

Validación de los métodos analíticos para determinar mercurio Hg y selenio Se por espectrometría de absorción atómica, boro B y cromo hexavalente Cr +6 por espectrofotometría UV-VIS, para el análisis en la matriz agua en los tipos de agua potable, superficial, subterránea, agua residual doméstica y agua residual no doméstica en el centro de gerenciamiento de residuos doña Juana S.A. E.S.P.

Silvia Juliana Merchán Gómez

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias,

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Validación de los métodos analíticos para determinar mercurio Hg y selenio Se por espectrometría de absorción atómica, boro B y cromo hexavalente Cr +6 por espectrofotometría UV-VIS, para el análisis en la matriz agua en los tipos de agua potable, superficial, subterránea, agua residual doméstica y agua residual no doméstica en el centro de gerenciamiento de residuos doña Juana S.A. E.S.P.

Silvia Juliana Merchán Gómez

Trabajo de Grado para Optar el título de Química

Modalidad: Pasantía de investigación

Director

Marianny Yajaira Combariza Montanez.

Codirector

Patricia Pico Díaz

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias,

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

Contenido

Lista de Figuras.	5
Lista de Tablas.....	6
1.Introducción.	9
2. Objetivos.	11
2.1. Objetivo general.	11
2.2. Objetivos Específicos.....	11
3. Pregunta de Investigación.	11
4. Hipótesis.....	12
5. Justificación.....	12
5. Marco teórico.	14
5.1. Contaminantes en el Medio Ambiente.	14
5.1.1. Selenio (Se).	14
5.1.2. Cromo Hexavalente (Cr (VI)).	15
5.1.3. Boro (B).....	15
5.1.4. Mercurio (Hg).	16
5.2. Técnicas Analíticas.	17

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

5.2.1. Espectrometría de Absorción Atómica.....	17
5.2.2. Espectrofotometría UV-VIS.....	18
5.3. Tipos de agua.	18
5.3.1. Agua Potable y Tratada.	18
5.3.2. Agua Superficial.....	19
5.3.3. Agua Doméstica.	20
5.3.4. Agua Residual No Doméstica.	20
5.3.5. Agua Subterránea.	22
5.4. Validación de métodos.	22
5.4.1. Exactitud.	23
5.4.2. Precisión.....	23
5.4.3Límite de detección (LDM) y Límite de Cuantificación (LCM).	23
5.4.4. Linealidad.....	24
5.4.5. Robustez.....	24
5.4.6. Proceso de Validación.....	24
5.5. Parámetros de validación.....	25
6. Diseño Metodológico.....	26

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

6.1. Determinación de Boro.	26
6.2. Determinación de Mercurio.....	28
6.3. Determinación de cromo hexavalente.	30
6.3. Determinación de selenio.	32
7. Análisis de Resultados.....	34
7.1. Análisis de Mercurio.	34
7.2. Análisis de Selenio.	44
7. 3. Análisis de Boro.	53
7.4. Cromo Hexavalente (Cr(VI)).	62
8. Conclusiones.	68
9. Referencias.....	69
10. Anexo	74
Anexo 1. Tabla de valores críticos.	75

Lista de Figuras.

Figura 1. Comprobación de la linealidad del método de determinación de mercurio total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica

.....
40

Figura 2. Carta de control para la determinación de Hgs total en mgHg/L durante 14 días.

.....
44

Figura 3. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Se total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotrémica

.....
50

Figura 4. Carta de control para la determinación de Selenio total en mg Se/L durante 14 días.

.....
53

Figura 5. Comprobación de la linealidad del método de determinación de B en aguas mediante espectroscopía UV-Vis

.....
59

Figura 6. Carta de control para la determinación de B total en ppm durante 7 días.

.....
62

Figura 7. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Cr(VI) en aguas mediante espectroscopía UV-Vis

.....
65

Figura 8. Carta de control para la determinación de Cr(VI) total en ppm durante 14 días.

.....
68

Lista de Tablas.

Tabla 1. Análisis de Hg total en aguas.37

Tabla 2. Comprobación del límite de cuantificación de Hg.....38

Tabla 3. Comprobación de la linealidad de Hg.....39

Tabla 4. Evaluación del porcentaje de recuperación de Hg41

Tabla 5. Análisis de Se total en aguas.....46

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Tabla 6. Comprobación del límite de cuantificación de Se.....	47
Tabla 7. Comprobación de la linealidad de Se.....	49
Tabla 8. Evaluación del porcentaje de recuperación de Se	51
Tabla 9. Análisis de B total en aguas	55
Tabla 10. Comprobación del límite de cuantificación de B.....	56
Tabla 11. Comprobación de la linealidad de B	57
Tabla 12. Evaluación del porcentaje de recuperación de B	61
Tabla 13. Comprobación del límite de cuantificación de Cr(VI).....	63
Tabla 14. Comprobación de la linealidad de Cr(VI).....	64
Tabla 15. Evaluación del porcentaje de recuperación de Cr(VI)	66

Resumen

Título: Validación de los métodos analíticos para determinar mercurio Hg y selenio Se por espectrometría de absorción atómica, boro B y cromo hexavalente Cr +6 por espectrofotometría UV-VIS, para el análisis en la matriz agua en los tipos de agua potable, superficial, subterránea, agua residual doméstica y agua residual no doméstica en el centro de gerenciamiento de residuos doña Juana S.A. E.S.P.

Autor: Silvia Juliana Merchán Gómez, Patricia Pico Diaz, Marianny Yajaira Combariza Monatanez

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Palabras Clave: Validación analítica, espectrometría de absorción atómica, espectrofotometría UV-VIS, metales pesados, control ambiental.

Descripción: El presente estudio valida métodos analíticos para la determinación de mercurio (Hg) y selenio (Se) mediante espectrometría de absorción atómica, y boro (B) y cromo hexavalente (Cr+6) por espectrofotometría UV-VIS, aplicados a diferentes matrices de agua en el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P. Se establecieron criterios de validación como exactitud, precisión, linealidad, límite de detección y cuantificación, garantizando la confiabilidad de los resultados. La implementación de estos métodos permite el monitoreo efectivo de la calidad del agua potable, superficial, subterránea y residual, facilitando el cumplimiento de normativas ambientales. Los resultados obtenidos contribuirán a la optimización de protocolos analíticos en laboratorios acreditados, asegurando datos confiables para la toma de decisiones en la gestión de recursos hídricos y control de contaminantes.

* Trabajo de Grado ** Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Directora: Marianny Yajaira Combariza Monatanéz, Codirectora: Patricia Pico Díaz,

Abstract

Title: Validation of Analytical Methods for Determining Mercury (Hg) and Selenium (Se) by Atomic Absorption Spectrometry, and Boron (B) and Hexavalent Chromium (Cr+6) by UV-VIS Spectrophotometry for Water Matrix Analysis in Drinking Water, Surface Water, Groundwater, Domestic Wastewater, and Non-Domestic Wastewater at the Doña Juana S.A. E.S.P. Waste Management Center.

Author(s): Silvia Juliana Merchán Gómez, Patricia Pico Diaz, Marianny Yajaira Combariza Monatanéz

Key Words: Analytical validation, atomic absorption spectrometry, UV-VIS spectrophotometry, heavy metals, environmental monitoring.

Description: This study validates analytical methods for the determination of mercury (Hg) and selenium (Se) using atomic absorption spectrometry, and boron (B) and hexavalent chromium (Cr+6) through UV-VIS spectrophotometry, applied to different water matrices at the Doña Juana S.A. E.S.P. Waste Management Center. Validation criteria such as accuracy, precision, linearity, detection, and quantification limits were established to ensure the reliability of the results. The implementation of these methods enables effective monitoring of the quality of drinking, surface, groundwater, and wastewater, facilitating compliance with environmental regulations. The findings will contribute to optimizing analytical protocols in accredited laboratories, ensuring reliable data for decision-making in water resource management and contaminant control.

* Bachelor's degree Work ** Faculty of Science. School of Chemistry. Directora: Marianny Yajaira Combariza Monatanéz Codirectora: Patricia Pico Diaz.

1.Introducción.

El agua es un recurso fundamental para el desarrollo y supervivencia de los organismos vivos; sin embargo, su calidad puede verse comprometida por la presencia de diferentes compuestos químicos, especialmente metales pesados, que pueden afectar tanto a los entornos bióticos como abióticos. El análisis de estos compuestos en diferentes tipos de agua permite cuantificar y comparar las concentraciones en relación con los estándares establecidos por entidades reguladoras de la calidad del agua (Zúñiga & Mora, 2020).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

El Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P., en sus operaciones, realiza estudios de calidad en distintos tipos de agua; como agua potable, superficial, subterránea doméstica y residual no doméstica. En estos análisis, se busca identificar y cuantificar la presencia de metales pesados como mercurio (Hg), selenio (Se), boro (B) y cromo hexavalente (Cr(VI)), elementos que pueden representar riesgos significativos para la salud humana y el ambiente.

Para detectar y cuantificar estos metales, existen varios métodos instrumentales, entre los cuales destacan la espectrometría de absorción atómica y la espectrofotometría UV-VIS. La espectrometría de absorción se basa en la radiación a una longitud de onda específica, lo que permite identificar y medir compuestos específicos (Martínez, 2020). Por su parte, la espectrofotometría UV-VIS utiliza la absorción de radiación electromagnética en la región ultravioleta-visible y sigue los principios de la ley de Lambert-Beer (Cortéz, 2022)

Estos métodos no solo identifican la presencia de metales pesados, sino que, también determinan sus concentraciones, lo cual es crucial, puesto que estos compuestos pueden impactar negativamente la salud pública y la seguridad alimentaria (Pabón S. , Benítez, Sarria, & Gallo, 2020).

En respuesta a la normativa del Ministerio de Ambiente en Colombia, según Decreto 1076, los laboratorios que realizan análisis de calidad de agua deben contar con acreditación

oficial. Por lo tanto, el laboratorio de la planta de tratamiento del relleno sanitario Doña de Juana busca implementar y verificar técnicas analíticas acreditadas para evaluar diferentes tipos de agua potable, superficial, subterránea, agua residual doméstica y agua residual no doméstica, conforme a los estándares del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

El presente trabajo de grado tiene como objetivo la verificación de los métodos analíticos para la determinación de Se mediante absorción atómica, Hg mediante el método vapor frío, y B y Cr(VI) mediante espectrofotometría ultravioleta visible en diferentes matrices de agua. Estas técnicas se basan en los procedimientos estandarizados de los Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, garantizando así la precisión y la confiabilidad en los resultados obtenidos.

2. Objetivos.

2.1. Objetivo general.

-Validar la determinación de Mercurio, Selenio, Boro y Cromo (VI) en sus diferentes métodos de análisis, sea espectrometría de absorción atómica o espectrofotometría U.V.- VIS, en matrices de agua en el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

2.2. Objetivos Específicos.

-Establecer el protocolo para la determinación de Hg y Se a partir de espectrometría de absorción atómica y de B y Cr(VI) a partir de espectrofotometría U.V. VIS en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

-Definir el método estandarizado para la determinación de Hg y Se por espectrometría de absorción atómica y B y Cr(VI) por espectrofotometría UV-VIS, con los resultados obtenidos a través de la validación del proceso.

3. Pregunta de Investigación.

¿Cuál es el proceso de validación de métodos analíticos estandarizados para la determinación de Hg y Se por espectrometría de absorción atómica y B y Cr(VI) por espectrofotometría de UV-VIS en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P?

4. Hipótesis.

La validación de métodos analíticos para medir Hg y Se mediante espectrometría de absorción atómica, y B y Cr(VI) por espectrometría UV-VIS permitirá determinar con precisión la calidad de diferentes tipos de agua (tratada, superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica) en el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

5. Justificación.

La presencia de ciertos elementos y compuestos en el ambiente no representa un peligro directo para los ecosistemas; sin embargo, las actividades humanas han provocado una liberación de contaminantes en el aire, el suelo y los cuerpos de agua, generando impactos considerables en la salud pública y la seguridad alimentaria, alguno de ellos irreversibles (López & al, 2022). En este contexto, es fundamental evaluar la concentración de contaminantes específicos como Hg, Se, B y Cr(VI), en las matrices de agua de interés en el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P. La implementación de un protocolo validado para su detección y cuantificación es clave para obtener datos precisos y confiables (Reyes Roa, 2020).

Cumplir con los estándares de calidad exigidos por entidades regulatorias es esencial para instituciones de control ambiental. Para el laboratorio de Doña Juana S.A. E.S.P., es crucial cumplir con los lineamientos del IDEAM, encargado de la acreditación de laboratorios que generan datos ambientales cuantitativos y de calidad. Según el Decreto 1076, el IDEAM asegura que los laboratorios cuenten con métodos analíticos estandarizados y repetibles, lo cual permite asegurar la confiabilidad de los resultados en el análisis de agua (párrafo 2° del artículo 2.2.8.9.1.5 del Decreto 1076 de 2015).

Además, el cumplimiento con las normas del ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Ley 99 de 1993, que rige a las Corporaciones Ambientales Regionales, obliga a

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

realizar un control riguroso sobre el uso de los recursos naturales, incluyendo el vertimiento de contaminantes en cuerpos de agua. En particular, el Decreto 1076 de 2015 y la Resolución 631 de 2015 establecen los parámetros y valores límites de contaminantes en descargas a cuerpos de agua y sistemas de alcantarillado, haciendo de la validación de métodos analíticos una necesidad para cumplir con las normativas vigentes (Arco & Lancheros, 2019)

Para la determinación de Hg y Se se emplea la espectrometría de absorción atómica, mientras que para la detección de B y Cr (VI) se utiliza la espectrofotometría UV-VIS. Aunque estos métodos presentan limitaciones, como el costo y la necesidad de condiciones específicas (por ejemplo, analitos en solución líquida para espectrometría de absorción atómica y compuestos absorbentes en la región visible para UV-VIS (Bustamante Botero & Carrascal Franco, 2010)), su implementación adecuada y validada permite obtener datos fiables y sensibles a cambios ambientales (Pabón S. E., Benítez, Sarria, & Gallo, 2020)

A medida que avanzan las tecnologías analíticas, la capacidad de procesar grandes volúmenes de muestras de forma automatizada reduce costos y aumenta la eficiencia en la identificación y cuantificación de contaminantes. La precisión mejorada de estos equipos permite una menor interferencia en la detección de compuestos de interés, asegurando resultados robustos para la toma de decisiones en gestión ambiental.

Por último, es fundamental no solo identificar la presencia de estos metales, si no también establecer sus concentraciones, puesto que el exceso de estos elementos esenciales puede alterar gravemente el equilibrio ecológico y afectar a los organismos que dependen del agua como recurso. La evaluación precisa de estos metales en las matrices de agua proporciona una base para acciones de mitigación y prevención en la protección de la salud humana y la preservación ambiental (Mahecha-Pulido, Trujillo-González, & Torres-Mora, 2017).

5. Marco teórico.

5.1. Contaminantes en el Medio Ambiente.

Los contaminantes ambientales son sustancias que alteran la calidad de los ecosistemas y pueden tener efectos perjudiciales sobre la salud humana y animal. Entre los principales contaminantes se destacan los metales pesados y los oligoelementos, como el Se, el B, el Hg y el Cr(VI). Cada uno de estos elementos presentan características únicas, así como fuentes de contaminación y efectos biológicos que es importante entender.

5.1.1. Selenio (Se).

El Se es un oligoelemento esencial para muchos organismos, incluyendo a los seres humanos (Yusof, Salleh, & Wood, 1999), puesto que, desempeña un rol importante en la función antioxidante y en la regulación de la tiroides. Sin embargo, cuando sus niveles superan el umbral necesario, se convierte en un contaminante potencialmente tóxico (Hurtado-Jiménez & Gardea-Torresdey, 2007). La concentración máxima posible en agua residual es de 0,2 mg/L (Resolución N° 631, 2015, mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un límite de 0,01 mg/L en agua potable para evitar efectos nocivos.

En exceso, el Se puede generar selenosis en seres humanos, un síndrome que se caracteriza por síntomas como pérdida de cabello y uñas, daño en el sistema nervioso y trastornos digestivos. En el ámbito ambiental, este elemento puede acumularse en las cadenas alimenticias acuáticas y terrestres, afectando a los organismos de niveles superiores, especialmente a las aves y mamíferos, a través de un fenómeno de bioacumulación (Torres, Colina, Cano, Rivas, & Andrade, 2015).

Para la detección y cuantificación de Se en muestras ambientales y biológicas, se utiliza Espectrometría de Absorción Atómica (AAS). Esta técnica es particularmente valiosa por su

capacidad de cuantificar elementos traza, como el Se, en concentraciones bajas, y además resulta más accesible en términos de costo operativo, siendo una opción confiable para el análisis de diversas matrices ambientales, incluidas aguas naturales y fuentes de agua potables.

5.1.2. Cromo Hexavalente (Cr (VI)).

El Cr es otro elemento que posee un doble rol: como micronutriente esencial en su estado trivalente (Cr (III)) y como tóxico en su estado hexavalente (Cr (VI)). La normativa colombiana establece que la concentración máxima de cromo en el agua potable deb ser de 0.005mg/L, lo que permite prevenir los efectos adversos de la exposición prolongada al cromo, en especial a Cr (VI).

