida</p> $LOD = 3 S_{mayor}$ <p>Donde: S_{mayor} = desviaci3n estandar mayor</p>

<p>Incertidumbre expandida con k=2</p>	<p>Tipo B, Determinada por la desviación de los instrumentos y equipos utilizados y ensayos de precisión y repetibilidad.</p> <p>Método ISO “Aproximación Bottom Up”</p>	<p>Identificar, cuantificar y combinar todas las fuentes de incertidumbre Figura 1</p> <p>$k = 2$ Factor de cobertura para un 95%</p> <p>Figura 1 Estimación de la incertidumbre</p>  <pre> graph TD A["Especificación Modelado del proceso de medida"] --> B["Identificación Identificación de las fuentes de incertidumbre"] B --> C["Cuantificación Cálculo de la incertidumbre estándar"] C --> D["Combinación Cálculo de la incertidumbre estándar combinada Cálculo de la incertidumbre expandida"] </pre> <p>Fuente: (Sánchez, 2002)</p>
--	--	---

Fuente: Autor

2.3.2. Etapas validación

Dentro de la validación de un método analítico existen diferentes etapas que son:

1. Selección del método a validar: para ello se realiza la respectiva revisión bibliográfica, con el objeto de analizar y estudiar los procedimientos reportados y aplicados con anterioridad y definir los parámetros (condiciones por cumplir) de los procedimientos a validar, de acuerdo con las necesidades en cuanto a rango del método y precisión. Posteriormente se procede a elaborar los protocolos en donde se define los objetivos específicos de las evaluaciones a efectuar, se establecen las variables de interés que se quieren monitorear, además de incluir los criterios de aceptación o la comparación de resultados con los niveles permisibles o resultados esperados.

2. Montaje del método: consiste en la realización de todas las pruebas experimentales. En este ítem se encuentra también incluida la cuantificación de los parámetros de interés en muestras reales y el análisis de interferencias.
3. Validación del método: comprende el tratamiento estadístico de los datos obtenidos experimentalmente para encontrar la determinación del límite de detección, precisión, exactitud, rango de detección, linealidad e incertidumbre de medición; parámetros estadísticos que permiten determinar si el método es aplicable, y decidir sobre la validez del procedimiento para el uso previsto.

Adicionalmente a la validación de los métodos es fundamental:

- Actualizar el procedimiento técnico de análisis para cada una de los procedimientos estudiados: se realiza teniendo la última versión del procedimiento a validar disponible para consulta por parte de todo el personal de laboratorio.
- Revisar de todas las fichas técnicas de equipos, instructivos de operación y calibración de los equipos requeridos para realizar los análisis. El personal del laboratorio debe estar capacitado para operar dichos equipos y éstos deben permanecer con su calibración vigente.
- Revisar las hojas de seguridad de los reactivos, certificados de calidad de cada uno de los lotes de los reactivos empleados y verificación de sus fechas límite de uso. Como medida de seguridad, el personal del laboratorio debe conocer los riesgos químicos que entraña el uso de cada reactivo.
- Socializar la técnica validada entre el personal del laboratorio, con el fin de retroalimentar los conocimientos. De realizarse cambios en la metodología de análisis, debe actualizarse al personal mediante capacitaciones.
- Revisar periódicamente el desempeño de los procedimientos a través de pruebas de repetitividad y reproducibilidad.

3. METODOLOGÍA

Es de vital importancia mencionar que debido a que los niveles de analito esperados en las muestras están a nivel trazas, tanto para la determinación de metales como de materia orgánica, se debe tener especial cuidado en la toma y almacenamiento de las muestras; la limpieza del material de vidrio y en la preparación de reactivos, con el fin de reducir cualquier tipo de contaminación y por ende minimizar los errores.

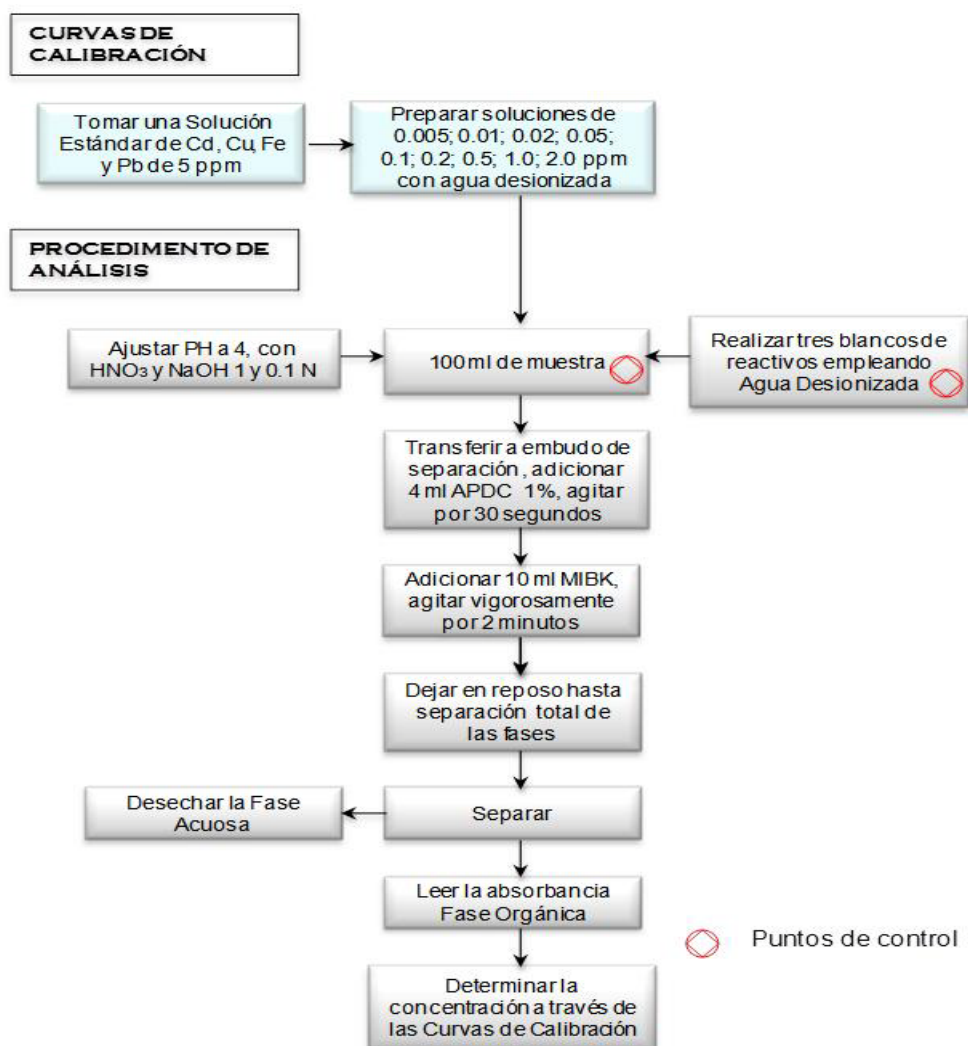
3.1. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA

