

PRACTICA EMPRESARIAL: VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE Cd,
Cr, Cu y Zn EN SUELOS, LODOS Y SEDIMENTOS

YENIFER LICETH MARTÍNEZ VEGA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2023

PRACTICA EMPRESARIAL: VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE Cd,
Cr, Cu y Zn EN SUELOS, LODOS Y SEDIMENTOS

YENIFER LICETH MARTÍNEZ VEGA

Trabajo de grado para optar título de Química

Director:

José Carlos Gutiérrez

Químico MSc.

Codirector

Estefani Morales Aparicio

Química Ambiental

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2023

DEDICATORIA

A Dios, a quien debo todo en mi vida. Por su amor, gracia y favor, por cuidar de mí en todo momento, por caminar conmigo como mi fiel amigo, por ser mi fuerza en la debilidad, mi esperanza eterna, la roca y refugio de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, en especial a mis padres y mi hermana; que me inspiraron a seguir adelante cuando sentía que ya no podía más, cuando me faltaban las fuerzas sus abrazos me fortalecían y sus palabras me consolaban una y otra vez, a ellos que siempre creyeron en mí y en mi gran sueño de ser Química. Gracias por trabajar tan esforzadamente y apoyarme en cada proyecto, este triunfo es para ustedes.

A la escuela de Química; a cada profesor, por enseñarme que la disciplina y la constancia vence incluso los obstáculos más grandes en la vida, por su vocación y entrega en su labor de enseñanza, por motivarnos siempre a ir un paso más allá, por ser guías en el camino más amplio de la vida: El conocimiento.

En especial a los profesores Yolanda Vargas Fiallo, José Carlos Gutiérrez y Gerardo Bautista Ardila, por brindarme el tiempo, su disponibilidad y la orientación necesaria para llevar a finalidad este proyecto.

A mis compañeros, por cada momento compartido, por las risas aliviadoras en los momentos de estrés, por las palabras confortantes en la angustia y la amistad brindada.

A SIAMA S.A.S por brindarme la oportunidad, sus instalaciones, recursos, apoyo y por todo el conocimiento adquirido durante la práctica empresarial.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
2. JUSTIFICACIÓN	15
3. OBJETIVOS	16
3.1 OBJETIVO GENERAL	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4. MARCO TEÓRICO.....	17
4.1 METALES PESADOS	17
4.1.1 Presencia de metales pesados en el suelo	18
4.1.2 Toxicidad de los metales.....	19
4.2 MARCO LEGAL	22
4.2.1 Decreto 1287 del 2014.....	22
4.2.2 Decreto 50 del 16 de enero 2018	23
4.3 CUANTIFICACIÓN DE METALES EN SUELOS, LODOS Y SEDIMENTOS.....	24
4.3.1 Fundamento teórico	25
4.3.2 Descripción de la técnica	25
4.3.3 Generalidades de la técnica.....	26
4.2 VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE UN MÉTODO ANALITICO	28
4.2.1 Parámetros de validación.....	29
4.2.1.1 Selectividad	29
4.2.1.2 Linealidad	30
4.2.1.3 Sensibilidad	30
4.2.1.4 Exactitud.....	30
4.4.1.5 Límites	31
4.5 INCERTIDUMBRE EN LAS MEDIDAS ANALÍTICAS.....	31
4.5.1 Fuentes de incertidumbre en las medidas analíticas.....	32
4.5.3 Evaluación de la incertidumbre en las medidas analíticas	33

4.5.3.1 Incertidumbre de tipo A	34
4.5.3.2 Incertidumbre de tipo B	35
4.5.4 Combinación de las incertidumbres	35
4.5.5 Expresión de la incertidumbre.....	35
5. METODOLOGÍA.....	36
5.1 VERIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS	36
5.1.1 Equipos y materiales	36
5.1.2 Verificación de patrones y reactivos	39
5.1.3 Procedimientos experimentales	40
5.1.3.1 Pretratamiento de la muestra para análisis fisicoquímicos	41
5.1.3.2 Digestión ácida de suelos, lodos y sedimentos	42
5.1.3.3 Digestión ácida en el sistema digestor microondas – Multiwave GO.....	43
5.1.4 Verificación del material volumétrico y equipos	44
5.1 PARAMETROS DE VALIDACIÓN Y DESARROLLO DEL MÉTODO	44
5.2.1 Especificaciones experimentales	44
5.2.2 Linealidad	45
5.2.3 Diseño experimental de validación	48
5.2.3 Parámetros de Validación	48
5.2.3.1 Límite de detección y cuantificación	48
5.2.3.2 Linealidad	49
5.2.3.2 Veracidad	49
5.2.3.3 Precisión.....	50
5.2.3.4 Precisión intermedia.....	50
5.2.3.5 Porcentajes de recuperación	51
5.2.3.6 Pruebas Inter-laboratorio	51
5.3 EJECUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.....	51
5.4 EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VALIDACIÓN	52
6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
6.1 CONDICIONES PRELIMINARES	53
6.1.1 Verificación de los reactivos.....	53

6.1.2 Verificación del material volumétrico	53
6.1.3 Verificaciones perdidas de muestra en el microondas	55
6.2 VALIDACIÓN.....	55
6.2.1 Linealidad	55
6.2.2 Límites de detección y cuantificación	61
6.2.3 Veracidad	64
6.2.4 Precisión.....	69
6.2.5 Precisión intermedia.....	73
6.2.5 Reproducibilidad.....	78
6.2.6 % Recuperación.....	78
7. CONCLUSIONES.....	81
8. RECOMENDACIONES	82
BIBLIOGRAFÍA	83

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Procesos en la atomización por llama.	27
Figura 2. Esquema espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz	28
Figura 3. Estimación de la incertidumbre de una medición.	33
Figura 4. Metodología desarrollada trabajo de grado	36
Figura 5. Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer AAnalyst 400	38
Figura 6. Microwave Digestion System Multiwave GO Anton Paar	39
Figura 7. Materiales de referencia certificados para suelos, lodos y sedimentos.	40
Figura 8. Pretratamiento de suelos, lodos y sedimentos	41
Figura 9. Procedimiento digestión ácida de suelos, lodos y sedimentos.	42
Figura 10. Procedimiento digestión ácida asistida por microondas.....	43
Figura 11. Curva de calibración Cd.....	46
Figura 12. Curva de calibración Cr.....	46
Figura 13. Curva de calibración Cu.....	47
Figura 14. Curva de calibración Zn	47
Figura 15. Curva de calibración promedio Cd.....	57
Figura 16. Curva de calibración promedio Cr	58
Figura 17. Curva de calibración promedio Cu.....	59
Figura 18. Curva de calibración promedio Zn.....	60

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Principales fuentes de contaminación de metales.	18
Tabla 2. Fuentes antrópicas que causan contaminación por liberación de metales.	19
Tabla 3. Valores máximos permisibles de categorización de biosólidos para su uso. ...	23
Tabla 4. Requisitos de las instalaciones de tratamiento de suelos.....	24
Tabla 5. Parámetros de validación en métodos analíticos.....	29
Tabla 6. Condiciones de lectura en espectrofotómetro de absorción atómica.	45
Tabla 7. Rango lineal de los metales Cd, Cr, Cu y Zn.	45
Tabla 8. Análisis de los reactivos para las metodologías analíticas	53
Tabla 9. Verificación del material volumétrico	54
Tabla 10. Verificación balón aforado 50 mL	54
Tabla 11. Verificación pérdida de muestra digestión microondas EPA 3051A.....	55
Tabla 12. Rangos de linealidad para los elementos Cd, Cr, Cu y Zn.	56
Tabla 13. Curvas de calibración Cd.....	56
Tabla 14. Curvas de calibración Cr	57
Tabla 15. Curvas de calibración Cu.....	58
Tabla 16. Curvas de calibración Zn	59
Tabla 17. Prueba t-student para linealidad.....	60
Tabla 18. Datos de las mediciones de los blancos de método	61
Tabla 19. Cuantificación teórica de los límites	61
Tabla 20. Datos experimentales límite de cuantificación Cadmio.....	62
Tabla 21. Datos experimentales límite de cuantificación Cromo	62
Tabla 22. Datos experimentales límite de cuantificación Cobre	63
Tabla 23. Datos experimentales límite de cuantificación Zinc	63
Tabla 24. Límites de cuantificación experimentales.....	64
Tabla 25. Concentraciones en los materiales de referencia certificados.....	64
Tabla 26. Datos experimentales Cd en materiales de referencia	65
Tabla 27. Datos experimentales Cr en materiales de referencia	66

Tabla 28. Datos experimentales Cu en materiales de referencia	67
Tabla 29. Datos experimentales Zn en materiales de referencia.....	68
Tabla 30. Datos experimentales precisión Cd.....	69
Tabla 31. Datos experimentales precisión Cr.....	70
Tabla 32. Datos experimentales precisión Cu.....	70
Tabla 33. Datos experimentales precisión Zn	71
Tabla 34. Coeficientes de variación en MCR	72
Tabla 35. Datos experimentales digestiones por microondas MCR sedimento	73
Tabla 36. Datos experimentales digestiones por microondas MCR lodos.....	73
Tabla 37. Datos experimentales digestiones por microondas MCR lodos.....	74
Tabla 38. Comparación entre las dos digestiones para cuantificación de Cd.	74
Tabla 39. Precisión intermedia Cd en suelos	75
Tabla 40. Precisión intermedia Cd en sedimentos.....	75
Tabla 41. Precisión intermedia Cd en lodos.....	76
Tabla 42. Comparación métodos de digestión para la determinación Cd	76
Tabla 43. Comparación método de digestión determinación Cr	77
Tabla 44. Comparación método de digestión determinación Cu	77
Tabla 45. Comparación método de digestión determinación Zn.....	77
Tabla 46. Porcentajes de recuperación Cd.	79
Tabla 47. Porcentajes de recuperación Cr	79
Tabla 48. Porcentajes de recuperación Cu	80
Tabla 49. Porcentajes de recuperación Zn.....	80

RESUMEN

TÍTULO: PRACTICA EMPRESARIAL: VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANÁLITICO POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACION DE Cd, Cr, Cu y Zn EN SUELOS, LODOS Y SEDIMENTOS.*

AUTOR: YENIFER LICETH MARTINEZ VEGA**

PALABRAS CLAVE: VALIDACIÓN, METALES, CUANTIFICACIÓN, ABSORCIÓN ATÓMICA, SUELOS, LODOS, SEDIMENTOS.

DESCRIPCIÓN:

Debido a diferentes actividades antropogénicas, hoy en día evidenciamos gran contaminación ambiental y el deterioro de muchos ecosistemas correlacionados directamente con nuestras necesidades humanas. La contaminación causada por metales tóxicos en suelos, lodos y sedimentos poco se ha considerado aún ambiental y jurídicamente. Ignorando así, su relación directa con la degradación y muerte de vegetación, contaminación de ríos y aguas subterráneas y los efectos nocivos en la salud causados por estos. Según la NTC ISO/IEC 17025:2017 es necesario realizar un proceso de validación a cada uno de los métodos analíticos a implementar en un laboratorio, demostrando a través de evidencia objetiva y experimental la competencia y dominio del método por parte del laboratorio, así como la confiabilidad y calidad de los resultados.

Para la determinación de Cadmio, Cromo, Cobre y Zinc en suelos, lodos y sedimentos se consideró el método de digestión ácida bajo la norma US-EPA 3050B, y la técnica de espectrofotometría de absorción atómica por llama US-EPA 7000B. Teniendo en cuenta los rangos de linealidad para cada metal y el análisis de diferentes blancos fortificados a rango bajo, se establecieron los límites de cuantificación experimentales.

Con el análisis de materiales de referencia certificados de cada matriz, se determinó el sesgo para cada uno de los metales. La precisión se determinó con muestras reales derivadas de una PTAR. La evaluación de t-student corroboró la veracidad del método analítico. También fue posible realizar comparaciones de dos métodos de digestión EPA 3051A y EPA 3050B, de las cuales se pudo concluir que no existen diferencias significativas entre las varianzas de estos dos métodos.

Finalmente, se logró bajo evidencia objetiva y fidedigna concluir que el método validado es apto para la determinación de metales Cadmio, Cromo, Cobre y Zinc en las matrices suelos, lodos y sedimentos.

*Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: José Carlos Gutiérrez. Químico MSc. Codirector: Estefani Morales Aparicio. Química Ambiental.

ABSTRACT

TITLE: BUSINESS PRACTICE: VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY FOR THE DETERMINATION OF Cd, Cr, Cu and Zn IN SOILS, SLUDGE AND SEDIMENTS*

AUTHOR: YENIFER LICETH MARTINEZ VEGA**

KEY WORDS: VALIDATION, METALS, QUANTIFICATION, ATOMIC ABSORPTION, SOILS, SLUDGE, SEDIMENTS.

DESCRIPTION:

Due to different anthropogenic activities, today we show great environmental contamination and the deterioration of many ecosystems directly correlated with our human needs. The contamination caused by toxic metals in soils, muds and sediments has not yet been considered environmental and legally. Thus ignoring its direct relationship with the degradation and death of vegetation, contamination of rivers and groundwater and the harmful effects on health caused by them. According to NTC ISO/IEC 17025:2017, it is necessary to carry out a validation process for each of the analytical methods to be implemented in a laboratory, demonstrating through objective and experimental evidence the competence and mastery of the method by the laboratory, as well as the reliability and quality of the results.

For the determination of Cadmium, Chromium, Copper and Zinc in soils, sludge and sediments, the acid digestion method was considered under the US-EPA 3050B standard, and the US-EPA 7000B flame atomic absorption spectrophotometry technique. Taking into account the linearity ranges for each metal and the analysis of different fortified targets at low range, the experimental quantification limits were established.

With the analysis of certified reference materials of each matrix, the bias for each of the metals was determined. The precision was determined with real samples derived from a WWTP. The t-student evaluation corroborated the veracity of the analytical method. It was also possible to make comparisons of two digestion methods EPA 3051A and EPA 3050B, from which it could be concluded that there are no significant differences between the variances of these two methods.

Finally, it was achieved under objective and reliable evidence to conclude that the validated method is suitable for the determination of metals Cadmium, Chromium, Copper and Zinc in soil, mud and sediment matrices.

* Degree work

** Faculty of Science. School of Chemistry. Director: José Carlos Gutiérrez. Químico MSc. Co-director: Estefani Morales Aparicio. Química Ambiental.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los sistemas de gestión de los laboratorios de análisis químico se establece la necesidad de validar sus métodos analíticos para la posterior acreditación de los laboratorios, atendiendo así a la calidad requerida en los análisis para ofrecer resultados veraces, a través de los cuales se puedan tomar decisiones seguras y fundamentadas en resultados confiables. La validación de métodos analíticos debe estar soportada por evidencias objetivas y diferentes parámetros que demuestren estadísticamente la fiabilidad del método para el propósito designado cumpliendo con los criterios de calidad establecidos por el laboratorio.

El presente trabajo tiene por objetivo la validación del método de análisis para la determinación de metales Cd, Cr, Cu y Zn en matrices tales como suelos, lodos y sedimentos en el laboratorio de fisicoquímica de SERVICIOS INTEGRADOS PARA LA INDUSTRIA DEL AGRO, MINERO-ENERGÉTICA Y EL MEDIO AMBIENTE en adelante (SIAMA S.A.S), a través de espectroscopia de absorción atómica, con el fin de ampliar su capacidad de servicio.

La técnica instrumental de espectroscopia de absorción atómica de llama (aire-acetileno) tiene la capacidad de detectar pequeñas concentraciones de los elementos a analizar gracias a su sensibilidad. Para ello; es necesario liberar los metales de sus matrices correspondientes y mantenerlos en solución; libres de posibles interferencias como materia orgánica, entre otras a través de un procedimiento de preparación y digestión de las muestras, según sea el tipo de matriz.

Hoy en día la determinación de metales en suelos es de crucial importancia. Dada la dinámica de los suelos, muchos ecosistemas se han visto comprometidos en términos de degradación, debido a las altas toxicidades, persistencia en el ambiente, biodisponibilidad y movilidad de los metales en los suelos, lodos y sedimentos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según la norma técnica colombiana ISO/IEC 17025 en su versión 2017; requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, se establece en el numeral 7.2.2.1; la necesidad de validar los métodos no normalizados, métodos desarrollados por el laboratorio o métodos normalizados fuera de su alcance previsto, para así poder; satisfacer criterios de calidad que proporcionen confiabilidad y validez a los resultados obtenidos por parte de un método analítico (ICONTEC NTC-ISO/IEC, 2017). Validar un método analítico consiste en determinar su perfil de desempeño y proveer evidencia objetiva mediante experimentación; de que se cumplen aquellos requisitos particulares para su uso previsto. Para ello; se establecen parámetros estadísticos tales como la linealidad, precisión, veracidad, selectividad, repetibilidad, e incertidumbre de medición entre otros.

Hoy en día la contaminación de los suelos por metales pesados es una de las problemáticas ambientales y sociales más acrecentadas en el mundo. Las actividades antropogénicas aportan en su mayoría a la biodisponibilidad, acumulación y distribución de metales, provocando la degradación de diferentes ecosistemas y efectos nocivos en la salud del hombre (Londoño Franco et al., 2016). La determinación de metales pesados en suelos, lodos y sedimentos es requisito fundamental para la caracterización y evaluación de estos, de esta manera, se podrían delimitar áreas de contaminación y en caso de ser posible o exigido por las autoridades ambientales; darles un debido tratamiento de biorremediación. En la industria agroalimentaria, el estudio de los suelos correspondientes a los cultivos de alimentos y la determinación de metales pesados en ellos; es fundamental para evitar efectos negativos en la salud de los futuros consumidores. Aunque sean en concentraciones bajas, metales como Cr, Ni, Cu, Cd, Pb, entre otros son contaminantes prioritarios los cuales provocan graves problemas de salud, mediante la alteración de diferentes procesos bioquímicos y fisiológicos en los organismos. (Galán Huertos & Romero Baena, 2008).