El Cr (VI) es altamente tóxico y carcinogénico, afectando el sistema respiratorio y causando dermatitis en seres humanos (Araujo & Kelly, 2016). En ambientes acuáticos, incluso en concentraciones bajas, el Cr (VI) afecta la reproducción y el crecimiento de organismos, generando alteraciones en ecosistemas frágiles. Este elemento, al presentarse en formas solubles en agua, incrementa su disponibilidad biológica y los riesgos asociados.

Para la determinación del cromo, la Espectrometría UV-VIS es una técnica precisa, adecuada para cuantificar sus diferentes estados de oxidación en agua y suelos. Mediante esta técnica se puede realizar un análisis eficaz del cromo, garantizando que sus concentraciones se mantengan dentro de los valores establecidos en la normativa colombiana.

5.1.3. Boro (B).

El B es un elemento esencial en bajas cantidades para el crecimiento de plantas, pero en concentraciones elevadas resulta tóxico para la salud humana y el ambiente (Ravelo Polo, 2012; Medina Valdovinos, 2016). En Colombia, el B en agua potable debe mantenerse dentro de un límite de 0.3 mg/L, según la normativa establecida para consumo humano. Esta restricción busca evitar efectos adversos a la salud y proteger la biodiversidad acuática y terrestre.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

En concentraciones elevadas, el B causa irritación gastrointestinal y problemas renales en humanos. A nivel ambiental, las plantas son especialmente sensibles a concentraciones altas de B, lo cual puede provocar un impacto negativo en su desarrollo. Además, el B tiende a acumularse en suelos agrícolas debido al uso de fertilizantes y pesticidas que lo contienen, afectando la salud del ecosistema y la producción agrícola.

Para la cuantificación de B en agua y suelos, la Espectrometría UV-VIS es una técnica ampliamente utilizada, que facilita la detección de este elemento en niveles traza. Esto permite el monitoreo constante de fuentes de agua susceptibles a contaminación industrial y agrícola, asegurando la protección del ambiente y el cumplimiento de los límites establecidos

5.1.4. Mercurio (Hg).

El Hg es uno de los metales pesados más peligrosos debido a sus efectos en la salud humana y en el medio ambiente. En Colombia, la normativa permite un máximo de 0.001 mg/L de Hg en el agua potable, dado su alto potencial de toxicidad, especialmente en su forma de metilmercurio, que es altamente bioacumulable.

La exposición al Hg genera daños neurológicos y cognitivos en seres humanos, afectando especialmente a fetos y niños (Díaz, 2020). En el ambiente, este metal se acumula en los organismos acuáticos y entra en la cadena trófica, con riesgo para los consumidores de peces contaminados (Sabino, 2015). Las fuentes comunes de Hg incluyen la minería y la combustión de combustibles fósiles, actividades que contribuyen significativamente a su dispersión en el entorno (Río Clar, 2013).

La Espectrometría de Absorción Atómica (AAS) se utiliza para la detección precisa de Hg, ya que permite cuantificar su presencia en concentraciones mínimas en matrices como agua, suelo y tejidos biológicos. La sensibilidad y precisión de AAS resultan fundamentales para el monitoreo

de Hg y para el cumplimiento de los límites de calidad ambiental que establece la legislación colombiana.

5.2. Técnicas Analíticas.

5.2.1. Espectrometría de Absorción Atómica.

La espectrometría de absorción atómica (EAA) constituye una herramienta analítica fundamental en la detección y cuantificación de metales en diversas matrices, tales como líquidos y sólidos. Su desarrollo inicial se atribuye a los científicos alemanes Gustav Kirchhoff y Robert Bunsen en 1840, quienes establecieron los principios básicos de la técnica a partir de la interacción entre la radiación electromagnética y los átomos. La EAA se basa en la premisa de que los átomos en estado gaseoso pueden absorber radiación electromagnética a longitudes de onda específicas, lo que permite la identificación y cuantificación de elementos (Rodríguez, 2013).

El funcionamiento de la EAA involucra el uso de una fuente de luz que emite radiación a longitudes de onda características de cada metal objetivo. Cuando la luz pasa a través de la muestra, los átomos en estado gaseoso absorben una porción de esta radiación, y la cantidad de luz absorbida se correlaciona de manera directa con la concentración del analito presente en la muestra (Morand, 2002). Este método se destaca por su alta sensibilidad y selectividad, lo que lo convierte en un estándar en el análisis de contaminantes metálicos en matrices ambientales, tales como agua y suelos.

La versatilidad de la EAA permite la determinación de más de 60 elementos, lo que la posiciona como una técnica de referencia en el ámbito de la química analítica. Adicionalmente, su capacidad para operar en condiciones de alta sensibilidad la hace particularmente valiosa en estudios de trazas de metales, contribuyendo significativamente a la monitorización ambiental y al control de calidad en diversas industrias.

5.2.2. Espectrofotometría UV-VIS.

La espectrofotometría UV-VIS representa otra técnica analítica esencial para la determinación de compuestos en solución, basándose en la absorción de radiación en las regiones ultravioleta (UV) y visible del espectro electromagnético. La ley de Beer-Lambert, fundamental en este contexto, establece que la absorbancia de una muestra es directamente proporcional a la concentración del analito y al grosor de la capa de la muestra (Feal, 1999). La región analizada abarca longitudes de onda que van desde 195 nm hasta 400 nm, permitiendo así la identificación y cuantificación de una amplia gama de compuestos, incluidos los metales pesados.

Este método se caracteriza por su simplicidad, rapidez y capacidad para proporcionar resultados en tiempo real, lo que lo hace ampliamente utilizado en laboratorios de investigación y control de calidad. La espectrofotometría UV-VIS no solo es eficaz para el análisis de metales, sino que también se aplica en la caracterización de una variedad de sustancias orgánicas e inorgánicas, incluyendo colorantes, fármacos y metabolitos.

La importancia de la espectrofotometría UV-VIS radica no solo en su aplicabilidad en diversas disciplinas científicas, sino también en su contribución a la comprensión de los procesos químicos y físicos que rigen las interacciones entre la luz y la materia. De este modo, se convierte en una técnica indispensable para la evaluación de la pureza de compuestos y el análisis de la composición de mezclas complejas.

5.3. Tipos de agua.

5.3.1. Agua Potable y Tratada.

El agua potable se define como aquella que cumple con los estándares de calidad establecidos por normativas nacionales e internacionales, asegurando su seguridad para el consumo humano. Su disponibilidad es esencial para la salud pública, puesto que, el consumo de

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

agua contaminada puede provocar problemas de salud significativos, como enfermedades gastrointestinales, infecciones y toxicidad crónica. Por otro lado, el agua tratada incluye aquella que ha pasado por procesos de purificación o desinfección para eliminar contaminantes y microorganismos, aunque no siempre cumple con los requisitos de potabilidad. Este tipo de agua suele utilizarse para riego, procesos industriales u otros fines que no implican consumo directo (Escalante et al., 2003).

Para garantizar la potabilidad del agua, es esencial realizar análisis de contaminantes, como Hg, Se, B y Cr (VI), que pueden tener efectos adversos significativos sobre la salud humana (Zamora, 2009).

La implementación de métodos analíticos precisos y confiables, tales como la espectrometría de absorción atómica y la espectrofotometría UV-VIS, es crucial para identificar y cuantificar estos contaminantes en el agua potable. Además, se requiere un monitoreo continuo y exhaustivo de la calidad del agua para detectar variaciones que puedan comprometer su seguridad y asegurar el cumplimiento de los límites establecidos para cada contaminante.

5.3.2. Agua Superficial.

El agua superficial, que incluye ríos, lagos y humedales, desempeña un papel crucial en el mantenimiento de los ecosistemas acuáticos y en la provisión de recursos hídricos para múltiples usos, como la agricultura, la industria y el consumo humano. Sin embargo, este tipo de agua a menudo presenta niveles más altos de contaminación en comparación con el agua potable, debido a la escorrentía agrícola, el vertido de aguas residuales y la actividad industrial. Para evaluar la toxicidad ambiental de estos cuerpos de agua, es necesario llevar a cabo un análisis fisicoquímico exhaustivo que incluya la identificación de contaminantes químicos y biológicos (Álvarez, 2008).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

La conservación de los ecosistemas acuáticos depende en gran medida de la identificación y gestión de contaminantes en el agua superficial. Un monitoreo constante y la aplicación de estrategias de remediación son esenciales para proteger la biodiversidad, preservar la calidad del agua y mantener la salud de las comunidades que dependen de estos recursos.

5.3.3. Agua Doméstica.

El agua doméstica se refiere al agua generada a partir de actividades cotidianas, como el uso en la cocina, la higiene personal y el aseo de viviendas. Este tipo de agua suele estar contaminada por residuos sólidos, productos químicos de limpieza y otras sustancias generadas en el hogar. Dado que el agua doméstica puede tener un impacto significativo en el medio ambiente, es fundamental implementar tratamientos adecuados para minimizar su efecto en otros efluentes y en el ecosistema en general (Yucra Yucra, 2016).

El tratamiento adecuado del agua doméstica puede incluir procesos de sedimentación, filtración y desinfección, con el objetivo de reducir la carga contaminante antes de su disposición final. La concienciación sobre la gestión sostenible del agua doméstica es crucial para fomentar prácticas que disminuyan la contaminación y promuevan la salud pública.

5.3.4. Agua Residual No Doméstica.

El agua residual no doméstica se refiere a toda aquella que se genera en empresas, industrias y establecimientos dedicados a la producción de bienes o servicios, así como en la industria alimentaria. Esta categoría de aguas residuales suele contener una alta carga de compuestos orgánicos e inorgánicos, la cual varía significativamente según el tipo de actividad realizada por cada empresa o fábrica. Por lo tanto, se vuelve imperativo que estas entidades implementen procesos de tratamiento adecuados para mitigar el impacto ambiental que generan (Tuchez, 2016).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Dentro de este tipo de aguas residuales, se incluye el agua lixiviada proveniente de los rellenos sanitarios. El lixiviado se forma a partir de la infiltración de agua a través de los desechos sólidos, recogiendo una variedad de compuestos contaminantes, tanto orgánicos como inorgánicos, durante su percolación. Este líquido contaminado tiene el potencial de impactar negativamente los acuíferos y cuerpos de agua que son fuentes de agua potable, lo que constituye un riesgo significativo para la salud pública y el medio ambiente.

El proceso de generación de lixiviados se ve influenciado por diversos factores, tales como la composición de los desechos, las condiciones climáticas, la hidrología del sitio, el grado de compactación de los residuos, la antigüedad de los desechos, la tecnología utilizada en el relleno sanitario y los procedimientos de muestreo empleados. Estos factores determinan tanto la naturaleza como el contenido de los contaminantes presentes en los lixiviados, que pueden clasificarse generalmente en cuatro grupos: materia orgánica, macrocomponentes inorgánicos, metales pesados y compuestos orgánicos xenobióticos (Abirigia, Vestgarden, & Klempe, 2020).

La infiltración de lixiviados a través del suelo puede contaminar las aguas superficiales y subterráneas circundantes a los vertederos. Este proceso plantea desafíos significativos para la gestión de recursos hídricos, ya que la contaminación de las fuentes de agua potable puede acarrear graves consecuencias para la salud de las comunidades cercanas y la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos.

Por tanto, se hace esencial la implementación de estrategias de manejo sostenible y tecnologías de tratamiento que reduzcan la generación de lixiviados y garanticen que el agua residual no doméstica sea tratada adecuadamente antes de su disposición final. La colaboración entre las industrias y las autoridades ambientales es crucial para desarrollar e implementar prácticas efectivas que protejan tanto la salud pública como el medio ambiente.

5.3.5. Agua Subterránea.

El agua subterránea constituye una de las principales reservas hídricas del planeta, almacenándose en acuíferos, que son formaciones geológicas permeables capaces de retener y transmitir agua. Este recurso se encuentra naturalmente en el subsuelo, generalmente bajo la influencia de factores geológicos, climáticos y antropogénicos que condicionan su calidad y disponibilidad (Caraballo & Xavier, 2012). La importancia del agua subterránea radica en su uso para consumo humano, agrícola e industrial, siendo un recurso menos susceptible a la contaminación directa en comparación con las aguas superficiales; sin embargo, su vulnerabilidad a la infiltración de contaminantes químico y metales pesados es un tema de creciente preocupación ambiental (Auge, 2006).

Las características del agua subterránea están determinadas por su interacción con el entorno geológico. A medida que se filtra a través de distintas capas del suelo, el agua subterránea disuelve minerales y elementos traza que pueden incluir metales como el mercurio (Hg), selenio (Se), boro (B) y cromo (VI) (Auge, 2006). La presencia de estos elementos en el agua subterránea es particularmente relevante en áreas cercanas a centros de disposición de residuos, como el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P., puesto que, estos sitios pueden actuar como fuentes potenciales de contaminación debido a la lixiviación de sustancias peligrosas.

5.4. Validación de métodos.

La validación de métodos analíticos es un proceso esencial que garantiza que los resultados obtenidos en una investigación sean precisos, confiables y relevantes para la aplicación prevista. En el contexto de este estudio, la validación se llevó a cabo de acuerdo con la norma ISO 17025:2017, que establece los requisitos para la competencia de laboratorios de ensayo y

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

calibración (IDEAM, 2021). Esta norma proporciona un marco para asegurar que los resultados obtenidos cumplan con criterios específicos de exactitud, precisión, y otros parámetros relevantes.

La validación de métodos analíticos abarca varios parámetros clave, cada uno de los cuales juega un papel crucial en la calidad y confiabilidad de los resultados.

5.4.1. Exactitud.

La exactitud se refiere a la cercanía de los resultados obtenidos con respecto al valor verdadero del analito. Se determina utilizando estándares de referencia y se expresa generalmente como un porcentaje. La exactitud se evalúa mediante análisis realizados en diversas concentraciones y comparando los resultados con los valores conocidos de los estándares. Esto permite garantizar que los datos reportados reflejen la realidad del analito analizado.

5.4.2. Precisión.

La precisión indica la reproducibilidad de los resultados obtenidos. Este parámetro se evalúa a través de múltiples análisis de la misma muestra, expresándose en términos de desviación estándar o coeficiente de variación. La precisión se clasifica en:

- Precisión intraensayo: Variación de los resultados dentro de un mismo ensayo.
- Precisión interensayo: Variación de los resultados en diferentes ensayos realizados en diferentes días.

Ambas formas de precisión son esenciales para asegurar la consistencia de los resultados (Bustamante Botero & Carrascal Franco, 2010).

5.4.3 Límite de detección (LDM) y Límite de Cuantificación (LCM).

El límite de detección es la menor concentración de un analito que puede ser detectada, aunque no necesariamente cuantificada. Este parámetro se determina mediante la relación entre la señal analítica y el ruido de fondo. Generalmente, el LOD se expresa en microgramos por litro

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

($\mu\text{g/L}$) o miligramos por litro (mg/L). Su establecimiento es crucial para asegurar que el método sea sensible a las concentraciones relevantes del analito (Bustamante Botero & Carrascal Franco, 2010) (Rodríguez Pelier et al., 2013).

El límite de cuantificación es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con un grado aceptable de precisión y exactitud. Este parámetro se relaciona con el LOD y es generalmente más alto. La correcta determinación del LOQ es vital para garantizar que las concentraciones reportadas sean significativas (Rodríguez Pelier et al., 2013).

5.4.4. Linealidad.

La linealidad se refiere a la capacidad del método para proporcionar respuestas proporcionales a las concentraciones del analito en un rango específico. Se evalúa a través de análisis en diferentes concentraciones y la creación de una curva de calibración. La linealidad se determina mediante el coeficiente de determinación (R^2), el cual debe ser mayor o igual a 0.99 para considerarse aceptable.

5.4.5. Robustez.

La robustez evalúa la capacidad del método para mantenerse inalterado ante pequeñas variaciones en las condiciones del ensayo, como cambios en la temperatura, tiempo de análisis o variaciones en los reactivos. Esta evaluación es importante para confirmar que el método pueda ser utilizado de manera confiable bajo diferentes condiciones operativas (Rodríguez Pelier et al., 2013).

5.4.6. Proceso de Validación.

La validación de las mediciones realizadas en esta investigación se rigió bajo los parámetros establecidos por la norma ISO 17025:2017. Según el Instituto Nacional de Metrología de Colombia, la calibración de los espectrofotómetros debe cumplir con estos requisitos. Los

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

resultados deben presentarse de manera exacta, clara, inequívoca y objetiva (INM, 2021). En este estudio, se validó el proceso de detección de metales pesados como Hg, Se, B y Cr(VI) mediante los métodos de espectrofotometría UV-VIS y espectrometría de absorción atómica (Bustamante Botero & Carrascal Franco, 2010).