Para la determinación de metales pesados en muestras de aguas marinas se aplicó el método espectrométrico de absorción atómica descrito como método 3111C - Extraction/Air-Acetylene Flame, del Standard Methods (APHA, 2005) utilizando un Espectrofotómetro de Absorción Atómica UNICAM modelo 919 con corrector de fondo incorporado, y quemador de ranura de 10 cm. El procedimiento utilizado para este proceso se esquematiza en la Figura 2 que se explica a continuación.

Inicialmente, se elaboraron las curvas de calibración para cada uno de los metales pesados a estudiar (Cd, Cu, Fe y Pb) utilizando soluciones estándares preparadas por dilución apropiada de soluciones patrón certificadas de $1000 \pm 10 \text{ mg.L}^{-1}$ de cada elemento en medio de HNO_3 al 5%p/v; dichas curvas se construyeron en nueve niveles de concentración así: 0,005; 0,01; 0,02; 0,05. 0,10; 0,20; 0,50; 1,00 y $2,00 \text{ mg.L}^{-1}$. Las soluciones patrón diluidas se prepararon en el momento de su uso, con el fin de evitar variabilidad de la concentración del metal debido a evaporación o adsorción de los metales en las paredes del recipiente. Cada punto de concentración se procesó por triplicado.

Los resultados obtenidos se evaluaron mediante la aplicación de regresión lineal simple de los valores de absorbancia vs concentración permitiendo evaluar los parámetros de linealidad y límite de detección.

Figura 2 Diagrama de flujo determinación de metales pesados



Fuente: Autor

Debido a que la presencia de metales pesados en aguas marinas es al nivel de trazas, fue necesaria su separación de la matriz de estudio, dicha separación se fundamenta en la quelación con amonopirrolidínditiocarbamato (APDC) y su

posterior extracción con metilisobuticetona (MIBK), seguida por aspiración directa en llama de aire-acetileno.

Se tomaron 100 ml de muestra, y el blanco (agua desionizada) previamente filtradas con una membrana de porosidad de 0.45 μm a las cuales se les ajusto el pH a 4,0 con HNO_3 y NaOH 1 y 0.1N para obtener una extracción óptima. A continuación se realizó una extracción líquido-líquido de los metales presentes en la muestra utilizando un embudo de separación. Para ello se adicionaron inicialmente 4 ml de solución acuosa de APDC 1% p/v, posteriormente 10ml de MIBK. La mezcla se agitó vigorosamente durante 2 minutos y se dejó reposar para obtener la separación de la fase orgánica y acuosa. La fase orgánica con el metal pesado acomplejado o quelado se separó y se centrifugó durante 5 minutos a 3000rpm para separar partículas acuosas que pudieranacompañar al extracto orgánico.

Previo al análisis se realizó el ajuste de las condiciones de operación del espectrofotómetro dependiendo del metal a cuantificar, de acuerdo a los parámetros indicados en la Tabla 2. Finalmente, el extracto orgánico se aspiró directamente en la llama aire-acetileno, registrando el cero de absorbancia con un blanco de agua saturada con MIBK.

Tabla 2 Rangos de Operación del Espectrofotómetro AA UNICAM 919.

METAL	LONGITUD DE ONDA λ [nm]	CAUDAL DE COMBUSTIBLE [L/min]	LLAMA QUÍMICA	CORRIENTE A UTILIZAR. [mA]	ANCHO DE REJILLA [nm]
Cd	228,8	1,0 – 1,3	Estequiométrica	6	0,5
Cu	324,8	0,8 – 1,1	Roja (pobre O_2)	3,75	0,5
Fe	248,3	0,8 – 1,0	Roja (pobre O_2)	11,25	0,2
Pb	217,0	0,9 – 1,2	Estequiométrica	7,5	0,5

