

**ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE
MERCURIO EN SEDIMENTOS E IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO
AMBIENTAL DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA
(CRC)**



JULIAN MARCELO FAJARDO SARRIA

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2019**

**ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE
MERCURIO EN SEDIMENTOS E IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO
AMBIENTAL DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA
(CRC)**

JULIAN MARCELO FAJARDO SARRIA

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Químico**

**Directora: Dra. TANIA MILENA GUTIÉRREZ
Departamento de Química
Grupo de Investigación en Procesos Electroquímicos – GIPEL**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2019**

Este trabajo de grado ha sido aceptado
como requisito parcial para optar al
título de Químico.

Dra TANIA MILENA GUTIERREZ VALENCIA
Directora de trabajo de grado

Mg AYDA MARCELA ERAZO
Jurado

Dr RODRIGO SARRIA
Jurado

Popayán, Mayo del 2019

DEDICATORIA

*A mi madre
por su perseverancia*

*A mí
por mi paciencia*

CONTENIDO

| | |
|--|-----|
| ÍNDICE DE TABLAS | i |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iii |
| TABLA DE ABREVIACIONES..... | iv |
| TABLA DE ECUACIONES | v |
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE..... | 1 |
| 2.1. Historia de la minería en Colombia | 1 |
| 2.2. Políticas de control en uso de mercurio en minería | 5 |
| 2.3. Determinación de mercurio mediante Espectroscopía de Absorción Atómica con Vapor Frío (EAA/VF). | 6 |
| 2.4. Metodología empleada en el laboratorio ambiental de la CRC para la extracción y determinación de mercurio en sedimentos | 10 |
| 2.5. Conceptos fundamentales en la estandarización de métodos analíticos | 10 |
| 2.5.1. Límite de detección..... | 11 |
| 2.5.2. Límite de cuantificación | 12 |
| 2.5.3. Linealidad e intervalo de determinación | 12 |
| 2.5.4. Exactitud y precisión..... | 14 |
| 2.5.5. Incertidumbre..... | 16 |
| 3. OBJETIVOS..... | 19 |
| 3.1. Objetivo general | 19 |
| 3.2. Objetivos específicos | 19 |
| 4. SECCIÓN EXPERIMENTAL..... | 20 |
| 4.1. Materiales equipos y reactivos | 20 |
| 4.1.1. Materiales | 20 |
| 4.1.2. Equipos..... | 20 |
| 4.1.3. Reactivos..... | 20 |
| 4.2. Procedimiento para el análisis de mercurio por espectroscopía de absorción atómica por la técnica de vapor frío (EAA/VF)..... | 21 |
| 4.2.1. Calibración del material volumétrico | 21 |
| 4.2.2. Evaluación de las condiciones espectroscópicas | 21 |

| | |
|---|----|
| 4.3. Calibración del equipo EAA/VF mediante curvas de calibración por patrón externo | 22 |
| 4.4. Determinación de los parámetros de estandarización de un método para extracción y cuantificación de mercurio por EAA/VF..... | 22 |
| 4.4.1. Límite de detección (LDM) y cuantificación (LCM) del método..... | 23 |
| 4.4.2. Linealidad | 23 |
| 4.4.3. Precisión..... | 24 |
| 4.4.4. Precisión intermedia | 24 |
| 4.4.5. Reproducibilidad | 25 |
| 4.4.6. Veracidad | 25 |
| 4.4.7. Incertidumbre..... | 26 |
| 4.5. Examen de aptitud del método..... | 26 |
| 4.5.1. Muestras de análisis | 27 |
| 4.5.2. Metodología..... | 27 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 31 |
| 5.1. Calibración del material volumétrico de vidrio | 31 |
| 5.2. Calibración del equipo EAA/VF mediante curvas de calibración por patrón externo | 33 |
| 5.3. Estandarización del método para extracción y cuantificación de mercurio por EAA/VF | 34 |
| 5.3.1. Límites críticos..... | 35 |
| 5.3.2. Linealidad e intervalo de trabajo | 36 |
| 5.3.3. Precisión intermedia y reproducibilidad | 41 |
| 5.3.4. Veracidad | 43 |
| 5.3.5. Incertidumbre..... | 45 |
| 5.4. Examen de aptitud del método..... | 53 |
| 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 55 |
| 7. ANEXOS..... | 56 |
| BIBLIOGRAFÍA | 66 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla | Descripción | Pág. |
|-------|--|------|
| 1.1 | Técnicas analíticas aplicadas a la determinación de mercurio | 9 |
| 4.1 | Materiales usados durante la implementación del método | 20 |
| 4.2 | Descripción de los equipos utilizados durante la estandarización | 20 |
| 4.3 | Parámetros de trabajo en equipo de EAA/VF | 23 |
| 4.4 | Descripción de las muestras tratadas durante la estandarización | 27 |
| 4.5 | Patrones de calibración para rango de operación | 29 |
| 4.6 | Soluciones de verificación | 29 |
| 4.7 | Soluciones de adición | 30 |
| 5.1 | Calibración de matraz de 100,0 ± 0,1 mL | 31 |
| 5.2 | Incertidumbre de los matraces de 100 mL por pruebas de repetibilidad en pesaje | 32 |
| 5.3 | Calibración de matraz de 25,00 ± 0,04 mL | 32 |
| 5.4 | Incertidumbre de los matraces de 25 mL por pruebas de repetibilidad en pesaje | 32 |
| 5.5 | Resultados absorbancias de curvas de calibración para análisis de sensibilidad analítica | 33 |
| 5.6 | Análisis de reproducibilidad | 33 |
| 5.7 | Resultados teóricos para determinación de LDM y LCM | 34 |
| 5.8 | Resultados de concentración para la determinación empírica del LDM y LCM experimental | 35 |
| 5.9 | Límites críticos para el método de determinación de Hg por EAA/VF implementado en el laboratorio ambiental de la CRC | 36 |
| 5.10 | Resultados absorbancias de curvas de calibración para análisis de linealidad instrumental | 36 |
| 5.11 | Evaluación de distribución normal de los datos | 37 |
| 5.12 | Resultados de test de homogeneidad de varianzas | 38 |
| 5.13 | ANOVA para absorbancias en función de los días | 38 |
| 5.14 | Pendiente, intercepto y coeficiente de determinación | 39 |
| 5.15 | Correlación de Pearson | 40 |
| 5.16 | Resultados de repetibilidad y precisión intermedia | 41 |
| 5.17 | ANOVA de mediciones repetidas para la estimación de repetibilidad y precisión intermedia | 41 |
| 5.18 | Resultados de repetibilidad y reproducibilidad | 42 |
| 5.19 | ANOVA de medidas repetidas para análisis de | 42 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| | reproducibilidad | |
| 5.20 | Resultados de exactitud medida como error relativo y sesgo | 43 |
| 5.21 | Análisis de recobro resultados de recuperación de Hg obtenidos en una matriz natural de sedimento | 44 |
| 5.22 | Promedio de las curvas de calibración usada en la determinación de exactitud para el MRC | 47 |
| 5.23 | Resultados de recuperación de Hg obtenidos en una matriz natural de sedimento | 53 |
| 5.24 | Resumen de parámetros de estandarización del método para cuantificar Hg por EAA/VF | 54 |
| 7.1 | Contenido neto en el sedimento referencia certificado | 55 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Descripción | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 1.1 | Poporo antropomorfo. Arte Quimbaya | 1 |
| 1.2 | Proceso de extracción de oro por cianuración | 3 |
| 1.3 | Propiedades del mercurio | 4 |
| 1.4 | Ciclo biogeoquímico del mercurio | 5 |
| 1.5 | Transiciones electrónicas en absorción atómica | 7 |
| 1.6 | Esquema de accesorios para un espectrómetro de absorción atómica acoplada a un generador de vapores (AGV) | 8 |
| 4.1 | Esquema de trabajo | 27 |
| 4.2 | Proceso de extracción de mercurio | 28 |
| 4.3 | Procedimiento para preparación de estándares de calibración | 29 |
| 4.4 | Preparación de soluciones de verificación | 29 |
| 4.5 | Preparación de soluciones de adición | 30 |
| 4.6 | Lectura de la muestra en equipo EAA/VF | 30 |
| 5.1 | Histograma de distribución normal para el día 4 | 37 |
| 5.2 | Línea de tendencia y ecuación de la curva para evaluación de linealidad e instrumental | 39 |
| 5.3 | Análisis de recobro para adición de Hg a muestras naturales sin analito | 45 |
| 5.4 | Histograma de las incertidumbres estándar y su mayor o menor contribución a la determinación de la incertidumbre de la medición de Hg por el método de EAA/VF | 52 |

TABLA DE ABREVIACIONES

| Abr | Descripción |
|----------------|---|
| EAA | Espectroscopía de absorción atómica |
| VF | Vapor frío |
| GH | Generador de hidruros |
| AGV | Accesorio de generador de vapores |
| CRC | Corporación Autónoma Regional del Cauca |
| EPA | Environmental Protection Agency |
| EFA | Espectroscopía de fluorescencia atómica |
| EEA/PIM | Espectroscopía de emisión atómica con plasma inducido por microondas |
| EMDI/PI | Espectrometría de masas con disminución isotópica por plasma inducido |
| CG | Cromatografía de gases |
| CLAR | Cromatografía líquida de alta resolución |
| MEFS | Micro extracción en fase sólida |
| LCM | Límite de cuantificación del método |
| LDM | Límite de detección del método |
| ANOVA | Del ingles <i>Analysis of variance</i> (Análisis de varianzas) |
| MRC | Material de referencia certificado |

TABLA DE ECUACIONES

| Ecuación | Pág. |
|-----------------|-------------|
| 1.1 | 8 |
| 1.2 | 11 |
| 1.3 | 12 |
| 1.4 | 12 |
| 1.5 | 12 |
| 1.6 | 12 |
| 1.7 | 13 |
| 1.8 | 13 |
| 1.9 | 13 |
| 1.10 | 14 |
| 1.11 | 14 |
| 1.12 | 14 |
| 1.13 | 14 |
| 1.14 | 16 |
| 1.15 | 16 |
| 1.16 | 17 |
| 1.17 | 17 |
| 1.18 | 17 |
| 1.19 | 17 |
| 4.1 | 21 |
| 4.2 | 23 |
| 4.3 | 23 |
| 4.4 | 23 |
| 4.5 | 24 |
| 4.6 | 24 |
| 4.7 | 25 |
| 4.8 | 26 |
| 4.9 | 26 |
| 5.1 | 45 |
| 5.2 | 46 |
| 5.3 | 46 |
| 5.4 | 46 |
| 5.5 | 46 |
| 5.6 | 46 |
| 5.7 | 47 |
| 5.8 | 47 |
| 7.1 | 57 |

1. RESUMEN

Desde hace varios años se conoce que elementos como el mercurio, inclusive a nivel de partes por billón puede considerarse como nocivo para el ser humano y para cualquier otra especie animal o vegetal. La amenaza es clara y es por eso que en Colombia ya se han establecido planes de contingencia para el control en el manejo de mercurio, debido a que este metal ha sido explotado para gran variedad de usos industriales; por esta razón, las exposiciones ocupacionales, las emisiones y efluentes industriales que contaminan el aire, el agua, el suelo y, en última instancia, las cadenas alimenticias, se han convertido en motivo de gran preocupación para la salud pública y el medio ambiente [9]. Es por esta razón por lo que es necesario encontrar una metodología química adecuada que permita detectar focos de contaminación para poder implementar planes de saneamiento ambiental que mitiguen el impacto.

El actual trabajo pudo demostrar, a través de ensayos químicos y de análisis estadístico realizados en el Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC), que el método propuesto para la determinación de mercurio en sedimentos por espectroscopía de absorción atómica - vapor frío, siguiendo los lineamientos de la guía EPA 7471B, es totalmente apto para detectar y cuantificar el metal a nivel de trazas ya que el factor de respuesta de la técnica analítica fue sensible a la presencia de mercurio inclusive a niveles de hasta 0,6 partes por billón en matrices naturales.

La verificación e implementación del método pudo demostrar su aptitud y alcance para la detección de mercurio en matrices sólidas, y la determinación de los parámetros de estandarización pudieron constatar que el método es altamente preciso y exacto desde concentraciones de 0,8 µg/L en solución extractora, obteniendo porcentajes de recuperación por extracción ácida superiores al 90%.

El estudio estadístico realizado incluyó estudios de precisión y exactitud del método, cálculo de los límites críticos y del rango dinámico, además de la identificación y cuantificación de las fuentes de incertidumbre, siendo posible aumentar la confianza en los resultados reportados. Así, este método se presenta antes la comunidad académica y al Laboratorio Ambiental de la CRC como una hoja de ruta para la identificación de epicentros de contaminación por vertimientos industriales de mercurio, que puedan socavar el medio ambiente y la salud.

2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

2.1. Historia de la minería en Colombia

Colombia es un país rico en recursos minerales debido a los procesos geológicos que formaron sus valles, cordilleras y costas. Esta riqueza se hizo evidente desde tiempos precolombinos, pues se tiene conocimiento entre nuestros indígenas de la explotación artesanal de diferentes actividades mineras, que sorprende por la forma en que algunas comunidades trabajaron la orfebrería [1].

Específicamente, la historia de la minería de oro en el país comienza con la ocupación española y el despojo del oro indígena a comienzos del siglo XVI. Durante esta etapa nació la minería en nuestro país. Los gobiernos de la colonia trajeron la legislación minera que regía en España desde la Edad Media y la impusieron, al menos formalmente, a la actividad minera de estos territorios en donde la extracción se realizaba por medio de batea en ríos cargados de oro en gránulos dispersos en sus arenas rivereñas y en el limo de su fondo [1].



Figura 1.1. Poporo antropomorfo. Arte Quimbaya

Con esta tradición minera se arraigó la minería de oro en diferentes zonas geográficas de Colombia, y fue a partir del siglo XIX que el oro se posicionó como el principal producto de exportación y, este metal, además de la plata y el platino, que atrajeron casi desde el comienzo de la República a inversionistas extranjeros que trajeron capital y tecnología. Con ellos vinieron a lo largo de los años el molino californiano, la amalgamación con mercurio, la cianuración, la topografía de

precisión, la química metalúrgica, la turbina pelton, las bombas hidráulicas, la máquina de vapor, la dinamita, la draga de ríos, el monitor hidráulico y muchas otras innovaciones tecnológicas que desde entonces han ido apareciendo en el mundo [1].

En el presente, la ascendente demanda de materias primas por parte de los países desarrollados y de las economías emergentes que marcan la economía mundial, han posicionado el petróleo y los minerales colombianos en el mercado internacional de tal forma que desde el año 2003 la mayor parte de la creciente inversión extranjera se establece en sector de explotación de minas y canteras [2].

El oro, como metal precioso, ha adquirido diferente significación a través de la historia. Tiene un valor emocional, cultural y financiero, y diferentes personas de todo el mundo compran oro, a menudo influenciados por una variedad de factores socioculturales nacionales, condiciones del mercado local y factores macroeconómicos más amplios [3]. El aumento en la cotización de los metales preciosos en los mercados internacionales ha producido, en la última década, un incremento de las actividades extractivas de oro; sin embargo, en muchos casos estas acciones no han cumplido con los estándares requeridos en la industria minera. Propiamente, la actividad minera aurífera es una de las más controversiales por el impacto que genera, no solo a nivel ambiental, sino social, ya que la actividad informal e irrestricta desde el punto de vista legal refleja de una mejor manera la realidad social de las personas que ejercen ésta actividad con cierto tiempo de antelación y como medio de subsistencia. Bajo este concepto irregular de crecimiento extractivo, han proliferado procesos en beneficio del oro, particularmente aquellos que usan mercurio. Dichos procesos también son ejecutados sin el debido cumplimiento de los requisitos y mandatos legales vigentes, lo cual ha generado una preocupación mundial por las consecuencias para la salud y el medioambiente que puede ocasionar la exposición a este elemento químico y su mala utilización [4].

Actualmente, las grandes compañías mineras utilizan un procedimiento, legalmente vigente, conocido como **cianuración**, el cual busca eliminar el uso de mercurio y en el cual se recupera más oro que por cualquier otro método. En la cianuración, el oro metálico se oxida y se disuelve en una solución de cianuro alcalino, como se muestra en la figura 1.2. Cuando se completa la disolución de oro, la solución que contiene oro se separa de los sólidos. Para el uso y transporte seguro de cianuro en la producción de oro, las industrias mineras utilizan un programa voluntario conocido como el *Código Cianuro*, que se centra exclusivamente en la gestión segura del cianuro que se produce, transporta y utiliza para la recuperación de oro y plata, y en relaves de minería y soluciones de lixiviación [5].

Es innegable que el auge del sector minero de oro ha traído beneficios económicos al país hasta el día de hoy, pero también ha dejado daños irreversibles al medio ambiente, afectaciones a la salud de la población de los

municipios donde se realiza y ha perturbado el equilibrio social e incluso la seguridad nacional provocando la proliferación de explotaciones artesanales e ilegales de oro, que incumplen el compromiso por la preservación de la salud humana y la mitigación de los impactos ambientales que genera el desarrollo de actividades mineras que, según el Plan Único Nacional de Mercurio de diciembre del 2014, busca eliminar gradual y definitivamente el uso de técnicas dañinas que utilizan exclusivamente mercurio en el sector minero e industrial de Colombia.

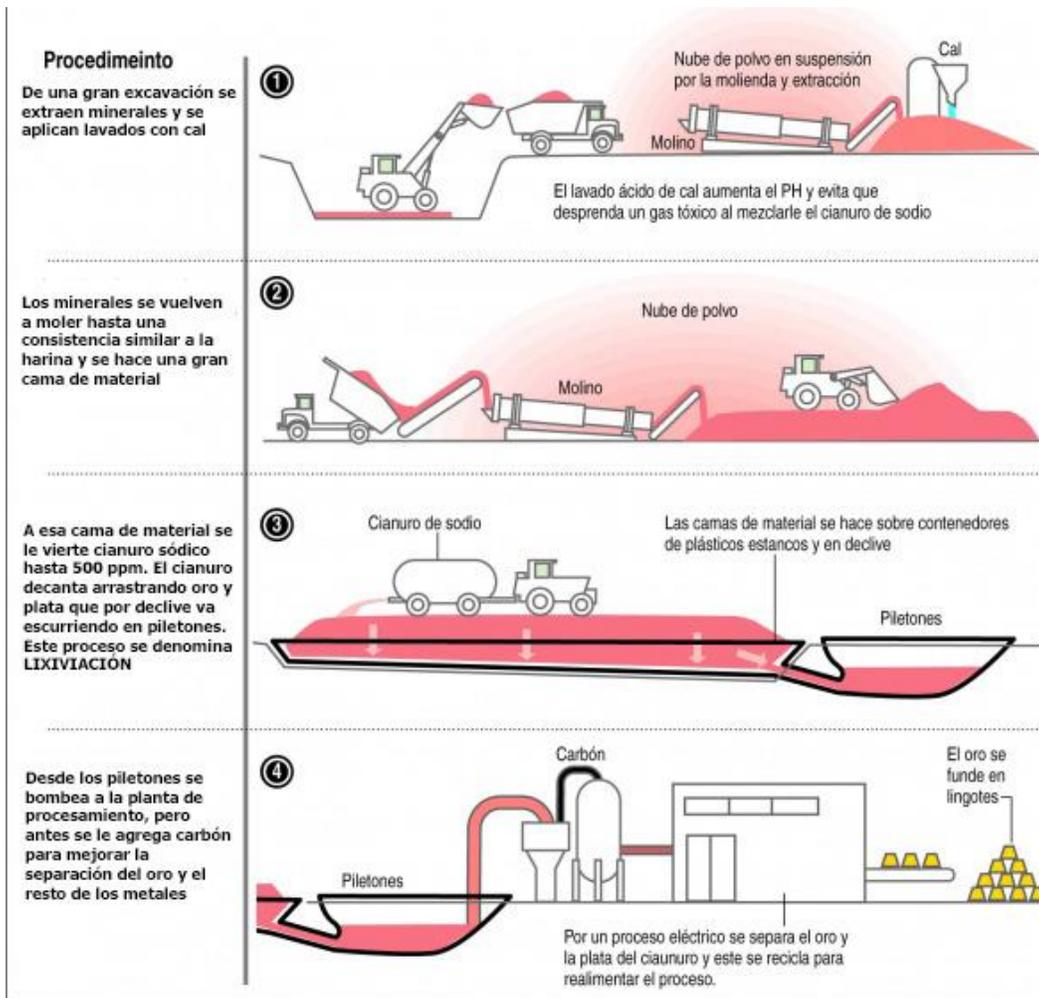


Figura 1.2. Proceso de extracción de oro por cianuración [6].

El foco de atención por emisiones de mercurio se centra principalmente en la actividad minera del oro ilegal, la de tipo artesanal y de pequeña escala que utiliza el proceso que consume mercurio, denominado **amalgamación con mercurio**, debido a la facilidad, rapidez y economía en la recuperación del oro; por lo cual la prefieren en muchos casos sobre otras técnicas.

Propiamente, el mercurio es un metal pesado plateado que a temperatura ambiente es un líquido inodoro, con una masa atómica de 200,59 g/mol, posee una temperatura de fusión de $-38,9^{\circ}\text{C}$ y un punto de ebullición de $356,7^{\circ}\text{C}$, el más

bajo de cualquier metal. Las gotas de mercurio líquido son brillantes y de color blanco plateado con una alta tensión superficial, que aparecen redondas cuando se encuentran sobre superficies planas. El líquido es altamente móvil y las gotas se combinan fácilmente debido a la baja viscosidad. El elemento también se combina, mediante procesos físicos, con otros metales como el estaño, el cobre, el oro y la plata para formar aleaciones de mercurio conocidas como las **amalgamas**. El mercurio tiene una presión de vapor relativamente alta y la mayor volatilidad de cualquier metal, vaporizándose a bajas temperaturas para convertirse en un gas incoloro e inodoro.