Para garantizar la validez de los resultados, el laboratorio debe cumplir con varios requisitos, tales como:

- Registro de datos: Se deben registrar los datos de calibración de forma que se evidencien tendencias.
- Cálculos intermedios: Estos deben realizarse sin redondeo; solo el resultado final debe presentarse redondeado.
- Esquemas de verificación: Siempre que sea posible, se deben utilizar esquemas de verificación, como el uso de un espectrofotómetro para realizar verificaciones a los filtros patrones mediante cartas de control.
- Comparaciones interlaboratorio: Participar en comparaciones interlaboratorio para validar los resultados obtenidos.
- Revisión de resultados: Utilizar hojas de cálculo o software previamente validados para la revisión de los resultados informados.

5.5. Parámetros de validación.

Para completar la validación de métodos, se deben considerar diversos parámetros:

- Precisión: Grado de concordancia entre los datos obtenidos, que puede verse afectado por el funcionamiento del equipo o errores del personal.
- Desviación Estándar: Representa un parámetro de calidad de la precisión, calculado como el promedio de las diferencias entre los datos y la media.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

- Límite de Detección: Determinado por la concentración del blanco, la sensibilidad y la relación señal/ruido, establece la concentración menor detectable.
- Reproducibilidad: Capacidad de obtener el mismo resultado bajo las mismas condiciones en diferentes momentos.
- Porcentaje de Recuperación: Se refiere a la capacidad cuantitativa del método para reconocer el analito.
- Exactitud: Asociación entre el valor definido o aceptado y el valor obtenido.
- Tipos de Errores:
 - Error instrumental: Resultante de calibraciones incorrectas o errores en el método.
 - Error relativo o aleatorio: Que afecta la precisión y genera resultados diferentes en cada medición.

La curva de calibración, que representa gráficamente la comparación entre la señal corregida y la concentración del analito, es un componente crucial para la validación del método (Trujillo & Cajigas, 2018). La adecuada implementación de estos parámetros asegura que los métodos analíticos utilizados en esta investigación sean confiables y aptos para el análisis de contaminantes en agua.

6. Diseño Metodológico.

ETAPA 1. Establecimiento del protocolo para la determinación de B usando espectrofotometría U.V. VIS en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

6.1. Determinación de Boro.

Proceso	Actividad o condición
Pretratamiento	Temperatura ambiente y pH<2.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Curva de calibración	Medir volúmenes de 0.25,0.5, 0.75,1.0, y 1.25 mL, agregar a balones aforados de polietileno de 25 mL y aforar con agua destilada para obtener estándares de 0.2,0.4,0.6,0.8 y 1.0 mg/L respectivamente.
Tratamiento de las muestras y medición de color.	Tomar 25 mL de muestra en un vaso de polietileno de 100mL y agregar 10 mL de solución mixta de solución buffer y azometina H preparada con anterioridad. Dejar reposar en la oscuridad durante 2 horas a 20 °C.
Blanco del método	Tomar 25 mL de agua destilada y realizar el ítem 3.
Muestra	Tomar 25 mL de agua destilada y realizar el ítem3.
Blanco Fortificado de Laboratorio (LFB)	A 25 mL de agua destilada, se añaden 0.5 mL de la solución intermedia de 20 mg/L y realizar la actividad 3.
Matriz Fortificada de Laboratorio (LFM)	Tomar 25 mL de muestra real y se añade 0.5 mL de la solución intermedia de 20 mg/L.
Duplicado Matriz Fortificada de Laboratorio (LFMD)	Realizar el procedimiento de la actividad 3. Todo se monta por duplicado matriz fortificada delaboratorio (LFMD).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Lectura de las muestras	Encienda el espectrofotómetro antes de las lecturas. Después de transcurrido el tiempo de reposo y aparición de color, transferir una porción apropiada a una celda de 1 cm y medir su absorbancia a 415 nm.
Corrección de la absorbancia	Corregir la lectura de la absorbancia de la muestra restándola con la absorbancia del blanco llevado a cabo mediante el método.

ETAPA 2. Establecimiento del protocolo para la determinación de Hg espectrometría de absorción atómica en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

6.2. Determinación de Mercurio.

Para la determinación de mercurio se utilizó la técnica de vapor frío debido a las propiedades de este metal, debido a que permite su reducción a estado elemental y su volatilización a temperatura ambiente.

Proceso	Actividad o condición
Pretratamiento	Temperatura ambiente y $\text{pH} < 2$. Todas las muestras deben ser tratadas según la tercera actividad.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Curva de calibración	Medir volúmenes de 20, 40, 100, 160, 240 y 320 μL , agregar a balones aforados de 100 mL y aforar con agua destilada para obtener estándares de 1,2,5,8,12 y 16 $\mu\text{g/L}$ respectivamente.
Preparación de la digestión y controles analíticos	Tomar 100 mL de la muestra y añadir 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, 2,5 mL de ácido nítrico concentrado, 15 mL de la solución de permanganato de potasio, dejar por 15 minutos, añadir 8 mL de persulfato de potasio y llevar por 2 horas al baño térmico entre 90-95°C.
Blanco del método	Tomar 100 mL de agua destilada y realizar la actividad 3.
Muestra	100 mL de muestra y realizar la actividad 3.
Blanco Fortificado de Laboratorio (LFB)	A 100 mL de agua destilada, se añaden 100 μL de la solución intermedia de 5000 $\mu\text{g/L}$ y realizar la actividad 3.
Matriz Fortificada de Laboratorio (LFM) Duplicado Matriz Fortificada de Laboratorio (LFMD)	Para la determinación de Hg se toman 100 mL de muestra real y se añade 100 μL de la solución intermedia de 5000 $\mu\text{g/L}$. Realizar el procedimiento de la actividad 3. Todo se monta por duplicado matriz fortificada de laboratorio (LFMD)

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Lectura de las muestras	Encienda el espectrofotómetro antes de las lecturas. Con la muestra a temperatura ambiente, agregar 5 mL de solución de Cloruro de estaño que actúa como agente reductor, se acopla al equipo la corriente del gas portador (Argón) y se agrega 5mL cloruro de sodio-hidroxilamina, agitar hasta no observar un exceso del permanganato de potasio, 5mL de cloruro de estaño para neutralizar los oxidantes residuales. Realizar la lectura del análisis lo más pronto posible.
-------------------------	--

ETAPA 3. Establecimiento del protocolo para la determinación de Cr(VI) usando espectrofotometría U.V. VIS en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

6.3. Determinación de cromo hexavalente.

Proceso	Actividad o condición
Pretratamiento	Para el análisis la muestra debe estar a temperatura ambiente y pH 9,3 y 9,7.
Curva de calibración	Medir volúmenes de 2, 6, 8,10, 16 y 20mL, agregar a balones aforados de 50mL y aforar con agua destilada para obtener estándares de 0.2,0.6,0.8,1.0,1.6 y 2 mg/L respectivamente.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Tratamiento de las muestras y medición de color.	Tomar 100 mL de muestra y agregar 0,25 mL o 5 gotas de ácido fosfórico (H ₃ PO ₄), utilizar ácido sulfúrico 0,2 N y un pH metro para ajustar la muestra a un pH 2,0 ± 0,5. Transferir la muestra a un balón aforado de 100 mL y mezclar.
	Añadir 2,0 mL de solución de difenilcarbazida, mezclar y dejar en reposo durante 5 a 10 minutos.
Blanco del método	Tomar 100 mL de agua destilada y realizar el ítem 3
Muestra	Tomar 100 mL de agua destilada y realizar el ítem 3.
Blanco Fortificado de Laboratorio (LFB)	A 100 mL de agua destilada, se añaden 16 mL de la solución intermedia de 5 mg/L y realizar la actividad 3
Matriz Fortificada de Laboratorio (LFM) Duplicado Matriz Fortificada de Laboratorio (LFMD)	Tomar 100 mL de muestra real y se añade 16 mL de la solución intermedia de 5 mg/L. Realizar el procedimiento de la actividad 3. Todo se monta por duplicado matriz fortificada de laboratorio (LFMD)
Lectura de las muestras	Encienda el espectrofotómetro antes de las lecturas y seleccionar el programa 972. Después de transcurrido el tiempo de reposo y aparición de color, transferir una porción apropiada a una celda de 1 cm y medir su absorbancia a 540 nm.

Corregir la lectura de la absorbancia de la muestra restándola con la absorbancia del blanco llevado a cabo mediante el método.

Corrección de la absorbancia Si la muestra presenta turbiedad después de una dilución de 100, Tomar la lectura de la absorbancia antes de agregar agente de reacción de difenilcarbazida y corregir la absorbancia con la solución coloreada final mediante la resta de estas absorbancias.

ETAPA 4. Establecimiento del protocolo para la determinación de Se usando espectrometría de absorción atómica en matrices de agua del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P.

6.3. Determinación de selenio.

La determinación de selenio en las muestras mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros (HG-AAS), con detección en llama. Este enfoque permite medir de manera precisa el selenio en niveles traza. Durante el proceso, el selenio presente en la muestra es transformado en su hidruro volátil (H_2Se) al reaccionar con borohidruro de sodio ($NaBH_4$) en un medio ácido.

El hidruro generado es transportado a la llama del equipo mediante un gas portador (argón), donde se atomiza para liberar átomos de selenio. Estos átomos interactúan con la radiación emitida por una lámpara específica ($\lambda=196$ nm), permitiendo su detección y cuantificación. A continuación, se presenta el protocolo planteado para la preparación del material para la detección de selenio:

- Se debe realizar una recolección en frascos plásticos con ácido nítrico. Si las muestras presentan turbiedad, se debe realizar filtración a través de filtro de papel membrana, antes de realizar el proceso analítico. Esto con el fin de eliminar la

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

materia suspendida que se pueden encontrar. La muestra bajo condiciones ambientales presenta una estabilidad de 6 meses, es necesario acidificar con HNO_3 a $\text{pH} < 2$.

- Para la preparación de reactivos, muestras y patrones a preparar utilizar agua desionizada.
- Realizar una disolución entre 0,6 y 0,9 g de NaBH_4 y 0,1 g de NaOH en 100 mL de agua. Solución patrón del analito.
- La digestión del Se se realiza a partir de 30 mL de muestra en vaso precipitado, adicionar 15 mL de HCl concentrado, mezclar y calentar. Por 15 min a $90\text{-}100^\circ\text{C}$ y dejar enfriar.
- A un Erlenmeyer se transfiere la muestra, se agrega 5 mL de HNO_3 y cubrir con vidrio reloj, llevarlo a ebullición, evitando sequedad, adicionar de 10 mL de HCl y 15 mL de agua. Calentar en plancha por 15 minutos.

ETAPA 5. Definición del método estandarizado para la determinación de Hg y Se por espectrometría de absorción atómica y B y Cr(VI) por espectrofotometría UV-VIS, con los resultados obtenidos a través de la validación del proceso.

1. Es necesario cumplir con los siguientes parámetros establecidos en el proceso de validación (Richter, 2017).
2. Registrar los datos de la calibración donde se evidencien tendencias.
3. Realizar los cálculos intermedios. Solo el resultado final se presenta redondeado.
4. Utilizar esquemas de verificación del laboratorio para realizar las verificaciones a los filtros patrones, por medio de cartas de control.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

5. Realizar una revisión de los resultados informados
6. Determinación de figuras analíticas de precisión y exactitud
7. Procesamiento estadístico: pruebas de significación al nivel $P=0.05$
8. Estimación de la incertidumbre

7. Análisis de Resultados.

7.1. Análisis de Mercurio.

Se llevó a cabo el análisis de Hg total en muestras de agua superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica tal como se describió en la sección metodológica de este proyecto de investigación. El método empleado fue espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío, cuyo tratamiento de muestras y controles del método fueron tomados del Standard Methods (SM) Sección 3112B Edición 23.

Para ello, se decidieron evaluar aspectos tales como: linealidad, sensibilidad, límite de detección (LDM), límite de cuantificación (LCM), repetibilidad, precisión, exactitud, porcentaje de recuperación e incertidumbre en la medición. Esto con el fin de verificar el método y garantizar una correcta medición de muestras y controles para cada una de las matrices evaluadas en el presente proyecto de investigación.

Ahora bien, se llevó a cabo el mismo procedimiento descrito en el SM, para ello se hizo una curva con patrones de 1, 2, 5, 8, 12 y 16 $\mu\text{gHg/L}$, garantizando un coeficiente de correlación

≥ 0.995 . Teniendo en cuenta la curva con mejor valor de r^2 , esta se usó para evaluar el LDM y LCM del método, tal como se muestra en la **tabla 1**. Se observan 7 ensayos (un ensayo por día) en los cuales se analizó el blanco de reactivos para calcular los límites de detección y cuantificación con base en el promedio y la desviación estándar en las 7 mediciones. Cabe resaltar que, teniendo en cuenta la interpolación de la recta de la absorbancia leída para cada medición, se determinó su

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

concentración y es la que se reporta en la tabla 1 como $\mu\text{g Hg/L}$. Sus valores negativos se deben a que los valores de absorbancia son menores al valor del intercepto de la recta, por lo que el cálculo de concentración da como resultado un número menor que cero. De hecho, el valor medido es menor al primer punto de la curva de calibración.

No obstante, esto garantiza que se trata de un blanco de reactivos, es decir, una solución que no contiene analito de interés y su absorción es mínima.

Asimismo, se observa en la **Tabla 1** (columna derecha) la concentración de cada blanco de reactivos en partes por millón (ppm). Teniendo en cuenta el cálculo para LDM ($\bar{X} + 3SD$) y LCM ($\bar{X} + 10SD$), se calcula el promedio y la desviación de las 7 mediciones, por lo que, para este método se calcularon valores de 0.00002 ppm y 0.00080 ppm para LDM y LCM respectivamente.

Por otro lado, se hace un análisis de la prueba de Grubbs para el rechazo de datos atípicos, es decir, valores extremos de la distribución normal. Se calcula el máximo y el mínimo para cada grupo de datos y se determina si el valor calculado (T_{alto} para el máximo y T_{bajo} para el mínimo) son mayores al $T_{\text{crítico}}$, que para el caso de 7 datos corresponde a 1.94 para un criterio del 95% de la distribución normal de los datos. Se observa que los valores son inferiores a 1.94, razón por la cual, ninguno de los datos se rechaza y se confía en la medición de estos.

De igual manera se hizo una comprobación del LCM calculado previamente, para ello se hicieron los respectivos cálculos con el fin de agregar la cantidad necesaria para obtener concentraciones de 0.0008 ppm. Asimismo, se calculó el parámetro de variación y porcentaje de error en las mediciones, así como el porcentaje de recuperación del patrón añadido. Los resultados se muestran en la **Tabla 2**.

El tratamiento estadístico fue el mismo al empleado en los resultados mostrados en la **Tabla 1**, por lo que no será de interés su discusión. Por su parte, cuando se analiza la precisión en

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

la medición, se observa que el valor supera el 12%, lo cual se atribuye a errores de tipo aleatorio. De hecho, la cantidad de volumen medida de patrón para la preparación de la solución es muy poca, lo que aumenta el error en la medición por la incertidumbre del material de vidrio usado y, por tanto, contribuye a mayor error en el cálculo.

Por otro lado, cuando se analiza la exactitud en la medición, se observa que el valor no supera el 2%, lo que garantiza una alta cercanía con el valor real y/o teórico. Hecho que se confirma con el porcentaje de recuperación del patrón añadido a la solución, el cual supera el 100% debido posiblemente a impurezas inherentes provenientes del equipo y/o manipulación del material de vidrio en la preparación de las soluciones. No obstante, algunas interferencias pueden incluir átomos de metales unidos fuertemente por enlaces moleculares y no disociados por la llama. Interferencias químicas por átomos que absorben energía y reducen la población en el estado basal del átomo de interés para la subsecuente absorción de energía. Y, absorción molecular de partículas sólidas en la llama que aumenta los valores de absorción de energía, por lo que se requiere de una corrección del background en el equipo.

ANALISIS DE BLANCOS		
Ensayo/ dias	[μg Hg/L]	[mg Hg/L]
1	-0.4057	-0.00041
2	-0.3971	-0.00040
3	-0.3566	-0.00036
4	-0.2356	-0.00024
5	-0.1869	-0.00019
6	-0.3768	-0.00038
7	-0.1494	-0.00015
Número de datos		7.0
Máximo		-0.0001 ppm
Mínimo		-0.0004 ppm
T_{alto}		1.41

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

T_{bajo}	0.97
$T_{\text{crítico}} (n = 7)$	1.94
Promedio (\bar{X})	-0.0003 ppm
Desviación Estándar (s)	0.0001 ppm
Precisión	-35.7 %
LDM	0.00002 ppm
LCM	0.0008 ppm

Tabla 1. Análisis de 7 blancos para el cálculo de LDM y LCM del método de determinación de Hg total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica SM 3112B Edición 23. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto} , T_{bajo} , $T_{\text{crítico}}$, promedio, desviación estándar y precisión en la medición.