2. JUSTIFICACIÓN

Con el fin de brindar un servicio de calidad a sus clientes, buscando siempre la mejora continua y la confiabilidad de los resultados, SIAMA S.A.S tiene como objetivo dentro de su sistema de gestión de calidad, implementar la validación de los métodos analíticos para las matrices de suelos, lodos y sedimentos e incorporarlos al alcance analítico de su acreditación.

La determinación de metales en suelos, lodos y sedimentos sería un gran comienzo para la validación de diferentes métodos de análisis que puede ofrecer la compañía a sus clientes. Esto permitiría a SIAMA S.A.S posicionarse regionalmente como un laboratorio integral ya que no solo ofrecería servicios de análisis fisicoquímicos y microbiológicos en aguas y alimentos, también en matrices tales como suelos, lodos, y sedimentos.

Dentro del proceso de ampliación en la capacidad técnica y operativa de los laboratorios de la empresa SIAMA S.A.S se tiene contemplado realizar procesos de validación de métodos dentro de los cuales se encuentra la determinación y cuantificación de metales pesados como Cd, Cr, Cu, y Zn en las matrices suelos, lodos y sedimentos mediante espectroscopia de absorción atómica a través de la evaluación estadística de desempeño de dicho método.

Dicho lo anterior, muchas empresas dedicadas al agro, al tratamiento y biorremediación de suelos, entes ambientales que supervisan el control, protección y conservación de suelos, plantas de tratamiento de aguas residuales que procesan lodos con el fin de obtener fertilizantes y otros productos de valor agregado, podrían tomar determinaciones basadas en los resultados soportados a través de procesos de validación de los métodos en el laboratorio (Molina & Bermudez, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Validar el método analítico para la determinación de metales totales Cd, Cr, Cu y Zn en las matrices de suelos, lodos y sedimentos de acuerdo con las normas internacionales EPA 3050 B; EPA 3051 A Y EPA 7000 B.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer el documento “Protocolo para la determinación de metales en suelos, lodos y sedimentos” establecido por SIAMA S.A.S.
- Establecer los parámetros de validación necesarios según los requerimientos del laboratorio y las condiciones óptimas para el desarrollo del método.
- Ejecutar el procedimiento analítico para la determinación de metales en las matrices de suelos, lodos y sedimentos para los metales Cd, Cr, Cu y Zn.
- Evaluar con herramientas estadísticas que los resultados obtenidos de la validación cumplan con los criterios de aceptación establecidos tanto por las normas internacionales como por el laboratorio de SIAMA S.A.S.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 METALES PESADOS

La mayoría de los elementos que componen la corteza terrestre son metales. Algunos de estos están presentes en muchos ciclos biogeológicos y son considerados micronutrientes, al ser necesarios para el buen funcionamiento de nuestro organismo, estos interactúan a través de diferentes mecanismos que restringen concentraciones anormales o intolerables en nuestro cuerpo, evitando así; una bioacumulación de metales. Sin embargo, hay una serie de metales que representan significativamente grandes problemas ambientales de contaminación de suelos, fuentes hídricas de todo tipo y de salud pública conocidos como metales pesados o metales tóxicos. Los metales se definen con base a sus propiedades físicas en el estado sólido como lo son: alta reactividad, alta conductividad eléctrica y térmica, y propiedades mecánicas como fuerza y ductilidad. (Hernández Picazo, 2014)

El término “metal pesado” se usa a menudo con connotación de contaminación y toxicidad, sin embargo, no es un término totalmente satisfactorio ya que conduce a algunas confusiones. Inferimos como pesado a una alta densidad y metal a un elemento puro o una aleación de elementos metálicos. Pero realmente, no existe una correlación directa entre la densidad de un elemento con los efectos biológicos que este pudiese presentar (Duffus, 2002).

Aquellos metales sin funciones biológicas, que pueden desencadenar efectos tóxicos y letales; son elementos químicos que mayoritariamente poseen densidades mayores o iguales a 5 g/cm^3 , masas atómicas por encima de 20 u, y no son favorables a pesar de encontrarse en concentraciones bajas. Algunos de estos elementos son: Cromo (Cr), manganeso (Mn), níquel (Ni), molibdeno (Mo), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), entre otros (Calderón, 2011).

4.1.1 Presencia de metales pesados en el suelo

La presencia de metales en suelos puede derivarse de fuentes geogénicas y antropogénicas. Emisiones volcánicas, lixiviados de mineralización, meteorización de rocas; corresponden a procesos geológicos naturales que liberan cantidades de metales en los suelos no comparables en relación con las derivadas de fuentes antropogénicas (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). Dentro de las actividades humanas que proporcionan metales en cantidades desproporcionadas a los suelos, encontramos tales como; actividades agrícolas, mineras y de explotación de metales, generación de electricidad, actividades industriales, producción de químicos, pigmentos, tintes, curtido de pieles y residuos domésticos los cuales están compuestos hasta un 10% de metales (Dorronsoro & García, 2005). Estas actividades humanas rompen equilibrios geodinámicos naturales en el ambiente, causando la degradación de suelos, fuentes hídricas y según sea su biodisponibilidad son asimilados y absorbidos por otros organismos.

Tabla 1. Principales fuentes de contaminación de metales.

Metales	Usos principales en la industria
Cd	Galvanización, pigmentos, baterías, aleaciones
Cr	Metalurgia, materiales refractarios, galvanización, curtidos, pinturas, conservación de madera, industria química
Cu	Industria eléctrica, industria automovilística, construcciones, fontanería, conservación de madera, alguicidas
Zn	Aleaciones, baterías, galvanización, pintura, productos agrícolas, cosméticos, y medicinales.

Fuente: Garcia I, Dorronsoro C. 2005. Contaminación por metales pesados. En: Tecnología de suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/proced.htm>

4.1.2 Toxicidad de los metales

Muchos metales depositados en los suelos, lodos y sedimentos son transportados por los ríos, o absorbidos por las plantas causando disminución en su crecimiento y amarillamiento de sus hojas, en cuerpos humanos pueden causar erupciones cutáneas, malestar de estómago, úlceras, problemas respiratorios, debilitamiento del sistema inmune, daño en los riñones e hígado, cáncer de pulmón, afecciones cardíacas, óseas y del sistema nervioso central y periférico, e incluso hasta la muerte en altas concentraciones (Nava-Ruíz & Méndez-Armenta, 2011).

Tabla 2. Fuentes antrópicas que causan contaminación por liberación de metales.

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

Fuente: BAUTISTA Z, Francisco. *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. Ediciones de la universidad autónoma de Yucatán. UADY, 1999, p.37.

El cadmio es un elemento metálico blanco plateado considerado entre los metales más tóxicos debido a tener la más alta movilidad en el ambiente acuático; encontrándose mayormente en aguas superficiales y subterráneas. Posee una masa atómica de 112,41u y su estado de oxidación más estable es +2 (Manjarrez Paba et al., 2008). Es persistente en el ambiente, bioacumulable y además está presente como subproducto del tratamiento metalúrgico del zinc y plomo. A partir del sulfuro de cadmio, se forman óxidos de cadmio; los cuales se encuentran en múltiples aplicaciones industriales (Duffus, 2002). La población humana está expuesta al cadmio por dos vías principalmente; vía oral, a través de la ingesta de agua y comida contaminada con cadmio como vegetales, pescado, frutas, cereales, granos y por la inhalación de partículas de cadmio en actividades industriales donde se relacionan directamente con este metal o por el consumo de tabaco o exposición del humo de este.

Diferentes investigaciones han denominado al cadmio como una sustancia cancerígena absorbida fácilmente por los pulmones causando cáncer de pulmón y otras afecciones respiratorias (Watanabe et al., 1987). El cadmio es transportado por la sangre y distribuido inicialmente al hígado y riñón, afectando diferentes tejidos hasta causar disfunciones e insuficiencias renales. En el corazón produce arterosclerosis aortica y coronaria e incremento de ácidos grasos y colesterol, entre otros efectos más (Saldivar de R. et al., 1991). La concentración natural de Cadmio en el suelo es generalmente $<1,00 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, sin embargo, este metal se encuentra en concentraciones mayores de forma natural asociado a minerales de zinc. En pH mayores a 6,5 se encuentra predominantemente la especie de Cd soluble Cd^{2+} siendo un indicador de contaminación en dicho suelo

El cobre es un elemento de aspecto metálico rojizo, a diferencia de otros metales es un elemento esencial del metabolismo humano considerado relativamente no tóxico; solamente en exceso puede manifestar toxicidad causando daños en el sistema digestivo, riñón e hígado (Alvarez Castillo & Coral Carrillo, 2019).

Se caracteriza también por su maleabilidad, ductilidad y capacidad de conducción de calor y electricidad. Debido a sus propiedades eléctricas más del 75% del cobre que se produce se utiliza en la industria eléctrica.

El cromo es un metal blanco plateado, brillante, resistente a la corrosión, se encuentra en estados de oxidación +2, +3, y +6 dentro de los cuales el estado hexavalente Cr (+6) presenta altas toxicidades, ya que tiene la capacidad de penetrar con mayor facilidad por cualquier vía atravesando membranas celulares en comparación con derivados del Cr (+3), el cual es considerado como un oligoelemento indispensable en muchos procesos metabólicos (Cuberos et al., 2009). Su biodisponibilidad y movilidad hace del cromo (+6) un elemento de alta toxicidad, clasificado por la IARC (International Agency for Research on Cancer) en el grupo I-cancerígeno comprobado en humanos ya que la exposición ocupacional de este metal puede causar cáncer de pulmón (Téllez et al., 2004).

El zinc es un elemento metálico de aspecto azul grisáceo, forma gran variedad de sales solubles en agua. Es necesario para el crecimiento adecuado de la mayoría de los cultivos y forma parte de varios cientos de enzimas en nuestro organismo. En suelos no contaminados se encuentra distribuido en concentraciones promedio de 50 mg/Kg con movilidad baja. Aunque la toxicidad del zinc es menos común, suelos con pH bajo favorecen su movilidad, lo cual es peligroso en suelos contaminados por actividades mineras, residuos de industrias metalúrgicas y electrónicas causando daños en la vegetación circundante al suelo contaminado por dicho exceso (Calderón, 2011). Se han demostrado algunos efectos adversos ante dosis medianamente elevadas causando anemia, leucopenia (Nivel bajo de glóbulos blancos en la sangre que puede interferir con la habilidad de combatir una infección), en los hombres incremento en el riesgo de desarrollar cáncer de próstata. La inhalación de altas concentraciones de este metal; puede causar neumonitis y síndromes respiratorios (Rubio et al., 2007).

4.2 MARCO LEGAL

En Colombia, la política nacional para la gestión integral ambiental del suelo GIAS tiene como fin la gestión sostenible y responsable del suelo. Se atiende a la planificación, ejecución, monitoreo y evaluación de acciones para la conservación de los suelos, en un contexto territorial y social definido, dando cumplimiento a los aspectos de protección ambiental de los ecosistemas (Política Nacional Para La Gestión Integral Ambiental Del Suelo (GIAS), 2013). Actualmente no existe un decreto o resolución en Colombia, que regule la máxima concentración de metales permitida para los suelos, lodos y sedimentos, por tanto; muchas empresas atienden a resoluciones o normativas de otros países como parámetros de referencia. En relación con suelos en actividades muy específicas, se conocen algunos decretos como:

4.2.1 Decreto 1287 del 2014

En Colombia, el decreto 1287 del 2014 rige los “criterios para el uso de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales” (Ministerio de Vivienda Ciudad y Territorio, 2014). Este documento da a conocer los valores máximos permitidos de metales en los biosólidos generados a partir del tratamiento de aguas residuales y lodos obtenidos de las diferentes etapas del proceso, para su posterior categorización, disposición final y uso si es posible; en otras áreas productivas. En la categoría A, los biosólidos podrían destinarse a zonas verdes, agricultura, arborización, entre otros usos teniendo en cuenta algunas restricciones. En la categoría B, los biosólidos podrían destinarse a plantaciones forestales, mejoramiento de suelos degradados, como insumos para la producción de abonos orgánicos y materiales para construcción, en la remediación de suelos contaminados entre otras aplicaciones.

Aquellos que no cumplan con los valores correspondientes a las categorías A y B, tendrán como disposición final rellenos sanitarios habiendo sido ya caracterizados.

Tabla 3. Valores máximos permisibles de categorización de biosólidos para su uso.

CRITERIO	VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA	CATEGORIA BIOSOLIDO	
			Valores máximos permisibles	
			A	B
QUÍMICO-METALES Concentraciones máximas	Arsénico (As)	mg/Kg de biosólido (base seca)	20,0	40,0
	Cadmio (Cd)		8,0	40,0
	Cobre (Cu)		1000	1750
	Cromo (Cr)		1000	1500
	Mercurio (Hg)		10,0	20,0
	Molibdeno (Mb)		18,0	75,0
	Níquel (Ni)		80,0	420
	Plomo (Pb)		300	400
	Selenio (Se)		36,0	100
	Zinc (Zn)		2000	2800

Fuente: Ministerio de Vivienda Ciudad y Territorio. (2014). Decreto 1287 Del 10 de Julio De 2014 “Por el cual se establecen criterios para el uso de los biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales”.

4.2.2 Decreto 50 del 16 de enero 2018

El decreto 50 del 2018, en el cual se dictan regulaciones de ordenamiento del recurso hídrico y vertimientos, considera la importancia de establecer una línea base del suelo realizando una caracterización fisicoquímica y biológica del suelo, relacionada con el área de disposición del vertimiento.

Aquella línea base considera la importancia de analizar metales como Hierro, Arsénico, Selenio, Cadmio, Cromo, Plomo, entre otros metales, parámetros fisicoquímicos y biológicos. Destacando que dichos análisis deben realizarse en laboratorios acreditados por el IDEAM (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2018) (Decreto 50 16 De, 2018).

Para suelos ambientales, la gran mayoría de laboratorios acreditados en el análisis y cuantificación de metales utilizan como referencia para la caracterización del impacto ambiental en suelos; el numeral 549 del protocolo de Louisiana 29B (Department of Natural Resources of The United State, 2000) en el cual se establecen los criterios a demostrar como requisitos de evaluación de la eficacia de un tratamiento, es decir: después de finalizar la fase de tratamiento de un suelo para volver a ingresar a una fase de aplicación:

Tabla 4. Requisitos de las instalaciones de tratamiento de suelos.

PARAMETRO	LIMITACIÓN
Metales totales (ppm)	
Arsénico, As	40
Cadmio, Cd	10
Cobre, Cu	1500
Cromo, Cr	1000
Mercurio, Hg	10
Molibdeno, Mo	18
Níquel, Ni	420
Plata, Ag	200
Plomo, Pb	300
Selenio, Se	10
Zinc, Zn	2300

Fuente: Department of Natural Resources of The United State. "Louisiana Standard 29B Section XIX - 549 (December 2000),

4.3 CUANTIFICACIÓN DE METALES EN SUELOS, LODOS Y SEDIMENTOS

Para poder evaluar de forma veraz el grado de contaminación de un suelo, lodo o sedimento; es necesario desarrollar metodologías analíticas confiables sustentadas en procedimientos y técnicas que respondan inequívocamente al propósito de análisis. Para la determinación de metales en suelos, lodos y sedimentos utilizaremos la técnica instrumental de espectroscopia de absorción atómica.

4.3.1 Fundamento teórico

La espectrofotometría de absorción atómica está fundamentada en la capacidad que tienen los elementos en su estado atómico basal de absorber radiación electromagnética a longitudes de onda específicas para cada elemento. Kirchhoff formuló *“Cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda”* (Razmilic, 2017).

En absorción atómica interesa medir la absorción de la radiación específica para cada elemento al hacerla pasar a través de una población de átomos libres en estado fundamental.

4.3.2 Descripción de la técnica

La muestra se nebuliza mediante un flujo continuo de gas oxidante y gas combustible, dirigiéndose a la llama para ser atomizada. La llama tiene como función convertir el aerosol de la muestra en un vapor atómico a través de diferentes procesos interconectados (Skoog et al., 2008). El vapor atómico absorbe la luz de una fuente primaria (lámpara de cátodo hueco o lámpara de descarga sin electrodos según el metal a determinar). La señal de la lámpara, que pasa por la llama, llega posteriormente a un monocromador, para aislar así; la longitud de onda de interés de otras interferencias. Esta señal de radiación pasa a un detector a través de un amplificador y finalmente a un sistema de lectura.

Cada metal tiene su propia longitud de onda de absorción característica, por tanto, es necesario como fuente luminosa; una lámpara compuesta de dicho elemento; la cantidad de energía absorbida en la llama será proporcional a la concentración del elemento en la muestra, en un intervalo de concentraciones (Razmilic, 2017).

4.3.3 Generalidades de la técnica

La atomización, primera etapa del proceso de la técnica, consiste en la aspiración por un tubo capilar de una solución de la muestra donde se encuentra el elemento o metal de interés en un estado disociado, no excitado, no ionizado y en su nivel de mínima energía (Cardenas Gonzales, 2005), dicha solución se conduce a un nebulizador para la formación de una niebla de pequeñas gotas. Luego de ello, se produce la desolvatación y volatilización de la muestra, es decir; se evapora el disolvente para obtener un aerosol molecular sólido que pasa a estado gaseoso. Y, por último, la disociación de dichas moléculas formándose una nube atómica gaseosa.