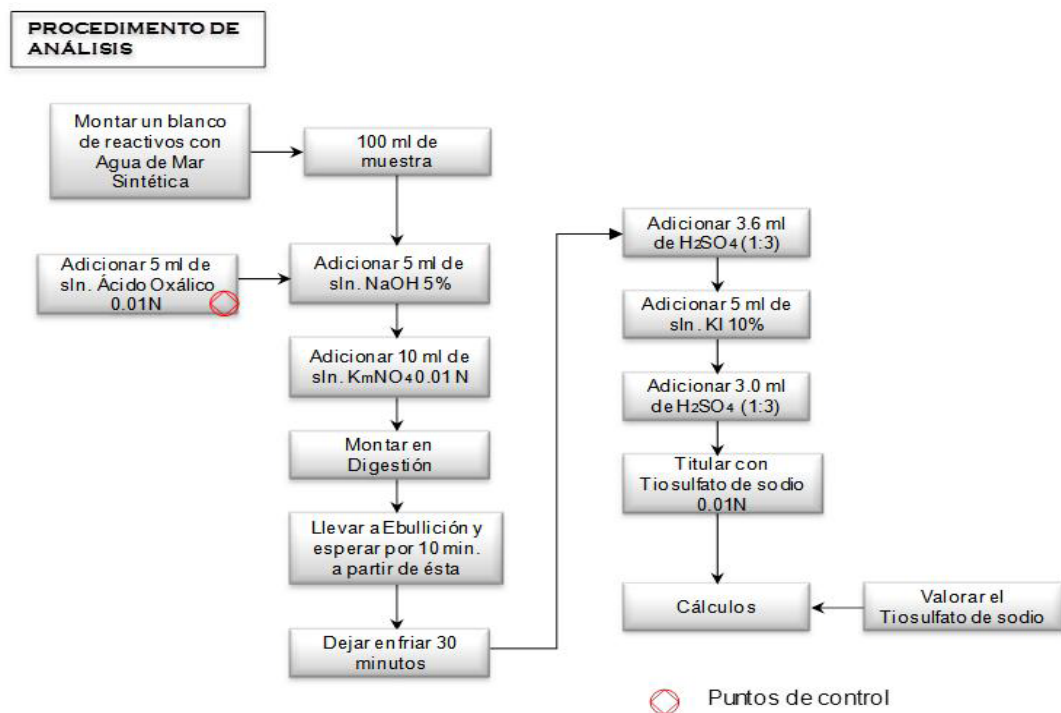
Fuente: (UNICAM, 1992)

Para determinación de la exactitud y precisión del procedimiento de metales pesados se realizaron ensayos de repetibilidad con nueve soluciones patrón de materiales de referencia certificados utilizando un nivel de concentración de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ para el Cadmio y $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ para cobre, hierro y plomo, expresándolas en términos de % Error relativo y Coeficiente de Variación (%CV).

3.2. DETERMINACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

Se partió del procedimiento de “Oxidación con Permanganato de Potasio en medio básico” (Swarup, et al., 1992), que se esquematiza en la. Figura 3. y se describe a continuación.

Figura 3 Diagrama de flujo determinación materia orgánica



Fuente: Autor

Para determinar la materia orgánica en aguas marinas, a la muestra, y al blanco (agua de mar sintética) se le adicionó 5 ml de NaOH 5% p/v, con el fin de garantizar el medio básico y eliminar las posibles interferencias debidas a la presencia de los cloruros. A continuación, con el objeto de oxidar la materia orgánica presente en la muestra se trató con una solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 0,01N y se llevó a ebullición dejándose durante 10 minutos en ese estado. Posteriormente, el remanente de permanganato de potasio después de la oxidación de la materia orgánica se determinó por titulación. Para ello, el permanganato remanente fue destruido adicionando 5 ml de yoduro de potasio (KI) 10% p/v en medio ácido ajustado con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y, la cantidad de yodo libre, equivalente a KMnO_4 se tituló con una solución de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01N.

Hay que mencionar que debido a que el tiosulfato de sodio no es un patrón primario, para conocer su verdadera normalidad, se hizo necesario la valoración del mismo con una solución estándar de yodato de potasio (KIO_3) 0,01 N.

Finalmente, la cantidad del permanganato en equivalentes de oxígeno gastado para la oxidación de materia orgánica en la muestra, fue determinada por la diferencia de los volúmenes de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (V_b) gastado en la titulación del blanco y del volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (V_m) gastado en la titulación de la muestra.

Para la determinación del límite de detección del procedimiento de determinación de materia orgánica se prepararon nueve blancos, con agua de mar sintética más los reactivos presentes en la muestra a analizar de acuerdo con el tratamiento de la misma aplicando el método en estudio.

Debido a la imposibilidad de trabajar con material de referencia certificado en el procedimiento de determinación de materia orgánica, la exactitud y precisión se determinaron realizando ensayos en muestras de agua de mar sintética a la cual

se le adicionó 0,05 meq. de ácido oxálico, se desarrollaron nueve replicas, expresándose como % de Error Relativo y Coeficiente de Variación %CV respectivamente.

Adicionalmente, para corroborar la validez y aplicación de las metodologías utilizadas y, una vez establecidos los parámetros analíticos de las mismas, se analizaron por duplicado dos muestras de agua de mar tomadas en el muelle de la Estación de Guardacostas, de la Capitanía de Puerto de Tumaco, estando en marea baja y a cero metros de profundidad. El volumen de la muestra tomado fue de 1000 ml, cantidad suficiente para la cuantificación de metales pesados y materia orgánica; estas muestras fueron analizadas de manera inmediata.