COMPROBACIÓN DEL LCM		
días	Ensayo/ [μg Hg/L]	[mg Hg/L]
1	0.8357	0.00084
2	0.9503	0.00095
3	0.9308	0.00093
4	1.0038	0.00100
5	1.1926	0.00119
6	0.9958	0.00100
7	1.1696	0.00117
Valor real		0.0008
Número de datos		7.000
Máximo		0.0012 ppm
Mínimo		0.0008 ppm
T_{alto}		1.4101
T_{bajo}		1.3647
$T_{\text{crítico}} (n = 7)$		1.9400
Promedio (\bar{X})		0.0010 ppm
Desviación Estándar (s)		0.0001 ppm
Coefficiente de variación		12.7194 %
Porcentaje de error		1.1229 %

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

% Recuperación	101.12 %
-----------------------	----------

Tabla 2. Comprobación del límite de cuantificación y determinación de la precisión, exactitud y porcentaje de recuperación del patrón añadido en el método de determinación de Hg total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica SM 3112 B Edición 23. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítico}, promedio y desviación estándar.

Ahora bien, con el fin de evaluar la linealidad del método, se estipularon arbitrariamente 5 puntos a lo largo de toda la curva, desde 0 hasta 16 ppm Hg/L, estos puntos corresponden a concentraciones de 0.001, 0.004, 0.010, 0.014 y 0.016 µg Hg/L. Se hicieron 5 experimentos y se calculó la ecuación de la recta, intercepto, pendiente y coeficiente de correlación para cada una de las curvas (ver **Figura 1**). De igual manera, se hizo el tratamiento matemático- estadístico descrito anteriormente para determinar el coeficiente de variación (precisión), porcentaje de error (exactitud), porcentaje de recuperación y eliminación de datos anómalos. Se reportan los valores de los cálculos para la determinación de concentración y no las absorbancias, estas serán discutidas en la **Figura 1**. Los resultados se muestran en la **Tabla 3**.

PATRON [µgHg/L]	0.000	0.001	0.004	0.010	0.014	0.016
<i>Curva 1</i>	-0.24590	1.07	4.14	10.28	13.78	15.98
<i>Curva 2</i>	-0.06304	1.00	4.19	9.86	13.76	16.24
<i>Curva 3</i>	0.02241	0.94	3.99	10.09	14.06	15.89
<i>Curva 4</i>	0.06016	1.10	3.95	9.66	14.07	16.15
<i>Curva 5</i>	-0.05638	1.04	4.07	9.84	14.23	15.88
Máximo	0.06	1.10	4.19	10.28	14.23	16.24
Mínimo	-0.25	0.94	3.95	9.66	13.76	15.88
T_{alto}	1.0	1.09	1.24	1.38	1.2	1.3
T_{bajo}	1.60	1.5	1.2	1.2	1.1	0.92
T_{crítico} (n = 7)	1.94					
Promedio	-0.05655	1.02980	4.06765	9.94658	13.98326	16.02926
Desviación estándar	0.11806	0.06266	0.09928	0.24014	0.20276	0.16171
Precisión [%]	-208.775	6.09	2.44	2.41	1.45	1.01
Exactitud [%]	---	3.0	1.7	0.5	0.12	0.18

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

% Recuperación	---	103.0	101.7	99	99.9	100.2
-----------------------	-----	-------	-------	----	------	-------

Tabla 3. Comprobación de la linealidad del método de determinación de mercurio total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica SM 3112 B Edición 23, con patrones de 0.001, 0.004, 0.010, 0.014 y 0.016 $\mu\text{gHg/L}$. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto} , T_{bajo} , $T_{\text{crítico}}$, promedio, desviación estándar, precisión, exactitud y porcentaje de recuperación para cada patrón.

Se observa que, al determinar la concentración de los patrones evaluados en la curva con su correspondiente ecuación de la recta, se obtienen valores similares al valor real, por lo que la exactitud en la medición es alta y aceptable. En todos los casos el porcentaje de error no supera el 3%.

Por otro lado, cuando se analiza el porcentaje de recuperación del patrón añadido a cada solución, los valores son cercanos al 100%, lo cual indica confiabilidad en la medición y preparación de las soluciones. No obstante, no se obtiene un 100% neto debido a la incertidumbre de los instrumentos usados para la preparación de estas, tales como pipetas y balones aforados. Por el contrario, cuando se analiza la precisión en la medición, se observa que, a medida que aumenta la cantidad añadida del patrón al balón, aumenta la precisión, lo cual es de esperarse, ya que volúmenes mayores reducen el error en la medición, es decir, entre menor cantidad del patrón se tome para luego ser aforado en un balón, mayor es el error asociado, pues esto no solo incluye un error aleatorio, también implica la incertidumbre de los instrumentos usados para la preparación de la muestra. Matemáticamente hablando, entre mayor sea el promedio de la medición, mayor precisión, y a mayor desviación estándar, menor precisión en la medición (Manterola et al., 2018). De hecho, se observa que para el punto 0, la precisión supera el 200%, mientras que, para el patrón de concentración más alta, su precisión es alrededor de 1%.

Ahora bien, si analizamos la tendencia de las absorbancias de los patrones usados en cada una de las curvas, efectivamente se observa una linealidad en la medición, tal como se observa en

la **Figura 1**. De hecho, si observamos el valor del coeficiente de correlación, todos los valores son cercanos a 1.0.

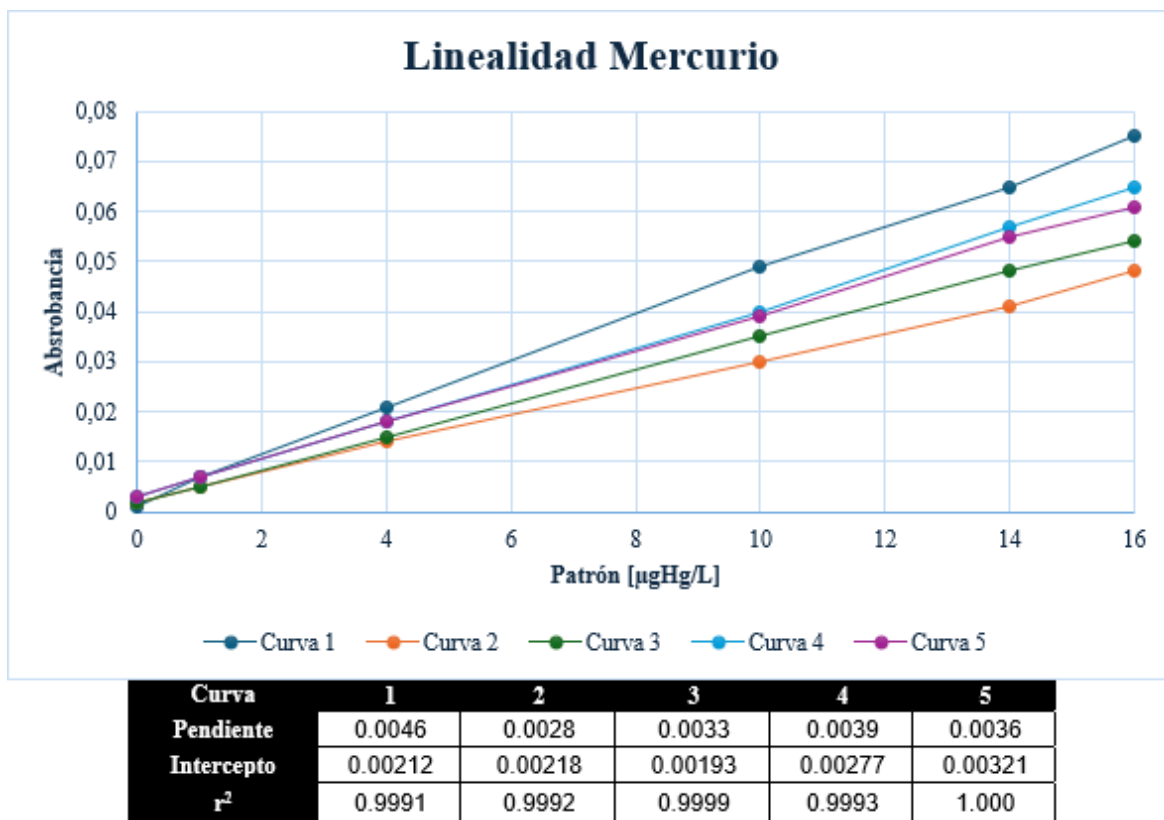


Figura 1. Comprobación de la linealidad del método de determinación de mercurio total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica SM 3112 B Edición 23, con patrones de 0.001, 0.004, 0.010, 0.014 y 0.016 µgHg/L. Se reportan los valores de la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para cada una de las curvas.

En todos los casos, se mantiene la linealidad del método, a medida que aumenta la concentración del patrón, aumenta la absorbancia y se mantiene una proporcionalidad directa. Si bien, no todas las rectas son iguales, y esto es debido a errores en la preparación de la muestra y de tipo aleatorio. De hecho, se confirma por la ecuación de la recta y los valores de r^2 . Se reportan resultados similares y eso se atribuye a confiabilidad de los mismos.

Considerando la linealidad del método, así como sus valores de LCM y LDM, se procede al análisis de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica (ver **Tabla 4**). En este caso, se analiza el control de porcentaje

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

de recuperación de la matriz de agua fortificada, es decir, se evalúa la recuperación de la cantidad de patrón añadida a la muestra, cuyo criterio de aceptación está en el rango de 85 a 115%.

LABORATORIO				SUPERFICIAL			SUBTERRÁNEA		
PROCEDENCIA: LABORATORIO CGR				PROCEDENCIA: AGUAS CLARAS PUNTO MONITOREO			PROCEDENCIA POZO 3		
Ensayo/ días	[µg Hg/L]	LMF [µg Hg/L]	%Adicionado 85-115	[µg Hg/L]	LMF [µg Hg/L]	%Adicionado 85-115	[µg Hg/L]	LMF [µg Hg/L]	%Adicionado 85-115
1	-0.1455	9.5466	97	-0.3031	9.5879	99	1.3204	12.2412	110
2	-0.3944	9.6518	101	-0.2758	9.6655	100	1.3323	12.4214	112
3	-0.3186	9.6118	100	-0.4415	9.7155	102	1.3722	12.6117	113
4	-0.4062	9.4241	99	-0.3702	9.2150	96	1.8240	12.2279	105
5	-0.2435	9.7774	101	-0.4723	9.8464	104	1.2370	12.6474	115
6	-0.2753	9.4592	98	-0.4563	10.0738	106	1.3133	12.6957	114
7	-0.2431	9.4849	98	-0.4025	9.7238	102	1.2014	12.0158	109
\bar{X}	-0.2895	9.5651	99.02	-0.3888	9.6897	101.27	1.3715	12.4087	111
<i>s</i>	0.0919	0.1243	1.4629	0.0763	0.2615	3.0880	0.2079	0.2568	3.5843
Precisión	-31.74	1.30	1.48	-19.63	2.70	3.05	15.16	2.07	3.23

RESIDUAL DOMESTICA				RESIDUAL NO DOMESTICA		
PROCEDENCIA: EL ZORRO				PROCEDENCIA: SALIDA DEL VERTIMIENTO		
Ensayo/ días	[µg Hg/L]	LMF [µg Hg/L]	%Adicionado 85-115	[µg Hg/L]	LMF [µg Hg/L]	%Adicionado 85-115
1	-0.5144	9.9412	105	-0.7329	10.3769	112
2	-0.5898	9.7113	103	-0.8528	9.6210	105
3	-0.6076	9.7901	104	-0.9234	9.6247	106
4	-0.6534	9.9776	107	-0.7856	9.4166	102
5	-0.6579	9.7622	105	-0.7522	9.4094	102
6	-0.6336	9.9124	106	-0.8492	9.6832	106
7	-0.6308	10.0084	107	-0.8718	9.5421	105
\bar{X}	-0.6125	9.8719	105	-0.8240	9.6677	105
<i>s</i>	0.0494	0.1160	1.2658	0.0689	0.3298	3.1414
Precisión	-8.07	1.18	1.20	-8.3728	3.41	2.98

Tabla 4. Evaluación del porcentaje de recuperación del patrón añadido para la determinación de mercurio total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica SM 3112 B Edición 23, de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica.

Cuando se hace el análisis de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, residual doméstica y residual no doméstica (ver **Tabla 4**), y se someten al mismo tratamiento para la determinación de Hg total, se observa que, la muestra no contiene Hg ya que sus valores de concentraciones no superan los 0 µgHg/L. Ahora bien, cuando se añaden 0.5 mL del patrón (con concentración de 2000 µgHg/L), se introducen aproximadamente 10 µgHg en la muestra.

Este valor 10 µg, se considera como el 100% de la cantidad esperada para calcular el porcentaje de recuperación en el análisis.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Para todos los tipos de agua, los ensayos se realizaron por 7 días y se observa que el porcentaje de recuperación es similar en todos los casos, cerca al 100%. La desviación estándar tan solo supera 3 unidades para el agua superficial y residual no doméstica, y tan solo 1 unidad para el agua procedente del laboratorio y de tipo residual doméstica. El mismo comportamiento se observa con la precisión en la medición. Sin embargo, el promedio del porcentaje de recuperación con el agua procedente del laboratorio y de tipo superficial es casi que 100%, lo que indica poca interferencia por estas matrices. Caso contrario al agua de tipo residual doméstica y no doméstica. En estos casos, el promedio del porcentaje de recuperación es 105%, el cual puede deberse a interferencias químicas presentes en la matriz de agua, pues se trata de aguas provenientes del hogar, empresa o cualquier lugar donde se generen residuos de agua ya usadas, las cuales conllevan variedad de compuestos polares, no polares, aromáticos, orgánicos e inorgánicos que de alguna manera impiden y/o interviene en el análisis satisfactorio para la determinación y/o recuperación de Hg total.

Esto permite concluir que, el método empleado permite recuperar satisfactoriamente la cantidad de patrón que se le añade a una muestra, además de garantizar confiabilidad en los resultados obtenidos por la precisión en las mediciones. Ahora bien, cuando se analiza la matriz de agua de tipo subterráneo, el comportamiento es diferente. En este caso, se observa que, el agua contiene trazas de Hg inmersas, en las cuales se logran cuantificar más de 0,001 mg/L. De hecho, se agrega mayor cantidad del patrón (alrededor de 12 μ gHg/L) para su correspondiente recuperación. Se observa que, el promedio de porcentaje de recuperación es del 111%, el cual se debe a interferencias químicas presentes en la matriz, las cuales ya fueron discutidas anteriormente. Dado que el agua subterránea se encuentra por debajo de la superficie, suele presentar una mayor cantidad de sedimentos que pueden interferir en la determinación de Hg total. Sin embargo, el

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

procedimiento aplicado demostró ser satisfactorio, con valores de precisión que muestra una desviación estándar baja, manteniéndose dentro de los límites permitidos (0,001mg/L).

Vale la pena resaltar que se encontraron trazas de Hg, lo cual es preocupante, pues se trata de residuos de actividades productivas del sector minero, industrial, de erosión e incluso lixiviación. De manera que se debe tomar consciencia de la situación medioambiental para futuras generaciones en la producción de agua potable.

Finalmente, para determinar la estabilidad método y comparar su variabilidad durante la determinación de Hg total (14 días aproximadamente), se analiza la cantidad la concentración hallada mediante una carta de control (ver **Figura 2**). Se observa que sus valores son cercanos al promedio, y estos no exceden los límites de advertencia y control establecidos por el SM considerando 2 y 3 desviaciones estándar, respectivamente. Se concluye que es un método estable y permite determinar satisfactoriamente la cantidad de mercurio presente en cualquier matriz de agua.

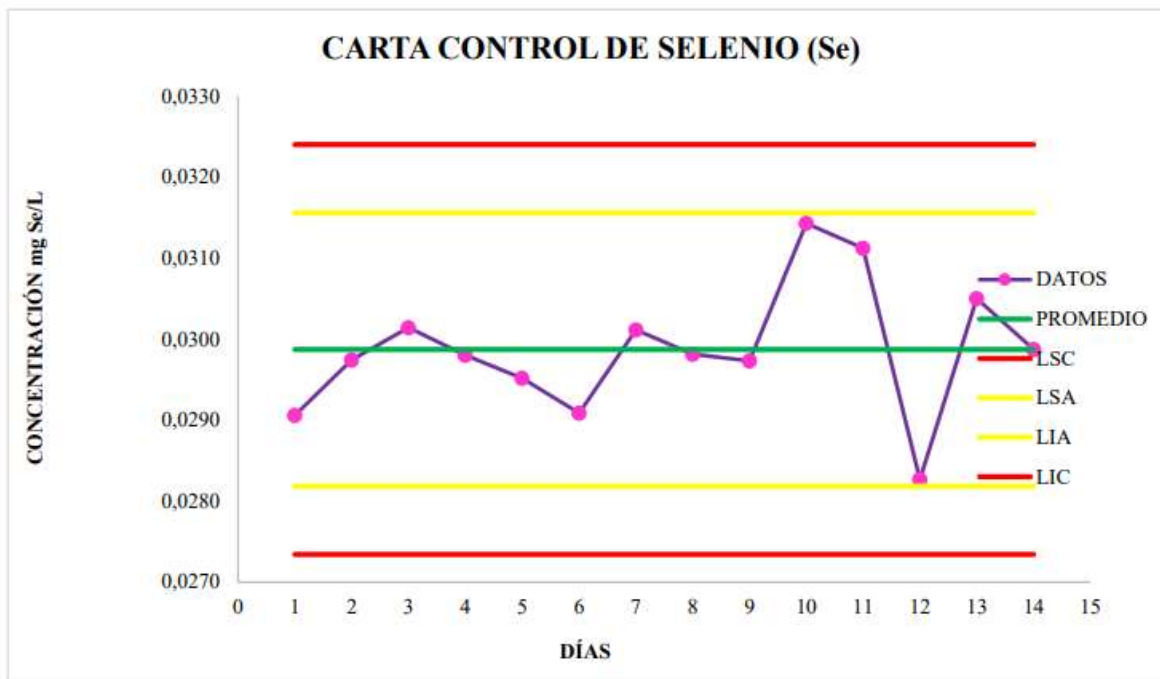


Figura 2. Carta de control para la determinación de Hgs total en mgHg/L durante 14 días. Las líneas amarillas y rojas corresponden a los límites de advertencia y control, respectivamente. LSC: Límite Superior de Control; LSA: Límite superior de Advertencia; LIA: Límite Inferior de Advertencia; LIC: Límite Inferior de Control

7.2. Análisis de Selenio.

Asimismo, cuando se analiza la determinación de Se en matrices de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica, se empleó espectrofotometría de absorción atómica (AA) electrotrémica como método para su determinación. Se hace uso de este tipo de AA porque permite determinar concentraciones muy bajas, es un método más sensible y con mejor rendimiento que los métodos convencionales. Incluso determinando concentraciones menores a 1.0 $\mu\text{g/L}$. No obstante, por su alta sensibilidad, es propenso a contaminaciones, por lo que se hace necesario su verificación y validación.