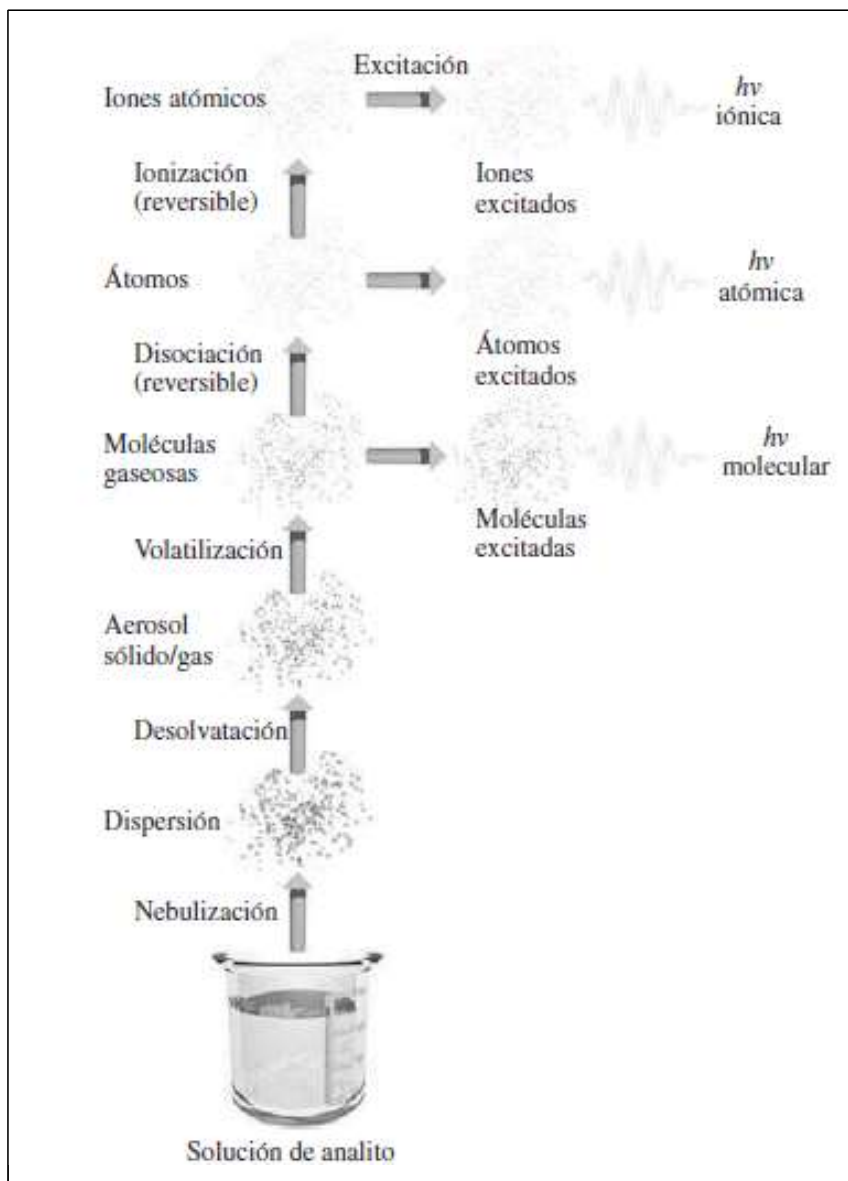
Los átomos son irradiados por un haz de luz de una longitud de onda específica de acuerdo con el metal a determinar, absorbiendo una fracción de la radiación proveniente de la lámpara proporcional a la concentración del metal en la muestra.

- **Instrumentación de Espectroscopia de absorción atómica**

El espectrofotómetro de Absorción atómica se compone en:

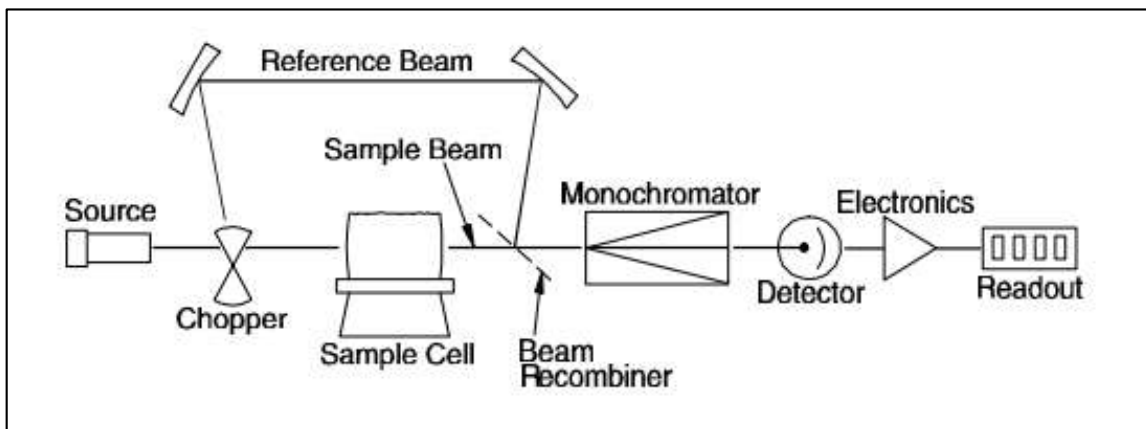
- ✓ **Fuente de radiación:** Emite radiación característica que es absorbida por el analito en la muestra.
- ✓ **Atomizador:** Proporciona átomos en estado fundamental a través de energía térmica en un proceso de atomización. La mezcla de oxidante-combustible (aire-acetileno) tiene la capacidad de alcanzar temperaturas hasta de 2400 °C.
- ✓ **Monocromador:** Selecciona la longitud de onda específica enfocándola sobre el detector, controlando así la pureza de la señal dispersando interferencias espectrales, es decir; radiación de longitud de ondas no deseadas.
- ✓ **Detector:** Transforma la señal óptica en señal electrónica.

Figura 1. Procesos en la atomización por llama.



Fuente: Principios de análisis Instrumental. Douglas A. Skoog; James Holler; Stanley R. Crouch. Sexta edición. CENGAGE Learning 2008. Pag 231.

Figura 2. Esquema espectrofotómetro de absorción atómica de doble haz



Fuente: The Perkin-Elmer Corporation. (1996). Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy.

4.2 VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

La validación de un método analítico es una actividad fundamental no evadible que permite confirmar experimentalmente que el procedimiento analítico llevado a cabo es adecuado para su uso previsto y, por lo tanto, que los resultados son coherentes y válidos. Los métodos utilizados en un laboratorio de análisis químico han de ser evaluados y sometidos a prueba, es decir, han de ser validados. Permitiendo así, conocer las características de desempeño que demuestren un alto nivel de confianza y fiabilidad en el mismo y en los resultados obtenidos a través de dicho método (Anderson, 2010).

Son validados aquellos métodos analíticos no normalizados desarrollados por el laboratorio, métodos nuevos, o métodos normalizados a los cuales se les haya realizado modificaciones significativas. Sin importar cuál sea el caso, el objetivo de la validación es determinar con fundamentos estadísticos la idoneidad del método para su fin específico, de manera que la validación se efectúe de forma metódica, consistente, trazable, ordenada, y confiable (ICONTEC NTC-ISO/IEC, 2017).

4.2.1 Parámetros de validación

La validación de un método analítico comprueba que el procedimiento utilizado cumple con ciertos criterios que son: linealidad, robustez, veracidad, precisión, repetitividad, reproducibilidad, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, entre otros dependiendo del tipo de método a validar (Londoño Carvajal et al., 2010).

Tabla 5. Parámetros de validación en métodos analíticos.

PARÁMETRO POR EVALUAR	MÉTODO CUALITATIVO	MÉTODO CUANTITATIVO		
		NORMALIZADO	MODIFICADO	NUEVO
Veracidad (sesgo)	No	Si	Si	Si
Repetibilidad	No	Si	Si	Si
Reproducibilidad	No	No	Si aplica	Si
Límite de detección	Si	Si aplica	Si aplica	Si aplica
Límite de cuantificación	No	Si	Si	Si
Linealidad	No	Si aplica	Si aplica	Si
Selectividad	Si	Si aplica	Si	Si
Robustez	No	No	Si aplica	Si

Fuente: Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016).

4.2.1.1 Selectividad

La selectividad analítica se relaciona con “el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar” (Vessman et al., 2001). Este parámetro relaciona la capacidad en que otras sustancias interfieren en la identificación del analito, distinguiendo los efectos de las impurezas, las sustancias que reaccionan entre sí que podrían estar presentes en la matriz; entre otros aspectos.

4.2.1.2 Linealidad

La linealidad es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, de dar una respuesta o resultados instrumentales proporcionales a la cantidad del analito presente en la muestra. Se puede determinar la linealidad mediante gráficos en función de la respuesta o señal del instrumento vs las concentraciones de los patrones de calibración. Para ello en muchas ocasiones se realizan patrones de calibración con concentraciones que sobrepasen $\pm 20\%$ de las concentraciones esperadas (Eurolab España, 2016).

4.2.1.3 Sensibilidad

La sensibilidad es el cociente entre el cambio en la indicación de un sistema de medición y el cambio correspondiente en el valor de la cantidad objeto de la medición. En una regresión lineal, la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración (Duffau et al., 2010). Un método es sensible cuando tiene la capacidad de detectar con variaciones pequeños cambios o diferencias entre las concentraciones, es la capacidad de respuesta instrumental.

4.2.1.4 Exactitud

La exactitud constituye la combinación entre la veracidad y precisión de un método. La precisión indica el grado de concordancia entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas e independientes de un mismo objeto o de objetos similares, aplicando el mismo procedimiento experimental bajo condiciones específicas. Según las condiciones de experimentación; la precisión se puede expresar como: Repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. Usualmente se expresa en términos de la desviación estándar o el coeficiente de variación (%CV). Lo cual también es un indicativo de la variación producida por los efectos de los errores aleatorios.

La veracidad determina el grado de concordancia entre la media aritmética de un conjunto de datos experimentales y el valor de referencia aceptado, se expresa en términos de sesgo y porcentaje de recuperación. Para ello es necesario el uso de materiales de referencia certificados bajo la normativa ISO 17034:2016 ó adiciones a muestras de concentraciones conocidas. Entre más veraz y preciso sea un resultado analítico; es más exacto. (Duffau et al., 2010).

4.4.1.5 Límites

- **Límite de cuantificación:** Es la concentración mínima que puede ser medida con una exactitud y precisión aceptable.
- **Límite de detección:** Se define como la menor concentración de un analítico que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada a un nivel dado de confianza. También es definida como la concentración del analítico que se puede separar de un ruido de fondo con fiabilidad en una relación señal/ruido mayor a 3.

4.5 INCERTIDUMBRE EN LAS MEDIDAS ANALÍTICAS

En el aseguramiento de la calidad y la metrología en química, la incertidumbre tiene una importancia decisiva, ya que de ella dependen los resultados confiables y reproducibles en los laboratorios analíticos (Hechavarría Hernández & Arada Pérez, 2017). Sin importar que una serie de mediciones se realicen bajo condiciones idénticas, se obtendrán diferentes resultados los cuales oscilaran entre valores cercanos dentro de un rango. Dicha variabilidad se debe a que las mediciones analíticas tienen en sí mismas una incertidumbre asociada a ellas, debido a los errores inherentes en cada paso a seguir durante los análisis. Por ello, es necesario estimar la incertidumbre para darle al resultado de la medición un carácter de alta confiabilidad, demostrando la calidad del método y la trazabilidad del proceso de medición. (Delgado Alamilla et al., 2005).

Según la guía técnica Colombiana ISO-IEC 99:2019 Vocabulario Internacional de Metrología. Conceptos fundamentales y generales y términos asociados (VIM) se define la incertidumbre como el parámetro no negativo, que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando a partir de la información que se utiliza. La cual se debe estimar o expresar a partir de la combinación y evaluación de las diferentes fuentes de incertidumbre, las cuales se identifican y asocian entre sí en el proceso de medición con la finalidad de obtener un intervalo de valores en el cual se encuentra el valor verdadero bajo una probabilidad de cobertura (Schmid, Wolfgang & Lazos Martínez, 2000).

4.5.1 Fuentes de incertidumbre en las medidas analíticas

Denominamos fuentes de incertidumbre a todos los factores involucrados en la medición, en los cuales encontramos típicamente, por ejemplo: resultados de la calibración de los instrumentos, la incertidumbre del patrón o material de referencia certificado, repetibilidad de las lecturas, variaciones de las condiciones ambientales, la homogeneidad y estabilidad del mensurando, entre otros (Eurachem/Citac, 2012).

No es recomendable nunca invalidar alguna fuente de incertidumbre antes de cuantificar su contribución para poder ser comparada con las otras, lo cual nos permitiría afirmar si es o no significativa.

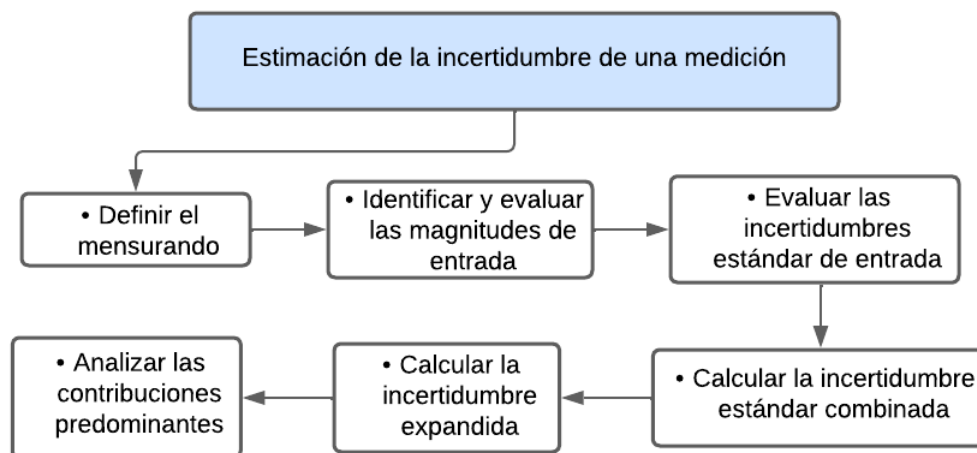
Todo aquello que afecta una medida introduce un error en su sistema de medición, según su comportamiento o de acuerdo con su naturaleza; los errores se pueden clasificar en: errores sistemáticos y errores aleatorios. El error aleatorio es el componente del error de medición que, en mediciones repetidas varía de manera impredecible, estos errores nunca se pueden corregir, solo es posible estimarlos a través de las diferentes variables no controladas en el proceso de medición. La forma de estimar los errores aleatorios es a través de la desviación estándar.

Por lo contrario; el error sistemático, es el componente del error de medición que en mediciones repetidas permanece constante o de manera predecible. Corresponden a errores sistemáticos; los errores asociados al entrenamiento o competencia del personal, los instrumentos y métodos utilizados. El sesgo de medición permite tener un valor estimado del error sistemático.

4.5.3 Evaluación de la incertidumbre en las medidas analíticas

El procedimiento para estimar la incertidumbre de medición según el método GUM (Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement) se muestra en el siguiente esquema:

Figura 3. Estimación de la incertidumbre de una medición.



Fuente: Autor.

Para cuantificar las fuentes de incertidumbre identificadas, existen dos métodos principales, los cuales corresponden a análisis estadísticos en una serie de mediciones; método de evaluación tipo A y tipo B; el cual comprende todas las demás formas posibles de estimar la incertidumbre.

4.5.3.1 Incertidumbre de tipo A

Es aquella incertidumbre basada en parámetros estadísticos, estimada a partir de los valores experimentales resultado de una serie de observaciones repetidas de la magnitud a medir (mensurando). Teniendo una serie de datos los cuales convergen a una tendencia central, podemos calcular el promedio (Ecuación 1) y la dispersión a través de una desviación estándar la cual implica la variabilidad de los datos (Ecuación 2). De esta manera, es posible decir que la incertidumbre de tipo A (Ecuación 3) es igual a la desviación estándar sobre la raíz de n, donde n es el número de datos obtenidos, entre mayor sea el número de observaciones n, mejor será dicha estimación.

En conclusión, la forma de tener una contribución a la incertidumbre por los efectos aleatorios en el sistema de medición ya controlado y caracterizado, donde la distribución no cambia; es a través de la dispersión y el número de mediciones, lo cual me permitirá obtener el componente de precisión, repetibilidad o incertidumbre de tipo A (Ecuación 4).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Ecuación 1

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Ecuación 2

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Ecuación 3

$$u_i = s_{\bar{x}}$$

Ecuación 4

4.5.3.2 Incertidumbre de tipo B

Las fuentes de incertidumbre de tipo B son cuantificadas a través de evaluaciones anteriores e información externa y adicional. Por ejemplo: tolerancia del material volumétrico, certificados de calibración de los equipos utilizados, registro de las magnitudes de influencia, registros operacionales de elementos utilizados en la medición, entre otros. Estas se calculan dependiendo de las funciones de probabilidad que se les aplique, ya sean distribuciones normales, triangulares o rectangulares.

4.5.4 Combinación de las incertidumbres

Teniendo en cuenta cada una de las incertidumbres estándar; es posible decir a través de la propiedad aditiva de la ley de la propagación y la combinación de incertidumbres, que la incertidumbre combinada de dos términos estadísticamente independientes es la suma cuadrática de sus incertidumbres típicas para así obtener la incertidumbre combinada estándar bajo un nivel de confianza del 68%. A través de dicha incertidumbre combinada, se puede determinar la incertidumbre expandida, es decir; darle mayor confianza a la incertidumbre con un factor que garantiza una probabilidad de cobertura. Para expandir dicha incertidumbre combinada, es decir; obtener la incertidumbre expandida es necesario multiplicar por un factor de cobertura. Este factor de cobertura se representa con la letra k y para un nivel de confianza del 95%, k es igual a 2.