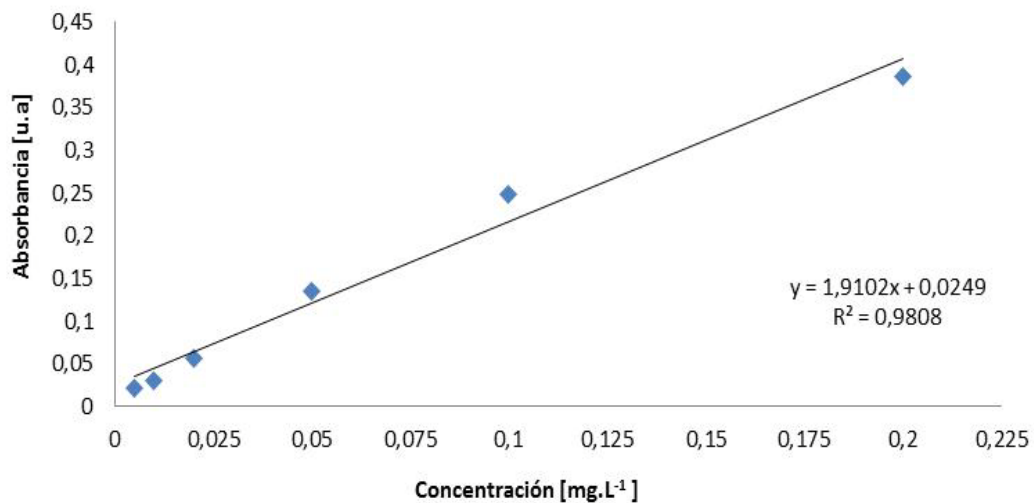
4. RESULTADOS

4.1. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS POR ABSORCIÓN ATÓMICA

4.1.1. Curvas de Calibración. Determinación de Linealidad

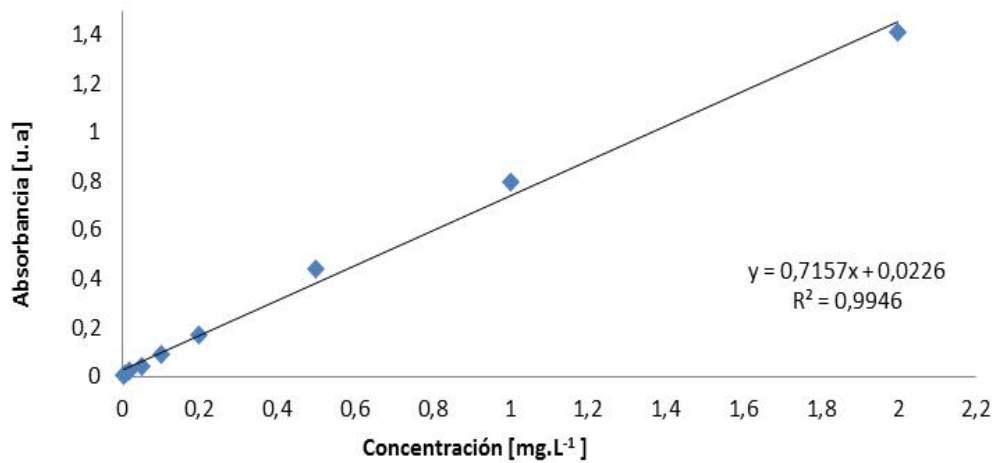
En las figuras 4-7 se muestran las curvas de calibración obtenidas para cada uno de los metales analizados (Cd, Cu, Fe y Pb). Para evaluar la linealidad se aplicó la t de Student en función de la pendiente, para un estimado de error de $p = 0,05$, corroborándose que el valor de t calculado (t_{cal}) era mayor que el valor de t tabulado en $n-2$ ($t_{tab\ n-2}$) en todos los casos como se muestra en la Tabla 3, por lo tanto se comprueba que existe una correlación lineal significativa entre la concentración de los metales analizados y la absorbancia dentro del rango estudiado para un nivel de confianza del 95%.

Figura 4 Curva Calibración para el Cadmio



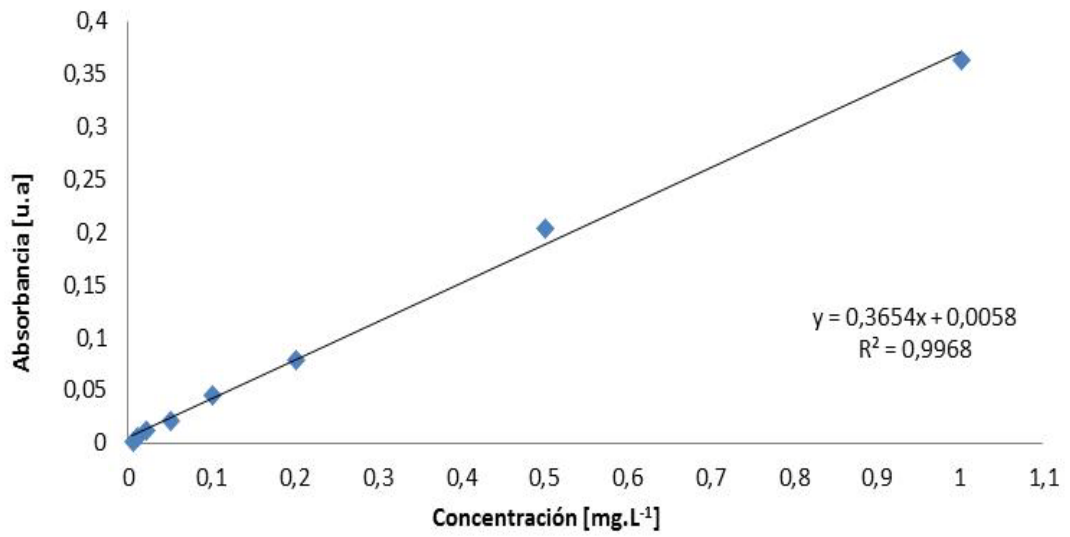
Fuente: Autor.

Figura 5 Curva Calibración para el Cobre



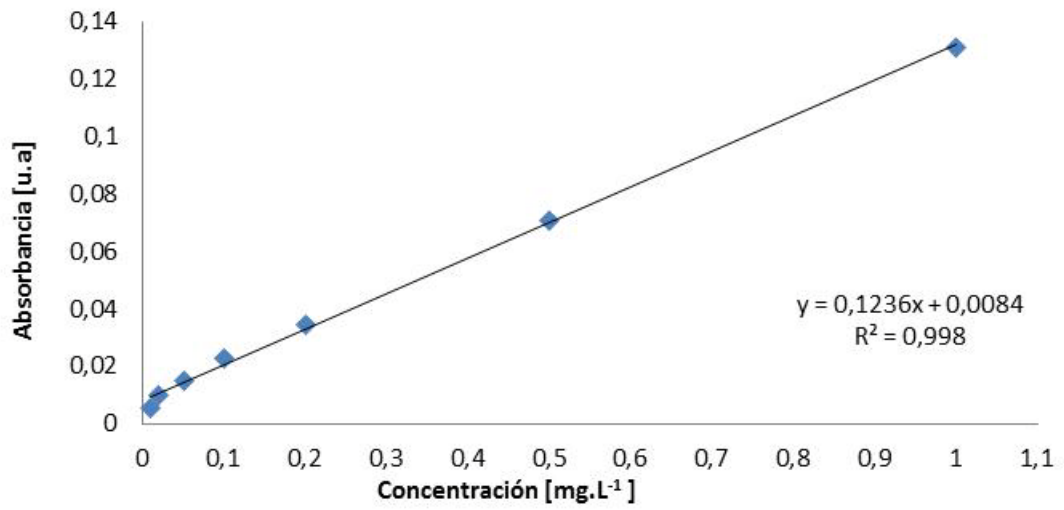
Fuente: Autor.