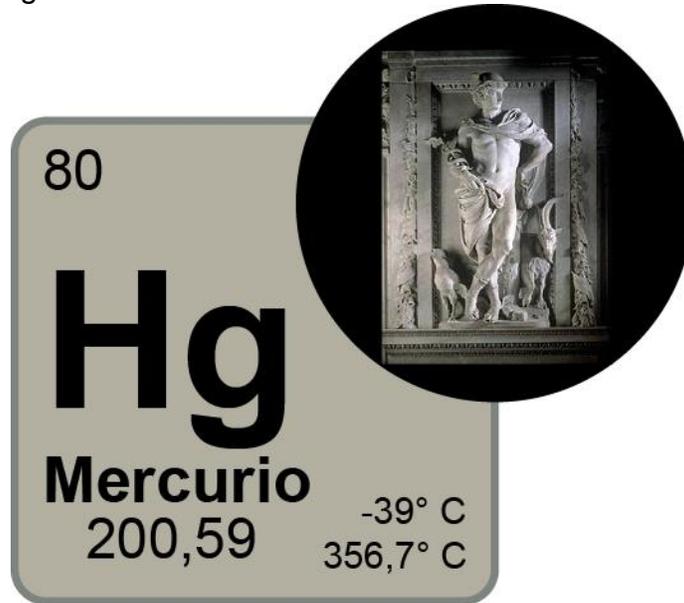


Figura 1.3. Propiedades del mercurio

El mercurio presente en las zonas mineras tiene dos orígenes: el natural y el antropogénico. Si bien en ocasiones se han reportado trazas de mercurio en fuentes de aguas no intervenidas por vertimientos con mercurio, en las áreas mineras del país, salvo contadas excepciones, se atribuye en los suelos, en las aguas, en los sedimentos y en el aire a las pérdidas del metal que ocurren durante todo el proceso de beneficio del oro; es decir, aquel que es liberado al agua y al suelo o emitido a la atmósfera durante la amalgamación y purificación del oro, debido a actividad ilegal, artesanal o a pequeña escala [2].

El mercurio derramado y presente en la naturaleza se encuentra como diferentes especies químicas: las de tipo elemental (Hg^0), las de tipo inorgánico (Hg^+ , Hg^{2+}) y sus formas orgánicas. Todas las formas del mercurio son nocivas para los seres humanos, pero el mayor o menor efecto tóxico depende de su forma química y de la vía de exposición; el metilmercurio (HgCH_3) y el dimetilmercurio ($\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$) son las formas orgánicas más tóxicas que afectan al sistema inmunológico, alteran los sistemas genéticos y enzimáticos y dañan el sistema nervioso, incluyendo la coordinación y los sentidos del tacto, el gusto y la vista, y se concentra en la cadena alimenticia por bioacumulación en la biota acuática durante su ciclo biológico; lo que quiere decir que se convierte entre sus diversas formas a

través de una gama de transformaciones abióticas y biogeoquímicas y durante el transporte atmosférico. Aunque su forma y disponibilidad para los organismos vivos puede cambiar con el tiempo, el mercurio persiste en el medio ambiente [7]. Las propiedades físicas y químicas del mercurio han sido explotadas para gran variedad de usos industriales, por esta razón, las exposiciones ocupacionales, las emisiones y efluentes industriales que contaminan el aire, el agua, el suelo y, en última instancia, las cadenas alimenticias, se han convertido en motivo de gran preocupación para la salud pública y el medio ambiente [9].

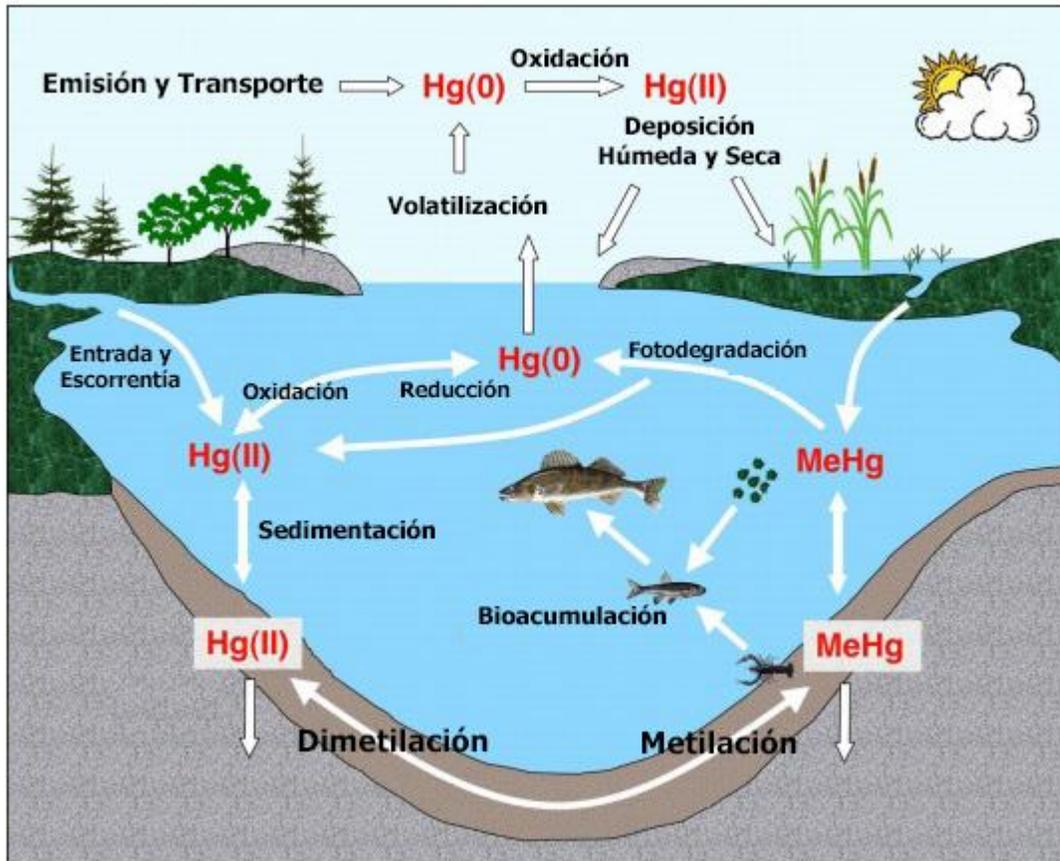


Figura 1.4. Ciclo biogeoquímico del mercurio [8].

2.2. Políticas de control en uso de mercurio en minería

En Colombia se han establecido planes de contingencia para el control en el uso de mercurio en actividades industriales mineras, y en el 2014, bajo el liderazgo del Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible se lanzó el Plan Único Nacional de Mercurio, que busca eliminar gradual y definitivamente su utilización en el sector minero e industrial del país [10]. De acuerdo a estos lineamientos de prevención, las Corporaciones Autónomas Regionales y de Desarrollo Sostenible, como autoridades ambientales a nivel regional, compete la vigilancia y detección de focos de contaminación por vertimientos de mercurio en actividades mineras informales que socaven el medio ambiente y los recursos naturales renovables.

Según informes presentados por el Ministerio de Minas y Energía de Colombia (MINMINAS) y la Universidad de Córdoba, para el 2014 se encontraban identificados 75 municipios adscritos a 19 regiones en los que se caracteriza la relevancia en consumo de mercurio debido a proliferación de explotaciones mineras ilegales alrededor del país [20].

Para el 2012, el departamento del Cauca contaba con 4 distritos mineros compuestos por 21 municipios productores de oro, que para ese mismo año producían el 4,1% del oro extraído en el país (medido en Unidades Productivas Mineras). Actualmente, en el departamento se ubica una de las regiones que consume mercurio dentro de la actividad extractiva aurífera, y se localiza entre los municipios de Suarez, cuya economía se basa un 27% fundamentalmente en actividad minera, y el municipio de Buenos Aires.

En la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC), con sede en el municipio de Popayán, se realizan análisis químicos tempranos dentro de las instalaciones del laboratorio ambiental, y el mercurio residual se detecta por Espectroscopía de Absorción Atómica/Vapor Frío (EAA/VF) a muestras de agua o sedimentos, haciendo seguimientos y permitiendo determinar focos de contaminación en afluentes hídricos dentro de los 21 municipios adscritos a los distritos mineros auríferos en el departamento.

Cabe resaltar que los sedimentos y suelos adyacentes a sistemas acuáticos contaminados con vertimientos antropogénicos de mercurio se ven igualmente afectados, y la acumulación progresiva produce condiciones inadecuadas para especies que habiten estos espacios, ya sean plantas que crecen en los alrededores, o animales y humanos que habiten la zona. Los niveles de mercurio asociados a suelos no contaminados están entre 0,03 – 0,500 mg/Kg. Para este intervalo de concentraciones, necesariamente se implica que la determinación de mercurio debe realizarse con óptimas metodologías de extracción y robustas técnicas analíticas para poder cuantificar cantidades realmente bajas del metal.

2.3. Determinación de mercurio mediante Espectroscopía de Absorción Atómica con Vapor Frío (EAA/VF).

Como técnica analítica, la espectroscopía de absorción atómica (EAA) tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente, como se muestra en la figura 1.5, por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos está determinada por la ley de Beer, que relaciona ésta pérdida de poder radiante con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la celda o recipiente que contiene los átomos absorbentes.

Tradicionalmente se ha utilizado la propiedad química de algunos elementos en los que la generación de vapores químicos, en conjunto con la espectroscopia de

absorción atómica, es una de las herramientas más poderosas para la determinación de trazas en una variedad de matrices.

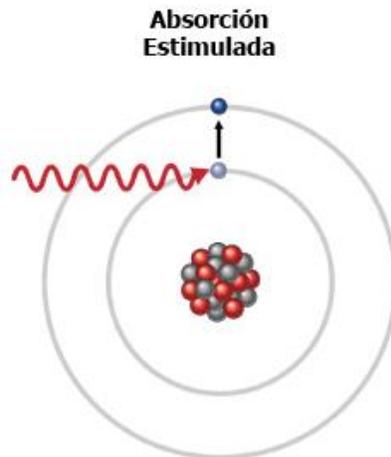


Figura 1.5. Transiciones electrónicas en absorción atómica.

Las técnicas de generación de vapores químicos incluyen la espectroscopia de absorción atómica por vapor frío (EAA/VF), una técnica de absorción atómica alternativa a la atomización por llama y uno de los métodos más sensibles para la determinación de mercurio.

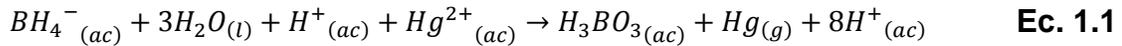
El principio analítico para la detección es la reducción con borohidruro de sodio, NaBH_4 , o cloruro de estaño, SnCl_2 , para convertir iones Hg^{2+} en solución a Hg^0 que produce una señal de absorbancia analítica más alta. El mercurio metálico generado, al tener una alta presión de vapor, se libera y es arrastrado por un gas inerte, como el nitrógeno N_2 , y transferido a la trayectoria óptica del espectrómetro de absorción atómica donde el mercurio absorbe la radiación de una longitud de onda específica de 253,7 nm a temperatura ambiente [11].

En la figura 1.6 se muestra el esquema de un sistema de generador de vapores en continuo, acoplado a un espectrómetro de absorción atómica, en el que se busca la determinación de mercurio haciendo uso de las propiedades únicas del elemento, y en el que el analito se puede determinar sin una celda de atomización y simplemente reduciéndolo al estado elemental y transfiriéndolo a la fase de vapor dentro de la trayectoria óptica de un sistema de detección adecuado [12].

En el sistema de generación del vapor frío de mercurio en su estado elemental, un capilar es colocado en la solución a medir y bombeado por una bobina a una cámara de reacción donde se acidifica automáticamente y se mezcla con el agente reductor, como borohidruro de sodio al 0,5%.

El vapor de mercurio resultante ya está en estado atómico, como se muestra en la ecuación 1.1, por lo que no hay necesidad de un atomizador, per se. Así, el vapor es arrastrado por un gas inerte y transferido directamente a la celda de cuarzo de trayectoria de absorción larga (30 cm) que amplifica la sensibilidad y el límite de

detección. Como medida de absorción se utiliza una lámpara de descarga a una longitud de onda de 253,7 nm.



Las técnicas analítica de generación del vapor frío acoplado al espectrómetro de absorción atómica EAA/VF ofrece varias ventajas en la detección de mercurio:

- (1) Se logra la separación del analito de la matriz que invariablemente conduce a una mejor precisión en la determinación.
- (2) La pre-concentración se implementa fácilmente.
- (3) La especiación química simple puede discernirse en muchos casos
- (4) Los procedimientos son susceptibles de automatización.

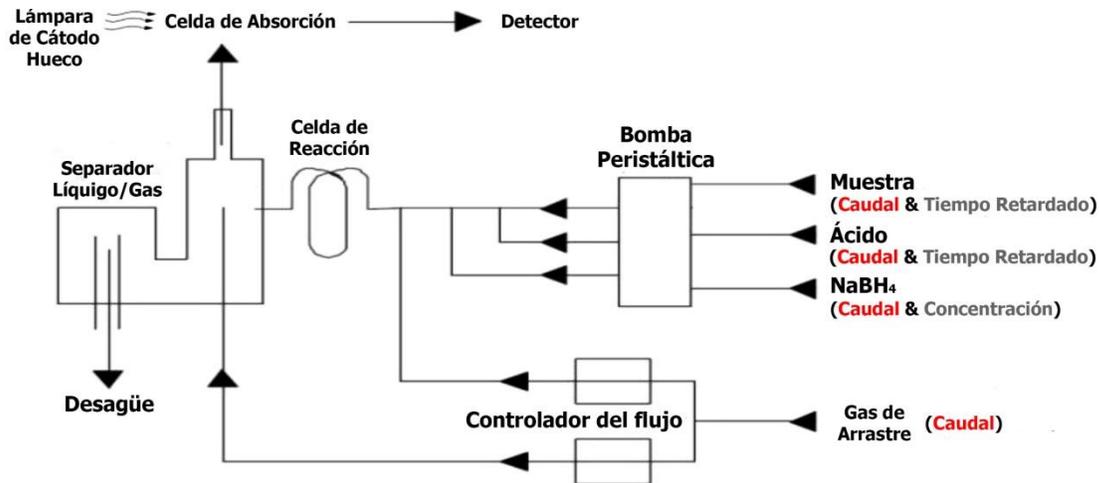


Figura 1.6. Esquema de accesorio para un espectrómetro de absorción atómica acoplado a un generador de vapores (AGV) [11].

Igualmente, tampoco se conocen interferencias espectrales con la técnica de vapor frío; el vapor de agua que se pueda filtrar no absorbe en la línea de 253,7 nm, aunque las gotas de agua que se transportan a la celda pueden provocar la atenuación de la fuente. Al usar borohidruro como agente reductor se pueden encontrar interferencias químicas que incluyen arsénico, selenio, antimonio y en general elementos formadores de hidruros, pero se descarta la absorción de haz de luz a una longitud de 253,7 nm que es propia del mercurio [12].

Los desafíos analíticos asociados a la determinación de mercurio y sus diferentes especies químicas han llevado a la necesidad de desarrollar muchas más técnicas analíticas confiables para su detección, así como tratamientos previos realizados a la muestra, que incluye la revisión de enfoques para la recolección y almacenamiento de muestras, metodologías de extracción, concentración previa e inclusive separación mediante técnicas cromatográficas acopladas a distintos métodos espectroscópicos.

Entre las técnicas analíticas también útiles en la determinación de mercurio, además de la espectroscopía de absorción atómica con vapor frío, se encuentra la espectroscopía de absorción atómica por atomización con llama, espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica, la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo, espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo y la espectroscopía de fluorescencia atómica con vapor frío. A continuación, en la tabla 1.1, se enumeran una serie de metodologías analíticas desarrolladas para la determinar mercurio y sus diferentes especies químicas [13].

Tabla 1.1. Técnicas analíticas aplicadas a la determinación de mercurio [13].

| Especie química de Hg | Pre tratamiento de la muestra | Separación y pre concentración | Técnica de detección | Límite de detección (ng/L) |
|--|---------------------------------------|--|----------------------|---|
| MMeHg | Derivatización con NaBEt ₄ | Separación con CG y pirolisis, reducción a Hg ⁰ | EFA | MMeHg: 0.01 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg | Derivatización con NaBH ₄ | Separación con CG | EFA | Hg ²⁺ inorg: 0.13 MMeHg: 0.01 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg | Derivatización con NaBH ₄ | Separación con CG | EFA | Hg ²⁺ inorg: 0.13 MMeHg: 0.01 |
| MMeHg DEtHg | MEFS | Separación con CG | EEA/PIM | DMeHg: 120 DEtHg: 25 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg DMeHg | Derivatización con NaBH ₄ | Separación con CG | EEA/PIM | Hg ²⁺ inorg: 6500 MMeHg: 1300 DMeHg: 210 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg EtHg PhHg | - | Micro CLAR | EM/PI | Hg ²⁺ inorg: 11 MMeHg: 23 EtHg: 8 PhHg: 32 |
| MMeHg | Derivatización con NaBH ₄ | Separación con CG | EMDI/PI | MMeHg: 0.003 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg | MEFS con C18 | Separación con CLAR, digestión e irradiación con UV, genera VF | EFA | Hg ²⁺ inorg: 5.2 MMeHg: 5.6 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg | Complejación con 2-mercaptoetanol | Separación con CLAR, digestión e irradiación con UV, genera VF | EFA | Hg ²⁺ inorg: 11000 MMeHg: 8000 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg | Derivatización con NaBH ₄ | Separación con CLAR y generación de VF | EAA | Hg ²⁺ inorg: <1.2 MMeHg: 0.008 |
| Hg²⁺ inorg MMeHg EtHg PhHg | Complejación y MEFS con C18 | Separación con CG | EMDI/PI | Hg ²⁺ inorg: 800 MMeHg: 4300 EtHg: 1400 PhHg: 800 |

2.4. Metodología empleada en el laboratorio ambiental de la CRC para la extracción y determinación de mercurio en sedimentos

La necesidad de una óptima determinación de mercurio en sedimentos requiere de una metodología con una eficaz extracción del metal para su total cuantificación. En el laboratorio de la CRC se utilizaron los lineamientos del método EPA 7471B (SW-846) de la *Environmental Protection Agency* (EPA) para la extracción de mercurio, utilizando un espectrómetro de absorción atómica mediante la técnica de vapor frío.

Para el procesamiento que se le realiza a la muestra sólida, según las especificaciones de la EPA, se requiere de una extracción del metal mediante una digestión ácida con agua regia debido a que estos metales se absorben ligeramente sobre material orgánico particulado. Para reducir las interferencias de materia orgánica y convertir el mercurio asociado a su forma de ion metálico libre Hg^{2+} se utiliza ácido nítrico y clorhídrico en relación tres a uno, más la adición de permanganato de potasio (Ver ecuación 1.1) que sirve para oxidar cualquier remanente de mercurio en estado elemental. La digestión se lleva a cabo durante media hora y a una temperatura cercana a la ebullición. Posteriormente, la lectura del vapor de mercurio por espectroscopía de absorción atómica se realiza a su estado elemental Hg^0 , tras la reducción del ion metálico Hg^{2+} extraído, con borohidruro de sodio en un medio fuertemente ácido, y es empujado al canal óptico por una bomba peristáltica que succiona nitrógeno como gas inerte para arrastrar el vapor a la celda de absorción (Ver sección 1.3) [14].

Las mediciones de mercurio que se hacen en la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC) utilizando espectroscopía de absorción atómica por vapor frío se sometieron a pruebas estadísticas para asegurar la calidad de los análisis, de forma que la óptima determinación de mercurio, como soporte técnico, ayude a la corporación regional del Cauca en la elaboración de planes de saneamiento y manejo de vertimientos con el objetivo de cumplir con los requisitos de calidad en aguas superficiales que puedan verse vulneradas por actividades ilegales en beneficio del oro en el departamento del Cauca.

2.5. Conceptos fundamentales en la estandarización de métodos analíticos

Todas las mediciones analíticas son relevantes y por lo tanto determinar el resultado correcto y ser capaz de demostrarlo es de vital importancia. Para esto es necesaria la estandarización de métodos, que son procesos en los cuales se establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

La estandarización de métodos es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos. Si bien la mayoría de los químicos analíticos son conscientes de ello, no siempre está claro por qué y cuándo debe realizarse y qué es necesario hacer. Los requisitos de las norma ISO/IEC 17025 han ayudado a clarificar este

tema. Por ejemplo, la necesidad de demostrar que los métodos deben adecuarse a su uso previsto se indica claramente en la norma ISO/IEC 17025:

“El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza... Cuando el cliente no especifique el método a utilizar, el laboratorio debe seleccionar los métodos apropiados...” [15]

La finalidad fue, entonces, analizar las cuestiones relacionadas con la estandarización de metodologías analíticas aplicadas a la determinación de mercurio por EAA/VF y de cómo se debió llevar a cabo.

Durante el proceso de estandarización o validación de un método analítico se requieren instrumentos calificados y calibrados, métodos documentados, patrones de referencia confiables, analistas calificados e integridad de las muestras. Algunas características analíticas típicas a evaluar en la estandarización son [18]:

- Linealidad
- Intervalo de determinación
- Límite de detección y cuantificación
- Precisión
- Exactitud
- Incertidumbre

Dada la importancia de estos parámetros, se ahonda en las características generales de desempeño

2.5.1. Límite de detección

Según la Eurachem, el límite crítico de detección se define como la menor cantidad de analito que puede detectarse de una muestra en estado neto o concentración neta mínima detectable, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones del experimento indicadas [18]. Así, las pruebas límite confirman simplemente que la cantidad del analito se encuentra por encima o por debajo de un cierto nivel.

Imaginando un método analítico donde los resultados de dicho método siguen una distribución normal. Si se analizan blancos de muestra, los valores de concentración (en ausencia de un error sistemático), se distribuirían alrededor del cero con una desviación estándar α_0 , lo que quiere decir que como resultado de la medida de un blanco, y de los errores experimentales del método, se podría obtener una concentración que no fuese cero. Lo que se hace, entonces, es acotar los resultados de la distribución en algún punto, denominado *valor crítico*, L_C , que permite decidir si el analito se encuentra presente o no. Si la concentración es superior a L_C , se puede estimar que el analito está presente en la muestra [16].

La decisión de si un determinado analito está en la muestra o no se basa en la comparación de una concentración predicha del analito, donde:

$$L_c = z_{1-\alpha} * \sigma_0 \quad \text{Ec. 1.2}$$

Siendo $z_{1-\alpha}$ es el valor de distribución normal de una cola y para un nivel de significación α , y σ_0 es la desviación estándar de la concentración neta cuando el analito no está presente. L_c se define para marcar un valor mínimo a partir del cual una concentración predicha se considera causada por el analito. De esta forma, existe un riesgo de cometer un error por falso positivo. Sin embargo, si se quiere mantener un riesgo (llamado β) pequeño de cometer un falso negativo, el límite de detección del método, L_D , debe ser mayor. Así pues, tomando en consideración ambas probabilidades de error:

$$L_D = z_{1-\alpha} * \sigma_0 + z_{1-\beta} * \sigma_D \quad \text{Ec. 1.3}$$

Donde $z_{1-\beta}$ es el valor de la distribución normal de una cola y para un nivel de significación β y σ_D es la desviación estándar de la concentración neta cuando el analito está presente en la muestra al nivel del límite de detección. En las ecuaciones 1.2 y 1.3 se ha asumido que las concentraciones siguen una distribución normal con varianza conocida. Tomando como valores por defecto para $\alpha = \beta = 0.05$, y asumiendo que la varianza es constante entre $c = 0$ y $c = L_D$, la ecuación 1.3 se transforma en:

$$L_D = 3\sigma_0 \quad \text{Ec. 1.4}$$

2.5.2. Límite de cuantificación

Definido como la menor cantidad de un analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del experimento establecidas. El límite de cuantificación del método se calcula como:

$$L_c = 10s_0 \quad \text{Ec. 1.5}$$

Siendo s_0 la desviación estándar de las réplicas realizadas para la ecuación 1.5

2.5.3. Linealidad e intervalo de determinación

La *linealidad* de un método define la relación lineal entre una señal analítica y la concentración del analito. Por su parte, el *intervalo de determinación* corresponde al intervalo de concentración más fiable de medida para la determinación analítica del analito. Este intervalo está comprendido entre la concentración correspondiente al límite de cuantificación del método y la concentración máxima que entrega el límite de linealidad [17].