4.5.5 Expresión de la incertidumbre

Si un resultado es emitido sin el valor de incertidumbre, puede considerarse un resultado incompleto, es por ello, que al emitir un informe de análisis el resultado en lo posible debe ir junto con la incertidumbre expandida U .

$$\text{Resultado} = X \pm U \text{ (unidades del mensurando)}$$

Ecuación 5

5. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este trabajo de grado se siguió la metodología que se muestra en la siguiente figura.

Figura 4. Metodología desarrollada trabajo de grado



Fuente: Autor.

5.1 VERIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

Se realizó la revisión de los procedimientos establecidos por el laboratorio SIAMA S.A.S teniendo en cuenta las normativas internacionales EPA 3050B, EPA 3051A Y EPA 7000B; con el fin de conocer los materiales, reactivos en cantidades suficientes y equipos requeridos para el desarrollo de los análisis y del proceso de validación.

5.1.1 Equipos y materiales

Para la realización del procedimiento analítico para la determinación de metales en las matrices suelos, lodos y sedimentos, fueron necesarios los siguientes equipos y materiales, teniendo en cuenta las verificaciones y calibraciones requeridas dentro del aseguramiento metrológico, garantizando así óptimas condiciones de funcionamiento para obtener resultados de análisis confiables:

- Balanza analítica Mettler AE160: La empresa INGENIERÍA Y SOLUCIONES EN CALIBRACIÓN S.A.S, realizó la verificación y calibración de la balanza analítica del laboratorio de Físicoquímica de SIAMA S.A.S expidiendo el certificado de calibración;
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica: Perkin Elmer AAnalyst 400 AA Spectrometer por llama directa con una capacidad de lectura en un rango de 190-800 nm y dotado con todos los accesorios para su funcionamiento (Quemadores, válvulas, mangueras, lámparas de cátodo hueco y de descarga sin electrodos para los metales de interés, etc.)
- Sistema de digestión por microondas: Microwave Digestion System Multiwave GO Anton Paar con tubos de digestión en PTFE-TFM
- Horno de secado termostáticamente controlado, con ventilación forzada capaz de mantener una temperatura uniforme en toda la cámara de secado
- Desecador con sílice gel
- Plancha de calentamiento SCHOTT
- Campana extractora de humos ÁCEQUILABS
- Cápsulas de porcelana resistentes al peso de la matriz de la muestra, corrosión, al aseo continuo, cambio de masa, exposición de materiales de variado pH, estable a las temperaturas de evaporación y secado requeridas
- Mortero y pistilo
- Tamiz de malla, con una abertura de 2 mm ASTM No. 10 y 0,25 mm ASTM No.100
- Balones volumétricos Clase A de 25, 50 y 100 mL
- Pipetas aforadas Clase A de 1, 2, 5, y 10 mL
- Vasos de precipitado de 250 mL
- Tubos Falcón 50 mL
- Micropipeta 10-100 μ L y 100-1000 μ L
- Papel filtro
- Vidrio reloj
- Embudos de vidrio

- Espátulas
- Bolsas ziplock
- Bandejas plásticas.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado en los procedimientos fue lavado previamente antes de cada uso con jabón neutro y ácido nítrico al 10%, evitando así cualquier fuente de contaminación cruzada.

Figura 5. Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer AAnalyst 400



Fuente: Imágenes tomadas por el autor.

Figura 6. Microwave Digestion System Multiwave GO Anton Paar



Fuente: Imágenes tomadas por el autor.

5.1.2 Verificación de patrones y reactivos

Para el procedimiento de validación de las metodologías empleadas se requirió el uso de reactivos de grado analítico con el fin de asegurar la exactitud de los resultados obtenidos y el uso de patrones de referencia con certificado de pureza e incertidumbre, que permitieron dar certeza a los análisis, asegurando que los reactivos estuviesen libres de los analitos de interés.

- Agua destilada con conductividad < 2 $\mu\text{S}/\text{cm}$;
- Acetileno, grado absorción atómica
- Ácido nítrico concentrado, HNO_3 ; al 65% grado analítico
- Ácido Clorhídrico concentrado, HCl al 37% grado analítico
- Peróxido de hidrogeno al 30%
- Soluciones patrón trazables a SRM de NIST de 1000 mg/ Cd, Cu, Cr y Zn

- MCR Metals in soil
- MCR Metals in sewage Sludge
- MCR Trace metals – Fresh Water Sediment.

Figura 7. Materiales de referencia certificados para suelos, lodos y sedimentos.



Fuente: Imágenes tomadas por el autor.

5.1.3 Procedimientos experimentales

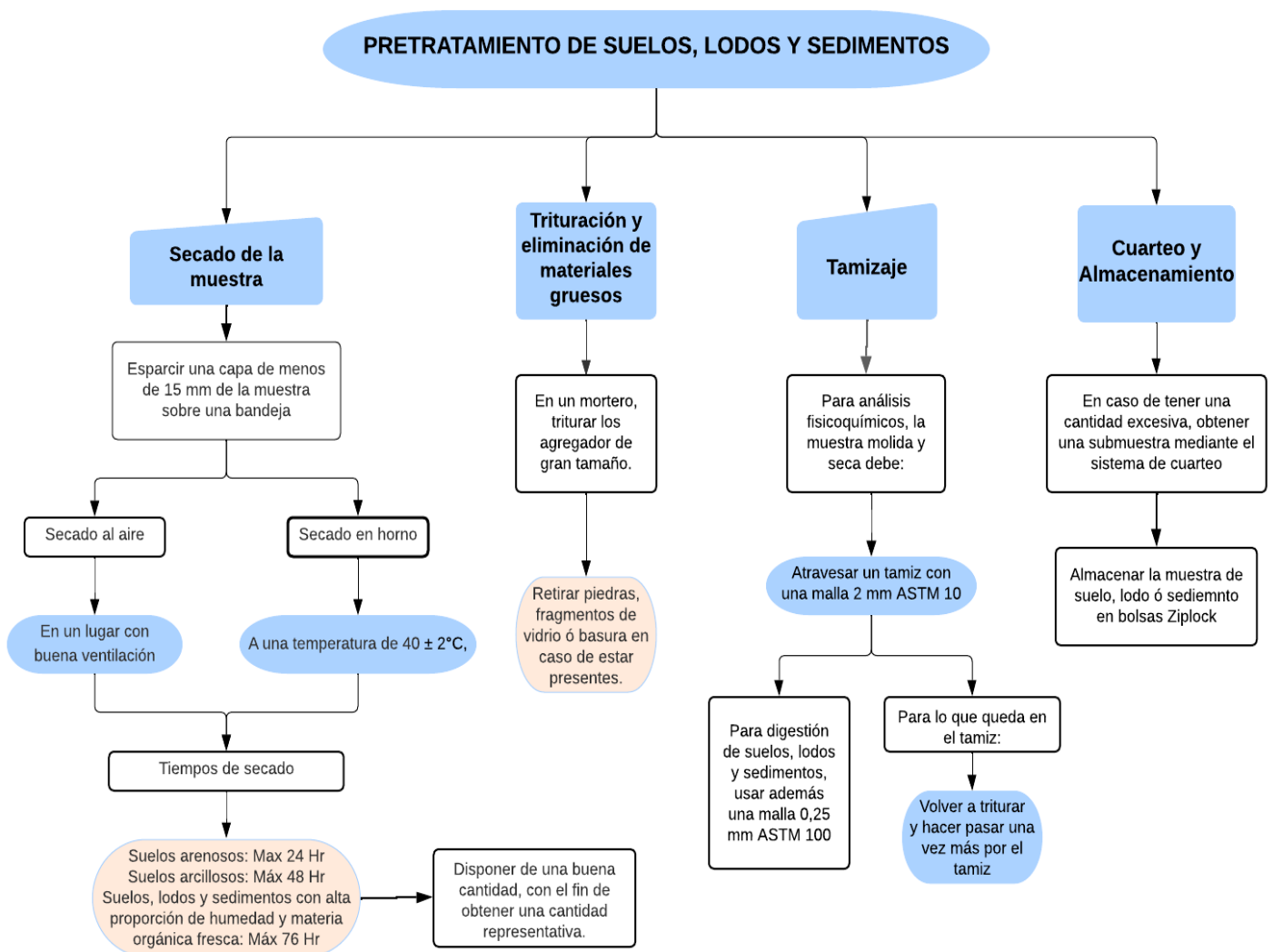
Normalmente, las muestras reales pueden tener una humedad significativa dificultando así la obtención de una muestra representativa. Bajo indicaciones de la normativa NTC-ISO 11464:1995 Gestión ambiental. Calidad del suelo. Pretratamiento de las muestras de suelo para análisis fisicoquímicos se realizó también un protocolo para el pretratamiento de muestras de suelos, lodos y sedimentos.

También se llevó a cabo la determinación de humedad en los materiales de referencia certificados y muestras de suelos, lodos y sedimentos bajo el procedimiento descrito en ISO 11465:1993 el fin de expresar los resultados de concentración de los metales de interés en unidades mg/Kg en base seca.

5.1.3.1 Pretratamiento de la muestra para análisis fisicoquímicos

Las muestras al llegar al laboratorio con la humedad del campo y sin disturbar deberán ser sometidas a un secado, para minimizar la actividad iónica y de la materia orgánica propiciada por la presencia del agua en la muestra y además, todo un proceso de preparación necesario para obtener una muestra homogénea y representativa.

Figura 8. Pretratamiento de suelos, lodos y sedimentos

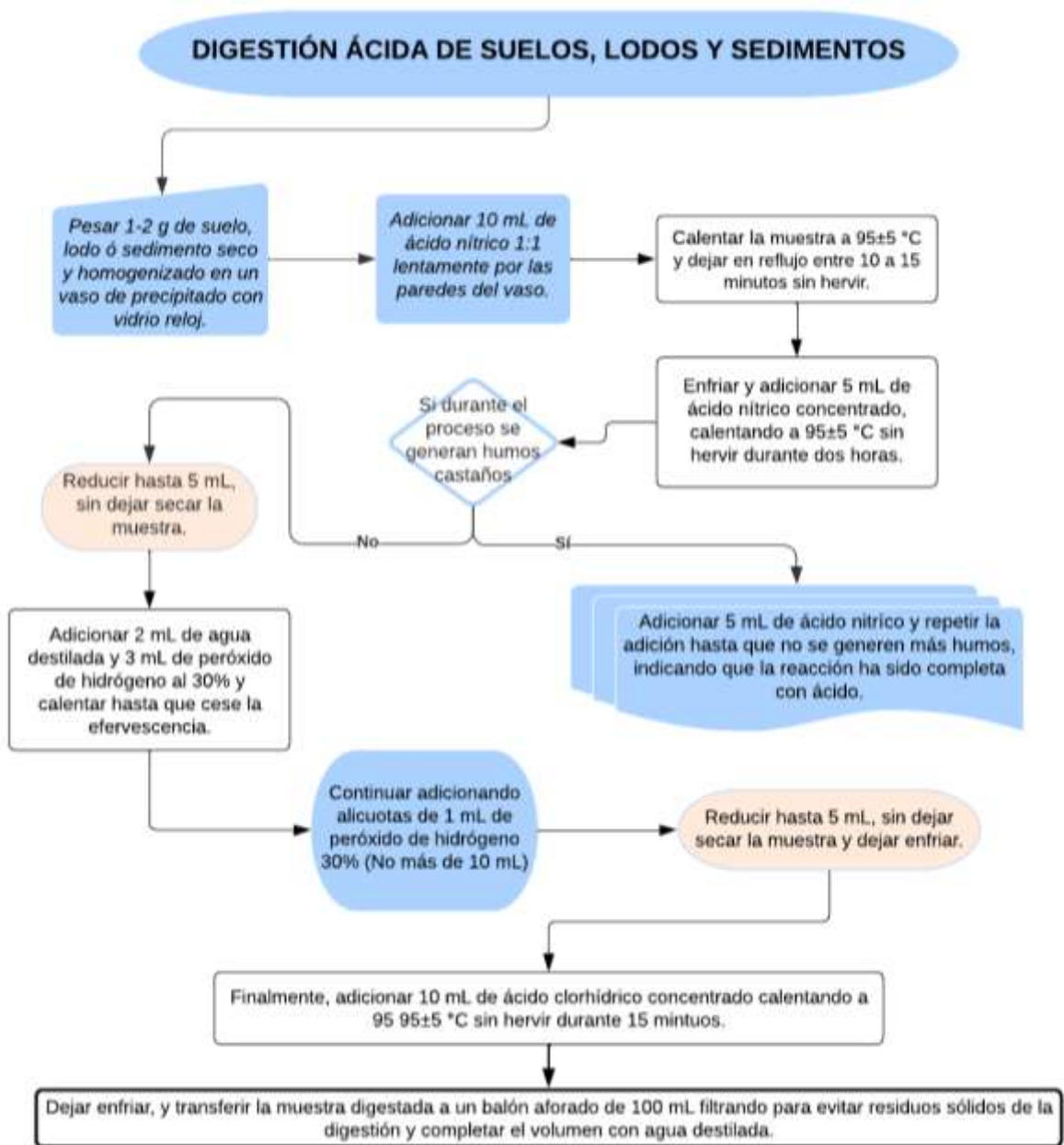


Fuente: Autor.

5.1.3.2 Digestión ácida de suelos, lodos y sedimentos

Se implementó el método de la U.S. EPA. 1996. "Method 3050B (SW-846): Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils," Revision 2. Washington, DC.

Figura 9. Procedimiento digestión ácida de suelos, lodos y sedimentos.

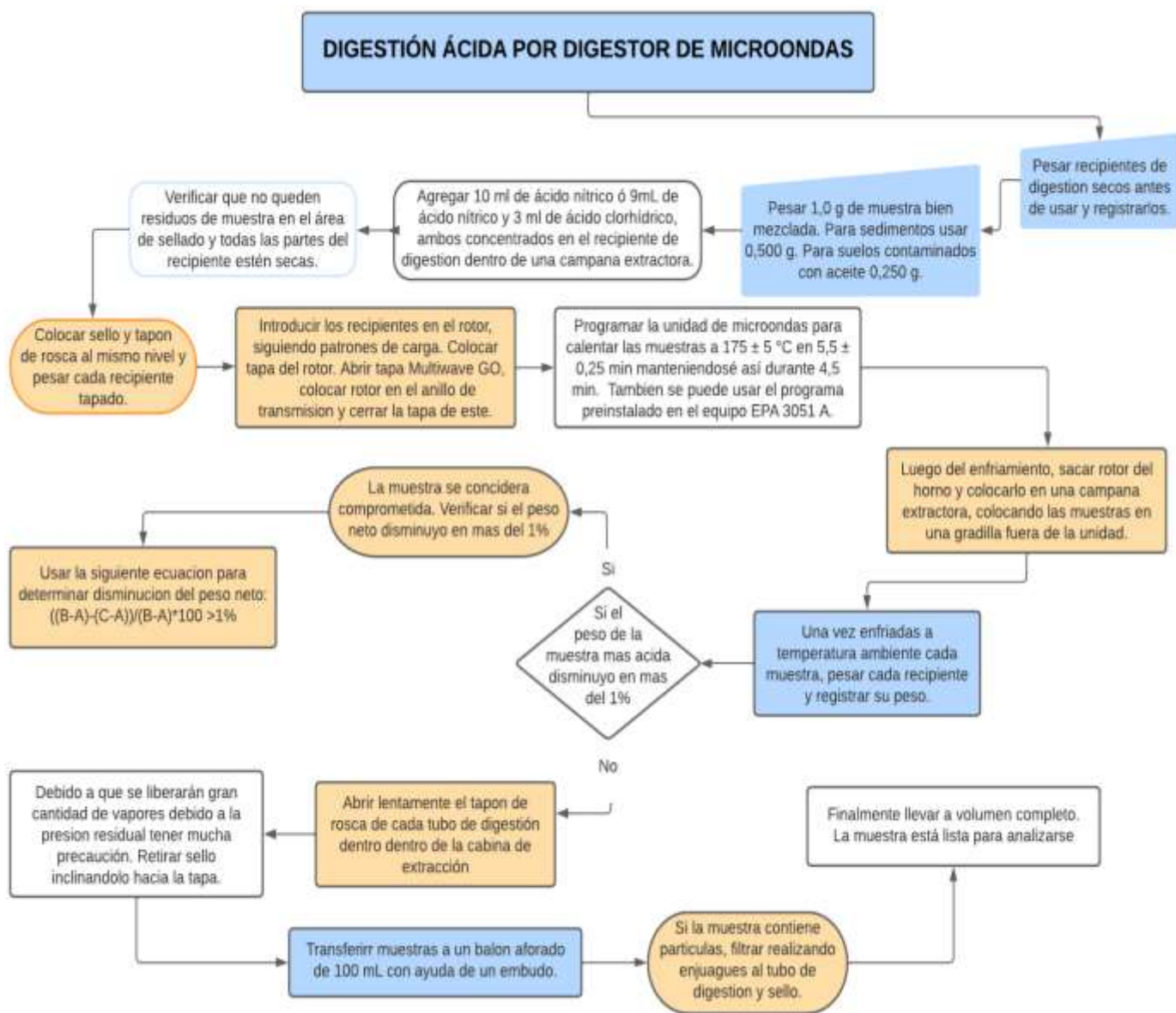


Fuente: Autor

5.1.3.3 Digestión ácida en el sistema digestor microondas – Multiwave GO

También se implementó el método de la U.S. EPA. 2007. “Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils,” Revision 1. Washington, DC.

Figura 10. Procedimiento digestión ácida asistida por microondas.