El tratamiento fue tomado del SM Sección 3113B Ed. 2023, y tal como se hizo con mercurio, en este método se evaluó la linealidad sensibilidad, LDM, LCM, repetibilidad, coeficiente de variación (precisión), porcentaje de error (exactitud), porcentaje de recuperación e

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

incertidumbre en la medición. Seguidamente se evaluó la concentración de Se presente en cada una de las matrices.

Se llevó a cabo el mismo procedimiento descrito en el SM, para ello se hizo una curva con patrones de 0, 6, 12, 30, 45 y 60 $\mu\text{gSe/L}$, garantizando un coeficiente de correlación ≥ 0.995 . Teniendo en cuenta la curva con mejor valor de r^2 , esta se usó para evaluar el LDM y LCM del método, tal como se muestra en la **Tabla 5**.

Se realizaron 7 experimentos en los cuales se analizó el blanco de reactivos para calcular los límites de detección y cuantificación con base en el promedio y la desviación estándar en las 7 mediciones. Se determinó la concentración por interpolación con la recta y se obtiene lo mostrado en la **Tabla 5**.

ANÁLISIS DE BLANCOS		
Ensayo/ días	$[\mu\text{Se/L}]$	$[\text{mg Se/L}]$
1	-0.194	-0.0002
2	-0.1798	-0.0002
3	-0.1085	-0.0001
4	-0.2083	-0.0002
5	-0.3224	-0.0003
6	-0.2654	-0.0003
7	-0.1513	-0.0002
Número de datos		7.0
Máximo		-0.0001 ppm
Mínimo		-0.0003 ppm
T_{alto}		1.35
T_{bajo}		1.66
$T_{\text{crítico}} (n = 7)$		1.94
Promedio (\bar{X})		-0.0002
Desviación Estándar (s)		0.0001
Precisión		-34.85%
LDM		0.00001
LCM		0.006

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Tabla 5. Análisis de 7 blancos para el cálculo de LDM y LCM del método de determinación de Se total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotrémica SM 3113B Edición 23. Se reportan los valores de máximo, mínimo, Talto, Tbajo, Tcrítico, promedio, desviación estándar y precisión en la medición.

Se observa que sus valores de concentración son negativos y esto se debe a que los valores de absorbancia son menores al valor del intercepto de la recta, por lo que el cálculo de concentración da como resultado un número negativo. Asimismo, se observa en la **Tabla 1** (columna derecha) la concentración de cada blanco de reactivos en partes por millón (ppm). Teniendo en cuenta el cálculo para LDM y LCM, se calcula el promedio y la desviación de las 7 mediciones, por lo que, para este método se calcularon valores de 0.00001 ppm y 0.0005 ppm para LDM y LCM respectivamente. Lo cual confirma el hecho de que se trata de un método más sensible, pues sus valores son menores a los encontrados para la AA con vapor frío (para la determinación de mercurio total).

Tal como se hizo previamente, se hace un análisis de la prueba de Grubbs para el rechazo de datos atípicos. Se calcula el máximo y el mínimo para el grupo de datos de ppm Se y se obtienen valores de -0.0001 y -0.0003, respectivamente. Así pues, considerando el mismo valor para $T_{\text{crítico}}$ (1.94), se concluye que ningún dato es rechazado.

Por otro lado, se hizo una comprobación del LCM calculado previamente (0.0005 ppm Se), se calculó la precisión, exactitud en las mediciones y el porcentaje de recuperación del patrón añadido. Los resultados se muestran en la **Tabla 6**.

Los resultados obtenidos demuestran una alta precisión y exactitud en la medición, ya que sus valores corresponden a 3.2% y 4.32%, respectivamente, lo que garantiza confiabilidad en los resultados obtenidos, una correcta preparación de la muestra y buena respuesta del equipo de medición. Por su parte, se obtiene 104.3% para el porcentaje de recuperación del patrón añadido para la determinación de LCM. Este valor supera el 100% debido a impurezas e interferencias por absorción de energía de moléculas difícilmente dividida en sus correspondientes átomos, así como

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

moléculas fácilmente volatilizables producto de la atomización, presencia de compuestos llamados “modifiers” que alteran las propiedades de la matriz, ya sea para mejorar la remoción de la matriz, aislar el metal de interés, o inhibir volatilización de otros metales; interacciones químicas con el material del equipo (tubos de grafito) y efectos físicos de la matriz.

COMPROBACIÓN DEL LCM		
Ensayo/ días	[μ Se/L]	[mg Se/L]
1	6.4957	0.0065
2	6.2532	0.0063
3	5.9252	0.0059
4	6.3103	0.0063
5	6.1819	0.0062
6	6.1534	0.0062
7	6.4957	0.0065
Valor real		0.006
Número de datos		7.0
Máximo		0.0065 ppm
Mínimo		0.0059 ppm
T_{alto}		1.17
T_{bajo}		1.66
$T_{\text{crítico}} (n = 7)$		1.94
Promedio (\bar{X})		0.0063 ppm
Desviación Estándar (s)		0.0002
Coefficiente de variación		3.2%
% de Error		4.32%
% Recuperacion		104.3%

Tabla 6. Comprobación del límite de cuantificación y determinación de la precisión, exactitud y porcentaje de recuperación del patrón añadido en el método determinación de Se total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotrémica SM 3113 B Edición 23. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto} , T_{bajo} , $T_{\text{crítico}}$, promedio y desviación estándar.

De igual manera, las interferencias provienen del lavado del material empleado para la preparación de las muestras y los correspondientes contenedores para la subsecuente

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

determinación en el equipo de medición; incertidumbre del material de vidrio utilizado y errores de tipo aleatorio.

Ahora bien, con el fin de evaluar la linealidad del método, se hicieron 3 curvas en 3 días diferentes con los patrones mencionados anteriormente. Para cada curva, se calculó la ecuación de la recta, intercepto, pendiente y coeficiente de correlación (ver **Figura 3**).

Se llevó a cabo el mismo procedimiento estadístico, de manera que se determinó la precisión, exactitud, porcentaje de recuperación y eliminación de datos anómalos mediante Grubbs. Se reportan los valores en la **Tabla 7**.

Se observa que, es un método más preciso que AA de vapor frío porque sus valores de precisión y exactitud son menores (ver tablas 3 y 7). De hecho, la desviación estándar para cada patrón es casi que nula. Sin embargo, la precisión para el patrón 0 mg Se/L es mayor del 5%, esto debido a interferencias presentes en el equipo y la absorción de energía por parte de compuestos volatilizables que interaccionan químicamente en la atomización de la muestra.

Ahora bien, para este caso en particular, se tiene en cuenta el $T_{\text{crítico}}$ igual a 1.15 para 3 valores, que corresponde al 95% de la distribución normal. Con base en lo anterior, no se hace eliminación de datos porque se mantiene que $T_{\text{alto/bajo}} < T_{\text{crítico}}$.

Por otro lado, cuando se analiza el porcentaje de recuperación del patrón añadido a cada solución, los valores son cercanos al 100%, a excepción del patrón 0.006 mg Se/L. Para este caso, su porcentaje de recuperación fue de 91.4%, el cual puede deberse a errores de tipo aleatorio en la preparación de la solución, incluso errores de paralaje para el aforo de esta y la incertidumbre inmersa en el material de vidrio usado.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

PATRON [mg Mo/L]	0.000	0.006	0.012	0.030	0.045	0.060
<i>Curva 1</i>	0.006	0.006	0.012	0.030	0.046	0.059
<i>Curva 2</i>	0.007	0.005	0.011	0.030	0.046	0.060
<i>Curva 3</i>	0.006	0.005	0.012	0.031	0.045	0.060
Número de datos	3					
Máximo	0.007	0.006	0.012	0.031	0.046	0.060
Mínimo	0.006	0.005	0.011	0.030	0.045	0.059
T _{alto}	1.2	1.14	0.91	0.78	0.80	0.60
T _{bajo}	0.58	0.70	1.10	1.10	1.10	1.15
T _{crítica (n = 3)}	1.15					
Promedio	0.006	0.005	0.012	0.030	0.045	0.06
Desviación estándar	0.0006	0.0003	0.0003	0.00	0.0	0.0
Precisión [%]	9.1161	6.13	2.21	1.39	0.66	0.33
Exactitud [%]	---	8.6	2.5	1.0	1.04	0.65
% Recuperación	---	91.4	97.5	101	101.0	99.4

Tabla 7. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Se total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotermica SM 3113 B Edición 23, con patrones de 0, 0.006, 0.012, 0.030, 0.045 y 0.060 mg Se/L. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítico}, promedio, desviación estándar, precisión, exactitud y porcentaje de recuperación para cada patrón.

Teniendo en cuenta los valores obtenidos, se confirma la sensibilidad del método y la confiabilidad de los datos mostrados para este proyecto de investigación.

Ahora bien, si analizamos las 3 curvas, efectivamente se observa una linealidad, con coeficientes de correlación muy cercanos a 1 (ver **Figura 3**).

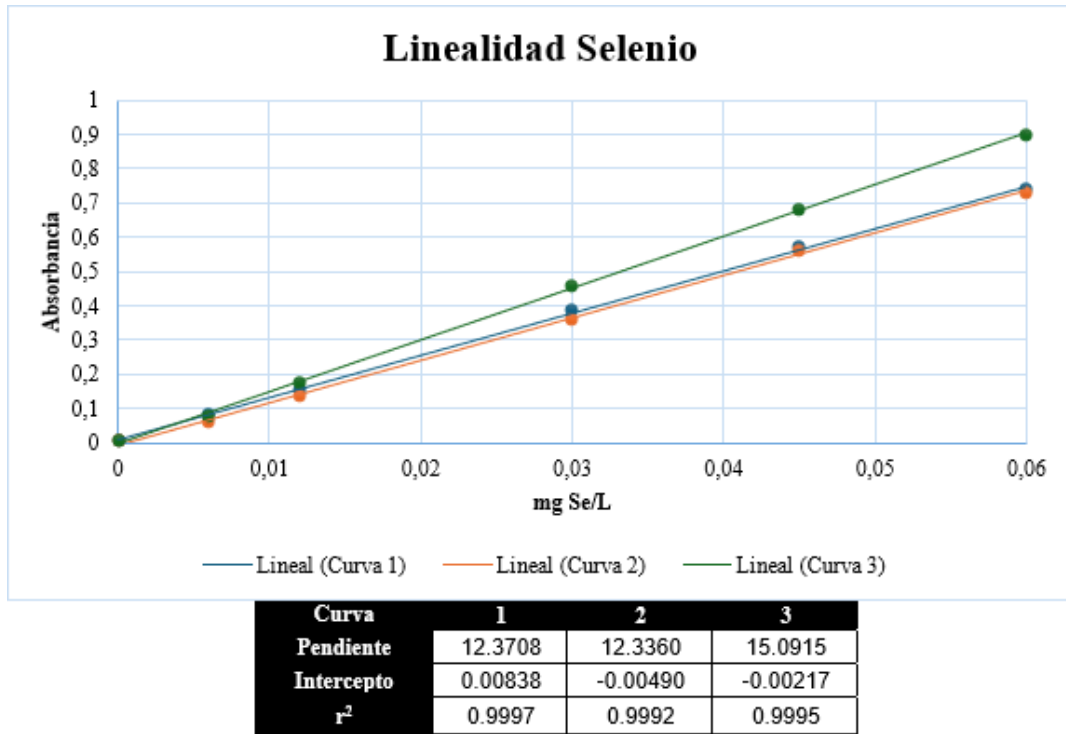


Figura 3. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Se total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electroterámica SM 3113 B Edición 23, con patrones de 0, 0,006, 0,012, 0,030, 0,045 y 0,060 mg Se/L. Se reportan los valores de la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para cada una de las curvas.

Tal como se mencionó para mercurio, en todos los casos se mantiene la linealidad del método, a medida que aumenta la concentración del patrón, aumenta la absorbancia y se mantiene una proporcionalidad directa. No todas las curvas reportan el mismo r^2 y esto se debe a errores de tipo sistemático y aleatorio, es decir, errores del instrumento de medición y del operario en la manipulación de todo el material de vidrio requerido para la preparación de las soluciones patrón.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Finalmente, teniendo en cuenta la linealidad del método, precisiones, exactitudes y porcentajes de recuperación, así como sus valores de LCM y LDM, se procede al análisis de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica (ver Tabla 8). Así como en mercurio, se analiza el control de porcentaje de recuperación de la matriz de agua fortificada, es decir, se evalúa la recuperación de la cantidad de patrón añadida a la muestra, cuyo criterio de aceptación está en el rango de 85 a 115%.

Tabla 8. Evaluación del porcentaje de recuperación del patrón añadido para la determinación de Se total en aguas

LABORATORIO				SUPERFICIAL			SUBTERRANEA		
PROCEDENCIA: LABORATORIO CGR				AGUAS CLARAS PUNTO MONITOREO			PROCEDENCIA: POZO IV		
Ensayo/ días	[µg Se/L]	LMF [µg Se/L]	%Adicionado 85-115	[µg Se/L]	LMF [µg Se/L]	%Adicionado 85-115	[µSe/L]	LMF [µg Se/L]	%Adicionado 85-115
1	0.4431	33.7235	112	0.3728	31.5019	104	0.285	33.1967	110
2	0.3377	32.4151	108	0.3377	30.9048	103	0.2762	35.2163	117
3	0.3201	34.7948	116	0.3377	32.301	107	0.3377	33.1264	110
4	0.4167	31.7478	105	0.3377	32.222	107	0.2762	33.1615	110
5	0.3553	32.5644	108	0.3201	31.3087	104	0.2499	33.8289	113
6	0.3553	33.785	112	0.3728	31.8356	106	0.3201	32.9771	110
7	0.3992	34.0572	113	0.3465	30.8433	102	0.2674	33.7938	112
\bar{X}	0.3753	33.2983	110.41	0.3465	31.5596	104.68	0.2875	33.6144	112
<i>s</i>	0.0450	1.0767	3.6453	0.0196	0.5878	1.9666	0.0307	0.7819	2.6724
Precisión	11.99	3.23	3.30	5.67	1.86	1.88	10.69	2.33	2.39

RESIDUAL DOMESTICA				RESIDUAL NO DOMESTICA		
PROCEDENCIA: ZORRO				PROCEDENCIA SALIDA DEL VERTIMIENTO ESCTL		
Ensayo/ días	[µg Se/L]	LMF [µg Se/L]	%Adicionado 85-115	[µSe/L]	LMF [µg Se/L]	%Adicionado 85-115
1	0.1198	27.8345	93	1.7744	33.9495	108
2	0.1768	25.6949	86	1.7886	33.8848	108
3	0.3622	35.9364	119	1.4891	33.9414	109
4	-0.0657	36.1076	121	1.86	33.8646	107
5	0.134	35.5214	119	1.432	34.3172	110
6	0.0199	35.4648	119	1.375	33.7434	109
7	0.3337	35.3112	117	1.432	34.5132	111
\bar{X}	0.1544	33.1244	110.56	1.5930	34.0306	108.81
<i>s</i>	0.15491	4.39683	14.75651	0.20519	0.27715	1.36065
Precisión	100.34	13.27	13.35	12.88	0.81	1.25

mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotrémica SM 3113 B Edición 23, de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica

Se observa que, en todas las fuentes de agua se encontraron trazas de Se, sin embargo, su concentración no es perjudicial de acuerdo a los estándares establecidos por el ente gubernamental y la OMS. A pesar de que sus concentraciones son muy bajas, su presencia puede deberse a la corteza terrestre y fuentes rocosas.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