En química analítica, la relación lineal comprendida en el intervalo de determinación se representa gráficamente mediante una curva de calibración que

muestra la variación proporcional de la señal analítica respecto a la concentración del analito.

Suponiendo una curva de calibración en la que existe una relación lineal entre la señal analítica (eje y) y la concentración del analito (eje x), y que se ajusta a la ecuación:

$$y = mx + b \quad \text{Ec. 1.6}$$

La mejor forma de calcular la mejor línea recta a través de los puntos de la gráfica de calibración es mediante el *método de los mínimos cuadrados*, en la que se determina la recta de regresión de y sobre x, y consiste en minimizar la suma de los cuadrados de la diferencia entre el valor calculado y el valor experimental. La mejor recta de calibración es aquella que provee la menor diferencia entre el valor calculado y el valor experimental.

Teniendo una recta de calibración que se encuentra definida según la ecuación 1.6, el método de mínimos cuadrados permite obtener las estimaciones de la ordenada en el origen, y la pendiente [15]:

$$m = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Ec. 1.7}$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad \text{Ec. 1.8}$$

Donde \bar{x} y \bar{y} corresponden al valor medio de las coordenadas x e y de los n puntos experimentales de la curva de calibración.

Una forma de evaluar el modelo de linealidad de una recta de calibración es mediante el cálculo del coeficiente de correlación, r, cuyo resultados, estimados entre $-1 > r < +1$, ayudan a establecer si los puntos experimentales se ajustan bien o no a una línea recta. Para modelos de calibración se esperan rectas de pendiente positiva, de forma que cuando r se acerca más a +1, se obtiene una correlación positiva cerca de la perfección. De forma contraria, si no existe correlación entre x y y, el valor de r es cero [15]. El coeficiente de correlación se define matemáticamente como:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Ec. 1.9}$$

Aunque los coeficientes de correlación son sencillos de calcular, también son mal interpretados con facilidad. Debe tenerse en cuenta que el uso de la ecuación 1.9 genera un valor de r aun cuando los datos sean claramente de carácter no lineal. Una forma de saldar un falso positivo de este tipo se recomienda representar las

gráficas de calibración para no deducir erróneamente una relación de carácter no lineal [15].

2.5.4. Exactitud y precisión

Exactitud corresponde a la proximidad entre el resultado de una medición obtenida al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces y contrastado con un valor que es aceptado como valor de referencia (material certificado) [18]. La validación de métodos trata de investigar la exactitud de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre resultados individuales. Por lo tanto, normalmente la exactitud se estudia como dos componentes: 'veracidad' y 'precisión'. Además, una expresión cada vez más común de exactitud es "incertidumbre de medición", la cual proporciona un solo valor.

'Veracidad' de medición es una expresión de la proximidad de la media de un número infinito de resultados (producidos con el método) a un valor de referencia. Puesto que no es posible realizar un número infinito de mediciones, no se puede medir la veracidad. Sin embargo, se puede realizar una evaluación práctica de la veracidad. Por lo general, esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de 'sesgo', basado en la comparación de la media de los resultados de medición del método candidato con un valor de referencia adecuado.

Existen tres enfoques generales: a) análisis de materiales de referencia, definido por la ISO (Organización Internacional para la Estandarización) como "*un material, acompañado de un certificado, con una o más de sus propiedades certificadas por un procedimiento que establezca su trazabilidad a una realización precisa de la unidad en la que los valores de la propiedad se expresan, y para los cuales cada valor certificado se acompaña por una incertidumbre a un determinado nivel de confianza*" [16]. b) experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas, y c) comparación con resultados obtenidos mediante otro método. Los estudios de sesgo deben cubrir el alcance del método y, por lo tanto, pueden requerir el análisis de diferentes tipos de muestra y/o diferentes niveles de analito. Para lograr esto, se puede requerir una combinación de estos enfoques diferentes.

El sesgo puede expresarse en términos:

- a) Absolutos

$$S = |\bar{x} - x_{ref}| \quad \text{Ec 1.10}$$

- b) Porcentajes relativos

$$\%S = \frac{|\bar{x} - x_{ref}|}{x_{ref}} * 100 \quad \text{Ec. 1.11}$$

- c) Recuperación relativa de adiciones

$$\%R' = \frac{|\bar{x}' - \bar{x}|}{x_{adición}} * 100 \quad \text{Ec. 1.12}$$

Donde \bar{x}' es el valor medio de la muestra adicionada y $x_{adición}$ es la concentración añadida.

Sin embargo, en algunos sectores de medición analítica, también se utiliza la recuperación relativa ('recuperación aparente') en porcentaje:

$$\%S = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} * 100 \quad \text{Ec. 1.13}$$

Para determinar el sesgo utilizando un material de referencia (MR), se determinan la media y la desviación estándar de una serie de mediciones repetidas y se comparan los resultados con el valor asignado para la propiedad del MR. El MR ideal es un material de referencia de matriz certificado con valores de las propiedades próximos a los de las muestras de ensayo de interés.

En ausencia de MR adecuados, se pueden utilizar estudios de recuperación (experimentos con adiciones) para dar una indicación del nivel de sesgo probable. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en la muestra y a veces solo algunas de éstas son de interés para el analista. De este modo, el método puede diseñarse deliberadamente para determinar solo una determinada forma del analito. La incapacidad de un método para determinar todo o parte del analito presente puede reflejar un problema inherente al método.

Precisión es una medida de cuan cerca están los resultados los unos de los otros por mediciones replicadas en condiciones específicas y generalmente se expresa por medidas como la desviación estándar, o desviación estándar relativa, calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones a un material adecuado en condiciones específicas. La decisión sobre las "condiciones específicas" es un aspecto importante de la evaluación de la precisión de la medida - las condiciones determinan el tipo de estimación obtenida de la precisión [18].

Existen dos formas, las más comunes, de plantear el estudio de precisión, la *repetibilidad* y *reproducibilidad*, la primera hace referencia a la dispersión de los resultados originados por dar la más pequeña variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo. La *reproducibilidad* se define como la dispersión de resultados originados por dar la mayor variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados entre laboratorios, o con un cambio de método pero con la intención de determinar la misma magnitud, o la aplicaciones del mismo método a alícuotas de la misma muestra, para determinar el mismo analito, en el mismo laboratorio y los ensayos de determinación se realizan tanto en días consecutivos como no consecutivos.

Entre estos dos extremos, la *precisión intermedia* ofrece una estimación de la variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en un solo laboratorio, pero en condiciones que son más variables que las condiciones de repetibilidad. Las condiciones exactas utilizadas deben establecerse en cada caso. El objetivo es obtener una estimación de la precisión que refleje todas las fuentes de variación que se producirán en un solo laboratorio en condiciones de rutina (diferentes analistas, períodos de tiempo prolongado, diferentes piezas de equipos etc.) [18].

La evaluación de la precisión es generalmente dependiente de la concentración de analito, y así debe determinarse en una serie de concentraciones a través del intervalo de trabajo. Esto podría incluir una concentración particular de interés (tal como un límite reglamentario) más concentraciones a los límites del intervalo de medición. En los casos en que la concentración medida está muy por encima del límite de detección, la precisión que se determina, es a menudo proporcional a la concentración de analito. En tales casos, puede ser más apropiado expresar la precisión como una desviación estándar relativa ya que ésta es aproximadamente constante a lo largo del rango de interés.

2.5.5. Incertidumbre

Un típico método instrumental de análisis implica varias mediciones experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y contribuye al error indeterminado neto del resultado final. La palabra incertidumbre está relacionada con el concepto general de *duda*, pero también se asocia al conocimiento limitado de un valor particular. Según la guía de la Eurachem *Cuantificación de la Incertidumbre de Medidas Analíticas* [21], la incertidumbre es “*un parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al valor de medida*”. La incertidumbre de medida no implica duda sobre la validez de una medida, sino el aumento de la confianza en la validez del resultado de una medición [18].

Como medida de la propagación del error, la incertidumbre es el resultado de la suma de errores aleatorios y determinados propios del método. De estos últimos, pueden sugerirse algunas posibles fuentes como una definición incompleta del valor de medida, muestreo, efectos de la matriz e interferencias, condiciones ambientales, incertidumbres de equipos másicos, volumétricos, valores de referencia, aproximaciones y asunciones incorporadas en el método de medida y procedimiento, y variaciones aleatorias.

Según la guía de estimación de incertidumbres de la Eurachem, la incertidumbre global puede calcularse como la sumas de las contribuciones individuales, de forma que se toma cada fuente de incertidumbre y se trata separadamente para obtener la contribución de esa fuente; tratada como desviación estándar, la incertidumbre de esa fuente se conoce como **incertidumbre estándar**.

El cálculo de las incertidumbres individuales se estima directamente como la conversión de una desviación estándar (en la forma de $\pm a$). Sin embargo, cuando se dé un intervalo de confianza a un nivel $p\%$ (como $\pm a$ a $p\%$), entonces se debe calcular a partir de la desviación estándar al dividir el valor de a entre el punto porcentual apropiado de la distribución normal de confianza dado.

Ec. 1.14. Incertidumbre al 95%

$$u = \frac{c}{2}$$

Ec. 1.15. Incertidumbre al 99,7%

$$u = \frac{c}{3}$$

En caso de que no se especifique algún intervalo de confianza, la incertidumbre individual se calcula como la división de $\pm a$ entre el patrón de distribución de probabilidad.

Ec. 1.16. Incertidumbre para distribución rectangular

$$u = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

Ec. 1.17. Incertidumbre para distribución triangular

$$u = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Después de estimar los componente individuales y ser expresados como incertidumbres estándar para un resultado de medida y , el siguiente paso es estimar la incertidumbre total, expresada como **incertidumbre estándar combinada** (u_c) que es la desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por combinación de todos los componentes de la incertidumbre sin importar cómo sea evaluada, utilizando la *ley de propagación de la incertidumbre*.

La relación general entre la incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$ de un valor y y las incertidumbres de los parámetros independientes x_1, x_2, \dots, x_i de los que depende es:

$$u_c(y(x_1, x_2 \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1,n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1,n} u(y, x_i)^2} \quad \text{Ec. 1.18}$$

Siendo $y(x_1, x_2 \dots)$ una función de varios parámetros $x_1, x_2 \dots$, c_i es un coeficiente de sensibilidad evaluado como $c_i = \frac{\partial y}{\partial x_i}$, la diferencia parcial de y con respecto

a x_i y $u(y, x_i)$ denota la incertidumbre de y derivada de la incertidumbre en x_i . La contribución de cada variable $u(y, x_i)$ es precisamente el cuadrado de la incertidumbre asociada expresamente como desviación estándar multiplicada por el cuadrado del coeficiente de sensibilidad adecuado. Este coeficiente describe cómo el valor de y varía con los cambios en los parámetros $x_1, x_2 \dots$ [21].

Para la mayor parte de los propósitos en química analítica, se debería utilizar la **incertidumbre expandida** (U). La incertidumbre expandida proporciona un intervalo en el que se cree que está el valor del mensurando con un mayor nivel de confianza. La U se obtiene multiplicando $u_c(y)$, la incertidumbre estándar combinada, por un factor de cobertura (k). La elección del factor k se basa en el nivel de confianza que se desea. Para un nivel aproximado de confianza del 95%, k es habitualmente 2 [21].

$$U = 2u_c(y)$$

Ec. 1.19

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Implementar y estandarizar un método para la determinación de mercurio en sedimentos en el laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC) utilizando la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica/Vapor Frío (EAA/VF) basado en la metodología propuesta en la norma 7471B EPA US (SW-846) de la Agencia (EPA)

3.2. Objetivos específicos

- Implementar un método para la determinación de mercurio en sedimentos por EAA/VF.
- Estandarizar una metodología para la determinación de mercurio en sedimentos teniendo en cuenta los parámetros estadísticos: precisión, exactitud y recobro, rango dinámico, límite de detección y cuantificación e incertidumbre.
- Aplicar la metodología estandarizada a muestras reales de sedimentos suministradas por la Corporación Regional del Cauca (CRC).

4. SECCIÓN EXPERIMENTAL

A continuación se describe el procedimiento que se empleó para la implementación y posterior estandarización del método espectrofotométrico para el análisis del contenido de mercurio en muestras de sedimentos.

4.1. Materiales equipos y reactivos

4.1.1. Materiales

Tabla 4.1. Materiales usados durante la implementación del método.

| Material | Cantidad |
|--------------------------------|----------|
| Erlenmeyer 125,00 ± 6,25 mL | 25 |
| Balón aforado 100,0 ± 0,1 mL | 20 |
| Balón aforado 50,00 ± 0,06 mL | 5 |
| Balón aforado 25,00 ± 0,04 mL | 10 |
| Beaker 50 mL | 5 |
| Beaker 250 mL | 3 |
| Pipeta grad. 10,000 ± 0,075 mL | 1 |
| Pipeta grad. 25,00 ± 0,09 mL | 1 |
| Frasco lavador | 2 |
| Espátula | 2 |
| Gotero | 1 |

4.1.2. Equipos

Tabla 4.2. Descripción de los equipos utilizados durante la estandarización

| Equipo | Descripción | Cantidad |
|------------------------------------|---|----------|
| Espectrómetro de absorción atómica | Thermo Scientific Ice 3000 Series AA Spectrometer | 1 |
| Equipo generador de vapores (VGA) | Thermo Scientific VP 100 Vapour System | 1 |
| Pipeta | Transferpette Brand 0,5 – 5 mL | 1 |
| Pipeta | Transferpette Brand 25 – 250 µL | 1 |
| Baño María | DiES | 1 |
| Balanza analítica | Precisa 92SM-202A | 1 |
| Horno | BINDER REDLINE | 1 |

4.1.3. Reactivos

- Agua desionizada
- Ácido nítrico (HNO₃) Merck al 69%
- Ácido clorhídrico (HCl) Merck 37%
- Permanganato de potasio (KMnO₄) J.T. Baker – Fisher Scientific al 5%
Se disuelven 5 g de KMnO₄ en 100 mL de agua desionizada
- Cloruro de hidroxilamina (NH₂OH*HCl) PanReac AppliChem al 5%

Se disuelven 2,5 g de cloruro de hidroxilamina en 50 mL de agua desionizada

- Borohidruro de sodio (NaBH_4) PanReac AppliChem al 0,5%
Se disuelven 0,5 g de NaBH_4 junto con 0,5 g de hidróxido de sodio (NaOH) Merck en 100 mL con agua desionizada
- Ácido clorhídrico (HCl) Merck al 5%
Tomar 13,5 mL de HCl concentrado y aforar a 100 mL con agua desionizada

4.2. Procedimiento para el análisis de mercurio por espectroscopía de absorción atómica por la técnica de vapor frío (EAA/VF)

Para la determinación del metal se escogió el método 7471B (SW-846) propuesto por la *Environmental Protection Agency* (EPA) de los Estados Unidos como guía para realizar la extracción del analito y la lectura en la solución extractora por EAA/VF.

4.2.1. Calibración del material volumétrico

Dado que todos los instrumentos de medida usados, principalmente matraces volumétricos tipo A, certifican cantidades que se utilizan dentro de una cierta tolerancia, para una mayor exactitud en las medidas utilizadas en el proceso de implementación y estandarización del método 7471B, se calibró el material para conocer el volumen que realmente contienen. El calibrado se hizo por diferencia de masas mediante el llenado de agua contenido en el volumen específico de cada equipo utilizado, teniendo en cuenta la dilatación térmica del agua aunque despreciando el producido por el material de vidrio. Ya que equipos como pipetas y balanzas habían sido calibrados previamente por un agente externo, el proceso de calibración por llenado y pesaje de agua se realizó únicamente a 25 matraces de 100,0 mL y 10 matraces de 25,00 mL a una temperatura de ensayo de 21 °C. Por lo tanto, el volumen real se calcula como [22]:

Ecuación 4.1 $Volumen Real = (g\ agua) * (volumen\ de\ 1\ g\ de\ agua\ a\ 21\ ^\circ C)$

Para cada matraz utilizado, se realizaron réplicas de 3 medidas

4.2.2. Evaluación de las condiciones espectroscópicas

Según especificaciones de la casa fabricante del equipo de absorción atómica Thermo Fisher Scientific, se establecieron algunos parámetros como la concentración y el flujo del agente reductor y de la solución extractora, además de parámetros de calibración instrumental como la altura de la celda de absorción y el tiempo de lectura.

Para la preparación de patrones para la estandarización se utilizó una solución patrón de mercurio trazable a SRM de NIST ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ en HNO_3 2 mol/l, 1000 ± 2 mg/L Hg).

Tabla 4.3. Parámetros de trabajo en equipo de EAA/VF

| Parámetro | Valor |
|-------------------------------------|-------------|
| Flujo NaBH ₄ 0,5% | 1,6 mL/min |
| Flujo HCl 0,5% | 0,7 mL/min |
| Flujo Solución Extractora | 7,5 mL/min |
| Flujo de N ₂ de arrastre | 50 mL/min |
| Altura de Celda de Absorción | 15,4 cm |
| Tiempo de Lectura | 90 s |
| Corrección de fondo | D2 Quadline |

4.3. Calibración del equipo EAA/VF mediante curvas de calibración por patrón externo

Como primer caso de estudio, se analizaron curvas de calibración con 7 puntos experimentales: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 µg/L (blanco de reactivos únicamente con agua desionizada) y cuyos patrones estándar no fueron sometidos al proceso de extracción ácida que describe el método 7471B, por lo que su preparación consistió únicamente en diluciones sucesivas del titrisol de Hg de 1000 mg/L en agua desionizada. El análisis estadístico se estima mediante estudios de precisión, analizando la reproducibilidad de las curvas, con factor de agrupamiento debido a la medición de una por mes, entre febrero y agosto del 2018 y que fueron almacenadas previamente en el software SOLAAR 2018.

4.4. Determinación de los parámetros de estandarización de un método para extracción y cuantificación de mercurio por EAA/VF

A continuación se describe el proceso con el cual se propuso la implementación y estandarización del método para la determinación de mercurio en sedimentos en el Laboratorio Ambiental de la CRC para la determinación de mercurio por EAA/VF, basándose en el método 7471B (SW-846) de la EPA. Para el procedimiento analítico se siguieron las guía de validación de métodos propuestas por la Eurachem *Adecuación al Uso de Métodos Analíticos, Una Guía de Laboratorio Para Validación de Métodos y Temas Relacionados*, además del documento protocolo de estandarización de métodos analíticos del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) [18, 19].

El desarrollo en la implementación y estandarización se realizó a patrones líquidos y a matrices naturales sometidos a extracción, según las especificaciones ya establecidas. A continuación se describen los lineamientos seguidos para cada variable

4.4.1. Límite de detección (LDM) y cuantificación (LCM) del método

Para la determinación de los límites críticos se realizó primeramente un estimado teórico que se obtuvo mediante la medición de 14 réplicas de blancos, en donde el teórico de la medida fue aproximadamente 3 y 10 veces la desviación estándar de los blancos para el LD y LC respectivamente [18].

Considerando representativa la medición de 14 réplicas de un blanco, se realizaron correcciones del blanco, por lo que se tuvo precaución al determinar la desviación estándar de la réplica de blancos utilizada en la determinación de LDM y LCM. En tal caso [18]:

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 4.2}$$

Siendo s'_0 la desviación estándar corregida, s_0 la desviación estándar de los blancos y n el número de réplicas del blanco

Por lo que las ecuaciones 1.4 y 1.5 se corrigieron como (siendo LDM y LCM el límite de detección y cuantificación de método respectivamente):

$$\text{Ec. 4.3.} \\ LDM = 3s'_0$$

$$\text{Ec. 4.4.} \\ LCM = 10s'_0$$

En la práctica, los resultados teóricos de LD y LC se sometieron a análisis mediante la preparación de 10 réplicas fortificadas a las concentraciones estimadas, esperando un valor aceptable cuando la medida de la desviación estándar relativa fue menor del 20% en ambos casos.

Para asegurar réplicas representativas, las desviaciones estándar deben ser representativas de acuerdo al desempeño del método, por lo que en el caso de las muestras blanco y las fortificadas, la desviación estándar se calculó basándose en los resultados obtenidos cuando el análisis se efectuó exactamente de acuerdo al procedimiento de medición, incluyendo los pasos de preparación descritos en la sección 4.5.2.1 (*Preparación de soluciones de verificación*).

4.4.2. Linealidad

Se verificó la linealidad para el análisis de 7 soluciones estándar, en el rango de mayor linealidad de las curvas de calibración que define la dependencia proporcional de la absorbancia con la concentración del analito de interés, encontrando parámetros de regresión lineal en cada caso.

Para este fin, se fijaron los puntos del rango dinámico que establece el *cookbook* del software SOLAAR para el manejo del equipo de EAA/VF de la casa Thermo Fisher Scientific (ver tabla 4.5).

Para el análisis del intervalo de trabajo se dispuso de los blancos y patrones que se sometieron al procedimiento de medición completo, como se establece en la sección 4.5.2 (*Preparación de estándares de calibración*). La evaluación inicial del intervalo de trabajo se realizó mediante una inspección visual de la curva de respuesta. El siguiente paso fue confirmar la relación entre la concentración y la respuesta del instrumento revisando las estadísticas de regresión y el gráfico de residuales del modelo de regresión lineal, graficando en el eje y la absorbancia en función de las concentraciones conocidas de los patrones (eje x).

El intervalo de trabajo y la linealidad del método también se evaluaron mediante el apoyo de estadísticos que se sustentó con datos de estudios de precisión y sesgo.

4.4.3. Precisión

Se evaluó en términos de:

4.4.4. Precisión intermedia

Este parámetro se midió en función de la significancia estadística producida por la preparación y medición de réplicas por duplicado que se hizo a soluciones patrón de 6 µg/L de Hg. Ya que la precisión, cuando es medida como propagación de los resultados en términos de desviación estándar, es generalmente dependiente de la concentración de analito, se prefirió evaluar esta variable mediante un diseño estadístico más robusto, aplicando un ANOVA en este punto específico de la serie de concentraciones del intervalo dinámico y bajo las mismas condiciones de operación. Como factor de agrupamiento, la precisión intermedia de los ensayos se midió durante intervalos de tiempo diferentes, específicamente durante siete días consecutivos con un duplicado por día.