Figura 6. Curva Calibración para el Hierro



Fuente: Autor.

Figura 7. Curva Calibración para el Plomo



Fuente: Autor.

Tabla 3 Parámetros linealidad Cuantificación Metales Pesados.

Parámetro		Cadmio	Cobre	Hierro	Plomo
Coeficiente de Correlación	r	0,9903	0,9972	0,9984	0,9986
Coeficiente de determinación	R ²	0,9808	0,9946	0,9968	0,9972
Intercepto	b	0,0249	0,0226	0,0058	0,0084
Pendiente [mg.L ⁻¹]	m	1,9102	0,7157	0,3654	0,1236
Error típico		0,1336	0,0199	0,0084	0,0022
Rango Lineal [mg.L ⁻¹]		0,005 – 0,2	0,2 – 2,0	0,02 – 1,0	0,02 – 1,0
t-Student	t _{Tabla-95%}	2.78	2.36	2.45	2.57
	t _{Calculado}	14,3	35.83	43.13	46.35

Fuente: Autor.

De acuerdo a los datos reportados para el coeficiente de correlación R², la linealidad más baja es la del cadmio, esto debido a que el Cd es uno de los metales pesados que se encuentra en más baja concentración en aguas marinas, aproximadamente entre 0,01 a 0,2 µg.L⁻¹, y su determinación directa por espectrofotometría de absorción atómica con llama constituye un gran desafío debido a que la matriz de las sales disueltas principalmente NaCl entre 2-3% p/v interfiere significativamente en su análisis.

De igual modo se puede observar que el menor grado de sensibilidad (menor pendiente curva calibración) es reportado por el plomo, lo cual infiere que para observar algún cambio en la señal del equipo, se requiere cambios de concentración bruscos.

4.1.2. Límite de Detección

Una vez obtenidas las curvas de calibración se realizó un análisis quimiométrico (Miller y Miller, 2002) de las mismas con objeto de obtener los límites de detección ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) para cada uno de los metales pesados. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4 Límites de detección del método utilizado para la determinación de los metales pesados analizados.

Parámetro	Cadmio	Cobre	Hierro	Plomo
Límite detección obtenido con método estudiado [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$]	0,042	0,159	0,064	0,071
Límite detección del Método reportado en la literatura (APHA, 2005) [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$]	0,002	0,01	0,02	0,05

Fuente: Autor.

Los límites de detección alcanzados con el método propuesto en la determinación de hierro y plomo, son comparados de manera favorable con lo reportado en la literatura.

4.1.3. Exactitud y precisión

Los valores obtenidos para exactitud y precisión se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Exactitud y precisión del método utilizado para la determinación de los metales pesados analizados.

Parámetro	Método Empleado	Cadmio	Cobre	Hierro	Plomo
Exactitud	% Error Relativo	7,31	4,99	2,94	4,31
Precisión (Horwitz)	* CV Teórico [%]	22,9	20,2	23,5	20,7
	CV Calculado [%]	2,72	1,70	2,82	5,57

$$* CV = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

Fuente: Autor.

Se cumple que el porcentaje de error relativo es menor del 10%, valor requerido para considerar un método como exacto. Asimismo, en todos casos el valor de CV calculado (CV_{cal}) es menor o igual que el valor teórico (CV_{teo}), por lo que la precisión de los métodos se considera aceptable. De igual modo se cumple quedicho valor (CV_{cal}) es menor de 5% a excepción del plomo lo cual es un criterio de aceptación del método.

Que el %CV del Pb supere el 5% se debe principalmente a la baja sensibilidad del equipo con éste tipo de lámpara, además de que no se tuvo unas condiciones de estabilidad de lectura para el mismo.

4.1.4. Estimación de Incertidumbre

De acuerdo con EURACHEM (2000), se determinó que las fuentes de incertidumbre más influyentes en el procedimiento de determinación de metales pesados son las descritas en la Tabla 6.

Tabla 6 Fuentes de incertidumbre en la determinación de metales pesados.

Fuente	Documentación Utilizada
Pureza de los Patrones utilizados	Certificado de pureza del patrón
Medición volumen patrón utilizado	Certificado calibración micropipeta
Concentración del patrón utilizado	Certificado calibración balón aforado 100 ml
Toma de Muestra	Certificado calibración balón aforado 100 ml
Lectura pH	Certificado calibración pH-metro portátil WTW
Lectura Absorbancia	Manual espectrofotómetro UNICAM 919
Precisión y ensayos repetibilidad	No se lee de un documento, se estima a través de los ensayos de repetibilidad.

Fuente: Autor.

Para la cuantificación de las mismas se usó la información disponible de certificados de calibración, certificados de pureza de reactivos, tolerancias del material volumétrico, manuales de instrumentos y ensayos de repetibilidad que se especifican en la Tabla 7, a partir de los cuales se determinó la incertidumbre estándar del método propuesto para la determinación de cada uno de los metales pesados de interés.

De acuerdo a los resultados reportados se observa que los factores de incertidumbre individual que generan variabilidad en la estimación de la incertidumbre combinada para cada metal son los producidos por la lectura de la absorbancia y los ensayos de repetibilidad, esto se presenta básicamente debido a que para éste tipo de análisis (Instrumental) la mayor parte del error proviene del equipo utilizado; las variaciones en las concentraciones de los patrones se consideran errores aleatorios insignificantes.