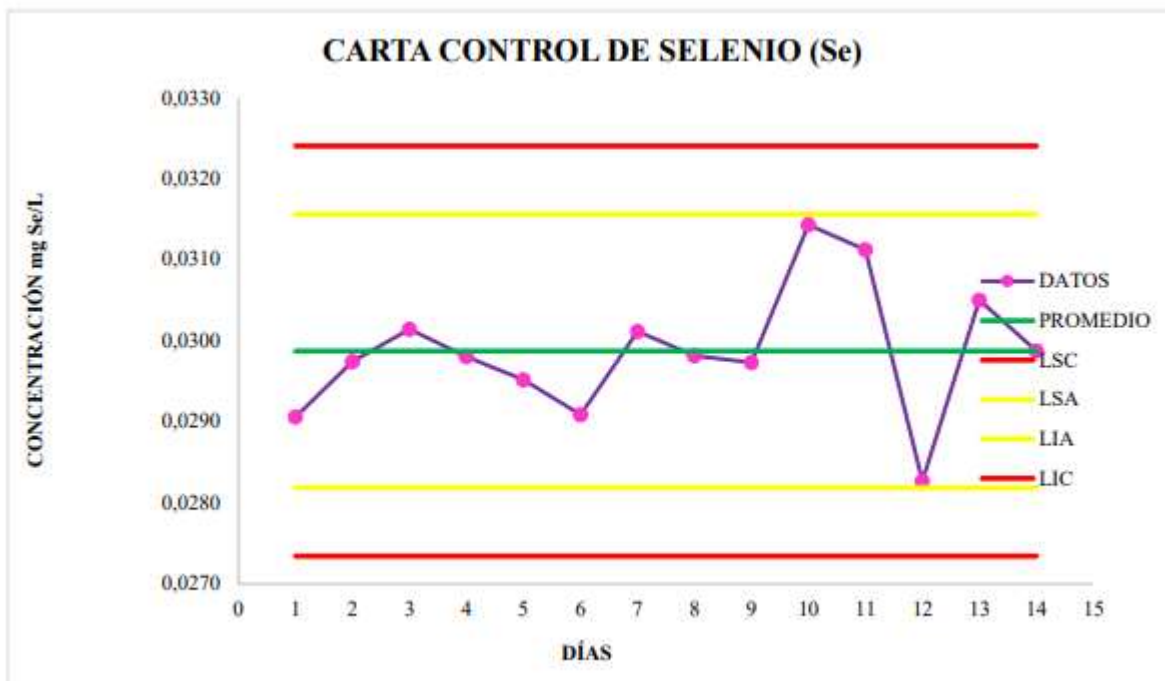
Ahora bien, cuando se adicionan 0.6 mL de un patrón con concentración de 5000 $\mu\text{g Se/L}$ se estima que se le adicionan aproximadamente 30 μg a la solución, cuyo valor se toma como referencia para la recuperación del 100%. Se observa que, para todos los casos, el porcentaje de recuperación supera el 100%, esto debido a interferencias del equipo y del material de vidrio, que por la sensibilidad del método fácilmente pueden inmiscuirse en la medición y aumentar o alterar la absorbancia de la muestra analizada. No obstante, la precisión del método y la desviación estándar para todas las fuentes fue muy baja, menos de 4% en todos los casos, excepto para la fuente de agua de tipo residual doméstico. Para el caso del agua de tipo superficial, se obtuvieron los mejores resultados, con poca desviación y mayor precisión.

Curiosamente, se encontró mayor desviación para la fuente de tipo doméstico, lo cual es de esperarse, porque la concentración de Se en el agua es la más baja, de manera que la menor presencia de este átomo facilita que demás compuestos presentes intenten absorber energía a la misma longitud de onda y no de manera uniforme ni proporcional en todos los casos, de ahí que su promedio sea amplio al igual que su desviación y precisión.

Para el caso del agua de tipo residual no doméstico, se espera que evidencie la mayor concentración de Se, ya que este átomo puede provenir además de rocas, suelos y sedimentos, de residuos agrícolas e industriales. No obstante, se encuentra confiabilidad en los datos y estabilidad en el método, cuyo análisis se clarifica con la carta de control para la determinación de Se durante 14 días (ver **Figura 4**).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Figura 4. Carta de control para la determinación de Selenio total en mg Se/L durante 14 días. Las líneas amarillas y rojas



corresponden a los límites de advertencia y control, respectivamente. LSC: Límite Superior de Control; LSA: Límite superior de Advertencia; LIA: Límite Inferior de Advertencia; LIC: Límite Inferior de Control.

Se observa que sus valores son cercanos al promedio, a excepción de los días 10, 11 y 12, los cuales se aproximan al límite de advertencia. Sin embargo, no los sobrepasan y se confirma la estabilidad del método de acuerdo con los estándares establecidos por el SM. De manera que, se cataloga el método como adecuado para la determinación satisfactoria de Se en fuentes de agua ya sea superficial, subterránea, residual doméstica, no doméstica e incluso agua procedente del laboratorio.

7. 3. Análisis de Boro.

Se llevó a cabo el análisis de B total en muestras de agua superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica tal como se describió en la sección metodológica. El método empleado fue colorimétrico por espectroscopía Ultravioleta-Visible, cuyo tratamiento de muestras y controles del método fueron tomados de la norma ISO 9390-1990.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Así como en los métodos discutidos anteriormente, en la determinación de B se evaluaron aspectos tales como: linealidad, sensibilidad, LDM, LCM, repetibilidad, coeficiente de variación (precisión), porcentaje de error (exactitud), porcentaje de recuperación e incertidumbre en la medición.

Se llevó a cabo el mismo procedimiento descrito en la ISO, para ello se hizo una curva con patrones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg B/L, garantizando un coeficiente de correlación ≥ 0.995 . Se evaluó el LDM y LCM escogiendo la curva con mejor r^2 , para ello se hizo un ensayo de 7 experimentos (uno por día), en el cual se leyó la absorbancia de 7 blancos de reactivo y cuyos resultados se muestran en la **Tabla 9**.

Se observa que sus valores de concentración en ppm no varían mucho entre sí, incluso su desviación estándar es muy baja (0.001). Se obtiene un promedio de 0.002 ppm y no hay rechazo de datos atípicos por Grubbs, ya que los valores $T_{\text{alto/bajo}}$ son menores que $T_{\text{crítico}}$. De hecho, si miramos el coeficiente de variación, no supera el 50%, lo que indica que no hay mayor dispersión en los datos reportados. Se obtienen valores de 0.004 y 0.009 ppm para el LDM y el LCM, respectivamente. Este último se confirmará a continuación.

ANALISIS DE BLANCOS	
Ensayo/ días	[mg B/L]
1	0.001
2	0.002
3	0.002
4	0.001
5	0.001
6	0.003
7	0.002
Número de datos	7.0
Máximo	0.003 ppm
Mínimo	0.001 ppm
T_{alto}	1.70

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

T_{bajo}	0.94
$T_{\text{crítico}} (n = 7)$	1.94
Promedio (\bar{X})	0.002 ppm
Desviación Estándar (s)	0.001
Coficiente de variación (CV)	44.1 %
LDM	0.004 ppm
LCM	0.009 ppm

Tabla 9. Análisis de 7 blancos para el cálculo de LDM y LCM del método de determinación de B en aguas mediante espectroscopía UV-Vis ISO 9390-1990. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto} , T_{bajo} , $T_{\text{crítico}}$, promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Se observa que, aun siendo blancos, se reportan valores de 0.002 ppm en promedio, lo que indica trazas de B a pesar de no contener el analito.

De igual manera se hizo una comprobación del LCM del método con 5 patrones, tomando como valor referencia 0.200 ppm. Asimismo, se calculó la precisión y exactitud en las mediciones, así como el porcentaje de recuperación del patrón añadido. Los resultados se muestran en la **Tabla 10.**

Se observa que la precisión y la exactitud es alta, no hay desviación relevante en los datos reportados. Se obtienen valores de 6.2 y 4.3 %, respectivamente. Ahora bien, para este caso en particular se tuvo en cuenta un valor de $T_{\text{crítico}}$ igual a 1.67, el cual corresponde al 95% de la distribución normal cuando la cantidad de datos es 5. Seguidamente, haciendo el mismo tratamiento matemático, se concluye que ningún dato es atípico. No obstante, el porcentaje de recuperación del patrón añadido es inferior al 100%, esto posiblemente a interferencias presentes en la medición de cada patrón y/o solución. Los errores pueden ser de tipo aleatorio o sistemático, ya sea en la preparación de la solución, en la toma de volúmenes y en el aforo de los balones usados para su determinación. Asimismo, existen interferencias químicas por la presencia de coloración,

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

ácido húmico, compuestos no disueltos y por la presencia de átomos tales como Mn, Zr, Cr, Ti, Cu, V, Al, Be y Fe. Incluso, puede haber interferencia por el mismo material de vidrio, el cual está compuesto de borosilicato, de manera que su uso y lavado debe ser cuidadoso y meticuloso.

COMPROBACIÓN DEL LCM	
Ensayo/ días	[mg B/L]
1	0.183
2	0.187
3	0.202
4	0.206
5	0.179
Valor real	0.200
Número de datos	7.0
Máximo	0.206
Mínimo	0.179
T _{alto}	1.22
T _{bajo}	1.04
T _{crítico} (n = 5)	1.67
Promedio (\bar{X})	0.19
Desviación Estándar (s)	0.012
Coficiente de variación	6.2 %
% de Error	4.3 %
% Recuperacion	95.7 %

Tabla 10. Comprobación del límite de cuantificación y determinación de la precisión, exactitud y porcentaje de recuperación del patrón añadido en el método de determinación de B en aguas mediante espectroscopía UV-Vis ISO 9390-1990. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítico}, promedio y desviación estándar.

Ahora bien, con el fin de evaluar la linealidad del método, se hicieron 7 curvas en 7 días diferentes con los patrones mencionados anteriormente. Para cada curva, se calculó la ecuación de la recta, intercepto, pendiente y coeficiente de correlación (ver **Figura 5**).

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Tal como en los anteriores métodos analizados, se llevó a cabo el mismo procedimiento estadístico, de manera que se determinó la precisión, exactitud, porcentaje de recuperación y eliminación de datos anómalos mediante Grubbs, cuyos valores se reportan en la **Tabla 11**.

PATRON [mg B/L]	0.200	0.400	0.600	0.800	1.000
<i>Curva 1</i>	0.188	0.406	0.613	0.803	0.990
<i>Curva 2</i>	0.191	0.401	0.609	0.813	0.986
<i>Curva 3</i>	0.202	0.397	0.599	0.801	1.000
<i>Curva 4</i>	0.202	0.396	0.599	0.804	0.998
<i>Curva 5</i>	0.198	0.403	0.610	0.781	1.009
<i>Curva 6</i>	0.196	0.397	0.611	0.801	0.994
<i>Curva 7</i>	0.203	0.378	0.621	0.810	0.988
Número de datos	7				
Máximo	0.203	0.406	0.621	0.813	1.009
Mínimo	0.188	0.378	0.599	0.781	0.986
T _{alto}	1.0	1.02	1.540	1.07	1.68
T _{bajo}	1.6	2.1	1.3	2.0	1.2
T _{crítico} (n = 7)	1.94				
Promedio	0.197	0.397	0.609	0.802	0.995
Desviación estándar	0.0059	0.0089	0.0078	0.0103	0.0082
Precisión [%]	2.9774	2.2536	1.28	1.28	0.82
Exactitud [%]	1.371	0.7	1.5	0.2	0.5
% Recuperación	98.629	99.3	101.5	100.2	99.5

Tabla 11. Comprobación de la linealidad del método determinación de B en aguas mediante espectroscopía UV-Vis ISO 9390-1990, con patrones de 0.200, 0.400, 0.600, 0.800 y 1.000 mg B/L. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítico}, promedio, desviación estándar, precisión, exactitud y porcentaje de recuperación para cada patrón.

Se observa que, es un método exacto y preciso, en el cual se obtienen porcentajes inferiores a 3% para todos los casos. De hecho, las desviaciones estándar son muy bajas, garantizando confiabilidad en los datos reportados.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

En cuanto a la precisión, se observa una tendencia: a menor concentración añadida, menor es la precisión, y a mayor concentración añadida, disminuye el error, por tanto, mayor precisión en la medición. Lo cual es de esperarse, ya que, a mayor cantidad de patrón, mayor es la cantidad de iones presentes en la solución, por tanto, mayor facilidad para la absorción de energía, teniendo en cuenta la ley de Lambert-beer. No obstante, cuando se toman volúmenes pequeños, mayor es el error porque aumenta la incertidumbre con la que se mide y el aforo para la preparación de soluciones patrón.

Ahora bien, para este caso, al igual que en mercurio, $T_{\text{crítico}}$ es igual a 1.94 para $n = 7$, que corresponde al 95% de la distribución normal. El cual, al compararlo con $T_{\text{alto/bajo}}$, su valor es mayor, de manera que ningún dato se considera como atípico según Grubbs.

Por otro lado, cuando se analiza el porcentaje de recuperación del patrón añadido a cada solución, los valores son cercanos al 100%, y muy próximos entre sí. Los cuales no reportan un 100% debido a errores e interferencias que ya fueron discutidas previamente. Por otro lado, si analizamos las 7 curvas, efectivamente se observa una linealidad, con coeficientes de correlación muy cercanos a 1 (ver **Figura 5**). No obstante, 3 de las curvas no presentan el comportamiento ideal, las cuales son las curvas 5, 6 y 7. Esto posiblemente a errores en la preparación de cada una de las soluciones involucradas por parte del operador y el uso del material de vidrio contaminado. La curva que mejor coeficiente de correlación evidencia es la Curva 3 ($r^2 = 1.000$), y sobre ella fue que se hizo la seguida determinación de B en aguas reales, de tipo superficial, subterráneo, residual doméstica y no doméstica (ver **Tabla 12**). En esta ocasión, se analiza el control de porcentaje de recuperación de la matriz de agua fortificada en un rango de 80 a 120%.

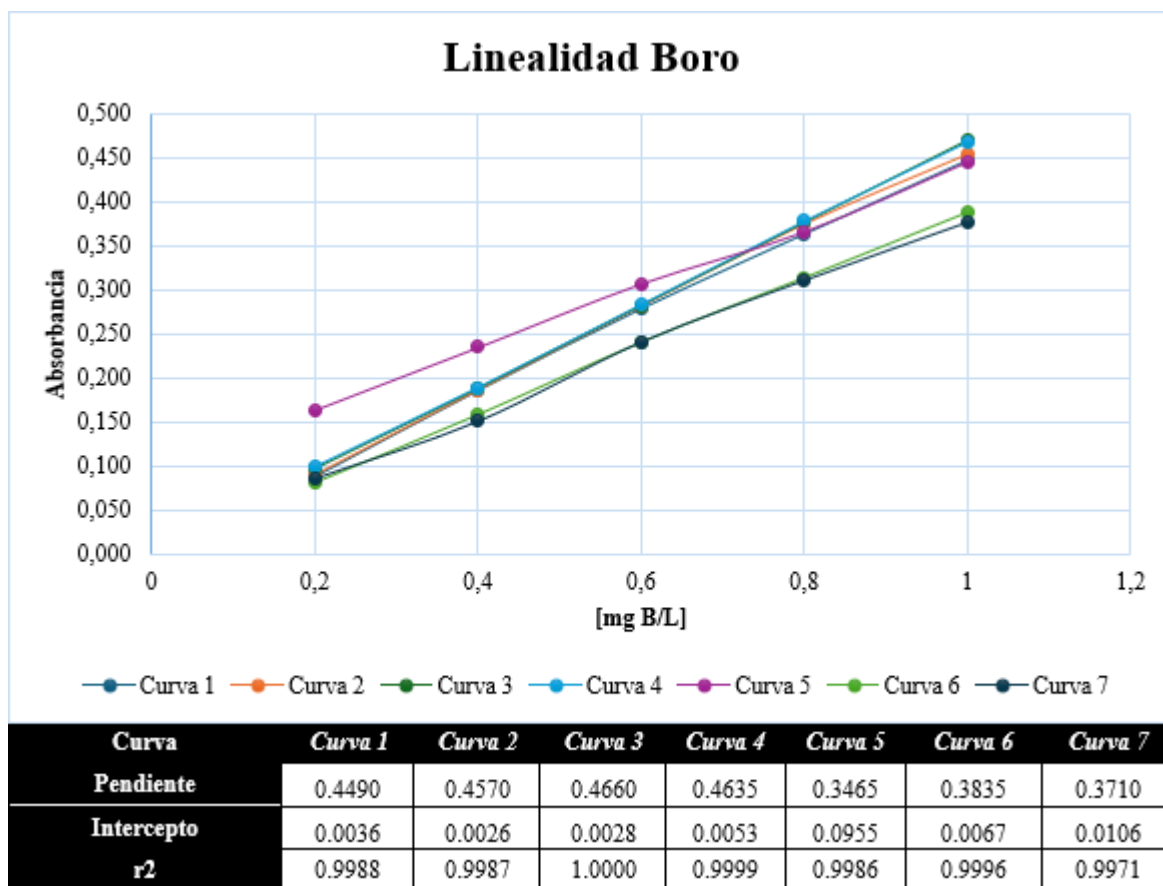


Figura 5. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Boro en aguas mediante espectroscopía UV-Vis ISO 9390-1990, con patrones de 0.200, 0.400, 0.600, 0.800 y 1.000 mg B/L. Se reportan los valores de la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para cada una de las curvas.