Al usar el ANOVA de un factor, se buscó separar la variación inherente al método (repetibilidad), de la debida a las diferencias en las condiciones de medida (precisión intermedia) y evaluar si el efecto de los dos factores fue aditivo.

Por lo tanto, asumido este diseño estadístico, descrito además en la norma ISO 5725-3, y garantizando que las réplicas dentro de cada grupo se obtuvieron en condiciones de repetibilidad y que las condiciones analíticas variaron entre los grupos, la repetibilidad y precisión intermedia se calcularon como [18]:

$$s_r = \sqrt{MS_d} \quad \text{Ec. 4.5}$$

Siendo s_r la desviación estándar de la repetibilidad y MS_d el cuadrado medio dentro del grupo.

$$s_i = \sqrt{\frac{MS_e - MS_d}{n}} \quad \text{Ec. 4.6}$$

Donde s_i , representa la contribución total del factor de agrupamiento, MS_e el cuadrado medio entre los grupos y n el número de observaciones por grupo. Por lo tanto, la precisión intermedia, s_I , se calculó como:

$$s_I = \sqrt{\left(\frac{s_r}{T} * 100\right)^2 + \left(\frac{s_i}{T} * 100\right)^2} \quad \text{Ec. 4.7}$$

Siendo T la tolerancia característica de la medida, o la media poblacional.

Los resultados obtenidos se interpretaron aplicando los siguientes criterios [28]:

- Si $s_I < 10\%$, el sistema de medición es aceptable
- Si $10\% \leq s_I < 30\%$ el sistema de medición puede ser aceptable según su uso, aplicación costos de instrumentos de medición, costos de reparación.
- Si $s_I \geq 30\%$ el sistema de medición es considerado como no aceptable y requiere de mejoras en cuanto a equipo, método, condiciones, etc.

4.4.5. Reproducibilidad

La reproducibilidad se determinó en función de la significancia estadística producida por la preparación y medición de réplicas por duplicado que se hizo a soluciones patrón de 6 µg/L de Hg. Los ensayos se realizaron sobre este punto específico de la serie de concentración en el intervalo de la curva de calibración y bajo las mismas condiciones de operación pero en intervalos más largos de tiempo para su preparación y medición (a los 1, 4, 7, 10, 13, 16 y 19 días).

Para la determinación de la reproducibilidad se efectuó el mismo análisis estadístico descrito para precisión intermedia, en el que mediante ANOVA de un factor se evaluó el efecto aditivo de las condiciones de medida.

La reproducibilidad se calculó según la ecuación 4.7, siendo s_R la desviación estándar de la reproducibilidad.

4.4.6. Veracidad

La evaluación práctica de la exactitud, también llamada “veracidad”, se expresó cuantitativamente en términos de sesgo, y se basó en la comparación de la media de los resultados de cuantificación de mercurio a un sedimento de referencia certificado (MRC) *InterCid* (de la casa Sigma Aldrich) con un valor teórico de 3,004 ± 0,445 mg/kg.

Para calcular el sesgo utilizando el material de referencia *InterCid*, se calculó la media y desviación estándar de 6 repeticiones y se compararon los resultados con el valor certificado como medida de valor absoluto y error relativo [18].

Igualmente se evaluó la exactitud por recobro tras la adición a muestras naturales de sedimento sin contenido neto de analito a las que se les realizó adiciones sucesivas de mercurio. Este estudio consistió en analizar el factor de respuesta producido por la cantidad de mercurio recuperada versus la cantidad añadida, observando la proporcionalidad lineal producida por el incremento en la recuperación de Hg cuando se incrementa la cantidad de Hg adicionada. Para tal caso, la pendiente obtenida por regresión lineal da el valor de recobro del método.

4.4.7. Incertidumbre

Ya que el objetivo era identificar la cantidad de Hg residual en sedimentos provenientes de zonas de extracción ilegal de oro, para tal fin se utilizaron datos de la verificación interna del método base de la EPA para cuantificar la medición de la incertidumbre. El primer paso en la determinación de la incertidumbre es la *especificación del valor de medida, siendo la concentración de Hg en sedimentos en base seca*. Por lo tanto, el cálculo como medida relativa por EAA/VF es de:

$$[Hg]_{sed} = \frac{[Hg]_{sln} * V}{1000 * m_{sed} * F_{\%H}} \quad \text{Ec. 4.8}$$

Siendo $[Hg]_{sed}$ la concentración de Hg en sedimento en base seca, $[Hg]_{sln}$ la concentración de Hg en la solución extractora, V el volumen de aforo de 100 mL, m_{sed} el peso del sedimento y $\%H$ el porcentaje de humedad del sedimento.

Con lo que se realiza el análisis de las posibles fuentes de incertidumbre, permitiendo *identificar y posteriormente* cuantificar las incertidumbres estándar de cada fuente para poder hallar, finalmente, la incertidumbre del método.

Para realizar el cálculo de la incertidumbre del método debe tenerse en cuenta que todas las fuentes que provocan incertidumbre en la medición fueron halladas como incertidumbres relativas estándar ($u_{\%}$), que matemáticamente se define como:

$$u_{\%} = \frac{u}{X} \quad \text{Ec. 4.9}$$

Siendo u la incertidumbre absoluta y X el mensurando.

4.5. Examen de aptitud del método

El objetivo fue observar el alcance del método cuando se aplicó el procedimiento 7471B a muestras naturales para evaluar el contenido neto de Hg por el método de EAA/VF

4.5.1. Muestras de análisis

Se llevaron a cabo los ensayos sobre muestras naturales, suministradas por el equipo de análisis del laboratorio de la CRC para su evaluación, procedentes de la parte alta del río Molino, en la vereda Pueblillo, Municipio de Popayán, Cauca.

4.5.2. Metodología

La descripción de las muestras tratadas con digestión es la siguiente:

Tabla 4.4. Descripción de las muestras tratadas durante la estandarización

| Muestra | Descripción |
|---------|--|
| BR | Blanco de reactivos (agua desionizada) |
| Ec | Estándares de calibración de 1 a 12 µg/L |
| Eb | Estándar de concentración bajo (aproximadamente 3 veces la desviación estándar de la repetición de 4 blancos de reactivos) |
| Em | Estándar de concentración media (punto medio de la curva) |
| MB | Muestra natural de sedimento sin analito |
| M1 | Muestra natural de sedimento para evaluar efecto matriz (concentración menor al 50% de la curva) |
| M2 | Muestra natural de sedimento (concentración mucho mayor que M1) |

4.5.2.1. Preparación de soluciones de trabajo

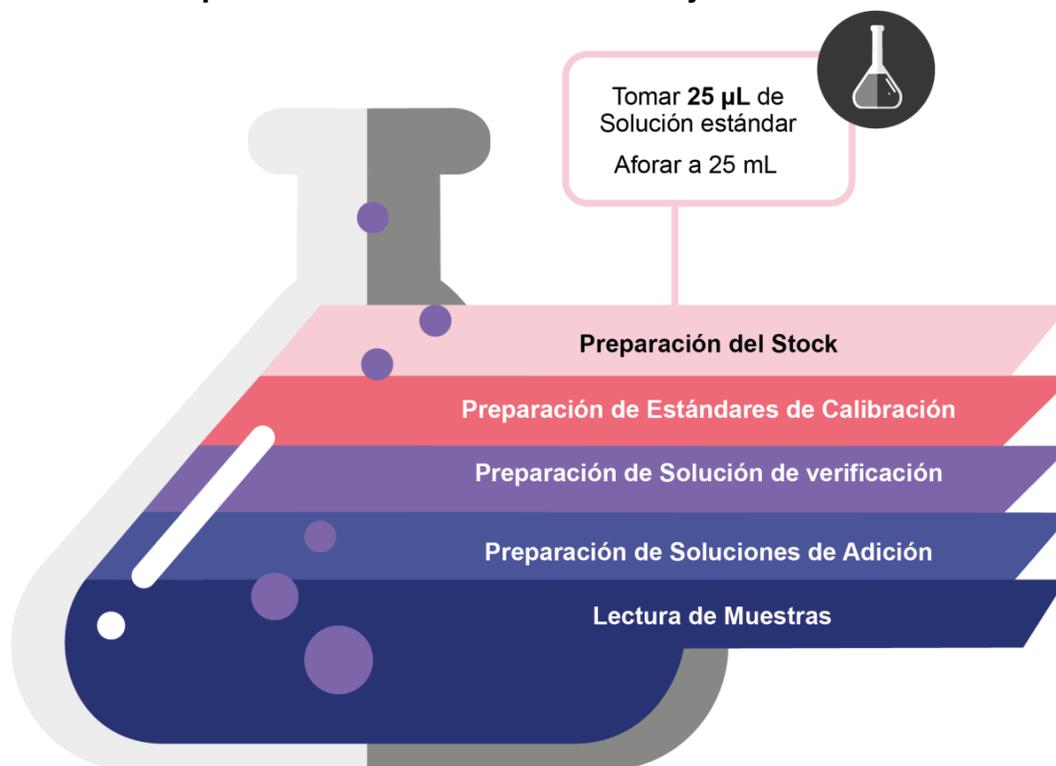


Figura 4.1. Esquema de trabajo

➤ Preparación del stock de 1 ppm

Tal como se ilustra en la Figura 4.1, el stock de 1 ppm se preparó a partir del titrisol SRM de NIST {Hg(NO₃)₂ en HNO₃ 2 mol/l, 1000 ± 2 mg/L de Hg}. Se toman 25 µL del titrisol y se afora la solución en 25 mL con agua desionizada.

➤ **Digestión de las muestras**

Todas las muestras de trabajo atravesaron por un proceso de digestión o extracción de Hg, con lo que se buscaba que todas las soluciones estándar y de verificación pasen a través de todo el proceso que se le realice a las muestras reales

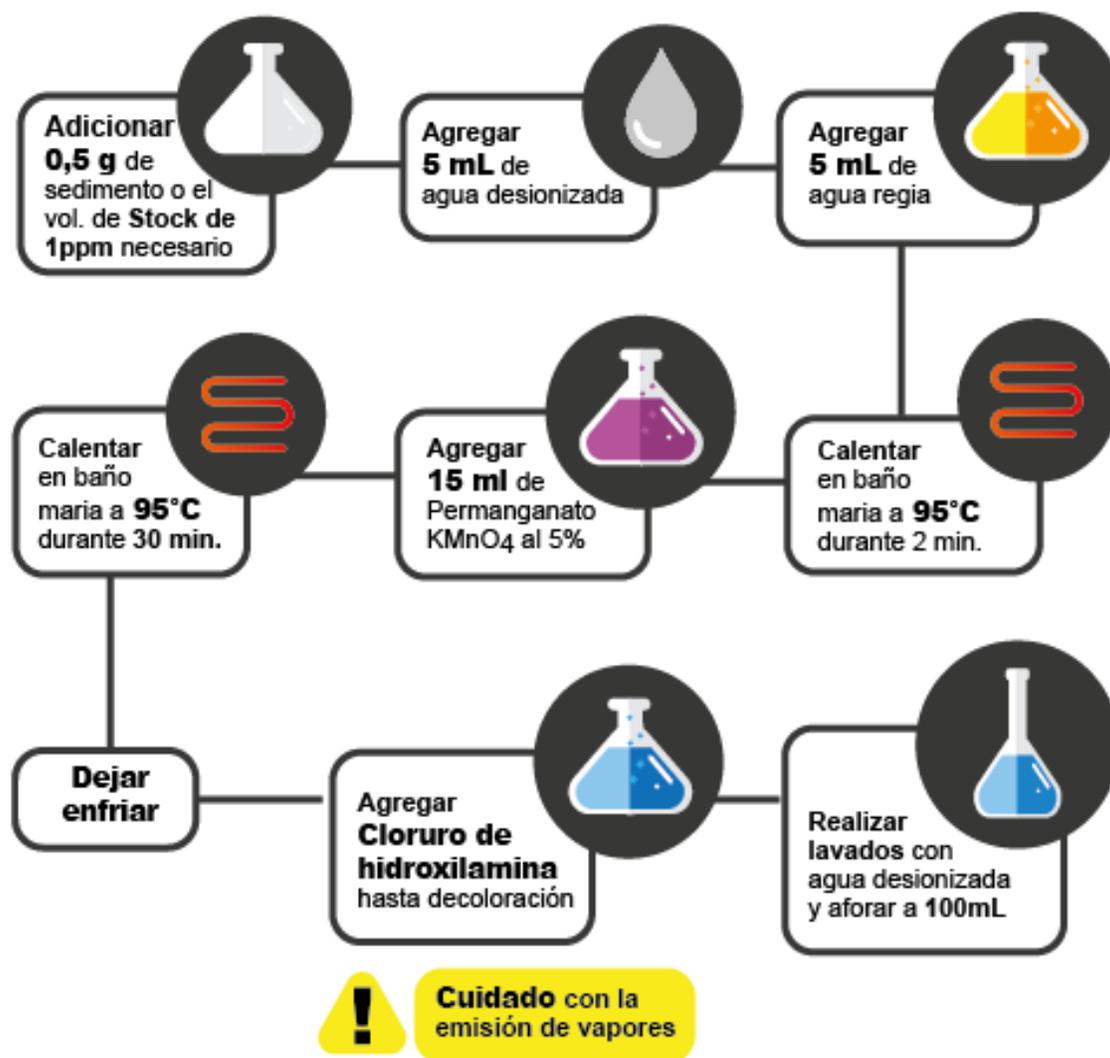


Figura 4.2. Esquema del proceso de extracción de mercurio

➤ **Preparación de estándares de calibración**

Con el fin de evaluar la linealidad e intervalo de trabajo, se realizó la preparación de 7 estándares de calibración en el rango de 1 a 12 $\mu\text{g/L}$. Se tomó el volumen necesario a partir del stock de 1 mg/L para preparar los estándares, de tal forma que después del proceso de digestión, la solución extractora se aforó en un volumen de 100 mL agua desionizada.

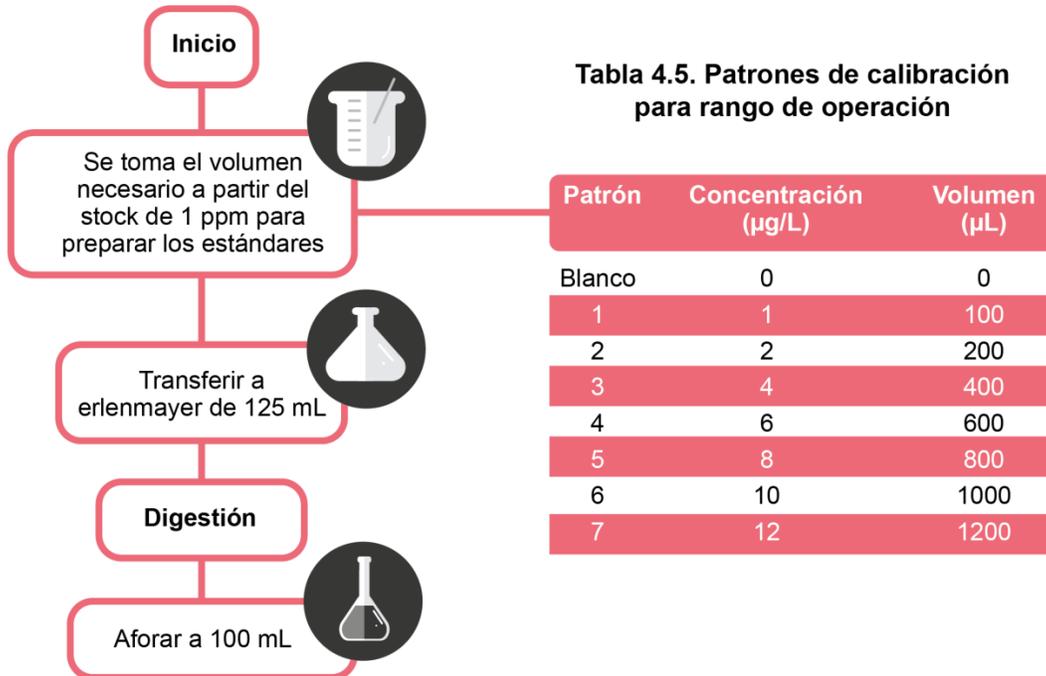


Figura 4.3. Procedimiento para preparación de estándares de calibración

➤ **Preparación de soluciones de verificación**

Se tomó el volumen necesario a partir del stock de 1 mg/L para preparar las soluciones, de tal forma que después del proceso de digestión, la solución extractora se aforó en un volumen de 100 mL con agua desionizada.

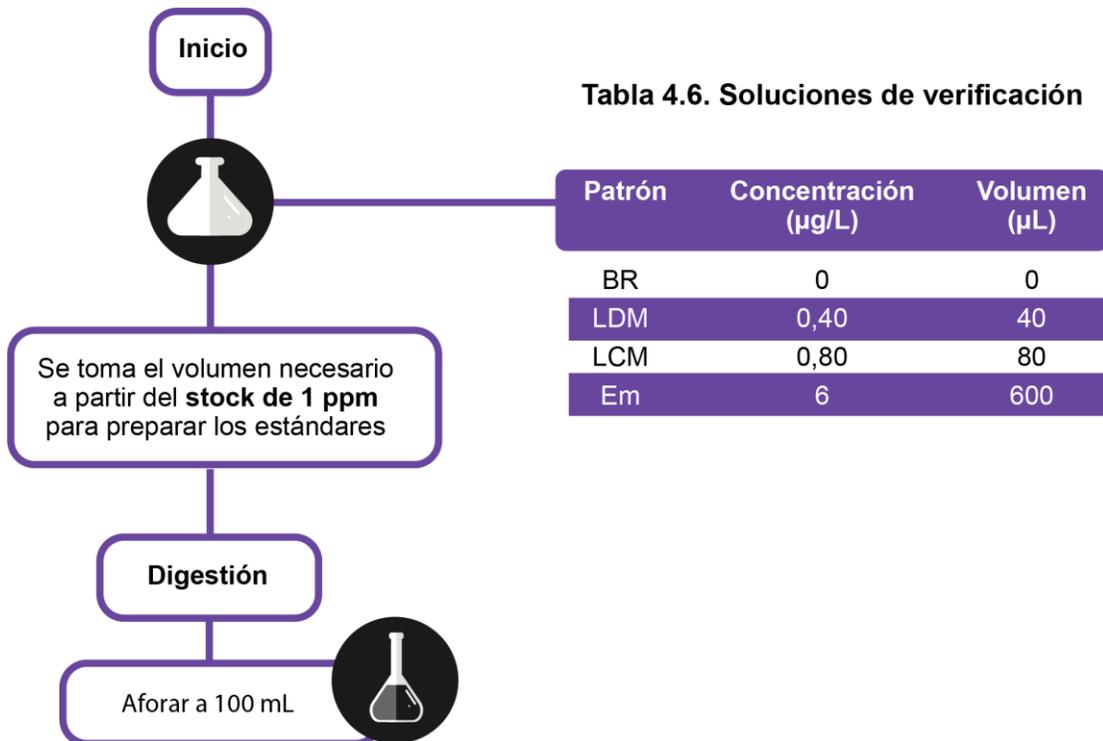


Figura 4.4. Preparación de soluciones de verificación

➤ **Preparación de muestras de adición**

Se tomó el volumen necesario a partir del stock de 1 mg/L para adicionar a los sedimentos, de tal forma que después del proceso de digestión, la solución extractora se aforó en un volumen de 100 mL con agua desionizada.

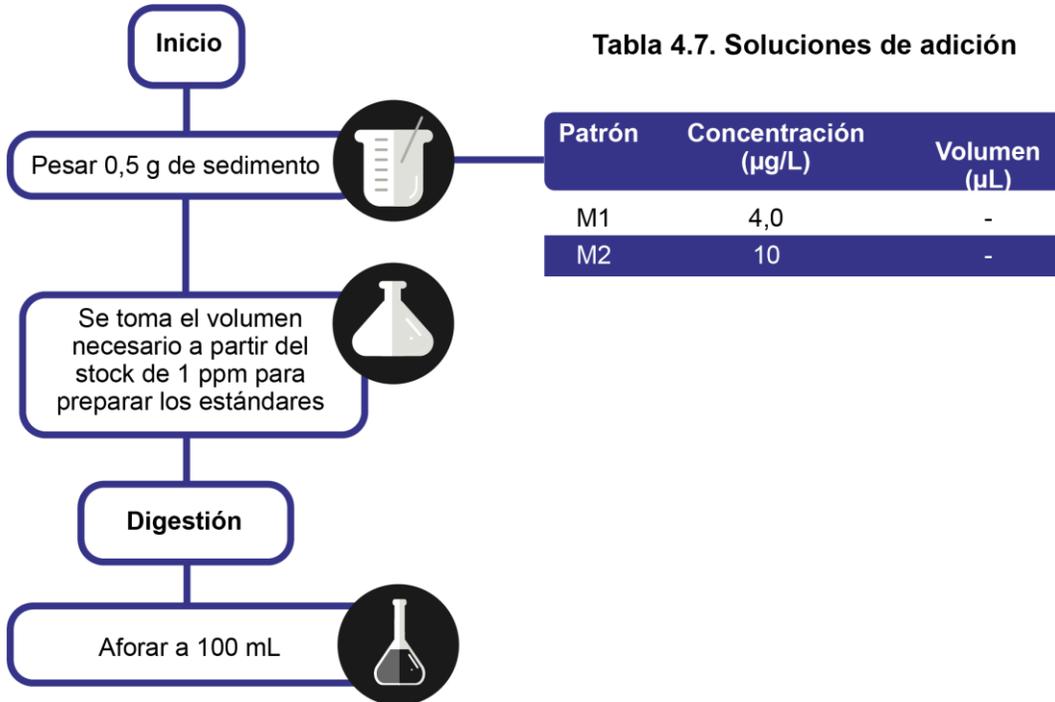


Figura 4.5. Preparación de soluciones de adición

➤ **Lectura de las muestras**

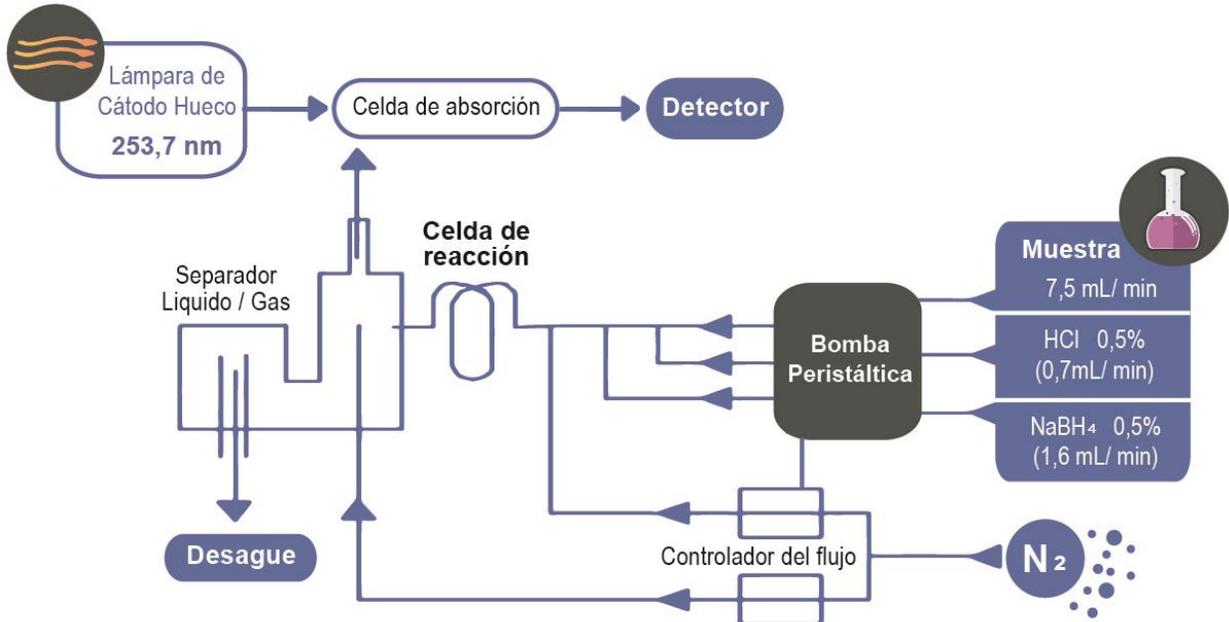


Figura 4.6. Lectura de la muestra en equipo de EAA/VF

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A lo largo del documento se ha establecido la importancia de la estandarización como requisito en las prácticas de análisis químico; es el caso del actual ejercicio, que pretendió buscar, mediante pruebas químicas y análisis estadístico, que la determinación de mercurio, siguiendo los lineamientos de la guía EPA 7471B son totalmente confiables, y que los resultados, como hojas de ruta, ayudarán a identificar puntos de contaminación por vertimientos de este metal.