Fuente: Autor

5.1.4 Verificación del material volumétrico y equipos

Se realizaron las verificaciones del material volumétrico usado en el proceso de validación y las comprobaciones intermedias de temperatura en la plancha de calentamiento y el horno de secado con la ayuda de un termómetro patrón, con el fin de constatar que la variación de temperatura cumpliera con los rangos aceptados en el proceso de pretratamiento y en las etapas de digestión de las muestras.

Mientras el estado del sistema de digestión de microondas fue operativo, se realizaron las verificaciones de temperatura con un sistema sensor de temperatura anclado a él, proporcionado por el fabricante del equipo. Esta verificación consistía en calcular los errores absolutos con los datos obtenidos de temperatura fijada y temperatura experimental en un rango amplio de temperaturas, cubriendo las temperaturas requeridas para diferentes metodologías y normativas de digestión.

5.1 PARAMETROS DE VALIDACIÓN Y DESARROLLO DEL MÉTODO

Una vez garantizado el funcionamiento de los equipos, la disponibilidad de materiales y reactivos se procedió a considerar los parámetros de validación, especificaciones experimentales para los metales Cd, Cu, Cr y Zn en las matrices suelos, lodos y sedimentos según los requerimientos del laboratorio dentro del procedimiento de validación de métodos de ensayo.

5.2.1 Especificaciones experimentales

En la siguiente tabla se presentan algunas condiciones de trabajo para cada elemento sugeridas por el equipo, las cuales garantizan su buen funcionamiento y la validez de los resultados a obtener a través de él.

Tabla 6. Condiciones de lectura en espectrofotómetro de absorción atómica.

Elemento	Longitud de onda [nm]	Chequeo de sensibilidad [mg/L]	Flujo aire [L/min]	Flujo acetileno [L/min]	Ancho de rendija [nm]
Cadmio, Cd	228,80	0,50	5,16	2,50	2,7/1,35
Cromo, Cr	357,87	4,00	6,25	4,35	2,7/0,8
Cobre, Cu	324,75	1,00	7,80	2,18	2,7/0,8
Zinc, Zn	213,86	0,30	9,56	5,50	2,7/1,8

Es importante señalar que para realizar mediciones por la técnica de llama directa aire-acetileno es conveniente el uso de un quemador de titanio 100 mm, con el fin de mejorar la sensibilidad de la cuantificación, debido al aumento de la población de átomos en el proceso de atomización.

5.2.2 Linealidad

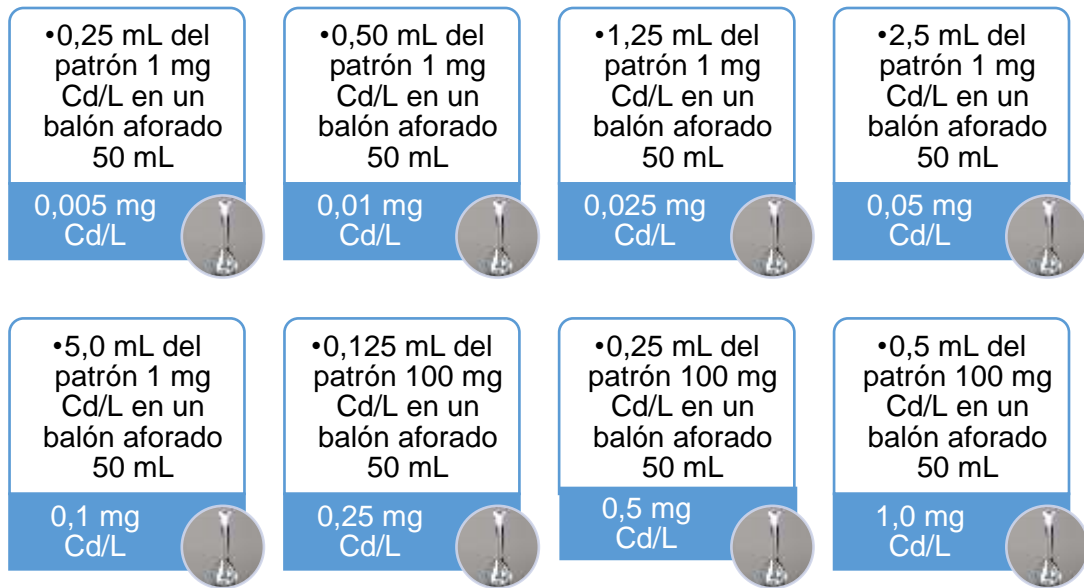
A partir de los patrones estándar de 1000 mg/L de los metales Cd, Cr, Cu y Zn se preparó una solución de 100 mg/L para cada uno de ellos. Para así, poder preparar las curvas de calibración teniendo en cuenta el rango lineal para cada metal ya establecido a través de curvas de calibración Ringbom anteriores y la información del software del equipo Winlab32 for AA.

Tabla 7. Rango lineal de los metales Cd, Cr, Cu y Zn.

Elemento	Rango lineal mg/L
Cadmio, Cd	0,005 – 1,0
Cromo, Cr	0,05 – 1,0
Cobre, Cu	0,01 – 2,0
Zinc, Zn	0,025 – 1,0

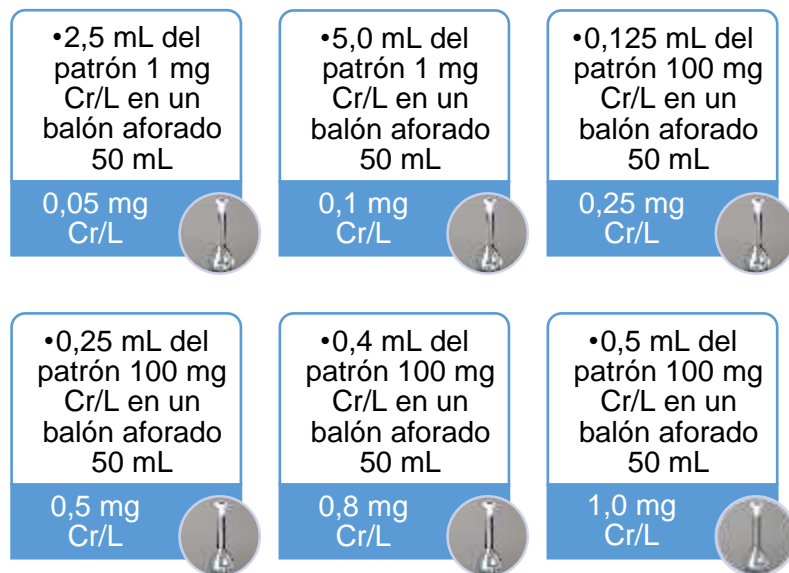
- **Cadmio**

Figura 11. Curva de calibración Cd



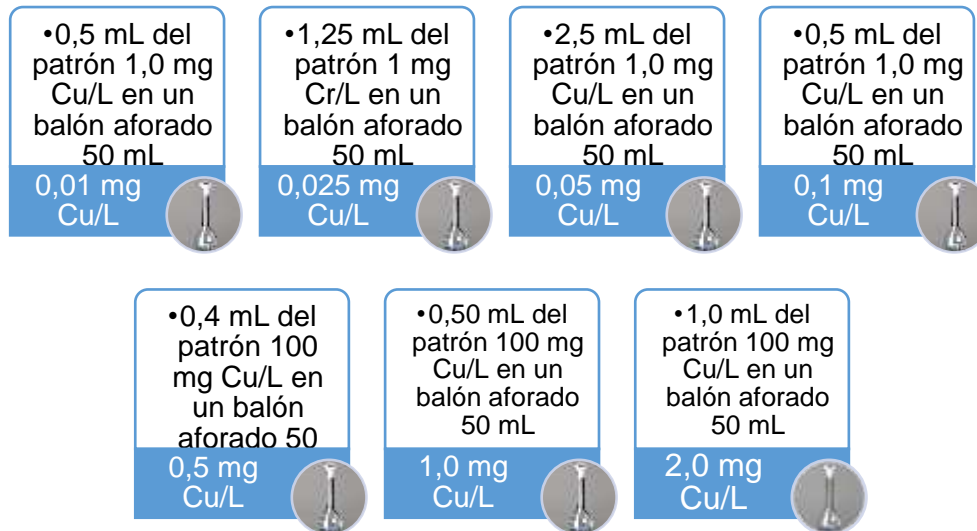
- **Cromo, Cr**

Figura 12. Curva de calibración Cr



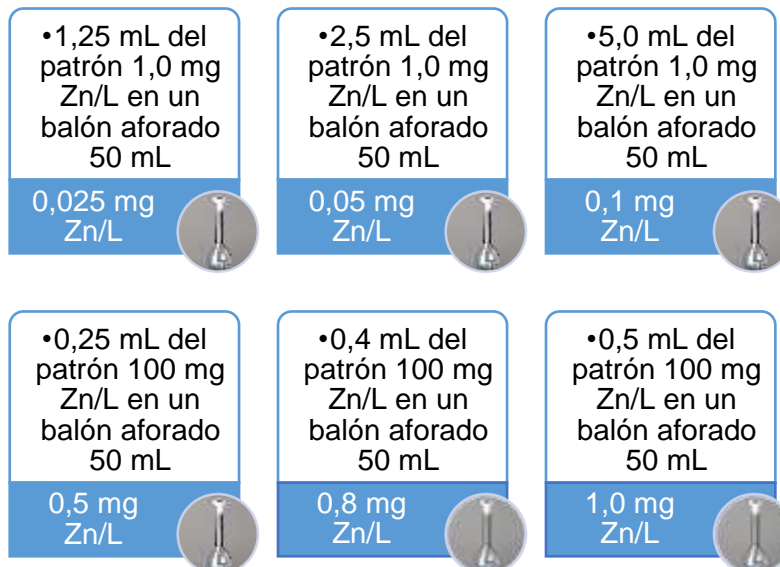
- **Cobre, Cu**

Figura 13. Curva de calibración Cu



- **Zinc, Zn**

Figura 14. Curva de calibración Zn



5.2.3 Diseño experimental de validación

Teniendo en cuenta el protocolo de validación de métodos de ensayo establecido internamente en el laboratorio se analizaron en cada corrida las siguientes muestras:

- Blancos de método, estándar de chequeo de sensibilidad y estándar de verificación de la curva de calibración para cada uno de los metales como control analítico dentro de los análisis.
- Materiales de referencia para cada matriz: suelos, lodos y sedimentos para evaluar la veracidad a través del sesgo.
- Muestras reales para evaluar la precisión. (Suelo Tibú, Sedimento tipo A, Lodo contimpres, dichas muestras provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales de la región oriental del país).

5.2.3 Parámetros de Validación

5.2.3.1 Límite de detección y cuantificación

Con las mediciones de blancos de método a través de la digestión abierta EPA 3050 B (10 réplicas independientes) se determinó el límite de detección (LDM) y límite de cuantificación (LCM) con las ecuaciones:

$$LDM = \bar{X} + 3s \quad \text{Ecuación 6}$$

$$LDM = \bar{X} + 10s \quad \text{Ecuación 7}$$

Adicionalmente, para determinar el límite de cuantificación experimental se fortificaron blancos de método a diferentes concentraciones cercanas al primer punto de la curva.

5.2.3.2 Linealidad

Se realizó para cada metal Cd, Cr, Cu y Zn un gráfico de concentración vs respuesta, teniendo en cuenta los estándares de calibración. Para evaluar el modelo lineal de la curva, se procedió a realizar una evaluación estadística de prueba t-student.

Se calculó un valor de t con n-2 grados de libertad para ser comparado con el valor tabulado t para el nivel de confianza requerido $\alpha = 0,05$, dos colas. Para rechazar la hipótesis nula H_0 de que no existe correlación entre **X** e **Y** el valor de t_r tendrá que ser mayor que t_{critico} evidenciándose así, la correlación lineal significativa con la probabilidad calculada para cada una de las curvas de calibración.

$$t_r = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Ecuación 8

Donde:

t_r = Valor del estimador t Student obtenido para el coeficiente de correlación

$|r|$ = Valor absoluto del coeficiente de correlación

n-2 = Número de grados de libertad

r^2 = Valor del coeficiente de determinación

5.2.3.2 Veracidad

La exactitud se estimó en términos de la veracidad y la precisión. La veracidad determinada por el sesgo en los materiales de referencia certificados de suelos, lodos y sedimentos para los metales Cd, Cr, Cu y Zn. Para ello se realizaron 6 rondas de digestiones; en cada una de ellas el material de referencia juntamente con su duplicado conservando las mismas condiciones del procedimiento (mismo método, equipo, cantidad de muestra digerida, volumen de aforo final, analista y en un periodo de tiempo corto).

La evaluación de la veracidad se realizó con la prueba t-student para el sesgo, la cual considera como hipótesis nula H_0 que la media es igual al valor de referencia, y la hipótesis alternativa H_a que la media es diferente al valor de la referencia. Cuando t calculado $<$ t crítico podemos decir que no hay sesgo significativo.

$$t_{cal} = \frac{|X_a - X|}{S * \sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

S= sesgo

X= lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas.

X_a = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

5.2.3.3 Precisión

La precisión a su vez se estimó mediante el cálculo del coeficiente de variación obtenido por la serie de datos obtenidos de materiales de referencia certificados analizados para las matrices suelos, lodos y sedimentos para los metales Cd, Cr, Cu y Zn y las mediciones obtenidas de muestras reales, una para cada matriz en un tiempo de periodo corto, conservando el mismo operador, equipo, método y condiciones ambientales de laboratorio.

5.2.3.4 Precisión intermedia

Debido a la disponibilidad de dos métodos de digestión para suelos, lodos y sedimentos según la EPA 3050 B y EPA 3051 A, se realizaron digestiones por el sistema microondas, aunque la cantidad de datos no es considerable, es posible a través del estadístico o prueba t para dos muestras con varianzas desiguales comprobar de esta forma, que no existe una diferencia significativa estadística entre los dos métodos lo cual nos permite tener la posibilidad de usar también el método de digestión asistida por microondas EPA 3051A, el cual es un proceso más controlado, robusto y se lleva a cabo en menor tiempo.

5.2.3.5 Porcentajes de recuperación

A cada una de las muestras de suelos, lodos y sedimentos se les realizaron fortificaciones a concentraciones conocidas para cada uno de los metales, con el fin de determinar el porcentaje de recuperación.

5.2.3.6 Pruebas Inter-laboratorio

Se presentó un ensayo de aptitud con el fin de evaluar el dominio del método por parte del analista y la capacidad instrumental del laboratorio en comparación con muchos otros laboratorios.

5.3 EJECUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Luego del proceso de revisión, verificación y establecer las figuras de mérito a llevar a cabo para el proceso de validación se procedió a realizar el pretratamiento de las muestras que lo requerían: Suelo Tibú, Sedimento tipo A y lodo contimpress, debido a su fuente de procedencia, fue necesario seguir pautas de seguridad y salud en la manipulación de estas.

Además, se organizó un plan de ejecución cronometrado para las digestiones abiertas, contemplando las lecturas de las muestras reales, estándares de control y materiales de referencias para cada metal conservando las condiciones de independencia y homogeneidad entre las muestras, dentro de los tiempos dispuestos y las especificaciones del plan de validación para la cuantificación de los metales totales Cd, Cr, Cu y Zn.

5.4 EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VALIDACIÓN

Posterior a los resultados obtenidos, considerando cada uno de los parámetros de desempeño del método establecidos y los criterios de aceptación establecidos por SIAMA S.A.S según normas internacionales para cada una de estas figuras de mérito, se determinó su fiabilidad y el cumplimiento de dichos requisitos especificados.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 CONDICIONES PRELIMINARES

6.1.1 Verificación de los reactivos

Se verificaron los certificados de análisis de los reactivos por parte de los proveedores, incluso se tuvo en cuenta el certificado de análisis del gas acetileno-grado absorción atómica con el fin de tener veracidad acerca de la pureza de dichos reactivos utilizados en el procedimiento, evitando de esta forma, cualquier contaminación en las mediciones. Debido a la pureza de estos reactivos no existe ninguna contribución, ya que se comportan como blancos, dando resultados menores al límite de cuantificación de cada uno de los metales.

Tabla 8. Análisis de los reactivos para las metodologías analíticas

Reactivo	Concentración mg Cd/L	Concentración mg Cr/L	Concentración mg Cu/L	Concentración mg Zn/L
Agua destilada	< LCM	< LCM	< LCM	< LCM
Ácido nítrico 65%	< LCM	< LCM	< LCM	< LCM
Ácido clorhídrico 37%	< LCM	< LCM	< LCM	< LCM

Fuente: Autor

6.1.2 Verificación del material volumétrico

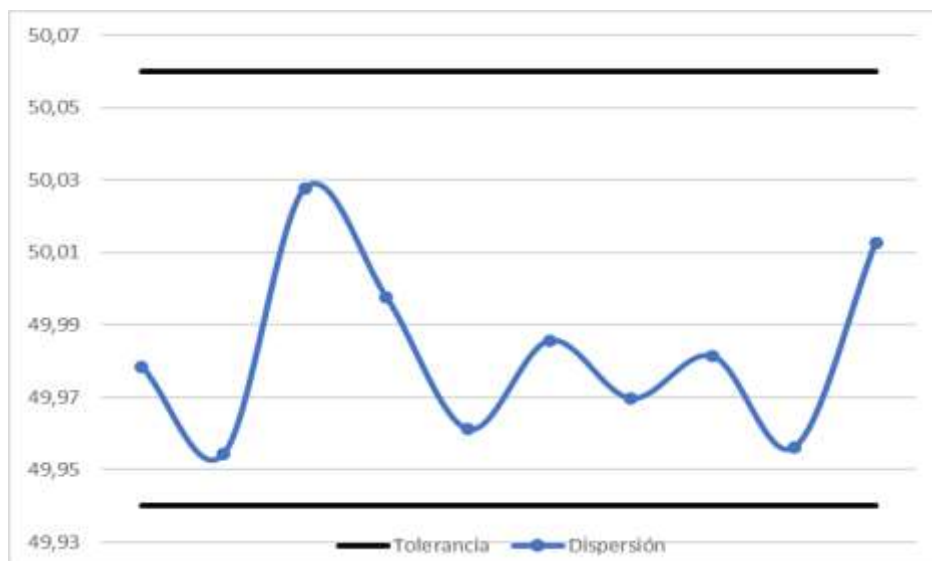
El material usado para la validación de los métodos fue verificado mediante una serie de mediciones de la masa según el volumen de agua destilada, teniendo en cuenta la determinación de la desviación estándar de cada uno de ellos para comprobar que sus dispersiones se encuentran dentro de la tolerancia.