Se observa que, la concentración de Boro en aguas reales, de tipo superficial y subterránea es muy baja. Sus valores no superan 0.1 mg B/L. Cuando se adicionan 0.5 mL de un patrón de concentración 20 ppm de Boro, se estima que se adicionan 0.4 ppm de Boro a cada patrón. Ahora bien, cuando se evalúa su porcentaje de recuperación, se observa que, para el agua real tratada, se obtiene un porcentaje de 93.42% en promedio, el cual se debe a interferencias químicas presentes en la muestra, las cuales impiden la absorción de energía por parte de las moléculas del patrón cuando el haz incide en la celda de cuarzo contenida de la muestra fortificada. No obstante, su precisión es alta y su desviación estándar es baja, lo que indica confiabilidad en los datos obtenidos para los 7 ensayos evaluados.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Por otro lado, cuando se analiza la fuente de agua de tipo subterráneo, el porcentaje de recuperación es 86.83% en promedio, lo cual es bajo, debido posiblemente a interferencias presentes en la muestra, que además de contener cromóforos disueltos en la solución, puede contener partículas disueltas provenientes de sedimentos que impiden de alguna manera la absorción satisfactoria del compuesto de interés. A pesar de esto, su valor de precisión no supera el 4%, así como su desviación estándar, lo que indica fiabilidad en los datos reportados.

Ahora bien, cuando analizamos el agua superficial, su precisión y desviación estándar son aceptables, sin embargo, curiosamente se obtienen porcentajes de recuperación que no encajan en el criterio de aceptación de la norma, lo cual se debe posiblemente a la “alta” concentración de B presente en la muestra por sí sola, el cual en forma de borato compite por el B proveniente del patrón, impidiendo que absorba energía y pueda ser cuantificada según el coeficiente de extinción molar; o incluso ocurran procesos de reabsorción de moléculas vecinas y emisión en la misma solución, cuya energía no puede ser medida por el espectrofómetro UV- Vis. No obstante, esta tendencia se mantiene en todas las soluciones, de ahí que su precisión sea alta y su desviación estándar sea muy baja.

Finalmente, cuando analizamos las fuentes de agua de tipo residual doméstico y no doméstico, se observa que sus concentraciones de B son mayores. En aguas de tipo residual doméstica y no doméstica, se cuantificaron 0.4 y 8.6 ppm de B en promedio, respectivamente, lo cual es bastante alto, y es de esperarse, ya que el B en forma de borato proviene de numerosas fuentes industriales y de hogar, como en vidrios, cerámicas, jabones, detergentes, plaguicidas, entre otros. Sin embargo, la precisión de la medida para la fuente de agua de tipo residual doméstica es alta, y esto es debido a la alta cantidad de compuestos presentes en la misma, los cuales posiblemente absorben a la misma longitud de onda del compuesto de interés y alteran la medición final de

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

absorbancia. No obstante, para ambos casos el porcentaje de recuperación es casi que 100%, lo que garantiza una efectividad bastante alta. Para el caso del agua de tipo residual no doméstica, su precisión supera el 5% y esto se debe probablemente a interferentes que ya fueron mencionados anteriormente.

REAL TRATADA				SUPERFICIAL			SUBTERRANEA		
PROCEDENCIA: ACUEDUCTO BOGOTA				PROCEDENCIA: QUEBRADA AGUAS CLARAS			PROCEDENCIA: POZO IV		
Ensayo/ días	[mg B/L]	LMF [mg B/L]	%Adicionado 80-120	[mg B/L]	LMF [mg B/L]	%Adicionado 80-120	[mg B/L]	LMF [mg B/L]	%Adicionado 80-120
1	0.015	0.376	92.0	0.080	0.378	76.5	0.011	0.352	87.1
2	0.018	0.378	92.0	0.082	0.380	76.5	0.013	0.350	86.0
3	0.015	0.382	93.7	0.084	0.380	75.9	0.015	0.339	82.7
4	0.013	0.382	94.2	0.080	0.391	79.7	0.013	0.352	86.5
5	0.018	0.385	93.7	0.082	0.378	75.9	0.015	0.357	87.1
6	0.013	0.382	94.2	0.080	0.385	78.1	0.007	0.342	85.4
7	0.015	0.385	94.2	0.082	0.389	78.7	0.009	0.374	93.1
\bar{X}	0.0155	0.3815	93.42	0.0814	0.3830	77.33	0.0121	0.3524	86.83
s	0.00175	0.00324	0.98700	0.00162	0.00521	1.50602	0.00324	0.01129	3.13417
Precisión	11.34	0.85	1.06	1.99	1.36	1.95	26.86	3.20	3.61

RESIDUAL DOMESTICA				RESIDUAL NO DOMESTICA		
PROCEDENCIA: QUEBRADA EL ZORRO				PROCEDENCIA: ESCTL SALIDA DEL VERTIMIENTO		
Ensayo/ días	[mg B/L]	LMF [mg B/L]	%Adicionado 80-120	[mg B/L]	LMF [mg B/L]	%Adicionado 80-120
1	0.333	0.418	102.9	8.755	0.339	96.4
2	0.386	0.412	103.0	8.863	0.340	95.9
3	0.333	0.418	102.9	8.809	0.339	95.9
4	0.440	0.398	97.5	8.380	0.345	103.5
5	0.386	0.423	98.6	8.487	0.364	112.9
6	0.440	0.425	100.2	8.380	0.336	98.5
7	0.494	0.436	100.8	8.541	0.334	95.8
\bar{X}	0.4016	0.4186	100.85	8.6021	0.3425	99.84
s	0.05969	0.01177	2.23689	0.20412	0.01018	6.37911
Precisión	14.86	2.81	2.22	2.37	2.97	6.39

Tabla 12. Evaluación del porcentaje de recuperación del patrón añadido para la determinación de B total en aguas mediante espectrofotometría por absorción atómica electrotermica SM 3113 B Edición 23, de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica.

Por último, para determinar la estabilidad del método y comparar su variabilidad durante la determinación de B total durante 7 días, se analiza la cantidad la concentración hallada mediante una carta de control (ver **figura 6**).

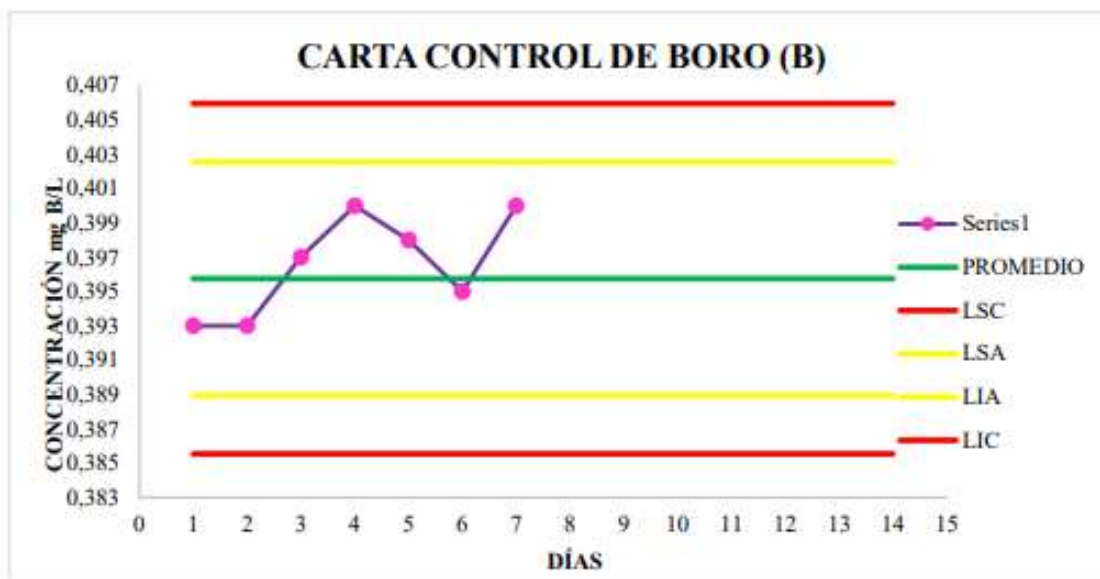


Figura 6. Carta de control para la determinación de B total en ppm durante 7 días. Las líneas amarillas y rojas corresponden a los límites de advertencia y control, respectivamente. LSC: Límite Superior de Control; LSA: Límite superior de Advertencia; LIA: Límite Inferior de Advertencia; LIC: Límite Inferior de Control.

Se observa que sus valores son cercanos al promedio y no exceden los límites, lo que indica una estabilidad en el método y poca variabilidad con el tiempo. De manera que se cataloga como un método adecuado para posteriores determinaciones de B en aguas de cualquier fuente hídrica.

7.4. Cromo Hexavalente (Cr(VI)).

Por último, se llevó a cabo el análisis de cromo Cr(VI) en fuentes de agua superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica. Se empleó espectroscopía UV-Vis como método para su determinación y el tratamiento fue tomado del SM 3500 Cr B Ed. 23.

Tal como se ha mencionado para los métodos discutidos en este proyecto de investigación, en la determinación de Cr(VI) se evaluaron aspectos tales como: linealidad, sensibilidad, LDM, LCM, repetibilidad, coeficiente de variación (precisión), porcentaje de error (exactitud), porcentaje de recuperación e incertidumbre en la medición.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Se evaluó el LCM y para ello se hizo una curva con patrones de 0.2, 0.6, 0.8, 1.0, 1.6 y 2 ppm de cromo. Se escogió la curva con mejor coeficiente de correlación y se comprobó el valor ya establecido por el laboratorio (0.2 ppm) mediante 7 experimentos por 7 días (ver **Tabla 13**).

COMPROBACIÓN DEL LCM	
Ensayo/ días	[mg Cr/L]
1	0.200
2	0.190
3	0.200
4	0.200
5	0.190
6	0.200
7	0.200
Valor real	0.200
Número de datos	7.0
Máximo	0.200
Mínimo	0.190
T _{alto}	0.59
T _{bajo}	1.46
T _{crítico} (n = 7)	1.94
Promedio (\bar{X})	0.20
Desviación Estándar (s)	0.005
Coefficiente de variación	2.5
% de Error	1.4
% Recuperación	98.6

Tabla 13. Comprobación del límite de cuantificación y determinación de la precisión, exactitud y porcentaje de recuperación del patrón añadido en el método de determinación de Cr(VI) en aguas mediante espectroscopía UV-Vis SM 3500 Cr B Ed. 23. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítico}, promedio y desviación estándar.

Se observa que, la precisión y exactitud en la medición son muy altas, con valores de 2.5 y 1.4%, respectivamente. Lo que indica una alta confiabilidad en el reporte de los datos. No hay ningún dato atípico según Grubbs y la desviación estándar no supera ni el 0.1%.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Ahora bien, con el fin de evaluar la linealidad del método, así como su rango de trabajo, se decidieron realizar 3 curvas durante 3 días diferentes. Los resultados se muestran en la **Tabla 14**.

PATRON [mg Cr/L]	0.050	0.200	0.400	0.600	0.800	1.000
Curva 1	0.044	0.199	0.399	0.621	0.792	0.995
Curva 2	0.046	0.201	0.399	0.605	0.805	0.994
Curva 3	0.051	0.194	0.402	0.603	0.805	0.995
Número de datos	3					
Máximo	0.051	0.201	0.402	0.621	0.805	0.995
Mínimo	0.044	0.194	0.399	0.603	0.792	0.994
T _{alto}	1.1	0.86	1.14	1.1	0.6	0.8
T _{bajo}	0.81	1.1	0.7	0.7	1.15	1.11
T _{crítica} (n = 3)	1.15					
Promedio	0.047	0.198	0.400	0.609	0.80	0.99
Desviación estándar	0.0037	0.0036	0.00	0.0	0.0	0.0
Precisión [%]	7.7575	1.80	0.36	1.61	0.95	0.08
Exactitud [%]	5.368	0.8	0.0	1.55	0.05	0.55
% Recuperación	94.632	99.2	100	101.5	100.1	99.5

Tabla 14. Comprobación de la linealidad del método determinación de Cr(VI) en aguas mediante espectroscopía UV-Vis SM 3500 Cr B Ed. 23., con patrones de 0.050, 0.200, 0.400, 0.600, 0.800 y 1.000 mg Cr/L. Se reportan los valores de máximo, mínimo, T_{alto}, T_{bajo}, T_{crítica}, promedio, desviación estándar, precisión, exactitud y porcentaje de recuperación para cada patrón.

Se observa que, ningún dato es atípico según Grubbs, asimismo, la desviación estándar para cada uno de los patrones es casi que nula, lo que ratifica una veracidad en los datos obtenidos. De hecho, la precisión y exactitud son muy altas. Para todos los casos estos valores no superan el 2%, a excepción del patrón que contiene poca concentración del analito de interés. En este caso, se obtiene una precisión y exactitud de 7.75 y 5.37%, que, a pesar de no ser altas, su error se debe posiblemente a la presencia de interferencias principalmente de compuestos cromóforos presentes en la solución.

Por otro lado, el porcentaje de recuperación para todos los casos es cercano al 100%, a excepción del primer patrón, y es de esperarse, ya que la baja concentración en la solución facilita la absorción de demás interferentes, impidiendo la absorción eficaz del compuesto de interés. Compuestos tales como molibdeno hexavalente, sales de mercurio, vanadio y hierro pueden interferir en el análisis y/o determinación de Cr(VI) en aguas, por lo que se hace necesario y

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

riguroso un estricto normativo para el lavado del material, así como la manipulación del material de vidrio para la preparación de las soluciones.

Ahora bien, gráficamente se puede observar la linealidad de las tres curvas, las cuales se confirman por su valor de r^2 cercano a 1. La tendencia para los tres casos es muy similar, así que la precisión es alta, así como su veracidad (ver **Figura 7**). Las ecuaciones de la recta son semejantes, sin embargo, la curva 3 presenta mejor coeficiente de correlación.

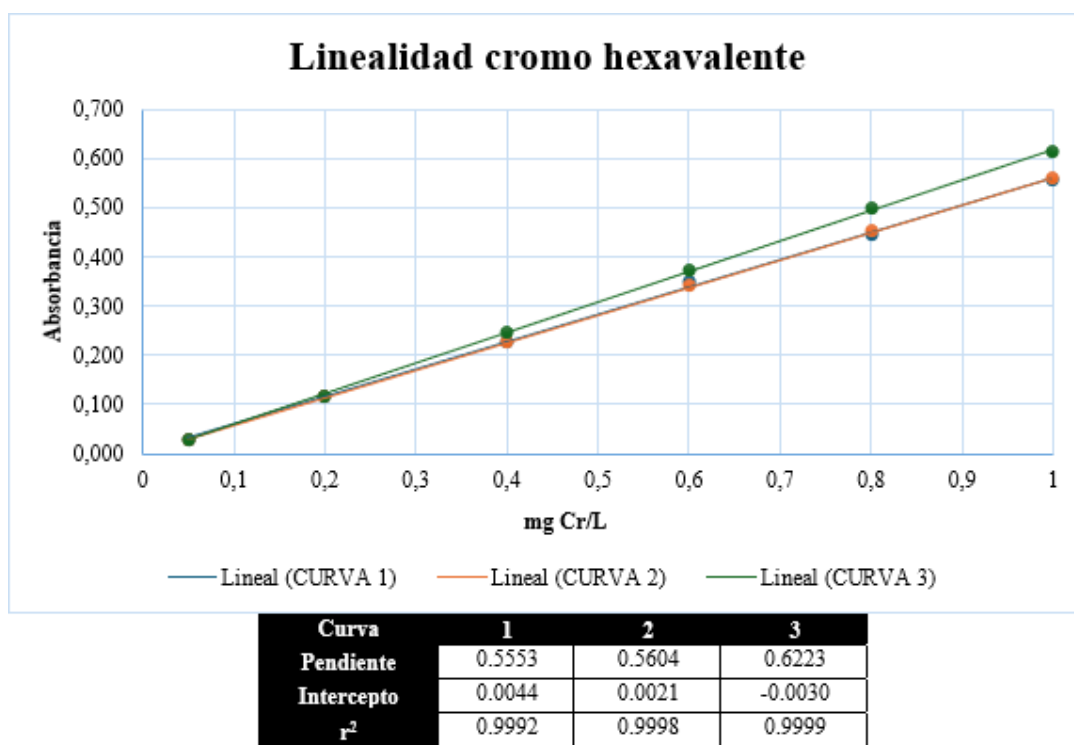


Figura 7. Comprobación de la linealidad del método de determinación de Cr(VI) en aguas mediante espectroscopía UV-Vis SM 3500 Cr B Ed. 23, con patrones de 0.050, 0.200, 0.400, 0.600, 0.800 y 1.000 mg Cr/L. Se reportan los valores de la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para cada una de las curvas.