A continuación se muestran los resultados de todo el proceso de estandarización y se analizan los datos que concluyen el examen de aptitud del método.

5.1. Calibración del material volumétrico de vidrio

De acuerdo a la sección 4.2.1, la calibración del material se hizo únicamente a matraces de 100 y 25 mL.

➤ *Matraz de 100,0 ± 0,1 mL*

Debido a que los matraces utilizados son de vidrio Pyrex u otros vidrios borosilicatos (Brand), estos se dilatan en un 0,0010% por grado a temperaturas próximas a la temperatura ambiente [22], por lo que para este trabajo experimental se consideró insignificante esta dilatación, y no se estudió su contribución a la incertidumbre del material.

Tabla 5.1. Calibración de matraz de 100,0 ± 0,1 mL

| Masa de agua (g) | Factor 1,0031 ¹ (g) | Diferencia valor medido y corregido |
|---------------------|-----------------------------------|--|
| 99,5318 | 99,8303 | -0,2985 |
| 99,5501 | 99,8587 | -0,3086 |
| 99,5746 | 99,8833 | -0,3089 |
| | | s = 0,0060 |

El valor de *s* (desviación estándar de las mediciones por repetibilidad del pesaje) se tomó como el valor de la incertidumbre absoluta, que para este matraz fue de 100,000 ± 0,006 mL, siendo menor al certificado inicial impreso para cada matraz (± 0,1 mL); lo que quiere decir que este material facilita la dosificación con la formulación apropiada dentro de los rangos aceptables de propagación del error.

A continuación, en la Tabla 5.2, se presentan los valores de las incertidumbres asociadas a cada matraces de 100 mL que fueron menores al valor de incertidumbre certificado.

¹ Volumen de un gramo de agua a 21 °C

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 5.2. Incertidumbre de los matraces de 100 mL por pruebas de repetibilidad en pesaje

| Matraz de 100 mL | s (mL) |
|---------------------|-----------|
| 1 | 0,006 |
| 2 | 0,006 |
| 3 | 0,012 |
| 4 | 0,009 |
| 5 | 0,067 |
| 6 | 0,081 |
| 7 | 0,005 |
| 9 | 0,075 |
| 10 | 0,012 |
| 11 | 0,008 |
| 12 | 0,027 |
| 13 | 0,006 |
| 14 | 0,007 |
| 15 | 0,019 |
| 16 | 0,009 |
| 17 | 0,060 |
| 18 | 0,053 |
| 19 | 0,079 |
| 20 | 0,080 |
| 21 | 0,050 |
| 22 | 0,008 |
| 23 | 0,010 |
| 24 | 0,025 |
| 25 | 0,048 |

➤ *Matraz de 25,00 ± 0,04 mL*

A continuación, en la Tabla 5.3, se presentan los resultados obtenidos del análisis de incertidumbre asociada a la repetibilidad en pesaje para el balón de 25 mL

Tabla 5.3. Calibración de matraz de 25,00 ± 0,04 mL

| Masa de agua (g) | Factor 1,0031 (g) | Diferencia valor medido y corregido |
|---------------------|----------------------|--|
| 24,9604 | 25,0378 | -0,0774 |
| 24,9812 | 25,0586 | -0,0774 |
| 24,8967 | 24,9739 | -0,0772 |
| | | s = 0,0001 |

Por lo tanto, para el caso del matraz, la incertidumbre por repetibilidad en el pesaje es de $25,0000 \pm 0,0001$, siendo menor al certificado inicial impreso por el fabricante para cada matraz de 25 mL ($\pm 0,04$ mL).

En la Tabla 5.4 se resume el análisis realizado a los matraces de 25 mL utilizados en el proceso de estandarización.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 5.4. Incertidumbre de los matraces de 25 mL por pruebas de repetibilidad en pesaje

| Matraz de 25 mL | s (mL) |
|-----------------|--------|
| 1 | 0,0001 |
| 2 | 0,0160 |
| 3 | 0,0020 |
| 4 | 0,0035 |
| 5 | 0,0110 |
| 6 | 0,0008 |
| 7 | 0,0037 |
| 9 | 0,0075 |
| 10 | 0,0114 |

5.2. Calibración del equipo EAA/VF mediante curvas de calibración por patrón externo

Fue útil describir el comportamiento químico de los patrones de calibración, y analizar la respuesta experimental de absorbancia frente a la concentración de cada solución con el fin de observar la sensibilidad analítica del método, por lo que se estudió la variación de la respuesta del instrumento que corresponde a una variación de la magnitud de medida.

Como se ha dicho, este estudio de sensibilidad se realizó en términos de reproducibilidad a curvas de calibración medidas en días discontinuos.

Tabla 5.5. Resultados absorbancias de curvas de calibración para análisis de sensibilidad analítica.

| Nivel de concentración $\mu\text{g/L}$ | Absorbancias | | | | | | |
|--|--------------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 |
| 0 | -0,001 | -0,003 | -0,001 | 0,000 | 0,000 | -0,001 | 0,000 |
| 1 | 0,008 | 0,004 | 0,007 | 0,008 | 0,009 | 0,009 | 0,009 |
| 2 | 0,017 | 0,013 | 0,016 | 0,017 | 0,018 | 0,018 | 0,018 |
| 4 | 0,038 | 0,032 | 0,034 | 0,036 | 0,036 | 0,037 | 0,037 |
| 6 | 0,060 | 0,056 | 0,057 | 0,054 | 0,057 | 0,060 | 0,059 |
| 8 | 0,083 | 0,086 | 0,075 | 0,074 | 0,074 | 0,078 | 0,076 |
| 10 | 0,109 | 0,114 | 0,097 | 0,093 | 0,098 | 0,103 | 0,101 |
| 12 | 0,123 | 0,125 | 0,110 | 0,108 | 0,109 | 0,115 | 0,113 |

Se determinó la reproducibilidad de las curvas de calibrado calculando la incertidumbre absoluta en términos de desviación estándar y desviación estándar relativa, cuyos valores de propagación del error se debieron a la mayor variación en las medidas, que en el laboratorio de la CRC son producidos principalmente por los largos intervalos de tiempo en que se hace cada análisis rutinario.

Tabla 5.6. Análisis de reproducibilidad.

| Concentración (µg/L) | Absorbancia Promedio | s | CV (%) |
|-------------------------|-------------------------|-------|-----------|
| 1 | 0,008 | 0,002 | 23,30 |
| 2 | 0,017 | 0,002 | 10,80 |
| 4 | 0,036 | 0,002 | 5,76 |
| 6 | 0,058 | 0,002 | 3,86 |
| 8 | 0,078 | 0,005 | 6,06 |
| 10 | 0,102 | 0,008 | 7,11 |
| 12 | 0,115 | 0,007 | 5,93 |

Para un promedio de absorbancias, la recta que mejor describe el comportamiento lineal del conjunto de puntos experimentales de la Tabla 5.6 fue:

$$y = 0,0101x - 0,0027 \quad \text{Ec. 5.1}$$

Para un r^2 de 0,997, una incertidumbre de la pendiente S_m de $\pm 0,0002$ y una incertidumbre de la ordenada $S_b \pm 0,0017$

Aunque la sensibilidad analítica no es una característica de desempeño muy importante, en medidas espectrofotométricas determina la capacidad para discriminar entre pequeñas diferencias de concentración de analito respecto al factor de respuesta instrumental [18]. Numéricamente, es la *pendiente* de la curva la que determina el valor de sensibilidad, y como medio de contraste entre métodos con igual precisión, se escoge aquel que tenga mayor pendiente porque es el modelo que mejor describe la susceptibilidad del cambio de absorbancia frente a cambios en la concentración de analito.

Más adelante se podrá observar en este documento que esta preparación de patrones de calibración por simple dilución y sin aplicar el procedimiento para preparación de muestras EPA 7471B es un método un poco más sensible y se esperaba que mejor represente una variación en el gradiente de la curva de respuesta, pero es importante tener en cuenta que los resultados de la medida pueden cambiar según la preparación y para matrices diferentes, por lo que en el resultado de la pendiente también interfieren todas las condiciones de preparación y medida. Por esta razón, en el laboratorio se trabajó con las condiciones más similares posibles para la adecuación tanto de estándares de calibración como para muestras problemas.

5.3. Estandarización del método para extracción y cuantificación de mercurio por EAA/VF

Una vez establecida la necesidad de mantener las mismas condiciones de medida tanto para estándares de calibración como para cualquier muestra problema de sedimento, se prosiguió a la estandarización del método de medición de Hg siguiendo los lineamientos de la guía EPA 7471B.

5.3.1. Límites críticos

Utilizando los resultados para la estimación del límite de detección (LDM) y cuantificación del método (LCM), establecidos como 3 y 10 veces la desviación estándar de una muestra blanco corregido y repetida 14 veces en cada caso (ver sección 4.4), se determinó el LDM y el LCM teóricamente como:

Tabla 5.7. Resultados teóricos para determinación de LDM y LCM

| Repetición | Absorbancia |
|------------|-----------------|
| 1 | -0,0010 |
| 2 | -0,0020 |
| 3 | -0,0010 |
| 4 | -0,0010 |
| 5 | -0,0020 |
| 6 | -0,0020 |
| 7 | 0,0000 |
| 8 | -0,0010 |
| 9 | -0,0010 |
| 10 | -0,0010 |
| 11 | -0,0010 |
| 12 | -0,0020 |
| 13 | -0,0010 |
| 14 | -0,0010 |
| s | ± 0,0005 |
| LDM | 0,33 |
| LCM | 0,80 |

Con el propósito de verificar empíricamente el resultado del LDM y LCM, se realizaron mediciones repetidas a las concentraciones estimadas teóricamente (ver Tabla 5.7), en cada caso, se aproximaron los valores de concentración como **0,40** y **0,80 µg/L** respectivamente.

Tabla 5.8. Resultados de concentración para la determinación empírica del LDM y LCM

| Repetición | LDM | | LCM | |
|------------|-------------|----------------------|-------------|----------------------|
| | Absorbancia | Concentración (µg/L) | Absorbancia | Concentración (µg/L) |
| 1 | 0,003 | 0,49 | 0,006 | 0,88 |
| 2 | 0,002 | 0,42 | 0,006 | 0,88 |
| 3 | 0,002 | 0,37 | 0,008 | 1,10 |
| 4 | 0,001 | 0,33 | 0,006 | 0,88 |
| 5 | 0,001 | 0,35 | 0,006 | 0,88 |
| 6 | 0,001 | 0,32 | 0,006 | 0,88 |
| 7 | 0,001 | 0,31 | 0,005 | 0,76 |
| 8 | 0,001 | 0,30 | 0,006 | 0,88 |
| 9 | 0,001 | 0,34 | 0,006 | 0,88 |

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

| | | | | |
|-----------------------|-------|---------------|-------|---------------|
| 10 | 0,001 | 0,36 | 0,006 | 0,88 |
| 11 | 0,001 | 0,34 | 0,006 | 0,88 |
| 12 | 0,001 | 0,34 | 0,006 | 0,88 |
| 13 | 0,002 | 0,36 | 0,007 | 1,00 |
| 14 | 0,002 | 0,38 | 0,008 | 0,88 |
| Promedio | - | 0,37 | - | 0,88 |
| s | - | ± 0,05 | - | ± 0,05 |
| CV | - | 13,0% | - | 5,8% |
| Error relativo | - | 7,5% | - | 10,0% |

En resumen, los límites críticos obtenidos de mediciones empíricas se tabulan en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9. Límites críticos para el método de determinación de Hg por EAA/VF implementado en el laboratorio ambiental de la CRC

| | LDM | LCM |
|-----------------------------|---------------|---------------|
| Concentración (µg/L) | 0,40 | 0,80 |
| s (µg/L) | ± 0,05 | ± 0,05 |
| CV (%) | 13% | 5,8% |

En la actualidad se pueden encontrar técnicas de generador de vapor frío para la determinación de mercurio por espectroscopía de absorción atómica en las que se pueden obtener límites de detección desde concentraciones de los pg/L, para análisis de trazas del metal en diferentes matrices y para cualquier especie química de mercurio, pero se debe principalmente al desarrollo de métodos robustos de extracción, pre concentración o especiación.

En el 2003, Segade y Tyson obtuvieron límites de detección de 24 y 3,9 ng/L para la determinación de mercurio total y mercurio inorgánico respectivamente, utilizando la técnica EAA/VF con borohidruro de sodio como único agente reductor y mediante extracción asistida por microondas e hidróxido de tetrametilamonio como extractante [23], y aunque los valores de límites críticos obtenidos en solución extractora para detectar mercurio por EAA/VF aplicando el método EPA 7471B en contraste superen el orden de magnitud, estos no se consideran deficientes ya que mediante este método se puede cuantificar Hg desde los 0,001 mg/L, que es considerado el valor máximo aceptable en aguas potables según la Resolución 2115 del Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial de la República de Colombia [24].

5.3.2. Linealidad e intervalo de trabajo

Se evaluaron 7 niveles de concentración durante 7 días continuos. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología (ver sección 4.5.2). Los resultados se presentan en la Tabla 5.10.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 5.10. Resultados absorbancias de curvas de calibración para análisis de linealidad instrumental

| Nivel de concentración µg/L | Absorbancias | | | | | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 |
| 0 | 0,002 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | 0,000 | 0,002 | 0,002 |
| 1 | 0,008 | 0,008 | 0,007 | 0,007 | 0,007 | 0,007 | 0,008 |
| 2 | 0,014 | 0,015 | 0,015 | 0,014 | 0,014 | 0,015 | 0,015 |
| 4 | 0,028 | 0,029 | 0,027 | 0,028 | 0,028 | 0,029 | 0,029 |
| 6 | 0,043 | 0,044 | 0,040 | 0,042 | 0,046 | 0,047 | 0,042 |
| 8 | 0,060 | 0,062 | 0,057 | 0,058 | 0,065 | 0,066 | 0,063 |
| 10 | 0,078 | 0,078 | 0,071 | 0,072 | 0,082 | 0,084 | 0,080 |
| 12 | 0,093 | 0,097 | 0,094 | 0,087 | 0,104 | 0,099 | 0,095 |

Como primer caso de estudio, se analizó la densidad de probabilidad especial, conocida como **distribución de probabilidad normal**. A estos resultados se les aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para observar el patrón de distribución continua y determinar, además, si es necesario aplicar pruebas paramétricas o no paramétricas, de acuerdo a la comparación del estadístico y al valor de significancia (**Sig., p**) calculado para un nivel de confianza del 95%. Los resultados se presentan en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11. Evaluación de distribución normal de los datos.

| Nivel de Concentración (µg/L) | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------------------|--------------|----|-------|
| | Estadístico | gl | Sig. |
| 1 | 0,933 | 8 | 0,545 |
| 2 | 0,935 | 8 | 0,563 |
| 4 | 0,939 | 8 | 0,598 |
| 6 | 0,942 | 8 | 0,635 |
| 8 | 0,901 | 8 | 0,296 |
| 10 | 0,928 | 8 | 0,501 |
| 12 | 0,932 | 8 | 0,531 |

Se observa que los resultados registrados en la Tabla 5.11 se ajustan a una distribución normal (ver Figura 5.1) con un **p > 0.05** en todos los niveles de concentración del intervalo de trabajo, por lo tanto, como inferencia estadística, se acepta la hipótesis nula (H_0) que **confirma la suposición de normalidad en la distribución poblacional de los datos de la Tabla 5.10**, por lo que se pudo aplicar pruebas paramétricas de homogeneidad de varianzas (Prueba de Levene) y análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existen diferencias significativas en las varianzas de los valores de absorbancia registrados durante los 7 días continuos, en términos de linealidad instrumental.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

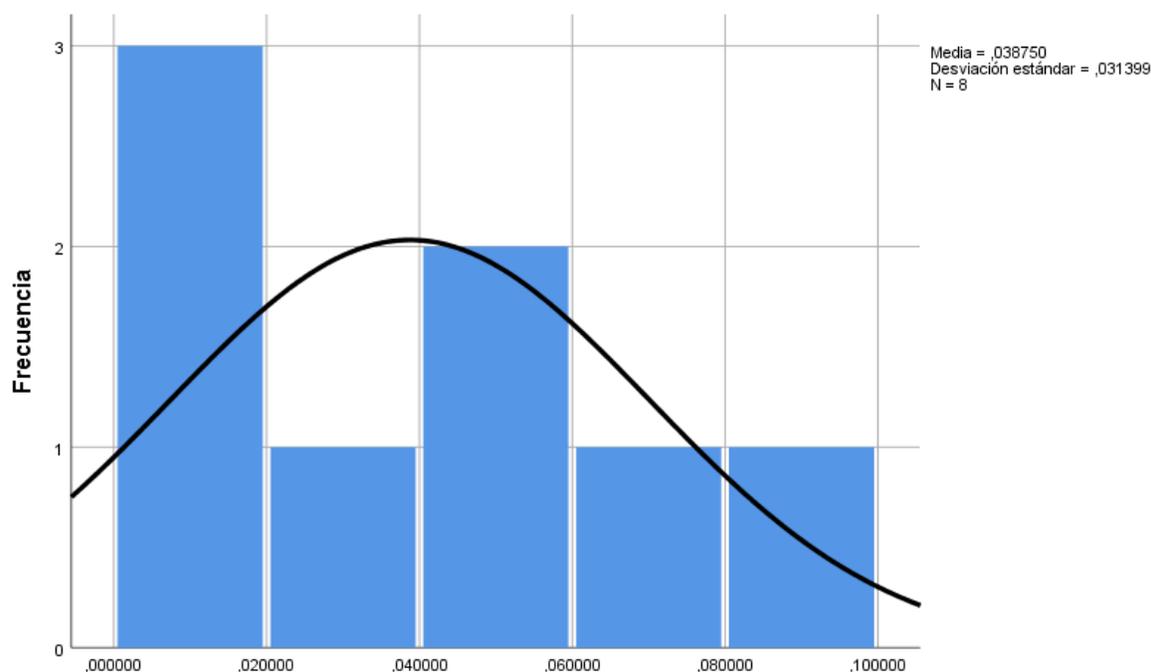


Figura 5.1. Histograma de distribución normal para el día 4.

A continuación, para evaluar la presunción de igualdad de varianzas (*homocedasticidad*) se realizó el test de Levene, estableciendo como hipótesis nula (H_0) que *la varianza de los grupos de población son iguales*. Como hipótesis alterna (H_1) se tiene que *al menos dos varianzas difieren significativamente*.

Tabla 5.12. Resultados de test de homogeneidad de varianzas

| | Estadístico de Levene | df1 | df2 | F | Sig. |
|-----------------------|-----------------------|-----|-----|-------|--------|
| Se basa en la media | 1,511 | 6 | 42 | 0,091 | 0,9969 |
| Se basa en la mediana | 0,805 | 6 | 42 | 0,075 | 0,9982 |

La Tabla 5.12 da cuenta del supuesto de que las varianzas del grupo poblacional son iguales, lo que indica que se debe aceptar la hipótesis nula (H_0) que afirma que **las diferencias obtenidas en las variaciones de las muestras se han producido sobre la base de un muestreo a una población con varianzas iguales**.

La importancia del test de Levene radica en que muchos procedimientos estadísticos comunes asumen que las varianzas de las poblaciones de las que se extraen diferentes muestras son iguales, aunque puedan provenir de las mismas poblaciones con diferentes medias [25]. Entre ellas, las pruebas de comparación como la t de student y variantes como el *análisis de varianzas* conocida como test ANOVA, se basan en estos supuestos respecto al conjunto de datos.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Por lo tanto, verificadas las suposiciones de normalidad en la distribución de densidad de probabilidad y la homocedasticidad de varianzas, pudo realizarse el test de ANOVA para determinar, finalmente, si hubo cambios significativos en las medias entre los distintos niveles de absorbancia para el intervalo de trabajo evaluado durante los 7 días continuos, estableciendo la hipótesis nula (H_0): *las medias de los grupos poblacionales de la Tabla 5.10 no difieren significativamente*. Como hipótesis alterna (H_1) se establece que *al menos dos medias de los grupos poblacionales de la Tabla 5.10 son significativamente diferentes*.

Tabla 5.13. ANOVA para absorbancias en función de los días.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|---------------|-------------------|----|------------------|--------|--------|
| Entre grupos | 0,000171464 | 6 | 2,85774E-05 | 0,0240 | 0,9999 |
| Dentro grupos | 0,05824275 | 49 | 0,001188628 | | |
| Total | 0,058414214 | 55 | | | |

Se observa en la Tabla 5.13 que hay un ANOVA con significancia mayor a 0,05, por lo cual se concluye que **cada uno de los 7 conjuntos homogéneos tiene medias que no difieren entre sí**. En otras palabras, se infiere estadísticamente que **los datos de las medias de absorbancia no difirieron significativamente durante días continuos** y se acepta la hipótesis nula.