Tabla 9. Verificación del material volumétrico

Medición	Micropipeta 10-100 µL	Micropipeta 100-1000 µL	Pipeta 5 mL	Pipeta 10 mL	Balón aforado 25 mL	Balón aforado 50 mL	Balón aforado 100 mL
M₁ (g)	0,1012	0,9989	5,0187	9,9842	25,0149	49,9785	99,9457
M₂ (g)	0,0997	1,0012	4,9976	9,9973	24,9987	49,9543	99,9789
M₃ (g)	0,1000	0,9995	4,9812	9,9784	25,0017	50,0069	99,9355
M₄ (g)	0,0998	0,9999	5,0125	9,9712	24,9997	49,9976	99,9124
M₅ (g)	0,0995	1,0009	4,9863	9,9849	24,9645	49,9819	99,9412
M₆ (g)	0,1012	0,9991	4,9875	9,9789	25,0125	49,9623	99,9596
M₇ (g)	0,1008	1,0003	5,0098	9,9873	24,9962	49,9697	99,9168
M₈ (g)	0,0997	0,9986	4,9816	9,9648	25,0187	49,9814	99,9643
M₉ (g)	0,1011	1,0012	4,9927	9,9899	25,0211	49,9562	99,9578
M₁₀ (g)	0,1003	0,9995	4,9936	9,9781	24,9236	50,0128	99,9632
Promedio [g]	0,1003	0,9999	4,9962	9,9815	24,9952	49,9802	99,9475
Desviación estándar	0,0007	0,0010	0,0133	0,0093	0,0299	0,0204	0,0214
Tolerancia	-	-	± 0,015	± 0,020	± 0,04	± 0,06	± 0,1

Fuente: Autor.

Tabla 10. Verificación balón aforado 50 mL



Fuente: Autor

6.1.3 Verificaciones perdidas de muestra en el microondas

Para la verificación de pérdidas de muestra en el microondas fue necesario tomar en el proceso de digestión diferentes masas para realizar el cálculo de la ecuación descrita en el procedimiento EPA 3051 A para las muestras digestadas, en todos los casos se obtuvieron perdidas menores al 1%. Por ejemplo, para una corrida (materiales de referencia y blanco de método) se obtuvieron los siguientes porcentajes de perdida.

Tabla 11. Verificación perdida de muestra digestión microondas EPA 3051A.

MUESTRA	PESO TUBO VACIO (g)	PESO TUBO CON MUESTRA Y REACTIVOS (g)	PESO DESPUES DE DIGESTION (g)	% PERDIDA
BLANCO MÉTODO	152,4713	167,0853	167,0807	0,03
MCR SUELO	152,3918	167,4511	167,4465	0,03
MCR SUELO-D	152,1782	166,8793	166,8503	0,20
MCR SEDIMENTO	152,4222	167,5028	167,4952	0,05
MCR SEDIMENTO-D	152,3765	167,2837	167,2789	0,03
MCR LODOS	152,6209	167,9896	167,9853	0,03
MCR LODOS-D	152,1561	167,0219	166,9778	0,30

6.2 VALIDACIÓN

6.2.1 Linealidad

Según bibliografía y las indicaciones dadas por parte del fabricante del equipo (Perkin Elmer) se utilizaron los siguientes rangos dentro de los cuales se presentan señales de respuesta lineales, al realizar las curvas de calibración para cada uno de los metales Cd, Cr, Cu y Pb, se verificó su linealidad. Los coeficientes de determinación cumplen con los parámetros aceptados por el laboratorio $r^2 > 0,995$ cumpliéndose, además la prueba estadística t-student para dos colas que evalúa el ajuste de los datos de regresión para cada uno de los metales.

Tabla 12. Rangos de linealidad para los elementos Cd, Cr, Cu y Zn.

Elemento	Rango lineal mg/L
Cadmio, Cd	0– 1,0
Cromo, Cr	0 – 1,0
Cobre, Cu	0 – 2,0
Zinc, Zn	0– 1,0

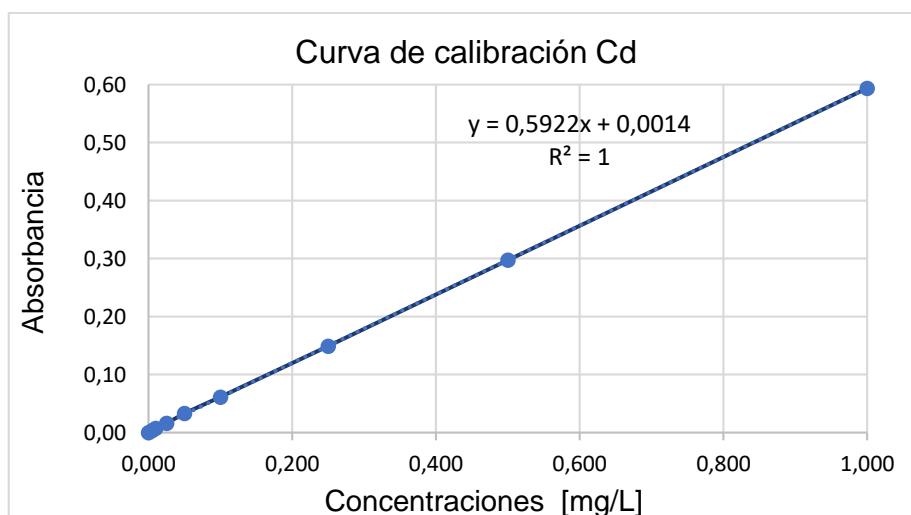
- **Cadmio, Cd**

Tomando los valores promedio de concentración y absorbancia, obtenidos a través de la realización de 3 curvas bajo un mismo rango de concentraciones de Cd en mg/L, se realizó la curva de calibración promedio de Cd. Se obtuvo un coeficiente $r^2= 0,9999$. A través de esto; se demostró la linealidad en el rango de concentraciones utilizadas, tomando dicho intervalo como el rango de trabajo de Cd para el proceso de validación.

Tabla 13. Curvas de calibración Cd.

Curvas de calibración Cd				
Concentración [mg Cd/L]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,005	0,003	0,004	0,004	0,004
0,010	0,007	0,007	0,008	0,007
0,025	0,014	0,015	0,019	0,016
0,050	0,030	0,032	0,038	0,033
0,100	0,060	0,065	0,059	0,061
0,250	0,150	0,148	0,149	0,149
0,500	0,296	0,310	0,286	0,297
1,000	0,593	0,645	0,543	0,594
Pendiente m	0,59268	0,64049	0,54345	0,59221
Intercepto b	0,00036	-0,00184	0,00575	0,00142
r^2	0,99999	0,99967	0,99952	0,99999

Figura 15. Curva de calibración promedio Cd



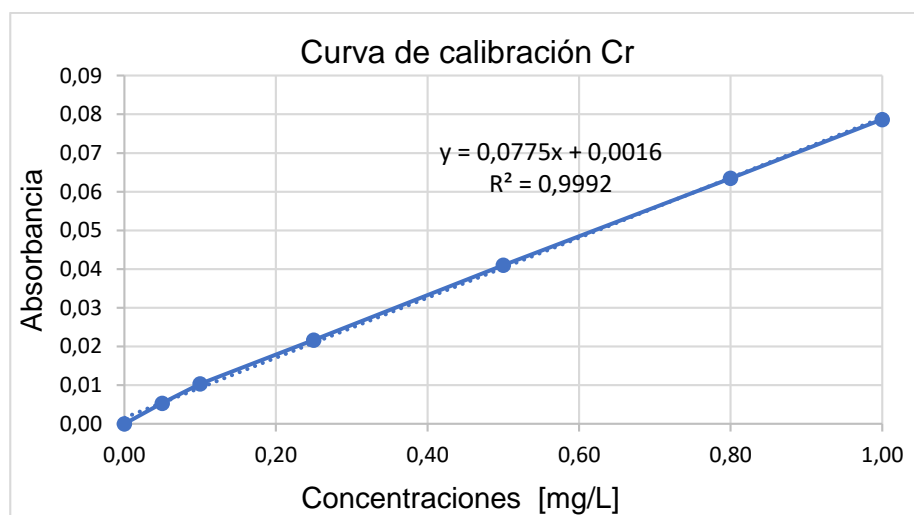
- **Cromo, Cr**

Tomando los valores promedio de concentración y absorbancia, obtenidos a través de la realización de 3 curvas bajo un mismo rango de concentraciones de Cr en mg/L, se realizó la curva de calibración promedio de Cr. Se obtuvo un coeficiente $r^2 = 0,9992$. Demostrando así la linealidad en el rango de concentraciones utilizadas.

Tabla 14. Curvas de calibración Cr

Curvas de calibración Cr				
Concentración [mg Cr/L]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
0,00	0,000	0,000	0,000	0,000
0,05	0,006	0,005	0,005	0,005
0,10	0,010	0,010	0,011	0,010
0,25	0,022	0,021	0,022	0,022
0,50	0,040	0,042	0,041	0,041
0,80	0,062	0,065	0,063	0,063
1,00	0,077	0,080	0,079	0,079
Pendiente m	0,0756	0,0796	0,0774	0,0775
Intercepto b	0,0019	0,0012	0,0017	0,0016
r²	0,99945	0,99967	0,99934	0,99958

Figura 16. Curva de calibración promedio Cr



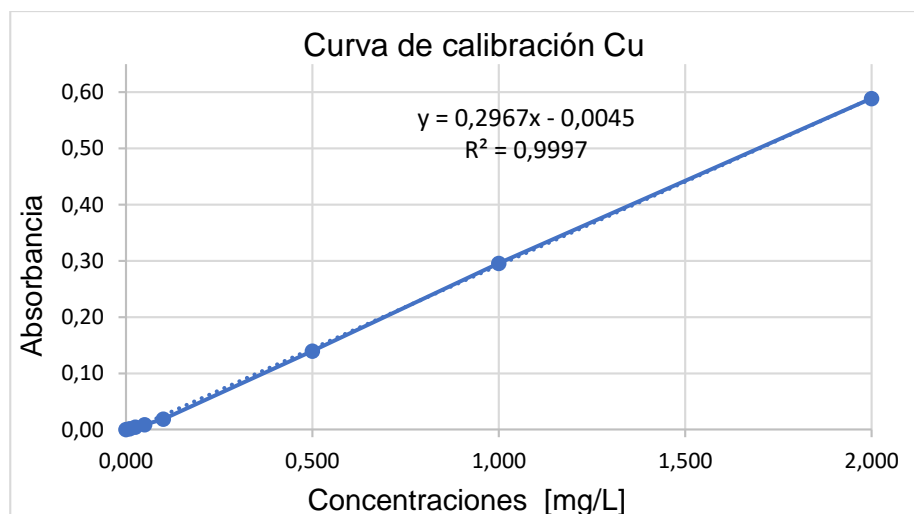
- **Cobre, Cu**

Tomando los valores promedio de concentración y absorbancia, obtenidos a través de la realización de 3 curvas bajo un mismo rango de concentraciones de Cu en mg/L, se realizó la curva de calibración promedio de Cu. Se obtuvo un coeficiente $r^2 = 0,9997$. Demostrando la linealidad en el rango de concentraciones utilizadas.

Tabla 15. Curvas de calibración Cu

Curvas de calibración Cu				
Concentración [mg/L]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,010	0,001	0,002	0,002	0,002
0,025	0,004	0,004	0,005	0,004
0,050	0,009	0,008	0,010	0,009
0,100	0,019	0,016	0,021	0,019
0,500	0,140	0,131	0,148	0,140
1,000	0,284	0,298	0,305	0,296
2,000	0,558	0,600	0,608	0,589
Pendiente m	0,28182	0,30226	0,30611	0,29673
Intercepto b	-0,00294	-0,00686	-0,00362	-0,00447
r²	0,99984	0,99949	0,99990	0,99983

Figura 17. Curva de calibración promedio Cu



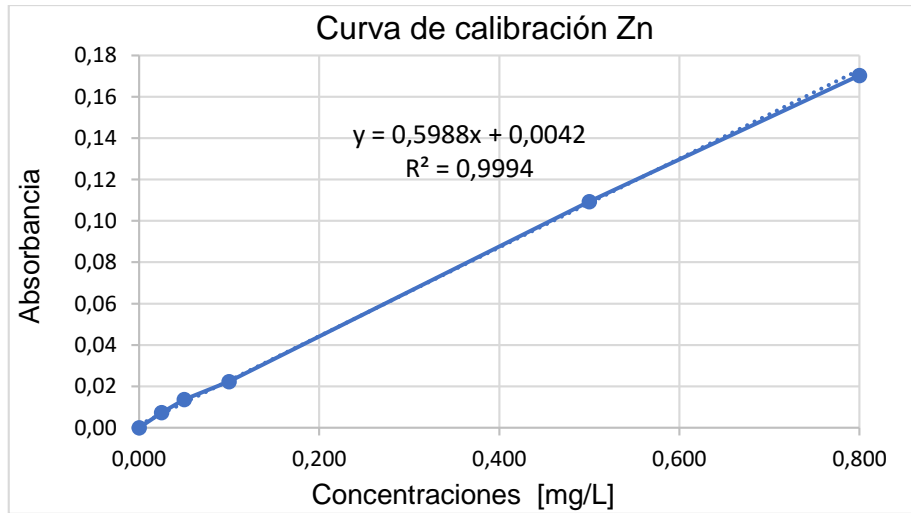
- **Zinc, Zn**

Tomando los valores promedio de concentración y absorbancia, obtenidos a través de la realización de 3 curvas bajo un mismo rango de concentraciones de Zn en mg/L, se realizó la curva de calibración promedio de Zn. Se obtuvo un coeficiente $r^2 = 0,9994$. Demostrando la linealidad en el rango de concentraciones utilizadas.

Tabla 16. Curvas de calibración Zn

Curvas de calibración Zn				
Concentración [mg Zn/L]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,025	0,007	0,008	0,007	0,007
0,050	0,012	0,015	0,014	0,014
0,100	0,023	0,022	0,022	0,022
0,500	0,108	0,105	0,115	0,109
0,800	0,174	0,165	0,172	0,170
1,000	0,222	0,218	0,217	0,218
Pendiente m	0,21908	0,21127	0,21572	0,21442
Intercepto b	0,00054	0,00144	0,00187	0,00140
r²	0,99985	0,99918	0,99957	0,99984

Figura 18. Curva de calibración promedio Zn



Para evaluar estadísticamente la linealidad de cada uno de los metales, se realizó la prueba t de student de dos colas partiendo de una hipótesis nula: “no existe correlación entre X y Y”. A través de la comparación del valor de t calculado y t tabulado se llegó a la conclusión acerca de la correlación significativa entre estas variables a una probabilidad establecida del 95%, y se rechazó la hipótesis nula para cada uno de los metales

$$t_{cal} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Tabla 17. Prueba t-student para linealidad

Prueba t-Student			
Elemento	t calculado	t tabulado	n
Cd	508	2,36	9
Cr	76,8	2,57	7
Cu	133,	2,45	8
Zn	125	2,57	7

6.2.2 Límites de detección y cuantificación

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación, se realizó la digestión de 10 blancos de método por microondas y se realizaron las mediciones para cada uno de los metales.

Tabla 18. Datos de las mediciones de los blancos de método

Límites de detección y cuantificación				
Muestra	mg Cd/L	mg Cr/L	mg Cu/L	mg Zn/L
Bk método 1	-0,001	-0,001	0,000	-0,005
Bk método 2	0,000	-0,004	0,000	-0,003
Bk método 3	0,001	-0,002	0,001	0,000
Bk método 4	0,000	-0,002	0,000	-0,002
Bk método 5	0,001	0,001	0,001	0,000
Bk método 6	0,000	0,000	-0,002	-0,002
Bk método 7	-0,001	-0,005	0,002	-0,003
Bk método 8	0,000	0,000	0,001	0,001
Bk método 9	0,000	0,001	-0,002	0,000
Bk método 10	0,000	-0,001	0,000	-0,003
Promedio	0,000	-0,001	0,000	-0,002
Desviación estándar	0,000668	0,002003	0,001287	0,001889

Con las desviaciones estándar de las mediciones anteriores se determinó los límites con las ecuaciones 7 y 8 respectivamente. Para el límite de detección; $k=3$ con un factor de cobertura del 99,7% y para el límite de cuantificación $k=10$, con el fin de obtener concentraciones que conserven una precisión y veracidad aceptable.

Tabla 19. Cuantificación teórica de los límites

Límites	mg Cd/L	mg Cr/L	mg Cu/L	mg Zn/L
Límite de detección	0,0020	0,0060	0,0039	0,0057
Límite de cuantificación	0,0067	0,0200	0,0129	0,0189

Para verificar el límite de cuantificación experimental, se fortificaron replicas independientes a diferentes concentraciones de Cd, Cr, Cu y Zn y se calcularon sus coeficientes de variación.