Tabla 7 Estimación Incertidumbre Metales Pesados

Entrada	Incertidumbre estándar			Cadmio	Cobre	Hierro	Plomo
Pureza Patron	$\mu_{pur} =$	$\frac{2}{\sqrt{3}}$	=	1,15470	1,15470	1,15470	1,15470
Volumen Patron	$\mu_{tr} =$	$\frac{0.75}{2}$	=	0,375	0,375	0,375	0,375
Volumen aforo sIn patron	$\mu_{b1} =$	$\frac{0.00154}{2}$	=	0,00077	0,00077	0,00077	0,00077
Toma de muestra	$\mu_{b2} =$	$\frac{0.00154}{2}$	=	0,00077	0,00077	0,00077	0,00077
Lectura pH	$\mu_{ph} =$	$\frac{0,059}{2}$	=	0,0295	0,0295	0,0295	0,0295
Lectura absorbancia	$\mu_e =$	$\frac{0.002}{2}$	=	0,001	0,001	0,001	0,001
Precisión ensayos de repetibilidad	$\mu_p =$	$\frac{S}{\sqrt{n}}$	=	0,001	0,0013	0,0017	0,0003
Incertidumbre combinada	$\mu_{co} =$	$\sqrt{\sum \left(\frac{\mu_i}{i}\right)^2}$	=	0,014	0,026	0,017	0,031
Incertidumbre estandar	$K^* \mu_{(c)} =$	$2^* \mu_{co}$	=	0,028	0,051	0,034	0,063

Fuente: Autor.

4.2. DETERMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA POR OXIDACIÓN CON $KMnO_4$

4.2.1. Límite de Detección

El límite de detección para la determinación de materia orgánica calculado a partir de la ecuación $LOD = 3 \cdot S_{mayor}$ tuvo un valor de $0,26 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$

4.2.2. Exactitud y precisión

En la Tabla 8 se resumen los valores determinados para cada parámetro.

Tabla 8 Exactitud y precisión del método utilizado para la determinación de materia orgánica.

Parámetro	Método Empleado	Materia Orgánica
Exactitud	% Error Relativo	2,78
Precisión (Horwitz)	* CV Teóricos [%]	8,3
	CV Calculado [%]	0,39

$$* CV = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

Fuente: Autor.

Al igual que se determinó para el método de determinación de metales pesados, el porcentaje de error relativo es menor del 10%, valor requerido para considerar un método como exacto. Asimismo, el valor de CV_{cal} obtenido para el método de determinación de materia orgánica es inferior del 5% y menor que el valor de CV_{teo} , por lo que la precisión del método se considera aceptable.

La obtención de un bajo %CV implica se tuvo bastante cuidado en la minimización de errores en los pesajes tanto para la preparación de reactivos como solución estándar, así como en el aforo de las mismas y la titulación.

4.2.3. Estimación de Incertidumbre

Al igual que para la estimación de la incertidumbre en el procedimiento de cuantificación de metales, se determinó que las fuentes de incertidumbre más influyentes en el procedimiento de determinación de materia orgánica son las descritas en la tabla 9.

Tabla 9 Fuentes de incertidumbre en la determinación de materia orgánica.

Fuente	Documentación Utilizada
Pesaje de reactivos	Certificado calibración balanza analítica
Pureza de los reactivos utilizados	Certificado de pureza del reactivo
Toma de Muestra	Certificado calibración balón aforado 100 ml
Volumen Oxidante adicionado	Certificado calibración micropipeta
Volumen Patrón adicionado	Certificado calibración micropipeta
Titulación	Certificado calibración dosificador electrónico Multidosimat
Precisión y ensayos repetibilidad	No se lee de un documento, se estima a través de los ensayos de repetibilidad.

Fuente: Autor.

Del mismo modo, para la cuantificación de la incertidumbre asociada al método de determinación de materia orgánica, se utilizó la información disponible certificados de pureza de reactivos, tolerancias del material volumétrico, manuales de instrumentos y ensayos de repetibilidad que se especifican en la tabla 10 y a partir de cuyos valores se pudo determinar el valor de incertidumbre estándar del método en estudio.

Tabla 10 Estimación de la incertidumbre en la determinación de materia orgánica.

Entrada	Incertidumbre estándar			
Pesaje yodato	$\mu_{w1} =$	$8.8 \times 10^{-5} + 1.9 \times 10^{-6} * R$	=	0,0001
Pesaje permanganato	$\mu_{w2} =$	$8.8 \times 10^{-5} + 1.9 \times 10^{-6} * R$	=	0,0001
Pesaje Acido Oxálico	$\mu_{w3} =$	$8.8 \times 10^{-5} + 1.9 \times 10^{-6} * R$	=	0,0001
Pesaje tiosulfato	$\mu_{w4} =$	$8.8 \times 10^{-5} + 1.9 \times 10^{-6} * R$	=	0,0001
Pureza Yodato	$\mu_{p1} =$	$\frac{0.007}{\sqrt{3}}$	=	0,0040
Pureza Permanganato	$\mu_{p2} =$	$\frac{0.015}{\sqrt{3}}$	=	0,0087
Pureza Acido Oxálico	$\mu_{p3} =$	$\frac{0.015}{\sqrt{3}}$	=	0,0087
Pureza Tiosulafto	$\mu_{p4} =$	$\frac{0.015}{\sqrt{3}}$	=	0,0087
Toma de muestra	$\mu_{b1} =$	$\frac{0.00154}{2}$	=	0,00077
Volumen KMnO4 0.01 N	$\mu_{tr} =$	$\frac{1.6}{2}$	=	0,8
Volumen Ac. Oxa. 0.01 N	$\mu_{v2} =$	$\frac{1.6}{2}$	=	0,8
Titulación	$\mu_{dos} =$	$\frac{1.5}{2}$	=	0,7500
Precisión ensayos de repetibilidad	$\mu_p =$	$\frac{S}{\sqrt{n}}$	=	0,0994
Incertidumbre combinada	$\mu_{co} =$	$\sqrt{\sum \left(\frac{\mu_i}{i}\right)^2}$	=	0,099
Incertidumbre estandar	$K * \mu_{(c)} =$	$2 * \mu_{co}$	=	0,199

Fuente: Autor.