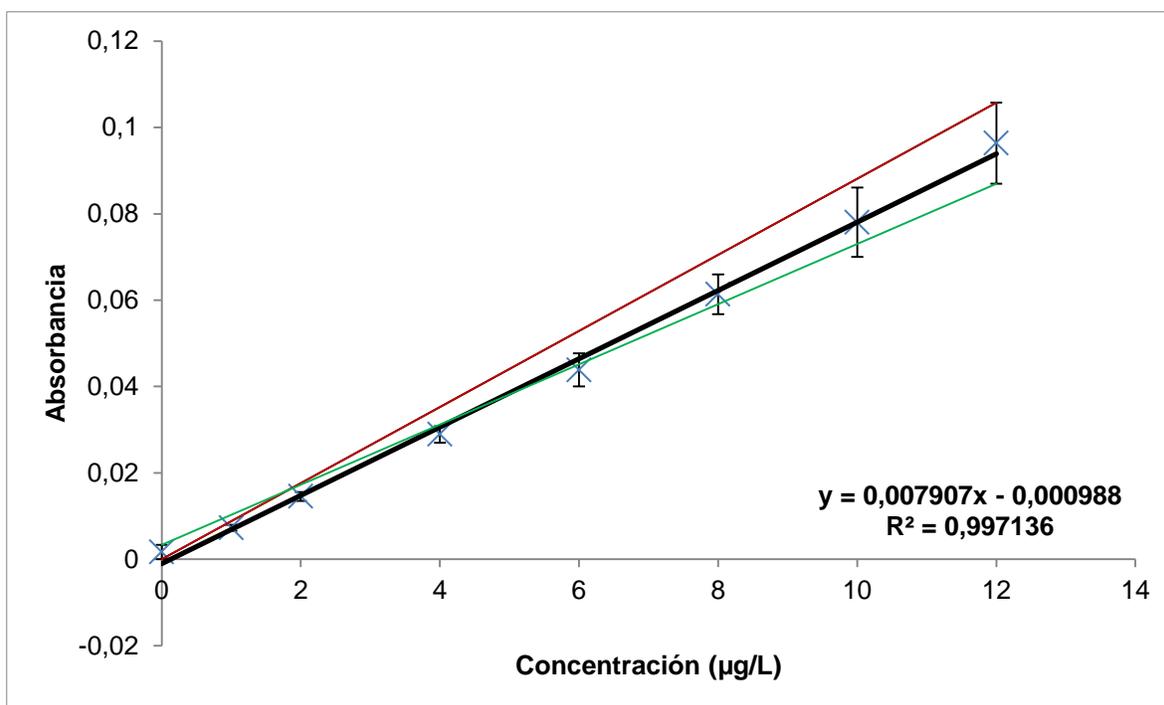


Figura 5.2. Curva de tendencia y ecuación de la curva

Como consecuencia de la inferencia de medias iguales por análisis de varianzas de los grupos poblacionales de la Tabla 5.10 en el que se concluye que no hubo diferencias significativas en los datos evaluados durante los 7 días continuos, se

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

determinó la curva de calibración como la concentración de los estándares versus el promedio de los resultados experimentales de absorbancia, como se muestra en la Figura 5.2, en el que las barras de error de cada punto de la curva muestra la dispersión de los datos como muestra de la precisión obtenida para todos los niveles de absorbancia cuando se aplicó el procedimiento de preparación de muestras de la norma EPA 7471B. .

Tabla 5.14. Pendiente, intercepto y coeficiente de determinación.

| Parámetro | Símbolo | Valor |
|---|----------------|-----------|
| Coeficiente de Correlación | r | 0,99714 |
| Pendiente | m | 0,00791 |
| Intercepto | b | -0,00099 |
| Desviación Estándar para el intercepto | S _b | ± 0,00017 |
| Desviación Estándar para la pendiente | S _m | ± 0,00117 |

A partir de los datos en la Tabla 5.14, se continuó con la evaluación de la correlación entre los puntos experimentales, aunque en la Figura 5.2 se observa que se ajustan a una línea recta. Por lo tanto, para analizar la relación lineal entre las variables se utilizó la medida estadística de **coeficiente de correlación de Pearson** para determinar la fuerza y dirección lineal. En tal caso:

Tabla 5.15. Correlación de Pearson.

| Correlaciones | | Nivel de concentración | Absorbancia |
|----------------------|------------------------|------------------------|----------------|
| Concentración | Correlación de Pearson | 1 | 0,999** |
| | Sig. (bilateral) | | 0,000 |
| | N | 8 | 8 |
| Absorbancia | Correlación de Pearson | 0,999** | 1 |
| | Sig. (bilateral) | 0,000 | |
| | N | 8 | 8 |

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluación de la significancia estadística de la correlación, se estableció como hipótesis nula (H_0) que *la correlación de Pearson no es diferente de cero*, mientras que la hipótesis alterna (H_1) estableció que *la correlación de Pearson es diferente de cero*. Al obtener un p valor menor que el nivel de significancia de 0,01, se concluye **que el coeficiente es diferente de cero y se rechaza la hipótesis nula**, de manifiesto cómo, de cierta forma, la variable X es importante para predecir los valores de Y usando la regresión lineal.

La Tabla 5.15 describe, además, la ecuación de la recta como medida de proporcionalidad entre la absorbancia versus la concentración de analito. La correlación de Pearson se calculó como **0,999** para un límite de confianza del 99%. El signo positivo del coeficiente indica la dirección de la relación, en la que se obtiene una medida de proporcionalidad donde incrementa el nivel de absorbancia con un incremento en la concentración de Hg. Además, el coeficiente

de correlación de Pearson, al acercarse fuertemente al valor absoluto, da cuenta de una relación positiva grande.

5.3.3. Precisión intermedia y reproducibilidad

El análisis de precisión intermedia se realizó a los puntos experimentales obtenidos en la Tabla 5.16, y el diseño de todos los ensayos tuvo en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas que se pueden esperar durante el uso rutinario en la determinación de Hg.

Tabla 5.16. Resultados de repetibilidad y precisión intermedia

| Nivel de concentración µg/L | Absorbancias | | | | | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 |
| 6 | 0,043 | 0,043 | 0,040 | 0,042 | 0,046 | 0,053 | 0,044 |
| | 0,043 | 0,044 | 0,042 | 0,042 | 0,040 | 0,047 | 0,042 |

En este diseño, el análisis de varianza (ANOVA) fue una forma eficiente de obtener estimaciones de repetibilidad y precisión intermedia. Con el fin de tener en cuenta una estimación fiable, los datos obtenidos se combinaron en varias pequeñas series de mediciones repetidas que agrupados pudieron dar resultados con suficientes grados de libertad. Específicamente, el análisis de varianzas (ANOVA) dentro de los sujetos para muestras correlacionadas es un diseño de estudio estadístico más preciso porque investiga los cambios en las puntuaciones medias para los siete grupos en el tiempo de las muestras que se midieron por duplicado en condiciones de precisión intermedia para la misma variable dependiente, es decir, la absorbancia de las soluciones a 6 µg/L de Hg medidas en días consecutivos, con duplicados por día.

Tabla 5.17. ANOVA para determinación de precisión intermedia.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|----------------------|-------------------|----|------------------|-------|--------------|
| Entre grupos | 0,0001027 | 6 | 1,7119E-05 | 2,959 | 0,091 |
| Dentro grupos | 0,0000405 | 7 | 5,7857E-06 | | |
| Total | 0,0001432 | 13 | | | |

El p valor de la tabla 17 permite extraer conclusiones sobre sobre la variación entre los resultados obtenidos en días diferentes y se logró deducir que no hay significancia superior a la variación de los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad.

Sustituyendo los valores de la tabla 5.17 en las ecuaciones 4.5, 4.6 y 4.7 se obtuvo la estimación del de la precisión intermedia:

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

$$s_r = 0,002$$

$$s_i = 0,002$$

$$s_I = 7,75 \%$$

Aplicando los criterios de interpretación de resultados de precisión intermedia, siendo $s_I < 10\%$, **el sistema de medición se considera aceptable**, con lo que se concluye que no se encontraron diferencias en las muestras analizadas por duplicado en condiciones de precisión intermedia a través de un número de diferentes grupos de medida, con una variación máxima **por preparación y medición en días consecutivos**.

Igualmente, se evaluó la **reproducibilidad** del método para el análisis de las mismas soluciones de 6 $\mu\text{g/L}$ de Hg cuyas preparaciones y mediciones se realizaron en días no consecutivos, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 5.18. Resultados de repetibilidad y reproducibilidad

| Nivel de concentración $\mu\text{g/L}$ | Absorbancias | | | | | | |
|--|--------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | Día 1 | Día 4 | Día 7 | Día 10 | Día 13 | Día 16 | Día 19 |
| 6 | 0,069 | 0,070 | 0,081 | 0,083 | 0,069 | 0,045 | 0,057 |
| | 0,073 | 0,072 | 0,084 | 0,080 | 0,065 | 0,040 | 0,050 |

El análisis de reproducibilidad se realizó mediante un ANOVA de un factor

Tabla 5.19. ANOVA de un factor para análisis de reproducibilidad.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|---------------|-------------------|----|------------------|--------|-----------|
| Entre grupos | 0,002530 | 6 | 4,2167 E-04 | 46,119 | 2,808E-05 |
| Dentro grupos | 0,000064 | 7 | 9,1429E-06 | | |
| Total | 0,002594 | 13 | | | |

Como se muestra en datos de la Tabla 5.19, **se acepta la hipótesis alterna**, en el que **se concluye que las puntuaciones medias para la absorbancia de los patrones de 6 $\mu\text{g/L}$ fueron estadísticamente significativas cuando se midieron en términos de reproducibilidad por mediciones en días no consecutivos**.

La determinación de la desviación estándar de la reproducibilidad, como se indicó en las ecuaciones 4.5, 4.6 y 4.7 se halló como:

$$s_r = 0,003$$

$$s_i = 0,014$$

$$s_R = 21,91 \%$$

Según los criterios de aceptación, siendo $10\% \leq s_R < 30\%$, el sistema de medición de mercurio en sedimentos aplicando el método de extracción EPA 7471B, puede ser aceptable según su uso, aplicación, costos de instrumentos de medición o costos de reparación.

Por último, se puede estimar que el anterior ejercicio para la determinación de la precisión global del método siguiendo los lineamientos de extracción de la norma EPA 7471B para la determinación de mercurio en sedimentos y realizado en condiciones de repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad, con variaciones en el tiempo, permitió observar cuán cerca están los resultados de la medida entre sí, por lo que se espera que la propagación de los resultados para futuros ensayos no sea significativamente diferente.

5.3.4. Veracidad

El examen de aptitud del método incluye el análisis de exactitud por determinación del sesgo en el sedimento de referencia certificado (MRC) y un estudio de recobro realizado a matrices naturales que no contenían analito.

Los resultados del sesgo se realizaron para el material de referencia certificado (MRC) InterCid (de la casa Sigma Aldrich) de $3,004 \pm 0,445$ mg/L de Hg en sedimento. En tal caso, se pesó en promedio 0,5033 g de la muestra y se calculó el sesgo como medida de valor absoluto y error relativo.

Tabla 5.20. Resultados de veracidad medida como error relativo y sesgo

| Absorbancias | | | [mg/L] promedio | s (mg/L) | CV (%) | %Error relativo | Sesgo (mg/L) |
|--------------|-------|-------|--------------------|-------------|-----------|--------------------|-----------------|
| Día 1 | Día 2 | Día 3 | | | | | |
| 0,012 | 0,013 | 0,010 | 3,05 | 0,11 | 3,5 | 1,44 | 0,04 |
| 0,010 | 0,011 | 0,011 | | | | | |

El método analítico para la determinación de mercurio en sedimentos por espectroscopía de absorción atómica por la técnica de vapor frío, se consideró razonablemente exacto debido a que los resultados de veracidad se encuentran dentro del 10% para la cantidad real de mercurio en la matriz, con un error relativo menor al 2%.

Comparando los resultados obtenidos, el método propuesto por Segade y Tyson mediante extracción de Hg por microondas arrojó un error inferior al 5% en la extracción de mercurio total [23], por lo que la extracción ácida propuesta para el método candidato EPA 7471B y en la que se trató de investigar la exactitud de los resultados de la Tabla 5.20 obtenidos experimentalmente analizando los efectos en los errores sistemáticos y aleatorios sobre los resultados individuales se

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

considera que cumplen el requisito analítico debido a la proximidad al valor de referencia.

Hasta ahora, todos los pasos de la sección experimental y su respectivo análisis de datos describen un “método empírico”. Si se utiliza este método dentro de su único campo de acción definido, es de esperar que el sesgo del método se defina como cero [18]. Por lo tanto, la estimación del sesgo obtenido para el grupo de datos tabulado en la Tabla 5.20 se relaciona directamente con el desempeño en el Laboratorio Ambiental de la CRC y no con el inherente al método. Aun así, de forma aislada, en el Laboratorio Ambiental se pudo calcular el sesgo combinado a partir de fuentes aleatorias y dependientes, y para una **exactitud aproximada de 98,5%** puede concluirse que el conjunto de datos se aproxima fuertemente al valor verdadero.

Por otro lado, para evaluar el **recobro global del método**, analizando la pendiente de la curva que relaciona la cantidad de mercurio recuperada versus la cantidad adicionada a varias muestras de sedimentos, se obtuvieron los siguientes resultados

Tabla 5.21. Análisis de recobro por extracción de Hg en matriz sedimento.

| µg adicionados de Hg | µg recuperados de Hg | | | | | | Promedio (µg) |
|----------------------|----------------------|------|------|------|------|------|---------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 0,00 | 0,04 | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,05 | 0,04 | 0,05 |
| 0,10 | 0,15 | 0,19 | 0,24 | 0,14 | 0,15 | 0,14 | 0,17 |
| 0,20 | 0,23 | 0,32 | 0,30 | 0,22 | 0,24 | 0,21 | 0,25 |
| 0,40 | 0,47 | 0,46 | 0,46 | 0,36 | 0,35 | 0,34 | 0,41 |
| 0,60 | 0,67 | 0,65 | 0,65 | 0,58 | 0,61 | 0,57 | 0,62 |
| 0,80 | 0,81 | 0,78 | 0,84 | 0,73 | 0,72 | 0,70 | 0,76 |
| 1,00 | 1,00 | 0,96 | 0,99 | 0,95 | 1,07 | 0,92 | 0,97 |
| 1,20 | 1,20 | 1,23 | 1,25 | 1,17 | 1,20 | 1,19 | 1,21 |

Al evaluar el recobro en la matriz natural sin contenido neto de mercurio se estudió la exactitud del método mediante el análisis de recuperación del metal tras haber realizado adiciones sucesivas que cubrieron los puntos dentro del rango dinámico.

En la Figura 5.3 se observa, primero, la proporcionalidad lineal entre la cantidad adicionada de Hg y el factor de respuesta, es decir, la cantidad recuperada de analito para un coeficiente de determinación de 0,997, lo que indica una relación x y y positiva fuerte. Igualmente, y como ya se mencionó en la sección experimental, la pendiente es quien da el valor de recobro del método, obteniendo un **porcentaje de recuperación del 93,1%**

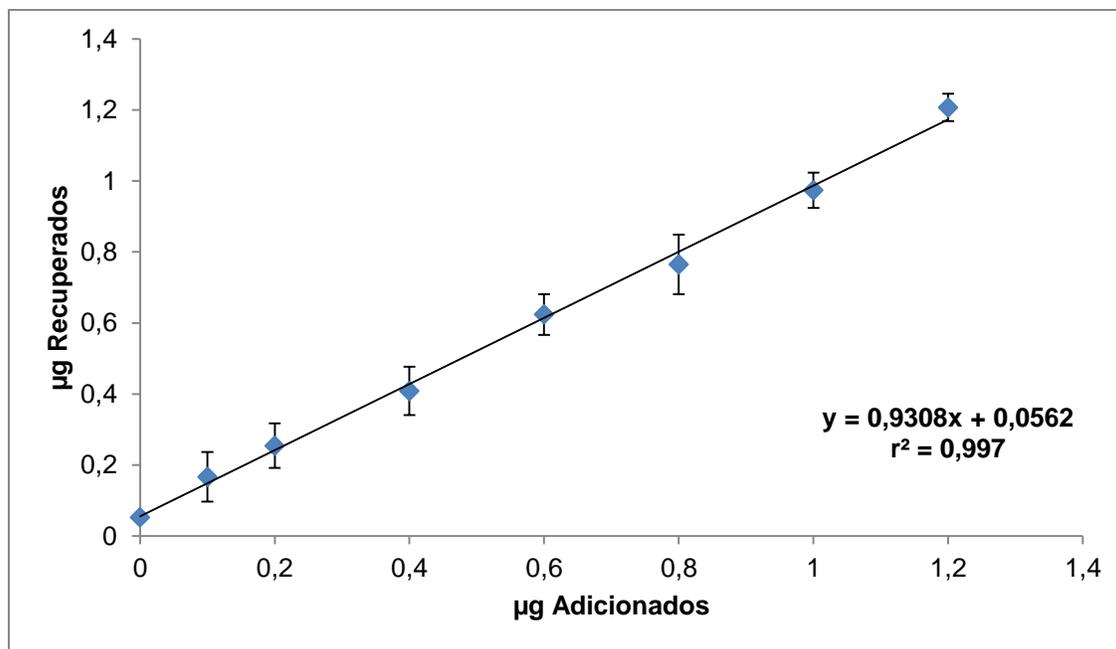


Figura 5.3. Análisis de recobro para adición de Hg a muestras naturales sin analito

5.3.5. Incertidumbre

En el caso de la muestra de sedimento InterCid que empíricamente arrojó un resultado de 3,05 mg/L al aplicar el procedimiento de preparación de muestras de la guía EPA 7471B, se considera que hubo una extracción ácida completa del metal, es posible tener en cuenta que el factor de disolución ácida no afectó en la determinación de la incertidumbre, siendo especialmente válido para el caso de extracción de Hg en sedimentos. En este caso en particular, se consideran las principales fuentes de incertidumbre debido a:

- a) La preparación de los estándares usados en la calibración del equipo
- b) Lectura del Hg a partir de la curva de calibración

El cálculo de las principales variables de incertidumbre se centra principalmente en las debidas a la medición de Hg en sí misma.

El primer paso en la medición de incertidumbre del método, fue definir el mensurando, o valor de medida, que se establece, según la ecuación 4.5 como

$$[Hg]_{sed} = \frac{C_0 * V * d}{1000 * m_{sed}} * F_{\%H} \quad \text{Ec. 4.5}$$

Ya que la EAA es una medida relativa, la concentración de Hg en la solución extractora se calculó por medio de una curva de calibración cuya recta se ajusta por mínimos cuadrados, y la concentración se halla como:

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

$$C_0 = \frac{abs - b}{m} \quad \text{Ec. 5.2}$$

Siendo abs el valor de absorbancia, b el intercepto de la recta y m su pendiente. También se debe tener en cuenta el factor de corrección por humedad, $F_{\%H}$, que se define como

$$F_{\%H} = 1 - \frac{\%H}{100} \quad \text{Ec. 5.3}$$

Por lo tanto, la ecuación 4.5 se reescribe como:

$$[Hg]_{sed} = \left(\frac{abs - b}{m} \right) \left(\frac{V * d}{1000 * m_{sed}} \right) * \frac{1}{F_{\%H}} \quad \text{Ec. 5.4}$$

Como la incertidumbre combinada es la raíz de la suma cuadrática de las incertidumbres estándar individuales, según se muestra en la ecuación 1.18, la incertidumbre relativa global en la determinación de Hg por EAA/VF se calculó como:

$$\frac{u}{[Hg]_{sed}} = \sqrt{u_{C_0}^2 + u_V^2 + u_m^2 + u_d^2 + u_F^2} \quad \text{Ec. 5.5}$$

Finalmente, la incertidumbre expandida, para un factor de cobertura del 95%, se determina según la ecuación 1.19. Como ayuda en el cálculo de la incertidumbre, se utilizaron los datos obtenidos en la medición del sesgo del método a partir del MRC InterCid, del que se obtuvo un error relativo cercano al 1,5%.

Incertidumbre de la medición

➤ Curva de calibración

Debido a que una de las mayores fuentes de incertidumbre consideradas es la curva de calibración, para este caso se evaluó este efecto que ese obtuvo a partir de las soluciones estándar de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μgL^{-1} , cuya recta, obtenida por ajuste de mínimos cuadrados presenta valores de pendiente $m = 0,008$ y ordenada en el origen $b = 0,0006$ con coeficiente de regresión $r^2 = 0,9962$.

a) Incertidumbre debida al ajuste por mínimos cuadrados

Se calculó según la siguiente expresión:

$$u_{ajuste} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad \text{Ec. 5.6}$$

Siendo m la pendiente, p el número de veces que se realizó la medición, n la cantidad de mediciones realizadas a la curva de calibración, C_0 la concentración

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

de Hg en la solución extractora, \bar{C} promedio de concentración de los patrones de la curva. Las variables S y S_{xx} son las desviaciones estándar de los residuales y debidas a las curvas de calibración respectivamente, y se calculan como:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (b + mC_j)]^2}{n - 2}} \quad \text{Ec. 5.7}$$

Donde A_j la absorbancia en cada punto de la curva, b la ordenada en el origen, m la pendiente y C_j las concentraciones de cada patrón.

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad \text{Ec. 5.8}$$

Para poder hallar la incertidumbre de la medición, se trabajó con los datos obtenidos para la determinación de exactitud del método con el MRC InterCid cuyo valor experimental fue de 3,05 ppm de Hg en materia seca cuyo porcentaje de humedad fue del 1,5%. A continuación se presentan los valores promedio de las tres curvas de calibración asociada a dicha medición

Tabla 5.22. Promedio de las curvas de calibración usada en la determinación de exactitud para el MRC

| Patrón | Absorbancia |
|----------------------|---------------|
| 0 | 0,000 |
| 1 | 0,006 |
| 2 | 0,014 |
| 4 | 0,030 |
| 6 | 0,046 |
| 8 | 0,065 |
| 10 | 0,081 |
| 12 | 0,104 |
| m | 0,0085 |
| b | 0,0022 |
| r² | 0,9968 |

Por lo que sustituyendo en las ecuaciones 5.5, 5.6, 5.7, se obtuvieron los siguientes valores:

$$S_{xx} = 133,87$$

$$S = 0,00371$$

$$u_{ajuste} = 0,1214 \mu\text{g/L}$$

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

b) Incertidumbre debida al titrisol de Hg de 1000 mg/L

Para esta variable se tuvo en cuenta que el titrisol cuenta con una incertidumbre de 1000 ± 2 mg/L. Por lo tanto, sustituyendo valores en la ecuación 1.16, para una distribución rectangular, se tiene que

$$u_{est} = \frac{2 \text{ mg/L}}{\sqrt{3}} = 1,15 \text{ mg/L}$$

c) Preparación del stock de 1 mg/L de Hg

Para esta variable se debieron tener en cuenta tres factores, el debido a la dilución del titrisol de 1000 mg/L de Hg para preparar la solución madre de 25 mL con concentración de 1 mg/L de Hg con la cual se realizó una segunda dilución para la preparación de los patrones de calibración aforados todos a 100 mL.