Finalmente, se hace un análisis de muestras de agua real, de tipo superficial, subterráneo, residual doméstico y no doméstico. En cada una se determinó la concentración de Cr(VI) total disuelto y se evaluó el porcentaje de recuperación del patrón añadido bajo el criterio de aceptación de 80 a 120% (Ver **Tabla 15**). Cabe resaltar que, a todas las muestras se le adicionaron 1.2 mL del patrón con concentración de 50 ppm, lo que indica una adición de

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

0.06 mg de Cr a cada solución.

REAL				SUPERFICIAL			SUBTERRANEA		
PROCEDENCIA: ACUEDUCTO BOGOTA				PROCEDENCIA: QUEBRADA PUEBLO TIERRA			PROCEDENCIA: POZO 8		
Ensayo/ días	[mg Cr/L]	LMF [mg Cr/L]	%Adicionado 80-120	[mg Cr/L]	LMF [mg Cr/L]	%Adicionado 80-120	[mg Cr/L]	LMF [mg Cr/L]	%Adicionado 80-120
1	0.00	0.59	100	0.00	0.55	93	0.010	0.55	91
2	0.00	0.59	100	0.01	0.60	100	0.015	0.56	92
3	0.00	0.60	101	0.01	0.60	100	0.010	0.58	96
4	0.00	0.60	101	0.00	0.61	103	0.010	0.59	98
5	0.00	0.60	101	0.02	0.56	91	0.010	0.58	96
6	0.00	0.59	100	0.01	0.57	94	0.010	0.59	98
7	0.00	0.60	101	0.00	0.60	101	0.010	0.56	93
\bar{X}	0.0000	0.5957	100.48	0.0071	0.5843	97.36	0.0107	0.5729	94.84
<i>s</i>	0.00000	0.00535	0.90156	0.00756	0.02370	4.5296	0.00189	0.01604	2.83141
Precisión	----	0.90	0.90	105.83	4.06	4.65	17.64	2.80	2.99

RESIDUAL DOMESTICA				RESIDUAL NO DOMESTICA			
PROCEDENCIA: QUEBRADA EL ZORRO				PROCEDENCIA: EDS			
Ensayo/ días	[mg Cr/L]	LMF [mg Cr/L]	%Adicionado 80-120	[mg Cr/L]	LMF [mg Cr/L]	%Adicionado 80-120	
1	0.02	0.6	98	0.03	0.58	93	
2	0.02	0.6	98	0.03	0.55	88	
3	0.00	0.6	101	0.04	0.57	89	
4	0.01	0.6	100	0.04	0.55	87	
5	0.00	0.6	101	0.03	0.58	93	
6	0.00	0.6	101	0.03	0.59	95	
7	0.01	0.6	100	0.04	0.60	95	
\bar{X}	0.009	0.6000	99.77	0.0326	0.5743	91.43	
<i>s</i>	0.009	0.00000	1.49956	0.00424	0.01902	3.26708	
Precisión	104.97	0.00	1.50	13.01	3.31	3.57	

Tabla 15. Evaluación del porcentaje de recuperación del patrón añadido para la determinación de Cr(VI) total en aguas mediante espectroscopía UV-Vis SM 3500 Cr B Ed. 23, de muestras de agua procedente del laboratorio, de tipo superficial, subterránea, residual doméstica y residual no doméstica.

Se observa que, para una muestra de agua real tratada, no hay evidencia de la presencia de Cr (VI) disuelto en ppm, quizás su concentración sea tan baja como ppb y se requiera de instrumentos más sofisticados para su correcta y adecuada determinación. De igual manera, cuando se analizan las otras 4 fuentes de aguas (superficial, subterránea, residual doméstica y no doméstica), se cuantifican concentraciones muy bajas de Cr (VI), que no superan 0.05 ppm. Lo cual es bueno, porque indica bajos niveles del metal presente en corrientes de agua, que como bien se sabe, es tóxico y carcinógeno. Ahora bien, como es de esperarse, la mayor concentración se encuentra en aguas de tipo residual no doméstico, pues el Cr en forma de cromato proviene de aleaciones, galvanoplastia y fuentes naturales tales como rocas, sedimentos, plantas y suelos.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

Asimismo, cuando se analiza el porcentaje de recuperación del patrón añadido, se observa que, para muestras con poca interferencia, su porcentaje equivale al 100%. Mientras que, cuando la solución contiene mayor cantidad de compuestos provenientes de diversas fuentes, estos pueden inhibir la absorción eficaz del analito target, como es el caso del agua de tipo residual no doméstico, en el que compuestos cromóforos presentes en la muestra son los responsables de absorber y reabsorber energía que limita la cantidad de moléculas contenidas de cromo para efectuar su transición del estado basal al primer estado excitado.

Para las demás fuentes de agua, el comportamiento es similar y esto se debe a interferencias químicas o errores propios del operario y equipo que ya fueron discutidos anteriormente.

Una vez más, con el fin confirmar la confiabilidad de los resultados obtenidos para este parámetro, así como la estabilidad del método evaluado, se analizó la carta de control en la que se considera la concentración de Cr (VI) hallada durante 14 días (ver **Figura 8**). Se encontró que efectivamente el método es estable y sus datos no sobrepasan los límites de advertencia y/o control. Todos los datos se mantienen cerca al promedio a pesar de la alteración del método por diversos factores.

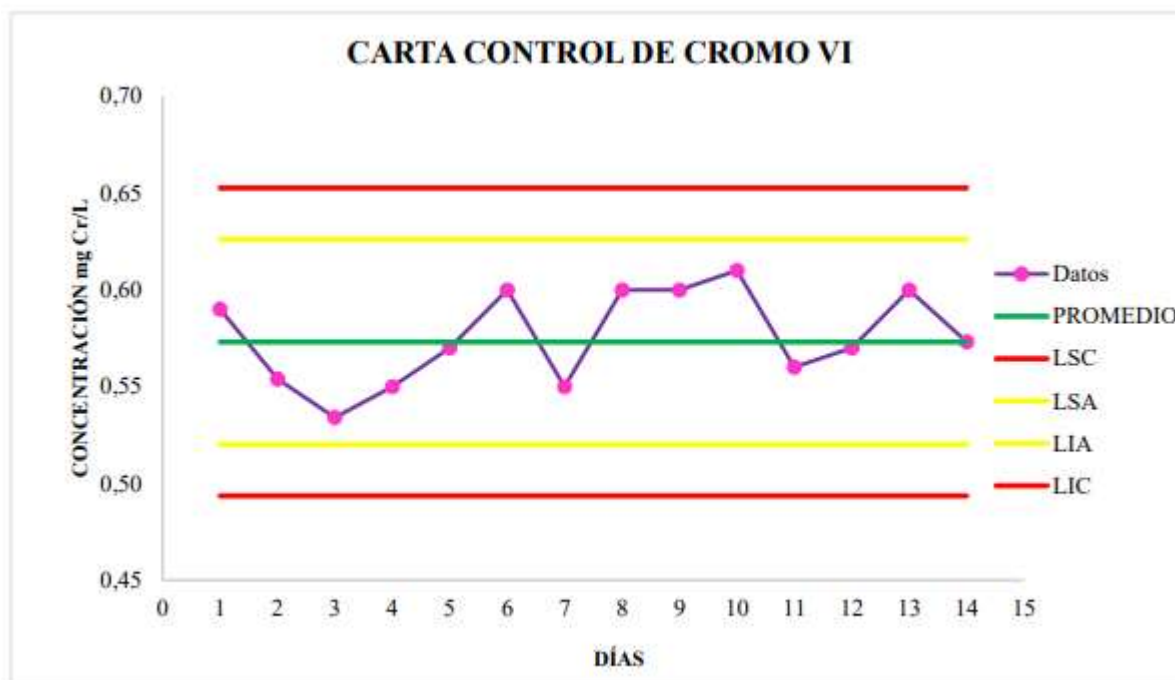


Figura 8. Carta de control para la determinación de $Cr(VI)$ total en ppm durante 14 días. Las líneas amarillas y rojas corresponden a los límites de advertencia y control, respectivamente. LSC: Límite Superior de Control; LSA: Límite superior de Advertencia; LIA: Límite Inferior de Advertencia; LIC: Límite Inferior de Control.

8. Conclusiones.

Las conclusiones de este estudio resaltan la validez de los métodos utilizados para la determinación de Hg, Se, B y Cr (VI) en matrices de agua en el Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana S.A. E.S.P. La validación de la espectrometría de absorción atómica para Hg y Se, así como de la espectrofotometría UV-VIS para B y Cr (VI), ha demostrado ser eficaz, lo que garantiza la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos. La creación de un protocolo estandarizado para la aplicación de estos métodos no solo facilitará su implementación, sino que también asegurará la consistencia en la calidad de los análisis realizados.

Los resultados obtenidos durante la validación brindan una base sólida para el monitoreo continuo de la calidad del agua en el contexto del manejo de residuos, permitiendo el cumplimiento

de las normativas ambientales y protegiendo así la salud pública. En conclusión, la implementación de estos métodos estandarizados representa un avance significativo en la gestión ambiental del Centro de Gerenciamiento de Residuos Doña Juana, proporcionando información crítica que apoyará la toma de decisiones informadas respecto a la calidad del agua y la prevención de la contaminación.

9. Referencias.

- Abirigia, D., Vestgarden, L., & Klempe, H. (2020). Groundwater contamination from a municipal landfill: Effect of age, landfill closure, and season on groundwater chemistry. *Science of The Total Environment*, Vol. 737, N°1, 1-11.
- Álvarez, J. P. (2008). Calidad integral del agua superficial en la cuenca hidrológica del Río Amajac. *Información tecnologic*, 21-32.
- Amano, K., Danso, E., Adom, E., Nkansah, D., Amoamah, E., & Danquah, E. (2021). Effect of waste landfill site on surface and ground water drinking quality. *Water and enviroment journal*, 435-858.
- Araujo, L., & Kelly, L. (2016). Bioadsorción de cromo con borra de café en efluentes de una industria curtiembre local.
- Arauzo, M. R. (2003). Contaminación por cromo en el agua intersticial, en el agua del cauce y en los sedimentos del río Jarama.
- Arco, K., & Lancheros, J. (2019). Especies acuaticas de los humedales de bogotá, colombia con capacidad para el tratamiento de aguas residuales con metales pesados. *49(1)*, 84-95.
- Cortéz, J. (2022). Espectrofotometría uv-vis para la detección de metales en agua. *14*, 10.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

- Costilla Sánchez, N. I. (2008). Metodología, M. P. (2006). *Agua subterránea, deterioro de calidad y reserva.*
- Bustamante Botero, J. E., & Carrascal Franco, L. M. (2010). *Estandarización de la técnica espectrofotométrica (UV-Vis) para la cuantificación de antraquinonas presentes en productos a base de Aloe Vera.*
- Caraballo, M. P. C., & Xavier, J. M. (2012). Manual de agua subterránea. *Montevideo, Uruguay: Denad Internacional SA.*
- Escalante, V., Cardoso, L., Ramírez, E., Moeller, G., Mantilla, G., Montecillos, J., Servín, C., & Villavicencio, F. (2003). El reúso del agua residual tratada en México. *Seminario Internacional Sobre Métodos naturales para el tratamiento de aguas residuales*, 230- 236.
- Manterola, C., Grande, L., Otzen, T., García, N., Salazar, P., & Quiroz, G. (2018). Confiabilidad, precisión o reproducibilidad de las mediciones. Métodos de valoración, utilidad y aplicaciones en la práctica clínica. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 680-688.
- Rodríguez Pelier, C. V., Martínez Téllez, G., Torres Rives, B., Zúñiga Rosales, Y., Alles Gustavo, A., & Martínez Perera, A. (2013). Estandarización y validación de un ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en suero humano. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 12(4), 0-0.
- Cristancho Montenegro, D., Torres Mejía, A. S., & Lobatón Orduz, J. F. (2020). Análisis comparativo del impacto al recurso hídrico generado en los principales rellenos sanitarios en Colombia.
- Díaz, S. M.-U.-I. (2020). Exposición a plomo y mercurio en poblaciones de la ribera del río Bogotá: estudio multi-método. *Revista de salud pública*, 1-8.

- Feal, M. (1999). Determinación simultánea de metales con el ácido metiletilendiaminotetracético (AMEDT) por espectrofotometría UV-VIS y espectrofotometría derivada.
- Hurtado-Jiménez, R., & Gardea-Torresdey, J. (2007). Hurtado-Jiménez, R., & Gardea-Torresdey, J. (2007). Evaluación de la exposición a selenio en Los Altos de Jalisco, México. *salud pública de méxico*, 49(4), 312-315.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia. (s. f.). Acreditación y participación ciudadana. IDEAM.
<https://www.ideam.gov.co/web/atencion-y-participacion-ciudadana/acreditacion>
- INM. (2021). *Guía de calibración de espectrofotómetros UV-Vis INM/GTM-FR-E/01*. 2021: INM.
- López, C., & al, e. (2022). Impacto medioambiental y socioeconómico en la salud generado por la minería artesanal del oro en Colombia. *Salud Uninorte*, 38(2).
- Mahecha-Pulido, J., Trujillo-González, J. M., & Torres-Mora, M. A. (2017). Análisis de estudios en metales pesados en zonas agrícolas de Colombia. *Orinoquia*, 21, 93-93.
- Martínez, M. (2020). Martínez Guijarro, M. (2020). Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica .
- Medina Valdovinos, E. K. (2016). Calidad del agua para riego y suelos agrícolas en Tuxcacuesco, Jalisco. 34(6), 51-59.
- Morand, E. E. (2002). Determinación de arsénico en agua por espectrometría de absorción atómica con generación de hidruro (HG-AAS). *Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas UNNE*.
- Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. 14(27), 9-18.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

- Pabón, S., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18.
- Ravelo Polo, B. (2012). Adsorción de boro del agua.
- Resolución N° 0883. (18 de Mayo de 2018). Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas marinas y se dictan otras disposiciones. Bogotá: Minambiente.
- Reyes Roa, Y. C. (s.f.). Estudio de bioacumulación de metales pesados en plantas de consumo humano para ensayo molecular In situ.
- Richter, P. (2017). Validación de métodos analíticos. Presentación, Santiago de Chile.
- Río Clar, M. D. (2013). Aplicación de nanopartículas magnéticas de hierro a la eliminación de mercurio del agua.
- Rodríguez, Y. R. (2013). Validación del método ensayo al fuego combinado con espectrofotometría de absorción atómica (EF-EAA).
- Sabino, J. F. (2015). Determinación de arsénico y mercurio en agua superficial del lago de Atitlán. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2(2), 37-44.
- Torres, J., Colina, M., Cano, Y., Rivas, Z., & Andrade, C. (2015). Concentración de selenio en agua y en fracciones de sedimentos del río Catatumbo. *Multiciencias*, Vol. 15, N°2, 163-171.
- Trujillo, A., & Cajigas, M. E. (2018). Validación de un método para el análisis de color real en agua. *Revista de la Facultad de Ciencias*, 7(1), 143-155.
- Tuchez, J. R. (2016). Análisis de las características físicas y químicas, del agua residual, producida en los sanitarios portátiles, operados en la mina marlín. *10(1)*, 13-16.

Validación de métodos analíticos para metales en matrices

- Yucra Yucra, R. R. (2016). Influencia del PET Reciclado en las Características del Agua Residual Doméstica Mediante el Proceso de Filtro Percolador para el Distrito de Taraco, Provincia de Huancane, Region Puno.
- Yusof, A., Salleh, S., & Wood, A. (1999). Speciation of inorganic arsenic and selenium in leachates from landfills in relation to water quality assessment. *Biol Trace Elem Res*, Vol.71, 139-148.
- Zamora, J. R. (2009). Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las Asociaciones Administradoras del Acueducto,(ASADAS), de cada distrito de Grecia, cantón de Alajuela, noviembre. *Pensamiento Actual*, 125-134.
- Zúñiga, N. C., & Mora, E. C. (2020). Evaluación de la calidad del servicio de abastecimiento de agua potable a partir de la percepción de personas usuarias: El caso en Cartago, Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales*, 54(1), 95-122.

10. Anexo

Anexo 1. Tabla de valores críticos.

TABLE 1010:I. CRITICAL VALUES FOR 5% AND 1% TESTS OF DISCORDANCY FOR A SINGLE OUTLIER IN A NORMAL SAMPLE

Number of Measurements <i>n</i>	Critical Value	
	5%	1%
3	1.15	1.15
4	1.46	1.49
5	1.67	1.75
6	1.82	1.94
7	1.94	2.10
8	2.03	2.22
9	2.11	2.32
10	2.18	2.41
12	2.29	2.55
14	2.37	2.66
15	2.41	2.71
16	2.44	2.75
18	2.50	2.82
20	2.56	2.88
30	2.74	3.10
40	2.87	3.24
50	2.96	3.34
60	3.03	3.41
100	3.21	3.60
120	3.27	3.66

SOURCE: BARNET, V. & T. LEWIS. 1995. Outliers in Statistical Data, 3rd ed. John Wiley & Sons, New York, N.Y.