Se observa que los aportes de las incertidumbres individuales son bajas, lo cual supone que el material y equipos utilizados se encuentran debidamente calibrados

además de que se garantizó un ambiente adecuado y se tomaron las precauciones necesarias por el analista en la realización de la experimentación

Es de aclarar que en un análisis volumétrico, los errores son bastante inusuales en el sentido de que no implican ninguna etapa individual que tenga un error mayor que los de las otras etapas.

Finalmente, en la Tabla 11 se resumen las incertidumbres estándar estimadas para las dos metodologías propuestas.

Tabla 11. Estimación de la incertidumbre en los métodos de determinación de metales pesados y materia orgánica

Parámetro		Cadmio	Cobre	Hierro	Plomo	Materia Orgánica
Incertidumbre estándar	$K * \mu_{(C)}$ $k = 2$ <i>Factor de cobertura para un 95%</i>	0,028	0,051	0,034	0,063	0,20

Fuente: Autor.

4.3. METALES PESADOS Y MATERIA ORGÁNICA EN UNA MUESTRA DE AGUA DE MAR (MUELLE GUARDACOSTAS)

Finalmente, para las muestras tomadas en el muelle de la Estación de Guardacostas, se obtuvieron concentraciones de metales inferiores a los límites de cuantificación de la metodología estudiada; debido principalmente a que sobre este muelle no existe ningún tipo de descarga que pueda llevar arrastre de metales pesados (desembocadura de un río o efluente industrial)

El resultado generado para materia orgánica fue de 1,79 mg O₂.L⁻¹, aunque esta en un valor muy cercano al límite permitido por la norma (2 mg O₂.L⁻¹) (Decreto 1594, 1984) se puede considerar como agua no contaminada por materia orgánica, cabe aclarar que el valor obtenido se debe principalmente a que sobre

este muelle se hace sin ningún tipo de tratamiento todas las descargas de aguas residuales producidas en el Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico CCCP (Módulos Habitacionales para aproximadamente 100 personas, Área Administrativa, Laboratorio de Química, Biología y Microbiología y Restaurante) además es zona de aparcamiento de los botes utilizados o decomisados por el personal de Guardacostas, lo cual genera gran cantidad de derrame de aceites y grasas.

De igual manera el valor obtenido para materia orgánica para la muestra del muelle se encuentra dentro del rango establecido en la norma para el método (0,5 - 10 mg O₂.L⁻¹), por lo que no se hace necesario la dilución de la muestra para analizarla.

5. CONCLUSIONES

- Los métodos son adecuados para la determinación de metales y materia orgánica en aguas marinas y/o estuarinas, de acuerdo a los parámetros estadísticos determinados.
- El método propuesto en este trabajo para cuantificación de metales pesados, demostró que se puede alcanzar una adecuada sensibilidad y exactitud aplicando extracción con MIBK del quelato formado por Metal-APDC y su posterior determinación por espectrometría de absorción atómica y aspiración directa a la llama de aire-acetileno.
- La metodología propuesta para cuantificación de metales pesados resultó ser lineal y precisa dentro del rango en estudio, siendo adecuada para un laboratorio de mediana complejidad.
- Los métodos ofrecen resultados con incertidumbres lo suficientemente bajas para poder ser utilizados en diagnósticos ambientales y fenomenológicos, en el ensayo de muestras de aguas marinas y estuarinas.
- La mayor dificultad para la determinación y cuantificación de los metales estudiados en aguas marinas y estuarinas, es la baja concentración del metal debido a que están en el orden de trazas.

6. RECOMENDACIONES

- Adquirir un espectrofotómetro moderno que garantice mayor sensibilidad y por consiguiente poder determinar concentraciones muy bajas de metales.
- Adquirir materiales de referencia certificados con el fin de corroborar la exactitud de los métodos implementados.
- Asegurar metodologías de trabajo ultralimpias para disminuir al máximo cualquier tipo de contaminación, dado el bajo intervalo de concentración de las especies estudiadas en aguas marinas y estuarinas.
- Dar un tiempo de estabilidad mínimo de media hora para que se tengan las condiciones óptimas del espectrofotómetro de acuerdo con el metal a cuantificar.
- Determinar la concentración del metal (leer absorbancia) inmediatamente después de la extracción para evitar problemas de inestabilidad del complejo del metal extractado.
- Mantener constantes los volúmenes de muestra y los solventes orgánicos para asegurar un factor de concentración constante (se debe obtener aproximadamente 10 ml extracto orgánico para lectura en el espectrofotómetro).

7. PRODUCTOS DE LA PRÁCTICA

- Se realizaron aportes al Sistema de Gestión de Calidad del laboratorio de Química mediante la implementación y validación de los Procedimientos técnicos N° LAQ – PT-014 Determinación de metales pesados absorción atómica y N° LAQ – PT-021 Determinación de la oxidabilidad química de la materia orgánica en aguas.
- Se elaboró el Instructivo de operación del espectrofotómetro de absorción atómica, UNICAM 919 N° LAQ – IO-031.
- Se elaboró el informe de evaluación determinación de metales pesados en aguas marinas y estuarinas N° 001.
- Se elaboró el informe de evaluación determinación de la oxidabilidad química de la materia orgánica N° 001.