En la preparación del stock de 1 mg/L de Hg se tomaron 25 μ L del titrisol de 1000 mg/L de Hg y se llevaron a 25 mL con agua desionizada, por lo que el factor de dilución fue de 1000. Entonces, para este caso, la incertidumbre viene dada por la medición de dos volúmenes: la alícuota de 25 μ L y el matraz de 25 mL. Teniendo en cuenta que las medidas de volumen se ven afectadas por la repetibilidad, la calibración y la temperatura durante la toma; para el caso del matraz se tiene:

Volumen de matraz de 25 mL

Temperatura: ya que el aforo se realizó a una temperatura diferente al de la calibración inicial del material volumétrico. Para un rango de $21 \pm 2^\circ$ C, el rango de temperatura lleva a una incertidumbre en el volumen determinado, debido, principalmente, a la expansión del agua que es considerablemente mayor en comparación con la del recipiente. La incertidumbre estándar para el volumen de 100 mL, asumiendo una distribución rectangular de la temperatura, según la ecuación 1.16, fue:

$$u_{temp} = \frac{2,1 * 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1} * 25 \text{ mL} * 2 \text{ }^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} = 0,0058 \text{ mL}$$

Repetibilidad: se calibró el volumen del matraz según el procedimiento de calibración del material por llenado y pesaje obteniendo una desviación estándar de $\pm 0,016$ mL, calculada por la realización de 3 experimentos, por lo tanto:

$$u_{rep} = \frac{0,016 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0,0092 \text{ mL}$$

Calibración: el fabricante menciona un volumen de matraz de $25,00 \pm 0,04$ mL, medido a una temperatura de 20° C. Suponiendo una distribución triangular, la incertidumbre estándar, según a ecuación 1.17, fue:

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

$$u_{cal} \frac{0,04 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0163 \text{ mL}$$

Por lo tanto, la incertidumbre estándar debido al volumen de aforo del balón de 25 mL, según la ecuación 1.18 que describe matemáticamente la ley de propagación de la incertidumbre, fue:

$$u_{25} = \sqrt{(0,0058)^2 + (0,0092)^2 + (0,0163)^2} = 0,0196 \text{ mL}$$

Incertidumbre debida a la pipeta (25 – 250) μL

Ya que la empresa CRC contó con la prestación calibración del material por un agente externo, se toma la incertidumbre propuesta en el certificado que es de:

$$u_{250} = \frac{0,62 \mu\text{L}}{\sqrt{6}} = 0,2531 \mu\text{L}$$

Por lo tanto, la incertidumbre combinada y debida a la dilución realizada para preparar el stock de 1 mg/L a partir del estándar de 1000 mg/L de Hg, se tiene que:

$$u_{d1} = \sqrt{\left(\frac{u_{25}}{25 \text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{u_{pip}}{25 \mu\text{L}}\right)^2} = 0,0102$$

d) Preparación de los estándares

Tomando como ejemplo la preparación de 100 mL de patrón de 1 $\mu\text{g/L}$ de Hg a partir del stock de 1 mg/L. Se tuvo en cuenta nuevamente el volumen de aforo de 100 mL del matraz y la alícuota tomada a partir de la solución madre. Como ejemplo, el factor de dilución para el patrón de 1 mg/L de Hg es de 1000, por lo tanto

Volumen de matraz de 100 mL

Temperatura:

$$u_{temp} = \frac{2,1 * 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1} * 100 \text{ mL} * 2 \text{ } ^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} = 0,0242 \text{ mL}$$

Repetibilidad: se calibró el volumen del matraz según el procedimiento de calibración del material por llenado y pesaje obteniendo una desviación estándar de $\pm 0,081 \text{ mL}$, calculada por la realización de 3 experimentos, por lo tanto:

$$u_{rep} = \frac{0,081 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0,0468 \text{ mL}$$

Calibración: el fabricante menciona un volumen de matraz de $100,0 \pm 0,1 \text{ mL}$, medido a una temperatura de 20°C . Suponiendo una distribución triangular, la incertidumbre estándar fue:

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

$$u_{cal} \frac{0,1 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0408 \text{ mL}$$

Por lo tanto, la incertidumbre estándar debido al volumen de aforo del balón de 100 mL, según ley de propagación de la incertidumbre, fue:

$$u_{100} = \sqrt{(0,0468)^2 + (0,0408)^2 + (0,0242)^2} = 0,0666 \text{ mL}$$

Pipetas de (25 – 250) μL y de (0,5 – 5) mL

Según certificados de calibración y la ecuación 4.16, los equipos mantuvieron una incertidumbre de:

$$u_5 = \frac{0,014 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0,0057 \text{ mL}$$

Por lo tanto, la incertidumbre debida al factor de dilución en la preparación del estándar de calibración fue:

$$u_{d2} = \sqrt{\left(\frac{u_{100}}{100 \text{ mL}}\right)^2 + \left(\frac{u_{250}}{100 \mu\text{L}}\right)^2} = 0,0026$$

Así, la incertidumbre combinada, por ley de la propagación de la incertidumbre se debió a la incertidumbre del Titrisol de Hg, al factor de dilución en la preparación del stock de 1 mg/L, y al factor de dilución en la preparación del patrón de 1 $\mu\text{g/L}$ de Hg. Por lo tanto:

$$u_{1ppb} = \sqrt{\left(\frac{u_{est}}{C_{est}}\right)^2 + (u_{d1})^2 + (u_{d2})^2} = 0,0106$$

Una vez hecho el ensayo para la preparación de cada patrón de la curva de calibración, se llegó a la conclusión que la incertidumbre combinada debido a la preparación cambia en muy poca medida. Por lo tanto, la incertidumbre total producto a los errores sistemáticos y aleatorios durante la corrida de la curva de calibración fue:

$$u(C_0) = \sqrt{\left(\frac{u_{ajuste}}{C_0}\right)^2 + 8u_{patrón}^2} = 0,1016$$

➤ *Volumen de matraz de 100 mL de muestra*

Utilizando un matraz de 100 mL que fue donde culminó la preparación de la muestra después del proceso de extracción propuesto en la sección experimental. Este matraz tuvo la misma secuencia del apartado anterior:

$$u_{100} = \frac{0,0666 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 0,0007$$

➤ *Peso*

La incertidumbre debido al ejercicio de pesaje de muestra y generado por la balanza, que según el certificado de calibración es de $\pm 0,085 \text{ mg}$, se expresa como incertidumbre estándar, según una distribución triangular, como:

$$u_{balanza} = \frac{0,085 \text{ mg}}{\sqrt{3}} = 0,049$$

Ya que el proceso de pesaje es una medida por diferencia entre la tara del recipiente y el peso bruto del sedimento, esto significa que cada uno de los pesajes estuvo sujeto a incertidumbre de la calibración de la balanza. Por lo tanto, la incertidumbre relativa total por la medida de $0,5033 \text{ g}$ en masa del sedimento fue:

$$u_m = \sqrt{2 \left(\frac{0,049 \text{ mg}}{503,3 \text{ mg}} \right)^2} = 0,0002$$

➤ *Factor de dilución:*

Es el proceso de dilución realizado a la muestra para que el valor de absorbancia entrara en la curva de calibración. Para este ejercicio, la dilución fue de 2 mL de muestra aforado en un matraz de 25 mL , por lo tanto, la incertidumbre debida al factor de dilución (d) es de:

$$u_d = \sqrt{\left(\frac{u_{25}}{25 \text{ mL}} \right)^2 + \left(\frac{u_5}{2} \right)^2} = 0,0534$$

➤ *Factor por corrección de humedad:*

Ya que el porcentaje de humedad se calculó debidamente como diferencia de pesaje entre la masa húmeda, la masa seca y la masa del recipiente, que se multiplica por 2 a causa de la incertidumbre producida por la tara. Así, la incertidumbre por factor de corrección de humedad se halló como:

$$u_F = \sqrt{2 \left[\left(\frac{u_{balanza}}{Recipiente} \right)^2 + \left(\frac{u_{balanza}}{Humeda} \right)^2 \right] + \left(\frac{u_{balanza}}{Seca} \right)^2}$$

Por lo tanto:

$$u_F = \sqrt{2 \left[\left(\frac{4,9 * 10^{-5} \text{ g}}{4,1913 \text{ g}} \right)^2 + \left(\frac{4,9 * 10^{-5} \text{ g}}{5,0057 \text{ g}} \right)^2 \right] + \left(\frac{4,9 * 10^{-5} \text{ g}}{9,1317 \text{ g}} \right)^2} = 2,222 * 10^{-5}$$

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Teniendo las incertidumbres relativas estándar provenientes de todas las variables posibles de análisis, fue posible calcular la incertidumbre combinada de todo el proceso de análisis y medición de mercurio en el MCR, que según la ecuación 5.4, fue:

$$\frac{u}{[Hg]_{sed}} = \sqrt{(0,1016)^2 + (0,0007)^2 + (0,0002)^2 + (0,0534)^2 + (2,222 * 10^{-5})^2}$$
$$= 0,115$$

Por lo tanto, la incertidumbre combinada absoluta fue:

$$u = 0,115 * [Hg]_{sed} = 0,350 \text{ mg/Kg}$$

Para un factor de cobertura $K = 2$ para un nivel de confianza del 95%, la incertidumbre expandida, según la ecuación 4.6, fue de:

$$U = 0,350 \text{ mg/Kg} * 2 = 0,700 \text{ mg/Kg}$$

Por lo tanto, y finalmente, para la determinación de Hg en la muestra de referencia certificada fue de

$$U = 3,05 \pm 0,70 \text{ mg/Kg}$$

En la Ecuación 5.35 se logra observar que el intervalo de confianza en la cuantificación de Hg en el MRC está entre valores de 2,35 y 3,37 mg/Kg.

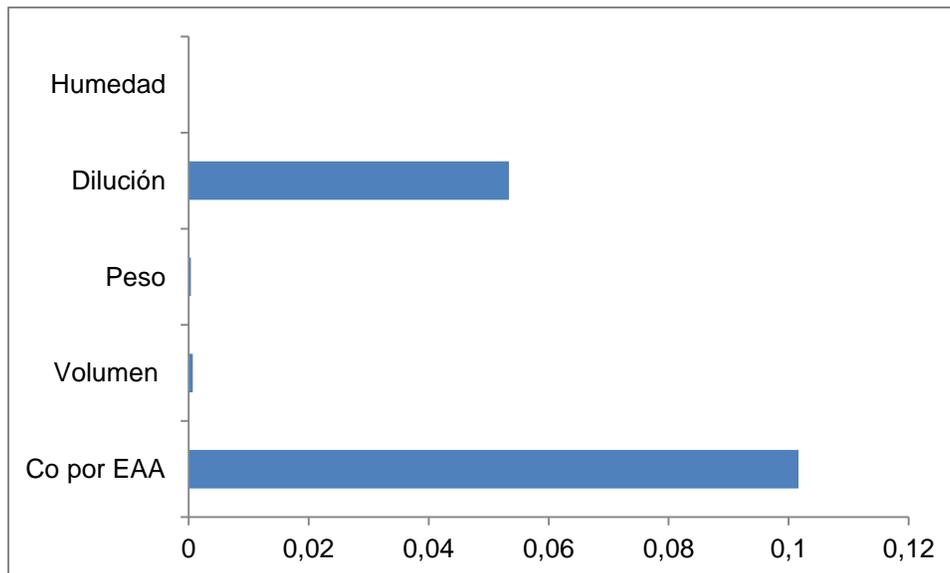


Figura 5.4. Histograma de las incertidumbres estándar y su mayor o menor contribución a la determinación de la incertidumbre de la medición de Hg por el método de EAA/VF

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A partir de la información reportada también fue posible evidenciar que la incertidumbre de la medición experimental de Hg llevada a cabo en las instalaciones del Laboratorio Ambiental de la CRC fue mayor a la reportada por el fabricante (Ver Anexos Tabla 7.1). Muchos son los factores que pueden hacer que una medición tenga incertidumbre, y los defectos en la medición, que incluyen toda la preparación de las muestras, pueden hacer que las contribuciones de algunos sean mayores que otros.

Se ha mencionado la importancia de las fuentes de incertidumbres individuales en el cálculo de la incertidumbre global de una medición, y aunque en el certificado expedido por el fabricante del MRC utilizado no se especifica qué técnica o cuál método se utilizó en la cuantificación de mercurio en la matriz sólida, ni cuáles fueron los factores de incertidumbre individuales que contribuyeron en el reporte final, es de esperarse que hayan usado una técnica de cuantificación de mercurio más sensible y exacta. Para los propósitos de estandarización del método que se implementó en el Laboratorio Ambiental para la determinación de Hg por la técnica EAA/VF, se logró cuantificar todas las fuentes de incertidumbre que intervinieron en la medición, y el mayor o menor efecto en la contribución a la incertidumbre de la medición se logra observar en la Figura 5.4, donde se puede distinguir que el mayor efecto fue el generado por la lectura de Hg en la solución extractora, si bien es la suma de todas las incertidumbres individuales de los equipos y materiales utilizados en la preparación y medición de las muestras.

5.4. Examen de aptitud del método

Los ensayos de aptitud del método se realizaron para observar su alcance cuando se aplica el protocolo descrito en la guía EPA 7471B para preparación de muestras (ver Figura 4.2) de sedimentos (Figura 4.5) para la determinación de mercurio por EAA/VF usando borohidruro de sodio como único agente reductor.

Debido a que las muestras naturales suministradas al laboratorio para análisis de Hg en sedimentos no contenían analito, se procedió a culminar el examen de aptitud añadiendo cantidades conocidas de mercurio en la matriz natural y analizando el recobro en el lote. A continuación se muestran los resultados obtenidos:

Tabla 5.23. Resultados de recuperación obtenidos en una matriz natural de sedimento

| Repetición | Sedimento ($\mu\text{g/Kg}$) | M1 ($\mu\text{g/Kg}$) | M2 ($\mu\text{g/Kg}$) |
|------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1 | 0,46 | 3,98 | 9,67 |
| 2 | 0,37 | 3,85 | 9,46 |
| 3 | 0,37 | 3,58 | 9,76 |
| 4 | 0,37 | 4,62 | 9,85 |
| 5 | 0,46 | 4,26 | 10,2 |
| 6 | 0,37 | 4,34 | 9,70 |
| 7 | 0,37 | 4,42 | 9,58 |
| 8 | - | 4,22 | 9,72 |
| 9 | - | 4,30 | 9,91 |

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

| | | | |
|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| 10 | - | 4,20 | 10,8 |
| 11 | - | 4,39 | 10,6 |
| 12 | - | 4,42 | 10,6 |
| 13 | - | 4,19 | 10,3 |
| Media (µg/L) | 0,39 | 4,20 | 10,01 |
| s (µg/L) | ± 0,04 | ± 0,27 | ± 0,45 |
| CV | 11,0% | 6,5% | 4,5% |
| %Rec | - | 95,0% | 99,0% |

De la Tabla 5.23 es posible observar cómo, tras la extracción ácida, se obtuvieron errores inferiores al 5% en la recuperación del metal, y cómo a valores alejados de los límites críticos los resultados se vuelven cada vez más veraces y precisos.

Cabe resaltar, igualmente, la cercanía del valor de concentración del sedimento con el valor crítico de detección calculado anteriormente. En este caso, tras el estudio de muestras de sedimento naturales, es preferible comparar el valor de cuantificación con el límite de detección del método obtenido tras análisis de recobro con una matriz blanco y hallado en la sección de anexos, con el fin de no incurrir en un error tipo I, presumiendo la existencia de analito cuando en realidad no la hay.

Por último, la Tabla 5.24 muestra el resumen de la determinación de los parámetros de estandarización del método para determinar Hg por EAA/VF siguiendo los lineamientos de la norma EPA 7471B para preparación de muestras y que se implementó en el laboratorio de la CRC para cuantificación del metal en sedimentos, en el que se concluye su aptitud para el fin previsto.

Tabla 5.24. Resumen de parámetros de estandarización del método para cuantificar Hg por EAA/VF

| Parámetro | Valor |
|--|-------------------|
| LDM | 0,40 µg/L |
| LCM | 0,80 µg/L |
| Precisión | p > 0,05 |
| Exactitud (error relativo) | 1,4% |
| Recobro global del método | 93,1% |
| Incertidumbre de la medición de Hg en MRC | 3,05 ± 0,70 mg/Kg |

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo es posible concluir que:

- La implementación y posterior estandarización del método para la determinación de mercurio en sedimentos por la técnica EAA/VF siguiendo el protocolo de preparación de la guía EPA 7471B permitió generar un protocolo que tiene la rigurosidad estadística para su ejecución en el laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca CRC.
- A partir del análisis químico y estadístico se concluyó que el método es adecuado para la evaluación de trazas de mercurio en matrices sólidas, siendo preciso y veraz para la cuantificación desde concentraciones de 0,8 µg/L de Hg en solución extractora, cubriendo un rango dinámico hasta 12 µg/L de Hg.
- Los estudios de recobro global del método realizados sobre muestras naturales por adiciones sucesivas arrojaron porcentajes de recuperación superiores al 90%, lo que permitió reportar los datos con un alto nivel de confiabilidad, debido además a que se pudo identificar y cuantificar las fuentes de incertidumbre que repercuten en la propagación de los resultados.
- El método estandarizado en el Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional de Cauca (CRC) es lo suficientemente robusto para realizar estudios ambientales en zonas vulnerables a contaminación por vertimientos industriales ilegales, y como soporte técnico, ayudará a la corporación en la elaboración de planes de saneamiento y manejo de vertimientos en el departamento de Cauca.

Recomendaciones: Por último se recomienda a la corporación CRC elaborar un procedimiento para la toma de muestras de sedimentos que obedezca a un modelo estadístico que garantice la representatividad que debe tener para el estudio de Hg en muestras naturales, ya que las diferencias entre la variedad de materiales y de condiciones puede resultar en análisis fuertemente sesgados.

7. ANEXOS

Tabla 7.1. Contenido neto en el sedimento referencia certificado [27]



PTP N° 0007

Signatory of EA MLA for the accreditation schemes
QMS, EMS, PRD, PRS, INSP, GHG, TL and CL,
of IAF MLA for the accreditation schemes
QMS, EMS, ISMS, FSMS and PRD
and of ILAC MRA for the accreditation schemes TL, ML, CL and INSP

Results of InterCinD 2017SE QA/QC study



| Treated data - SEDIMENT | | | | | Summary statistics | | | | |
|-------------------------|----|---|---|------------|--------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| PCDD/F (values in pg/g) | ND | O | E | Valid data | Labs | average | median | S | u |
| Ag | 0 | 0 | 0 | 8 | 4 | 0.349 | 0.351 | 0.039 | 0.020 |
| Al | 0 | 1 | 1 | 12 | 6 | 15350.912 | 13197.413 | 8600.151 | 3510.997 |
| As | 0 | 0 | 1 | 12 | 6 | 14.400 | 14.581 | 1.915 | 0.782 |
| Cd | 0 | 1 | 2 | 14 | 7 | 3.514 | 3.538 | 0.227 | 0.086 |
| Cr | 0 | 1 | 1 | 18 | 9 | 37.888 | 34.410 | 8.387 | 2.796 |
| Cu | 0 | 0 | 2 | 18 | 11 | 69.691 | 70.290 | 2.815 | 0.849 |
| Hg | 0 | 0 | 2 | 20 | 10 | 3.004 | 2.702 | 1.407 | 0.445 |
| Mn | 0 | 1 | 1 | 22 | 11 | 314.563 | 319.500 | 35.978 | 10.848 |
| Ni | 0 | 1 | 1 | 23 | 11 | 21.296 | 23.000 | 5.169 | 1.559 |
| Pb | 0 | 0 | 1 | 19 | 10 | 54.007 | 54.100 | 4.185 | 1.324 |
| Sb | 0 | 0 | 0 | 6 | 3 | 0.629 | 0.635 | 0.414 | 0.239 |
| Se | 0 | 0 | 0 | 14 | 7 | 6.433 | 1.871 | 7.979 | 3.016 |
| Sn | 0 | 0 | 1 | 10 | 5 | 3.864 | 3.405 | 1.737 | 0.777 |
| Zn | 0 | 0 | 1 | 24 | 12 | 401.461 | 423.277 | 90.162 | 26.028 |

➤ **Cálculo del límite de detección utilizando matriz sedimento blanco**

Del análisis de recobro, donde se usó una matriz sedimento blanco y se determinó la concentración de mercurio tras adiciones sucesivas, se pudo calcular el límite de detección mediante la fórmula [17]:

$$LDM = \frac{3s_b}{m} \quad \text{Ec. 7.1}$$

Siendo s_b la desviación estándar de los blancos y m la pendiente de la curva. Los resultados de absorbancia del estudio de recobro se compilan en la tabla 7.2

Tabla 7.2. Resultados absorbancias de curvas de calibración para análisis de recobro

| Nivel de concentración µg/L | Absorbancias | | | | | |
|--------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 |
| 0 | 0,004 | 0,002 | 0,002 | 0,005 | 0,005 | 0,004 |
| 1 | 0,013 | 0,010 | 0,013 | 0,012 | 0,013 | 0,012 |
| 2 | 0,020 | 0,018 | 0,017 | 0,019 | 0,021 | 0,018 |
| 4 | 0,040 | 0,027 | 0,027 | 0,031 | 0,030 | 0,029 |
| 6 | 0,057 | 0,039 | 0,039 | 0,049 | 0,052 | 0,048 |
| 8 | 0,068 | 0,047 | 0,051 | 0,062 | 0,061 | 0,059 |
| 10 | 0,085 | 0,058 | 0,060 | 0,080 | 0,085 | 0,078 |
| 12 | 0,105 | 0,073 | 0,075 | 0,099 | 0,101 | 0,100 |

De la tabla 7.2 se obtuvo la recta de regresión ponderada para la determinación de este único analito:

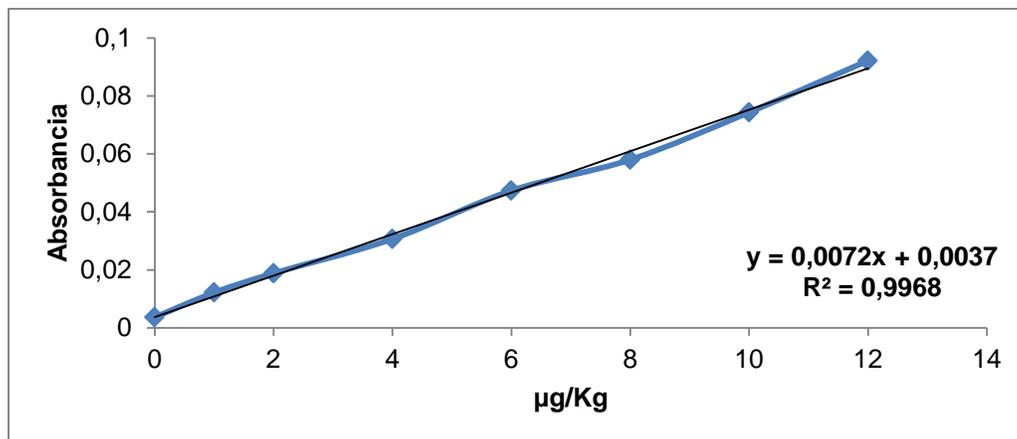


Figura 7.1. Recta de regresión ponderada para análisis de LDM con matriz blanco

Sustituyendo a partir de la ecuación 7.1 se obtuvo un límite de detección de:

$$LDM = 0,57 \mu\text{g/Kg} \approx 0,60 \mu\text{g/Kg}$$

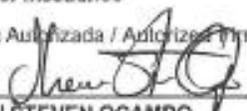
CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

CALIBRATION CERTIFICATE

FEV 05, Revisión 11, 2018-03-10

| | | |
|---|---|---|
| SOLICITANTE <i>Customer</i> | : | CRC - CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA |
| DIRECCIÓN <i>Address</i> | : | CARRERA 7 No. 1N - 28 |
| CIUDAD <i>City</i> | : | POPAYAN - CAUCA |
| INSTRUMENTO <i>Instrument</i> | : | PIPETA TIPO PISTÓN |
| FABRICANTE <i>Manufacturer</i> | : | BRAND |
| CAPACIDAD <i>Capacity</i> | : | 250 μ L |
| RANGO DE MEDICIÓN <i>Measurement Range</i> | : | 25 A 250 μ L |
| NÚMERO DE SERIE <i>Serial Number</i> | : | 12X3117 |
| CÓDIGO INTERNO <i>Internal Code</i> | : | NO PORTA |
| ORDEN DE TRABAJO <i>Work Order</i> | : | R1026 |
| FECHA DE RECEPCIÓN <i>Date of Arrive</i> | : | 2018-05-15 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Date of Repor</i> | : | 2018-05-24 |
| FECHA DE EMISIÓN <i>Date of issuance</i> | : | 2018-05-24 |

Firma Autorizada / Authorized Firm



JHON STEVEN OCAMPO
Especialista en Instrumentación Industrial
Director Técnico
Revisado y Aprobado por



Sello

Certificado emitido bajo la norma ISO/IEC 17025: 2005



La medida su mejor aliado

Carrera 68C No. 68A - 2D, Bogotá Colombia.