- **Cadmio, Cd**

Tabla 20. Datos experimentales límite de cuantificación Cadmio

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN EXPERIMENTAL CADMIO			
Concentraciones	0,0025	0,005	0,010
mg Cd/L	0,003	0,005	0,010
	0,002	0,006	0,012
	0,002	0,006	0,011
	0,003	0,005	0,010
	0,004	0,005	0,011
	0,003	0,006	0,010
	0,002	0,005	0,010
	0,003	0,006	0,011
	0,002	0,005	0,012
	0,004	0,005	0,011
	Promedio	0,003	0,005
Desviación estándar	0,00079	0,00052	0,00079
%Coeficiente de variación	28,17	9,56	7,30

- **Cromo, Cr**

Tabla 21. Datos experimentales límite de cuantificación Cromo

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN EXPERIMENTAL CROMO			
Concentraciones	0,025	0,050	0,100
mg Cr/L	0,019	0,052	0,105
	0,025	0,043	0,094
	0,018	0,042	0,109
	0,017	0,046	0,098
	0,015	0,045	0,101
	0,028	0,052	0,095
	0,023	0,050	0,101
	0,025	0,047	0,100
	0,017	0,045	0,099
	0,019	0,049	0,103
	Promedio	0,021	0,047
Desviación estándar	0,00433	0,00354	0,00448
%Coeficiente de variación	21,00	7,52	4,46

- **Cobre, Cu**

Tabla 22. Datos experimentales límite de cuantificación Cobre

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN EXPERIMENTAL COBRE			
Concentraciones	0,005	0,010	0,025
mg Cu/L	0,003	0,009	0,024
	0,004	0,010	0,024
	0,003	0,011	0,026
	0,001	0,009	0,027
	0,005	0,010	0,024
	0,000	0,011	0,026
	0,003	0,009	0,028
	0,001	0,010	0,026
	0,004	0,011	0,025
	0,002	0,009	0,026
	Promedio	0,003	0,010
Desviación estándar	0,00158	0,00088	0,00135
% Coeficiente de variación	60,68	8,84	5,27

- **Zinc, Zn**

Tabla 23. Datos experimentales límite de cuantificación Zinc

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN EXPERIMENTAL ZINC			
Concentraciones	0,010	0,025	0,050
mg Zn/L	0,009	0,028	0,051
	0,005	0,026	0,048
	0,008	0,025	0,049
	0,010	0,024	0,052
	0,009	0,022	0,051
	0,007	0,025	0,049
	0,011	0,026	0,048
	0,009	0,027	0,055
	0,008	0,025	0,051
	0,008	0,025	0,047
	Promedio	0,008	0,025
Desviación estándar	0,001647	0,001636	0,002378
% Coeficiente de variación	19,60	6,47	4,75

Con base en las tablas 20, 21, 22 y 23, se determinó los límites de cuantificación experimentales para la cuantificación de metales Cd, Cr, Cu y Zn en las matrices suelos, lodos y sedimentos, es decir aquellos que cumplen con el criterio de precisión, el cual se evaluó a través del porcentaje del coeficiente de variación ($\leq 10\%$).

Tabla 24. Límites de cuantificación experimentales

Metal	LDC Experimental
Cd	0,005 mg/L
Cr	0,05 mg/L
Cu	0,10 mg/L
Zn	0,025 mg/L

6.2.3 Veracidad

A través de materiales de referencia certificados para cada una de las matrices implicadas en la validación; suelos, lodos y sedimentos. Se determinó el sesgo a través de los valores de referencia de los materiales para los diferentes metales mostrados en la siguiente tabla. Además de ello, se realizó el cálculo de porcentaje de error, el cual debe ser $\leq 10\%$, criterio de aceptación establecido por el laboratorio.

Tabla 25. Concentraciones en los materiales de referencia certificados.

MCR	Cd [mg/Kg]	Cr [mg/Kg]	Cu [mg/Kg]	Zn [mg/Kg]
Suelos	211	200	298	209
Lodos	59,0	85,0	397	914
Sedimentos	0,47	14,5	15,5	69,7

- Cadmio, Cd

Tabla 26. Datos experimentales Cd en materiales de referencia

Datos experimentales de Cadmio en materiales de referencia						
Lecturas	SUELO (mg Cd/Kg)	Sesgo	LODO (mg Cd/Kg)	Sesgo	SEDIMENTO (mg Cd/Kg)	Sesgo
1	195	16,0	66,7	7,69	0,611	0,141
2	216	4,83	59,2	0,21	0,677	0,207
3	209	2,18	67,7	8,68	0,410	0,060
4	209	1,61	58,6	0,36	0,544	0,074
5	228	17,0	61,3	2,32	0,501	0,031
6	224	13,3	55,7	3,33	0,464	0,006
7	216	4,89	63,6	4,60	0,344	0,126
8	211	0,19	59,9	0,89	0,413	0,057
9	213	1,92	60,9	1,90	0,480	0,010
10	218	6,96	53,2	5,83	0,478	0,008
11	214	3,18	64,4	5,40	0,506	0,036
12	212	0,62	56,3	2,70	0,508	0,038
Promedio	214	2,76	60,6	1,62	0,492	0,025
Des. Estándar	8,26		4,43		0,085	
%CV	3,86		7,30		17,4	
%Error	1,31		2,75		5,25	
t-critico	2,20		2,20		2,20	
t calculado	1,16		1,27		0,96	

Teniendo en cuenta la prueba t de student para el sesgo, donde la hipótesis nula H_0 considera que la media es igual al valor de la referencia y la hipótesis alternativa H_a que la media es diferente al valor de la referencia, se concluyó que debido a que se obtuvieron valores de t calculado de 1,16, 1,27 y 0,96 para Cd en cada matriz; suelo, lodo y sedimentos respectivamente, y estos son menores que t critico 95% (2,20) se acepta la hipótesis nula; es decir no hay sesgo significativo en el método para la determinación de Cadmio en las matrices suelos, lodos y sedimentos a través de diferentes materiales de referencia y los resultados son veraces.

- **Cromo, Cr**

Tabla 27. Datos experimentales Cr en materiales de referencia

Datos experimentales de Cromo en materiales de referencia						
Lectura	SUELO (mg Cr/Kg)	Sesgo	LODO (mg Cr/Kg)	Sesgo	SEDIMENTO (mg Cr/Kg)	Sesgo
1	184	15,8	91,9	6,94	15,1	0,642
2	194	6,22	85,3	0,286	14,3	0,250
3	204	3,67	85,5	0,485	14,9	0,400
4	195	5,49	84,5	0,534	15,6	1,10
5	206	5,61	85,9	0,895	13,9	0,653
6	196	4,01	85,6	0,558	14,6	0,069
7	206	5,94	82,2	2,83	13,1	1,40
8	189	10,6	86,5	1,45	14,2	0,290
9	210	10,1	88,4	3,36	14,0	0,520
10	203	3,12	91,3	6,34	17,1	2,63
11	215	15,1	100	15,0	13,9	0,54
12	192	8,44	86,9	1,85	13,5	0,96
Promedio	199	0,572	87,8	2,81	14,5	0,0193
Des. Estándar	9,21		4,71		1,08	
%CV	4,62		5,37		7,40	
%Error	0,286		3,31		0,13	
t crítico	2,20		2,20		2,20	
t tabulado	0,22		2,07		0,062	

Teniendo en cuenta la prueba t de student para el sesgo, donde la hipótesis nula H_0 considera que la media es igual al valor de la referencia y la hipótesis alternativa H_a que la media es diferente al valor de la referencia, se concluyó que debido a que se obtuvieron valores de t calculado de 0,22, 2,07 y 0,062 para Cromo en cada matriz; suelo, lodo y sedimentos respectivamente, y estos son menores que t crítico 95% (2,20) se acepta la hipótesis nula; es decir no hay sesgo significativo en el método para la determinación de Cromo en las matrices suelos, lodos y sedimentos a través de diferentes materiales de referencia y los resultados son veraces.

- **Cobre, Cu**

Tabla 28. Datos experimentales Cu en materiales de referencia

Datos experimentales de Cobre en materiales de referencia						
Lectura	SUELO (mg Cu/Kg)	Sesgo	LODO (mg Cu/Kg)	Sesgo	SEDIMENTO (mg Cu/Kg)	Sesgo
1	298	0,124	391	6,65	15,9	0,39
2	300	1,82	395	2,49	16,6	1,15
3	299	0,651	396	2,10	16,2	0,73
4	302	4,08	392	5,66	17,9	2,44
5	294	4,19	397	1,20	17,0	1,47
6	287	11,1	394	4,15	17,1	1,57
7	302	4,01	389	9,29	17,2	1,68
8	287	11,1	415	11,7	16,7	1,16
9	309	10,5	409	11,5	14,5	1,00
10	311	13,3	414	16,1	14,2	1,29
11	299	0,670	407	9,28	16,2	0,71
12	300	2,12	410	12,2	14,0	1,49
Promedio	299	0,906	401	2,44	16,1	0,63
Des. Estándar	7,28		9,59		1,26	
%CV	2,44		2,39		7,80	
%Error	0,304		0,726		4,04	
t critico	2,20		2,20		2,20	
t tabulado	0,431		1,04		1,72	

Teniendo en cuenta la prueba t de student para el sesgo, donde la hipótesis nula H_0 considera que la media es igual al valor de la referencia y la hipótesis alternativa H_a que la media es diferente al valor de la referencia, se concluyó que debido a que se obtuvieron valores de t calculado de 0,43, 1,04 y 1,72 para Cobre en cada matriz; suelo, lodo y sedimentos respectivamente, y estos son menores que t critico 95% (2,20) se acepta la hipótesis nula; es decir no hay sesgo significativo en el método para la determinación de Cobre en las matrices suelos, lodos y sedimentos a través de diferentes materiales de referencia y los resultados son veraces.

- Zinc, Zn

Tabla 29. Datos experimentales Zn en materiales de referencia

Datos experimentales de Zinc en materiales de referencia						
Lectura	SUELO (mg Zn/Kg)	Sesgo	LODO (mg Zn/Kg)	Sesgo	SEDIMENTO (mg Zn/Kg)	Sesgo
1	197	12,0	921	5,86	71,2	1,47
2	215	6,17	904	10,7	72,8	3,13
3	209	0,49	920	5,4	74,5	4,81
4	197	11,7	934	19,3	64,5	5,22
5	210	0,73	910	4,30	70,9	1,23
6	202	6,85	895	19,3	73,2	3,54
7	198	11,0	899	15,3	67,8	1,88
8	201	7,79	964	49,3	69,9	0,20
9	213	4,23	885	29,7	69,8	0,08
10	217	7,71	900	14,7	63,9	5,83
11	217	8,13	925	10,3	71,8	2,09
12	205	3,90	950	35,3	62,6	7,14
Promedio	207	2,25	917	2,65	69,4	0,29
Des. Estándar	7,692		23,3		3,91	
%CV	3,72		2,54		5,64	
%Error	1,08		0,29		0,42	
t crítico	2,20		2,20		2,20	
t tabulado	1,01		0,39		0,26	

Teniendo en cuenta la prueba t de student para el sesgo, donde la hipótesis nula H_0 considera que la media es igual al valor de la referencia y la hipótesis alternativa H_a que la media es diferente al valor de la referencia, se concluyó que debido a que se obtuvieron valores de t calculado de 1,01, 0,39 y 0,26 para Zinc en cada matriz; suelo, lodo y sedimentos respectivamente, y estos son menores que t crítico 95% (2,20) se acepta la hipótesis nula; es decir no hay sesgo significativo en el método para la determinación de Cobre en las matrices suelos, lodos y sedimentos a través de diferentes materiales de referencia y los resultados son veraces.

Es importante resaltar también que todos los porcentajes de error obtenidos a través del valor promedio y el valor de referencia para cada una de las matrices y metales son menores al 10%, dando cumplimiento a los criterios de aceptación establecidos en el laboratorio.

6.2.4 Precisión

La repetibilidad se determinó analizando muestras reales 8 réplicas para cada matriz y metales conservando las mismas condiciones para cada una de ellas en un periodo de tiempo corto.

- **Cadmio, Cd**

Tabla 30. Datos experimentales precisión Cd

Muestra Replicas	Concentración mg Cd/Kg		
	Suelo Tibú	Sedimento tipo A	Lodo contimpres
1	0,95	1,68	2,40
2	0,91	1,70	2,73
3	1,01	1,65	2,61
4	0,98	1,73	2,50
5	1,05	1,67	2,47
6	0,97	1,69	2,63
7	1,04	1,74	2,55
8	0,99	1,65	2,48
Promedio	0,988	1,689	2,547
Desviación estandar	0,045	0,034	0,108
% CV	4,59	1,99	4,23

Para cada una de las matrices analizadas en la determinación de Cd, se evidenció coeficientes de variación <10%, lo que confirma una precisión aceptable para el método.

- **Cromo, Cr**

Tabla 31. Datos experimentales precisión Cr

Concentración mg Cr/Kg			
Muestra	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpress
1	17,9	28,0	43,1
2	16,6	25,8	45,2
3	18,0	27,3	44,5
4	16,9	25,5	44,6
5	17,1	24,8	43,6
6	16,8	26,8	44,8
7	18,9	26,3	45,6
8	18,1	27,3	43,5
Promedio	17,5	26,5	44,4
Desviación estandar	0,79	1,08	0,88
% CV	4,53	4,08	1,98

Para cada una de las matrices analizadas en la determinación de Cr, se evidenció coeficientes de variación <10%, lo que confirma una precisión aceptable para el método.

- **Cobre, Cu**

Tabla 32. Datos experimentales precisión Cu

Concentración mg Cu/Kg			
Muestra	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpress
1	32,1	143	324
2	30,0	148	354
3	31,1	147	340
4	29,8	146	345
5	32,8	147	353
6	31,1	151	341
7	31,8	148	359
8	29,6	145	330
Promedio	31,0	147	343
Desviación estandar	1,17	2,29	12,17
% CV	3,78	1,56	3,55

Para cada una de las matrices analizadas en la determinación de Cu, se evidenció coeficientes de variación <10%, lo que confirma una precisión aceptable para el método.

- **Zinc, Zn**

Tabla 33. Datos experimentales precisión Zn

Concentración mg Zn/Kg			
Muestra	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpres
1	311	1027	2215
2	294	996	1919
3	300	977	1914
4	305	987	2145
5	291	1011	2018
6	307	969	1976
7	299	1037	2047
8	310	1045	2048
Promedio	302	1006	2035
Desviación estandar	7,4	28,4	105
% CV	2,44	2,82	5,14

Para cada una de las matrices analizadas en la determinación de Zn, se evidenció coeficientes de variación <10%, lo que confirma una precisión aceptable para el método.

También es posible evidenciar la precisión del método para cada metal y en las matrices en estudio en las tablas 26, 27, 28 y 29, las cuales corresponden a los resultados experimentales en materiales de referencia, cada una de estas da cumplimiento al criterio de aceptación para el coeficiente de variación (<10%), a excepción de Cd en sedimentos (%CV= 17,4), debido al valor de concentración (0,47 mg Cd/Kg) es posible a través del coeficiente de variación de Horwitz para repetibilidad, determinar bajo este criterio de aceptación de precisión si su conformidad es aceptable o no.

Tabla 34. Coeficientes de variación en MCR

% COEFICIENTES DE VARIACIÓN EN MCR			
MATRIZ METAL	Suelo	Lodo	Sedimento
Cd	3,38	7,30	17,4
Cr	4,62	5,37	7,40
Cu	2,44	2,39	7,80
Zn	3,72	2,54	5,64

Tomando en cuenta como criterio de aceptación el coeficiente de variación de Horwitz para la repetibilidad de Cd en sedimentos. El cual es independiente al método, analito, matriz y tiempo de análisis; se puede conocer la máxima variabilidad posible en función de la concentración de analito.

$$\%CV_h = 2^{(1-0,5 \text{ Log } C)} \quad \text{Ecuación 10}$$

$$\%CV_h = 2 C^{(-0,15)} \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde C corresponde a la concentración del analito en fracción másica adimensional.

$$\%CV \text{ repetibilidad} < \%CV_h/2 \quad \text{Ecuación 12}$$

Por lo tanto, para la aceptación de la repetibilidad ó precisión esta debe ser menor al porcentaje del coeficiente de variación de Horwitz dividido en dos. Puntualmente para Cd, el coeficiente de Horwitz es igual a:

$$\%CV_h = 2 (4,7 \times 10^{-7})^{(-0,15)}$$

$$\%CV_h = 17,79$$

Dado que 17,4% es mayor que 8,90% no es aceptable la precisión por el coeficiente de variación de Horwitz, ni tampoco por los criterios de aceptación del laboratorio. Este valor, se debe a que los resultados obtenidos en las lecturas fueron muy cercanos al primer punto de la curva de Cd (0,005 mg/L), donde existe mayor posibilidad de que el ruido de fondo, aporte a la señal del analito y la repetibilidad se vea comprometida.

6.2.5 Precisión intermedia

Para determinar la precisión intermedia del método para la determinación de metales en suelos, lodos y sedimentos; se realizó 3 rondas de digestiones asistida por microondas EPA 3051 A procedimiento descrito en el numeral 6.1.3.2 de materiales de referencia con el fin de comparar dichos resultados con los obtenidos por las digestiones abiertas EPA 3050 B procedimiento descrito en el numeral 6.1.3.3.

Comparando dichos procedimientos de digestión a través de una prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, se determinó la viabilidad de migrar al método de digestión asistida por microondas, cuando el equipo volviera a modo operativo después de su reparación.