8. ACTIVIDADES DE LA ESTRATEGIA DE COMUNICACIÓN

Siguiendo la estrategia de divulgación de las actividades de investigación del CCCP se presentaron dos noticias, una de la presentación de la pasantía, y otra de finalización de la misma:

- Validación de los procedimientos de cuantificación de metales pesados y materia orgánica en aguas marinas y/o estuarinas. Con fecha de entrega 2011/03/01-
- Finaliza Pasantía de validación de los procedimientos de cuantificación de metales pesados y materia orgánica en aguas marinas y/o estuarinas. UIS – CCCP. Con fecha de entrega 2011/09/27.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGUILERA I, S. RODRÍGUEZ, R. M. PÉREZ, J. BUZÓN, M. CAMACHO. Validación de la determinación de la DQO en la unidad analítica del CEBI, Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Revista Cubana de Química. Vol. XV N° 2, 2003.

American Public Health Association (APHA) 2005. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. Edition 21. APHA/AWWA/WEF. 3111 C. Extraction/Air-Acetylene Flame. p. 3 -19 .

CENTRO ESPAÑOL DE METROLOGÍA. Glosario de términos. [En línea]. Disponible en: http://www.cem.es/cem/metrologia/glosario_de_terminos?page=2&term_node_tid_depth_1=21

COLOMBIA. MINISTERIO DE DEFENSA NACIONAL. 2009. Decreto 5057 (30, diciembre, 2009). Por el cual se modifica parcialmente la estructura del Ministerio de Defensa Nacional - Dirección General Marítima y se dictan otras disposiciones. Diario Oficial. Bogotá D.C., 2009. N° 47579. p. 5-6.

COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. 1984. Decreto 1594 (26, junio, 1984). Por el cual se reglamenta el Título I de la Ley 09 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI - Parte III - Libro II y el Título III de la Parte III Libro I, del Decreto 2811 de

1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos. Diario Oficial. Bogotá D.C., 1984. N° 36700. 52 p.

ESTRADA SARRIA, Carlos Alberto. Los procesos de validación como herramienta para el control de los riesgos laborales. [En línea]. Disponible en: http://www.ibermutuamur.es/IMG/pdf/Preven_laboral_bip36.pdf

EURACHEM The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Editor: H. Holcombe, LGC, Teddington: 1998.

EURACHEM - CITAC Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2000.

GARAY TINOCO J. A, et al. Diagnóstico integral, biofísico y socioeconómico relativo al impacto de las fuentes de contaminación terrestre en la bahía de Tumaco, Colombia y Lineamientos básicos para un plan de manejo. 2006

GARAY TINOCO, J.; PANIZZO, L.; LESMES, L. y RAMIREZ, G. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físico-Químicos y Contaminantes Marinos. 3ª ed. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, 1993

HERBELLO HERMELO, Paloma. Especiación de metales pesados mediante la formación de quelatos. Distribución de las especies inorgánicas de As y Cr en la

Rúa de Arousa. Tesis Doctoral, Santiago de Compostela: Universidad Santiago de Compostella. Facultad de Química.Analítica, Nutrición y Bromatología, 2007.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. NTC-ISO/IEC 17025: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Bogotá D.C.: 2005. 35 p.

INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. IDEAM. Protocolo Estandarización de métodos analíticos. Comité de Calidad Analítica Bogotá D.C.: Noviembre de 1999.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS JOSÉ BENITO VIVES DE ANDRÉIS.INVEMAR Programa Calidad Ambiental Marina CAM. Manual de Técnicas Analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos (Aguas, sedimentos y organismos). Santa Marta, Julio de 2003.

HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, Lucas; GONZALEZ PEREZ, Claudio. Introducción al análisis instrumental. 1 ed. Barcelona: Ariel S.A. 2002 459 p. [En línea]. Disponible en:

http://books.google.com.co/books?id=yVYn7_MoaAIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false

MAROTO SÁNCHEZ, Alicia. Incertidumbre en Método Analíticos de Rutina. Tesis Doctoral, Tarragona: Universitat Rovira I Virgili. Facultad de Química, 2002.

[15]MILLER, J.C. and MILLER, J.N. 1988. Estadística y Quimiometría para química analítica. 4 ed. Madrid: Pearson Educación S.A. 2002.

MONTALVO, José F; MARTÍNEZ, Marta y PERIGÓ, Eusebio. Técnicas Analíticas para Aguas y Sedimentos Marinos. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Instituto de Oceanología. 2004.

NETSALUD. Guía de validación de métodos analíticos. [En línea]. Disponible en: <http://netsalud.sa.cr/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>.

ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN (OAA). Guía para la validación de métodos de ensayo, DC-LE-05 Versión 02, Buenos Aires, Argentina 2008.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD OPS, CENTRO PANAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y CIENCIAS DEL AMBIENTE CEPIS. División de Salud y Ambiente. Programa control de Calidad y desarrollo de laboratorios. Análisis de metales en agua potable y residual por espectrofotometría de absorción atómica. Lima, 1995

RED DE VIGILANCIA PARA LA CONSERVACIÓN Y PROTECCIÓN DE LAS AGUAS MARINAS Y COSTERAS DE COLOMBIA REDCAM, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés INVEMAR Diagnóstico y Evaluación de la Calidad Ambiental Marina en el Caribe y Pacífico Colombiano,2009.

RODIER, J. Análisis de Aguas: aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Barcelona: Omega S.A, 1981.

SWARUP, R.; MISHRA, S.N. y JAUHARI, V.P. Encyclopaedia of Ecology, Environment and Pollution Control. Marine Environment An Analysis. First ed. New Delhi: Himanshu. 1992.

UNE–EN ISO 8467 Calidad del Agua. Determinación del índice de permanganato. Madrid: Asociación Española de Normalización y Certificación AENOR. 1995, 11 p.

UNICAM - Atomic Absorption Spectrometry Methods Manual. Solar System. 1992.

UPMEC. Unidad de Planeación Minero y Energético. 2006. Formulación de una Iniciativa de Producción más Limpia Dirigido al Sector de los Metales Preciosos en Pequeña Escala en Colombia Para Ser Implementado a través de los Centros Ambientales Mineros – CAMs u otros Instrumentos Técnicos. Medellín. 2006. Disponible en: <http://www.upme.gov.co/Docs/Mineria/1865.pdf>