PBX: 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com.

Página 1 de 3

DESCRIPCIÓN DE LA CALIBRACIÓN

| | |
|---------------------------|---------------------|
| Líquido de Referencia | Agua tipo III |
| Método Utilizado | Método Gravimétrico |
| Temperatura de referencia | 20 °C |
| Consumibles | NO APLICA |

TRAZABILIDAD

Patrón Utilizado: Balanza , Certificado No. CLM 191717, Fecha: 2017-11, de Conamet, Acreditado: ONAC, Trazable NIST.

Conamet, mantiene los patrones de referencia en condiciones físicas adecuadas para su conservación, los cuales han sido certificados asegurando la trazabilidad en las calibraciones realizadas con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

METODO DE CALIBRACIÓN

El método de calibración usado es el método gravimétrico basado en la norma ISO 8655 - 6:2002

La calibración se realizó en las instalaciones de Compañía Nacional de Metrología

RESULTADOS DE MEDICIÓN

a) Condiciones Ambientales

| | | | | | |
|--------------|------|-----|---|------|-----|
| Humedad: | 50,5 | %HR | ± | 0,50 | %HR |
| Presión: | 751 | hPa | ± | 0,05 | hPa |
| Temperatura: | 23,6 | °C | ± | 0,05 | °C |

b) Tabla de Calibración

Los resultados de medición para el volumen del elemento bajo calibración son:

| Volumen Nominal | Volumen de Calibración | Error Sistemático | Error aleatorio | k | Incertidumbre |
|-----------------|------------------------|-------------------|-----------------|------|---------------|
| μL | μL | μL | μL | | μL |
| 25 | 25,36 | 0,36 | 0,15 | 1,98 | 6,2E-01 |
| 125,0 | 125,22 | 0,22 | 0,23 | 1,98 | 6,3E-01 |
| 250,0 | 250,22 | 0,22 | 0,22 | 1,98 | 6,3E-01 |

INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

La incertidumbre de medición fue estimada conforme a la GUM "GUIA PARA LA EXPRESIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDIDA" Edición 2008 y se declara la incertidumbre expandida con un factor de cobertura (k), para un intervalo de confianza de aproximadamente 95 %.

La medida su mejor aliado

Carrera 68C No. 68A - 20, Bogotá Colombia.

PBX: 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com.

Página 2 de 3

COMPAÑÍA NACIONAL DE METROLOGÍA

LABORATORIO DE VOLUMEN

Certificado No. CLV 49818



DECLARACIONES

Este certificado de calibración no puede ser reproducido en su totalidad, excepto con autorización del laboratorio que lo emite. Los certificados sin firma sello no son validos.

This calibration certificate may not be reproduced other than in full except with the authorization of the issuing laboratory. Calibration certificates without signature and seal are not valid.

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad al Sistema Internacional de Unidades (SI) a través de un Instituto de Metrología, Nacional o Internacional (INM, NIST, PTB, etc.)

This calibration certificate documents the traceability to the International System of Units (SI) through a National or International Metrology Institute (INM, NIST, PTB, etc.).

Los factores de conversión a el Sistema Internacional de Unidades, son tomados del documento Nist Special Publication 811, 2008

The International System of Units conversion factors are taken from the document Nist Special Publication 811, 2008

El usuario es responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.

The user is responsible of the calibration of the instruments to appropriate intervals.

Los resultados del presente certificado se refieren al dispositivo relacionado y al momento y las condiciones en que se realizaron las mediciones. Compañía Nacional de Metrología no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado del instrumento.

The results of this report refer to the related dispositive in the moment and conditions in which the measurements were made. Compañía Nacional de Meteorologia assumes no reponsability for the damage of an inadecuate of this instrument.

FINAL DEL CERTIFICADO

La medida su mejor aliado

Carrera 68C No. 68A - 20, Bogotá Colombia.

PBX: 7450489, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com.

Página 3 de 3

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

CALIBRATION CERTIFICATE

FEM 13, Revisión 13, 2018-03-24

| | |
|---|--|
| SOLICITANTE <i>Customer</i> | : CRC - CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA |
| DIRECCIÓN <i>Address</i> | : CARRERA 7 No. 1 N - 28 / VIVERO CRC LA FLORIDA |
| CIUDAD <i>City</i> | : POPAYÁN - CAUCA |
| INSTRUMENTO <i>Instrument</i> | : BALANZA - ANALITICA |
| FABRICANTE <i>Manufacturer</i> | : PRECISA |
| MODELO <i>Model</i> | : 180 A |
| NÚMERO DE SERIE <i>Serial Number</i> | : 78745 |
| CÓDIGO INTERNO <i>Internal Code</i> | : 1683 |
| ORDEN DE TRABAJO <i>Work Order</i> | : OS303 |
| FECHA DE RECEPCIÓN <i>Date of Arrive</i> | : 2018-05-10 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Date of Report</i> | : 2018-05-10 |
| FECHA DE EMISIÓN <i>Date of issuance</i> | : 2018-05-11 |

Firma Autorizada / Authorized Firm



Fis. Jeyson Angel Ocampo
Magister en Ciencias
Director Técnico

Revisado y Aprobado por:



Sello

Certificado emitido bajo la norma ISO/IEC 17025:2005



La medida su mejor aliado

Carrera 68C No 68A - 20, Bogotá, Colombia.
 PBX 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com

Página 1 de 5

DESCRIPCIÓN DEL INSTRUMENTO

BALANZA - ANALÍTICA

| | | |
|--------------------------|---|----------|
| División de Escala (d) | : | 0,0001 g |
| Carga máxima | : | 183 g |

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN

Para la calibración se empleó el método de comparación directa con los patrones del Laboratorio de Masa y se realizaron las siguientes pruebas: **excentricidad de carga**, prueba que evalúa el desempeño del instrumento para pesar dentro de todo el receptor de carga; **repetibilidad**, indica la capacidad del instrumento para proporcionar indicaciones del mismo mensurando; **exactitud**, prueba que indica la capacidad del instrumento de medida para dar respuestas próximas a un valor verdadero. El método de calibración se realiza de acuerdo a el procedimiento PEM 07 basado en la **Guía para la calibración de los instrumentos para pesar de funcionamiento no automático, SIM MWG7/cg.01/v.00, 2009**.

Lugar de Calibración: INSTALACIONES DEL CLIENTE / LABORATORIO AMBIENTAL

CONDICIONES AMBIENTALES

Las condiciones ambientales durante la calibración fueron:

| Temperatura (°C) | Humedad Relativa (%HR) |
|------------------|------------------------|
| 21,2 ± 0,25 | 73,5 ± 2,5 |

Nota: las condiciones ambientales se refieren al sitio y al momento de la calibración.

TRAZABILIDAD

Conamet, mantiene los patrones de referencia en condiciones físicas adecuadas para su conservación, los cuales han sido calibrados asegurando la trazabilidad en las calibraciones realizadas con el Sistema Internacional de Unidades, siguiendo la jerarquía de trazabilidad nacional e internacional.

Patrón Utilizado: Juego de pesas patron Clase E2, Certificado No. CLM 152017, Fecha: 2017-09, de Conamet, Acreditado: ONAC, Trazable NIST.

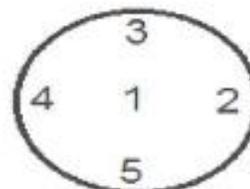
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN

A continuación se reportan los resultados de medición de cada de las pruebas de calibración realizadas, de acuerdo a lo establecido en el numeral 2 del presente certificado de calibración.

PRUEBA DE EXCENTRICIDAD DE CARGA

| LADO | INDICACIÓN | ERROR |
|------|------------|-----------|
| no | g | g |
| 1 | 50,0000 | 0,00E+00 |
| 2 | 50,0000 | 0,00E+00 |
| 3 | 49,9998 | -2,00E-04 |
| 4 | 49,9999 | -1,00E-04 |
| 5 | 50,0000 | 0,00E+00 |
| 1 | 49,9999 | -1,00E-04 |

Gráfico 1



La medida su mejor aliado

COMPAÑÍA NACIONAL DE METROLOGÍA
LABORATORIO DE MASA
 Certificado No. CLM 72918



PRUEBA DE REPETIBILIDAD

| Cargas | Desviación determinada |
|--------|------------------------|
| g | g |
| 0,02 | 0,0001 |
| 5 | 0,0001 |
| 50 | 0,0001 |
| 100 | 0,0001 |
| 180 | 0,0001 |

| Cargas g | | | | |
|----------|--------|---------|----------|----------|
| 0,02 | 5 | 50 | 100 | 180 |
| 0,0201 | 5,0000 | 49,9999 | 100,0000 | 179,9997 |
| 0,0201 | 4,9999 | 50,0000 | 99,9999 | 179,9997 |
| 0,0200 | 5,0001 | 50,0000 | 99,9999 | 179,9998 |
| 0,0201 | 5,0000 | 49,9999 | 99,9998 | 179,9997 |
| 0,0200 | 5,0000 | 50,0000 | 99,9999 | 179,9998 |

PRUEBA DE EXACTITUD

A continuación se presenta la grafica y la tabla de los errores determinados en la prueba de exactitud realizada al instrumento de pesaje de funcionamiento no automático.

| EXACTITUD | | |
|------------|------------|---------|
| CARGAS | INDICACIÓN | ERRORES |
| g | g | g |
| 0,005001 | 0,0051 | 0,0001 |
| 0,019995 | 0,0200 | 0,0000 |
| 0,100001 | 0,1000 | 0,0000 |
| 0,499998 | 0,5001 | 0,0001 |
| 0,999989 | 1,0001 | 0,0001 |
| 2,000003 | 2,0001 | 0,0001 |
| 5,000001 | 5,0001 | 0,0001 |
| 9,999992 | 10,0000 | 0,0000 |
| 20,000027 | 20,0000 | 0,0000 |
| 49,999955 | 49,9999 | -0,0001 |
| 69,999992 | 69,9999 | -0,0001 |
| 99,999924 | 99,9999 | 0,0000 |
| 119,999951 | 120,0000 | 0,0000 |
| 149,999889 | 149,9998 | -0,0001 |
| 182,999900 | 182,9997 | -0,0002 |

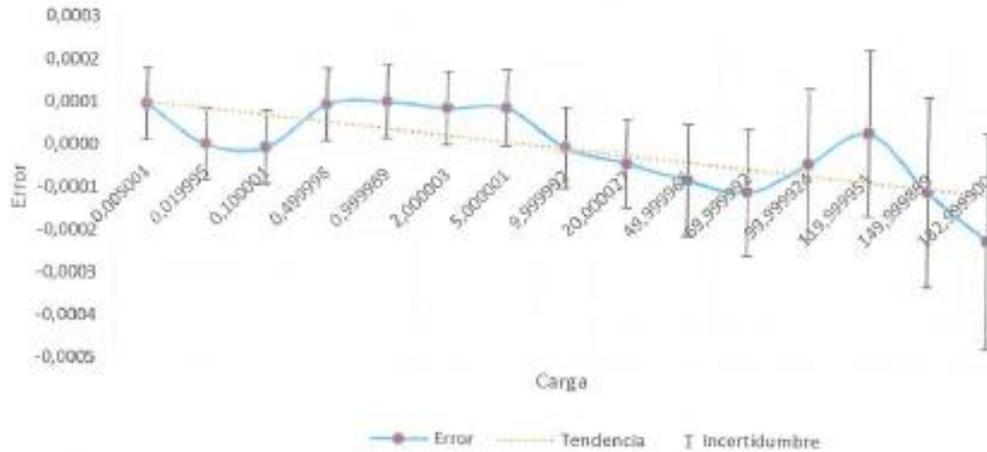
La medida su mejor aliado

Carrera 68C No 68A - 20, Bogotá, Colombia.

PBX 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com

Página 3 de 5

Gráfico de Exactitud



Las unidades de la gráfica se encuentran en g

PRUEBAS ADICIONALES

PRUEBA DE TARA SUSTRACTIVA

| CARGA 1 Para tara | |
|-------------------|------------|
| 20 | |
| g | |
| Carga | Indicacion |
| 0,1 | 0,1001 |
| 1 | 1,0001 |
| 10 | 10,0000 |
| 50 | 50,0001 |

INCERTIDUMBRE

La incertidumbre de la medición fue estimada conforme a la GUM "GUIA PARA LA EXPRESIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDIDA" Edición 2008. Se declara la incertidumbre expandida con un factor de cobertura de (k), para un intervalo de confianza de aproximadamente un 95 %.

Rango Máximo

$U = U_0 + b m_{wi}$ $U_0 = 8,5E-05 \text{ g}$ $b = 9,2E-07$
 m_{wi} Valor del objeto a pesar
 $k = 1,98$

| |
|---|
| $U = 8,5E-05 \text{ g} + 9,2E-07 \text{ g } m_{wi}$ |
|---|

La medida se mejor afiado

Carrera 68C No 68A - 20, Bogota, Colombia.
 PBX 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com

COMPAÑÍA NACIONAL DE METROLOGÍA
LABORATORIO DE MASA
Certificado No. CLM 72918



DECLARACIONES

Este certificado de calibración no puede ser reproducido en su totalidad, excepto con autorización del laboratorio que lo emite. Los certificados de calibración sin firma y sello no son válidos.

This calibration certificate may not be reproduced other than in full except with the authorization of the issuing laboratory. Calibration certificates without signature and seal are not valid.

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad al Sistema Internacional de Unidades (SI) a través de un instituto de metrología, nacional o internacional (INM, NIST, PTB, etc.)

This calibration certificate documents the traceability to the International System of Units (SI) through a National or International Metrology Institute (INM, NIST, PTB, etc).

Los factores de conversión a el Sistema Internacional de Unidades, son tomados del documento Nist Special Publication 811, 2008

The International System of Units conversion factors are taken from the document Nist Special Publication 811, 2008

El usuario es responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.

The user is responsible of, the calibration of his instruments to appropriate intervals.

Los resultados del presente certificado se refieren al dispositivo relacionado, en el momento y a las condiciones en que se realizaron las mediciones. Compañía Nacional de Metrología no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado del instrumento.

The results of this report refer to related dispositive in the moment and conditions in which the measurements were made. Compañía Nacional de Metrología assumes no responsibility for damage ensuing this instrument.

Final del Certificado

La medida su mejor aliado

Carrera 68C No 68A - 20, Bogotá, Colombia.

PBX 7450499, Web www.conamet.com.co, email: metrologia@conamet.com

Página 5 de 5

BIBLIOGRAFÍA

- [1] POVEDA RAMOS, Gabriel. *La minería colonial y republicana*. 2018. <http://www.banrepcultural.org/biblioteca-virtual/credencial-historia/numero-151/la-mineria-colonial-y-republicana>
- [2] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente PNUMA – Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible MADS. *Sinopsis Nacional de la Minería Aurífera Artesanal y a Pequeña Escala*. Bogotá D.C. Colombia. 2012. http://www.minambiente.gov.co/images/AsuntosambientalesySectorialyUrbana/pdf/mercurio/Sinopsis_Nacional_de_la_ASGM.pdf
- [3] World Gold Council. *About Gold*. 2018. <https://www.gold.org/about-gold>
- [4] Ministerio de Minas y Energía Estratégico Sectorial Para la Eliminación del Uso de Mercurio. *Ruta Hacia un Beneficio Sostenible del Oro*. Bogotá, Colombia. <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/0/PES+Eliminaci%C3%B3n+Mercurio+%281%29.pdf/e2774fb2-e2a3-4229-8103-2183e5a71e18>
- [5] International Cyanide Management Code For The Gold Mining Industry. 2018. <https://www.cyanidecode.org/about-cyanide-code/cyanide-code>
- [6] ARTIGA-PURCEL, Alejandro; GREZ, Felipe. *Emisiones de Mercurio de la Mega Minería de Oro a Cielo Abierto en América Latina. Los Casos de Dayton Oro en Andacollo y La Coipa en Copiapó – Chile. Observatorio Latinoamericano de Conflictos Ambientales*. Chile. 2012. 17 p.
- [7] CASTILLO RODRIGUEZ, Francisco. *Biotecnología Ambiental*. Madrid, España. Editorial Tebar. 2005. 221-225 p.
- [8] ENGSTROM, D. *Fish Respond When the Mercury Rises*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007. 104, no. 42. 16394-16395 p.
- [9] GOCHFELD, M. *Cases of Mercury Exposure, Bioavailability, and Absortion*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2003. No 56. 174-179 p.
- [10] Ministerio de Minas y Energía. *Plan Estratégico Sectorial Para la Eliminación del Uso de Mercurio. Ruta Hacia un Beneficio Sostenible del Oro*. Bogotá, Colombia. 2016. <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/0/PES+Eliminaci%C3%B3n+Mercurio+%281%29.pdf/e2774fb2-e2a3-4229-8103-2183e5a71e18>
- [11] MOHAMMED, E.; MOHAMMED, T.; MOHAMMED, A. *Optimization of Instrument Condition for the Analysis of Mercury, Arsenic, Antimony and Selenium by Atomic Absorption Spectroscopy*. 2018 MethodsX, no 5, 824-833 p.

BIBLIOGRAFÍA

- [12] D'ULIVO, Alessandro. *Atomic Absorption Spectrometry. Vapor Generation*. 3 ed. Italia. Encyclopedia of Analytical Science. 2018
- [13] LEOPOLD, K.; FOULKES, M.; WORSFOLD, P. *Methods for Determination and Speciation of Mercury in Natural Waters – A Review*. Analytica Chimica Acta. 2010. No 663, 127-138 p.
- [14] EPA United States Environmental Protection Agency. *SW-846 Test Method 7471B: Mercury in Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)*. United States. 2007.
- [15] ISO/IEC 17025:2005. *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*. ISO, Geneva. 2005
- [16] ISO 11843-1. *Capability of Detection. Part 1: Terms and Definitions*. ISO, Genève. 1997.
- [17] MILLER, J.C.; MILLER, J.N. *Estadística para Química Analítica*. 2 ed. EE.UU. Addison-Wesley Iberoamerican S.A. 1993. 88-100 p.
- [18] Eurachem. *Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados*. 1 ed. España. 2016.
- [19] IDEAM. *Estandarización de Métodos Analíticos*. 2 ed. Colombia. 2006.
- [20] Ministerio de Minas y Energía de Colombia; Universidad de Córdoba. *Estudio de la Cadena de Mercurio en Colombia con Énfasis en la Actividad Minera de Oro*. Vol. 2. Colombia. 2014
- [21] Eurachem. *Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas*. 1 ed. España. 2012.
- [22] HARRIS, D. C. *Análisis Químico Cuantitativo*. 3ª ed, España, 2013. 37 – 38 p.
- [23] RÍO SEGADE, S.; TYSON, J. F. *Determination of Inorganic Mercury and Total Mercury in Biological and Environmental Samples by Flow-Injection Cold Vapor-Atomic Absorption Spectrometry Using Sodium Borohydride as the Sole Reducing Agent*. Spectrochimica Acta Part B. 2003. No 53, 797-807 p.
- [24] Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. *Resolución Número 2125*. Colombia. 2007.
- [25] Soporte de Minitab 18. *Explicación de la Prueba de Varianzas Iguales*. 2019. <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/supporting-topics/basics/understanding-test-for-equal-variances/>

BIBLIOGRAFÍA

[26] Statistics Leard. *Sphericity*. 2019. <https://statistics.laerd.com/statistical-guides/sphericity-statistical-guide.php>

[27] InterCinD. *Results of the InterCinD 2017SE (Year 2017) QA/QC Study*. 2017

[28] BOTERO ARBELÁEZ, M.; ARBELÁEZ SALAZAR, O.; MENDOZA VARGAS, J. *Método ANOVA Utilizado Para Realizar el Estudio de Repetibilidad y Reproducibilidad Dentro del Control de Calidad de un Sistema de Medición*. Scientia et Technia Año XIII. 2007. No 37.