Tabla 35. Datos experimentales digestiones por microondas MCR sedimento

MATERIAL DE REFERENCIA: SEDIMENTO DE AGUA DULCE	Concentración mg/Kg			
	Cd	Cr	Cu	Zn
Resultados obtenidos a través de digestiones asistidas por microondas	0,46	13,8	15,0	64,4
	0,55	14,2	15,7	65,3
	0,51	13,7	15,7	68,6
	0,60	13,6	17,1	69,3
	0,59	14,5	16,2	70,0
	0,49	15,0	15,5	69,1
PROMEDIO	0,53	14,1	15,9	67,8
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,06	0,55	0,73	2,32
% CV	10,7	3,88	4,58	3,43

Tabla 36. Datos experimentales digestiones por microondas MCR lodos

MATERIAL DE REFERENCIA: LADOS DE DEPURADORA	Concentración mg/Kg			
	Cd	Cr	Cu	Zn
Resultados obtenidos a través de digestiones asistidas por microondas	55,1	85,0	389	895
	57,5	75,0	405	886
	58,5	79,6	406	907

	60,5	87,0	408	901
	62,9	89,0	411	893
	57,4	83,0	401	921
PROMEDIO	58,6	83,1	403	901
DESVIACIÓN ESTANDAR	2,74	5,12	7,98	12,3
% CV	4,67	6,17	1,98	1,37

Tabla 37. Datos experimentales digestiones por microondas MCR lodos

MATERIAL DE REFERENCIA: SUELO	Concentración mg/Kg			
	Cd	Cr	Cu	Zn
Resultados obtenidos a través de digestiones asistidas por microondas	206	221	289	187
	205	197	293	185
	215	198	301	210
	211	207	312	207
	198	211	275	198
	207	187	293	215
PROMEDIO	207	203	294	200
DESVIACIÓN ESTANDAR	5,78	11,8	12,3	12,4
%COEFICIENTE VARIANZA	2,79	5,81	4,17	6,21

La prueba t con varianzas desiguales permite determinar si las varianzas de dos grupos de mediciones presentan diferencias significativas. En la hipótesis nula se planteó que las varianzas no presentan diferencias significativas; es decir $\sigma_1 = \sigma_2$, para rechazar dicha hipótesis es necesario que F calculado sea menor que el F crítico en cada uno de los casos, como se evidencia en las siguientes tablas.

Tabla 38. Comparación entre las dos digestiones para cuantificación de Cd.

MCR SUELO	EPA 3051 A	EPA 3050 B
	MICROONDAS	DIGESTION ABIERTA
	Conc. (mg/ kg)	Conc. (mg/ kg)
1	206	195,
2	205	216
3	215	208
4	211	209
5	198	228

6	207	224
7	-	216
8	-	211
9	-	213
10	-	218
11	-	214
12	-	212
Promedio	207,0	213,8
Desv. Estandar	5,28	7,91
% CV	2,55	3,70

Tabla 39. Precisión intermedia Cd en suelos

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	207,020906	213,760987
Varianza	33,3987174	68,2264441
Observaciones	6	12
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	-2,0093264	
P(T<=t) una cola	0,03209327	
Valor crítico de t (una cola)	1,76131014	
P(T<=t) dos colas	0,06418655	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14478669	

Tabla 40. Precisión intermedia Cd en sedimentos

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	0,53313783	0,49466667
Varianza	0,00322169	0,00795733
Observaciones	6	12
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	15	

Estadístico t	1,11053975
P(T<=t) una cola	0,14212601
Valor crítico de t (una cola)	1,75305036
P(T<=t) dos colas	0,28425202
Valor crítico de t (dos colas)	2,13144955

Tabla 41. Precisión intermedia Cd en lodos

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	58,6433237	60,6224816
Varianza	7,49146067	19,5934971
Observaciones	6	12
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	15	
Estadístico t	-1,1659531	
P(T<=t) una cola	0,13091922	
Valor crítico de t (una cola)	1,75305036	
P(T<=t) dos colas	0,26183844	
Valor crítico de t (dos colas)	2,13144955	

Tabla 42. Comparación métodos de digestión para la determinación Cd

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales para Cd			
Matriz	Sedimentos	Lodos	Suelos
Estadístico t	1,11	-1,17	-2,00
Valor crítico de t (dos colas)	2,13	2,13	2,14

Tabla 43. Comparación método de digestión determinación Cr

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales para Cr			
Matriz	Sedimentos	Lodos	Suelos
Estadístico t	-1,01	-1,90	0,72
Valor crítico de t (dos colas)	2,12	2,26	2,31

Tabla 44. Comparación método de digestión determinación Cu

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales para Cu			
Matriz	Sedimentos	Lodos	Suelos
Estadístico t	-0,55	-0,62	-0,95
Valor crítico de t (dos colas)	2,12	2,18	2,36

Tabla 45. Comparación método de digestión determinación Zn

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales para Cr			
Matriz	Sedimentos	Lodos	Suelos
Estadístico t	-1,10	-1,99	-1,16
Valor crítico de t (dos colas)	2,13	2,12	2,37

Como se evidencia en la tabla 42, 43, 44 y 45 los valores estadísticos t son menores en comparación con el valor de t crítico, lo que permite finalmente concluir que dichas varianzas no presentan diferencias significativas, dando a conocer, que a pesar de que los procedimientos de digestión sean diferentes, no es crítico estadísticamente hablando el cambio en el procedimiento de digestión; ya que se mantiene una correlación entre las mediciones obtenidas.

6.2.5 Reproducibilidad

Se realizó la participación de un ensayo de aptitud de suelos, con el fin de evaluar el desempeño del método para la determinación de metales en suelos, lodos y sedimentos. Para estas pruebas inter-laboratorio, se realizaron digestiones acidas asistidas por el microondas y se determinó Cd, Ca, Cr, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Ni, K, Ag, Zn, Al, Ba, V, Se y Hg teniendo en cuenta las diferencias en los procedimientos.

Por ejemplo, las digestiones y reducciones para As y Hg realizadas conforme a las normativas; EPA 7742 y EPA 7471 respectivamente, para Al, V, y Ba se utilizó llama de óxido nitroso-acetileno con el propósito de alcanzar temperaturas más altas.

Satisfactoriamente fue aceptable para la mayoría de los metales a excepción de Ca y Hg, y se logró establecer que para metales como; Ag, Al, Ba, Cr, Fe, Mg, y V; es necesario para la digestión en el microondas agregar 9 mL de ácido nítrico concentrado y 3 mL de ácido clorhídrico concentrado para lograr la estabilización de ciertos analitos y así obtener resultados equivalentes con el método 3050B.

6.2.6 % Recuperación

Aquellas muestras de suelos, lodos y sedimentos de procedencia conocida, se llevaron a digestión juntamente con muestras fortificadas, a una concentración fija para cada uno de los metales (0,5 mg/L) con el fin de determinar los porcentajes de recuperación en cada una de las matrices.

Este cálculo se realizó comparando la concentración en mg/L del analito en la muestra sin fortificación C_o , concentración de analito medida en la muestra enriquecida C_e en mg/L y la concentración añadida a la matriz enriquecida C_a en mg/L.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{C_e - C_o}{C_a}$$

Ecuación 13

Tabla 46. Porcentajes de recuperación Cd.

Porcentajes de recuperación-Fortificados de Cd			
Muestras	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpres
1	101,1	104,8	101,7
2	103,8	110,2	93,6
3	83,2	98,9	102,7
4	86,8	100,9	105,5
5	96,5	96,9	95,9
6	100,4	99,3	97,4
7	98,2	101,4	103,7
8	102,0	102,2	106,1
Promedio	96,5	101,8	100,8
Desviación estandar	7,509	4,136	4,645
t calculado	0,165	0,156	0,062
t critico	2,365	2,365	2,365

Tabla 47. Porcentajes de recuperación Cr

Porcentajes de recuperación-Fortificados de Cr			
Muestras	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpres
1	83,17	95,37	94,40
2	98,93	86,57	82,56
3	102,68	104,0	110,0
4	88,08	92,10	95,4
5	88,93	89,45	107,6
6	83,14	89,24	101,3
7	118,1	88,93	89,45
8	105,0	83,14	89,24
Promedio	96,0	91,1	96,2
Desviación estandar	12,35	6,33	9,49
t calculado	0,114	-0,497	-0,140
t critico	2,365	2,365	2,365

Tabla 48. Porcentajes de recuperación Cu

Porcentajes de recuperación-Fortificados de Cu			
Muestras	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpress
1	83,5	95,4	86,6
2	94,0	94,4	82,6
3	88,1	88,9	83,1
4	92,1	89,5	89,2
5	97,3	90,8	90,8
6	97,0	93,0	89,4
7	96,4	100,4	100,7
8	105,1	99,2	96,8
Promedio	94,2	93,9	89,9
Desviación estandar	6,53	4,28	6,30
t calculado	0,316	-0,500	-0,567
t critico	2,365	2,365	2,365

Tabla 49. Porcentajes de recuperación Zn

Porcentajes de recuperación-Fortificados de Zn			
Muestras	Suelo	Sedimento	Lodo
Replicas	Tibú	tipo A	contimpress
1	115,2	114,5	111,4
2	101,6	112,7	91,7
3	110,3	114,0	122,2
4	97,2	106,8	95,3
5	94,9	110,9	109,6
6	109,8	112,9	112,1
7	109,2	111,1	105,8
8	106,4	121,5	120,3
Promedio	105,6	113,0	108,5
Desviación estandar	7,0	4,2	11,0
t calculado	0,279	1,106	0,281
t critico	2,365	2,365	2,365

Como se evidenció en las tablas 46, 47, 48 y 49, los porcentajes de recuperación (%R) se encuentran en el rango de 80%-120%, rango establecido como criterio de aceptación por el laboratorio. Asimismo, a través del estadístico t calculado, el cual es menor que t critico (2,365) en todos los casos, se concluyó que no hay diferencias significativas.

7. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se determinó que el método llevado a cabo (digestión ácida EPA 3050B y espectrofotometría de absorción atómica EPA 7000B) es apto para la determinación de metales Cadmio, Cromo, Cobre y Zinc para las matrices suelos, lodos y sedimentos ya que evidencia a través de diferentes pruebas estadísticas su veracidad y precisión, lo cual, permite obtener resultados confiables y objetivos.

Cada una de las figuras de mérito cumple con los criterios de aceptación del laboratorio SIAMA S.A.S; precisión expresada como coeficiente de variación (%CV) $\leq 10\%$, exactitud expresada como porcentaje de error (%E) $\leq 10\%$, porcentajes de recuperación (%R) 80%-120% y coeficiente de determinación para linealidad $\geq 0,995$.

El método de digestión asistida por microondas EPA 3051A es comparable con el método de digestión ácida abierta para suelos, lodos y sedimentos EPA 3050 B, ya que no presenta diferencias significativas en sus varianzas, demostrado a través de pruebas t para dos muestras de varianzas desiguales.

Las muestras digestadas por microondas dan resultados que evidencian una mejor precisión, ya que este sistema de digestión realiza un control de temperatura y presión de cada uno de los tubos de digestión de manera rigurosa, también existe menor posibilidad de pérdida de muestra en comparación con el sistema de digestión ácida por plancha de calentamiento.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso del digestor microondas para la validación de los otros metales contemplados dentro del programa de ampliación de la acreditación con el fin de agilizar el proceso de validación, ya que los tiempos de digestión se reducen de manera considerable usando el microondas, lo que nos permite mayor obtención de datos y resultados en el tiempo.

Se sugiere dar cumplimiento a cabalidad del plan y procedimiento de control y aseguramiento metrológico, el cual sugiere realizar mantenimientos preventivos, para reconocer errores y fallas en los equipos a tiempo. Para evitar situaciones como en el caso del digestor microondas, que, debido a un largo mantenimiento correctivo, no fue posible realizar el proceso de validación por este método, por lo cual se migró a las digestiones abiertas por plancha de calentamiento.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarez Castillo, J. N., & Coral Carrillo, K. (2019). LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Cu, Ni, Zn, Cd EN AGUAS, SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017 (Vol. 53, Issue 9).

Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres. *Revista de La Facultad de Medicina*, 52(1), 50–61. (2004) Portal de revistas, Biblioteca digital, Universidad Nacional de Colombia. Téllez, J., Carvajal Rox, M., & Gaitán, A. Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/43297>

Bioacumulación de cadmio en ostras de la bahía de Cartagena: Bio-accumulation cadmium in oysters of Cartagena bay. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 7(13), 11–20. (2008). Manjarrez Paba, G., Castro Angulo, I., & Utria Padilla, L. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-33242008000200002

Cadmium and lead contents of cigarettes produced in various areas of the world. *Science of the Total Environment, The*, 66(C), 29–37. (1987). Watanabe, T., Kasahara, M., Nakatsuka, H., & Ikeda, M. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(87\)90074-X](https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90074-X)

Cadmium determination in Mexican-produced tobacco. *Environmental Research*, 55(1), 91–96. (1991). Saldivar de R., L., Luna, M., Reyes, E., Soto, R., & Fortoul, T. I. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80143-4](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80143-4)

Cardenas Gonzales, Y. alberto. (2005). VALIDACIÓN INTERNA DEL METODO “DETERMINACIÓN DE HIERRO POR ABSORCIÓN ATÓMICA EN HARINA DE TRIGO FORTIFICADA” (Issue March). Universidad Industrial de Santander.

Chromium levels and their relationship with alterations in the health of tannery workers living and working in Bogotá, Colombia. (2009). SciELO, Scientific Electronic Library Online, *Revista de Salud Publica*, 11(2), 278–289. Cuberos, E., Rodriguez, A. I., & Prieto, E. Recuperado de: <https://doi.org/10.1590/s0124-00642009000200012>

Decreto 50 16 de, 15 (2018). Presidencia de la Republica de Colombia. Recuperado de: <http://wsp.presidencia.gov.co/Normativa/Decretos/2014/Documents/JULIO/10/DECRET O 1287 DEL 10 DE JULIO DE 2014.pdf>

Determinación de Cd en suelos agrícolas dedicados a la producción de Alfalfa irrigado con aguas residuales. (2014). Universidad autonoma Agraria Antonio Narro unidad laguna. Hernández-Picazo, F. J. Recuperado de: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/101/DeterminaciondeCadmio\(Cd\)ensuelosagricolasdedicadosala.pdf;sequence=1](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/101/DeterminaciondeCadmio(Cd)ensuelosagricolasdedicadosala.pdf;sequence=1)

Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. *Unodc*, 1, 76. (2010). Oficina de las Naciones Unidas contra la droga y el delito. Anderson, R. Recuperado de: https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf

Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias*, 16(3), 140–147. (2011). Mediagraphic, Literatura Biomedica. Nava-Ruíz, C., & Méndez-Armenta, M. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2011/ane113f.pdf>

Espectroscopia De Absorción Atomica. *Control de Calidad de Insumos y Dietas Acuicolas*, 4–11. (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Razmilic, B. Recuperado de: <https://www.fao.org/3/ab482s/AB482S04.htm#ch4>.

Estimación de la incertidumbre en métodos de ensayos de construcción - Publicación Técnica No. 275 (Issue 275). (2005). Instituto Mexicano del Transporte, Gobierno de Mexico. Delgado Alamilla, H., Flores Flores, M., Martínez Peña, G. E. I., & Pérez Salazar, A. Recuperado de: <http://imt.mx/archivos/Publicaciones/PublicacionTecnica/pt275.pdf>

Estudio de la homeostasis de Zn y Cd en plantas superiores Tesis Doctoral. (2011). DIGITAL.CSIC, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Calderón, R. S. Recuperado de: <https://digital.csic.es/handle/10261/39072>

Estimación de la incertidumbre de la medición en análisis químico, un caso de estudio. *Revista Cubana de Química*, 29, 54–72. (2017). SciELO Cuba. Hechavarría Hernández, A., & Arada Pérez, M. de los Á. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212017000100005&nrm=iso

Eurachem/Citac. (2012). Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas, Guía CG 4. *Eurachem/Citac, 3rd Editio*, 133.

Galán Huertos, E., & Romero Baena, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Macla*, 10, 48–60.

Guía para estimar la incertidumbre de la medición. *Centro Nacional de Metrología. México*, 26. (2000). Universidad Autónoma de México. Schmid, Wolfgang, a., & Lazos Martínez, R. J. Recuperado de: <http://www.paginaspersonales.unam.mx/files/473/Asignaturas/78/Archivo1.23.pdf>

“heavy metals” - A meaningless term? (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793–807. (2002). Duffus, J. H. Recuperado de:

<https://doi.org/10.1351/pac200274050793>

ICONTEC NTC-ISO/IEC. (2017). *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración* (Vol. 17025).

LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. (2016). Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz Garcia, F. G. Recuperado de: [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)

Molina, L. L. G., & Bermudez, A. M. M. (2016). *Caracterización fisicoquímica de los lodos provenientes de una planta de tratamiento de agua residual industrial de una empresa de café del departamento de caldas*. UNIVERSIDAD CATOLICA DE MANIZALES.

Política Nacional Para La Gestión Integral Ambiental Del Suelo(GIAS), 1 Política Nacional Para La Gestión Integral Ambiental Del Suelo 138 (2013).

Rubio, C., González, D., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., & Hardisson, A. (2007). Alimentos funcionales El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp*, 22, 101–107.

Selectivity in analytical chemistry: (IUPAC Recommendations 2001). *Pure and Applied Chemistry*, 73(8), 1381–1386. (2001). Vessman, J., Stefan, R. I., Van Staden, J. F., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D. T., Fajgelj, A., & Müller, H. Recuperado de: <https://doi.org/10.1351/pac200173081381>

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de análisis instrumental* (6th ed.).

TECNOLOGIA DE SUELOS. Tema 15. Contaminación por metales. Introducción. (2005). Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Granada. Dorronsoro,

C., & García, I. Recuperado de: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>

Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. (2010). Instituto de Salud Pública de Chile. Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., Aguilera, M., & Sandoval, S. Recuperado de: [https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia Técnica 1 validación de Métodos y determinación de la incertidumbre de la medición_1.pdf](https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia_Técnica_1_validación_de_Métodos_y_determinación_de_la_incertidumbre_de_la_medición_1.pdf)