

IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA EPA PARA LA DETERMINACIÓN DE ALGUNOS METALES PESADOS EN RESIDUOS PELIGROSOS DE CORTES DE PERFORACION EN EL MUNICIPIO DE PUERTO GAITAN META, POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN EL LABORATORIO CHEMILAB SAS.

IVAN GILBERTO ARAGON AGREDO



**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2014**

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA EPA PARA LA
DETERMINACIÓN DE ALGUNOS METALES PESADOS EN RESIDUOS
PELIGROSOS DE CORTES DE PERFORACION EN EL MUNICIPIO DE PUERTO
GAITAN META, POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN EL
LABORATORIO CHEMILAB SAS.**

**Proyecto de trabajo de grado en modalidad de pasantía
Requisito parcial para optar el título de Químico**

IVAN GILBERTO ARAGON AGREDO

DIRECTOR

**M. Sc. ISABEL BRAVO REALPE
GRUPO DE INVESTIGACION EN AGROQUÍMICA**

CODIRECTOR

**M. Sc. ELIANA VALENCIA
GERENTE GENERAL CHEMILAB S.A.S.**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2014**

Nota de Aceptación

Director
M.Sc. ISABEL BRAVO REALPE

Co. Director
M.Sc. ELIANA VALENCIA

Jurado
M.Sc. Edier Humberto Vidal

Jurado
M.Sc. Diego Zuluaga

Popayán, 27 de Enero de 2014

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por mostrarme el camino, por ser mi guía y enseñarme que hay una oportunidad para levantarse después de caer, obtener con el tiempo el conocimiento, sabiduría y esfuerzo para culminar esta meta.

A mis padres por ser un pilar en mi vida, por aconsejarme, quienes con su amor, esfuerzo y devoción fueron los principales gestores de mi triunfo.

A mi madre, por ser la madre más buena del mundo, por su apoyo incondicional, por sus sacrificios y lucha, por darme amor y confiar en mí desde el principio de mi existencia.

A mi hija Rachel Daniela y su mamá Martha lucia por su cariño y comprensión, por su apoyo en todo momento, por compartir conmigo los momentos más agradables de mi existencia por llenar mi vida de amor y felicidad

A mis hermanos, quienes han sido mis amigos incondicionales, un gran apoyo los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A mi directora: M.Sc. Isabel Bravo Realpe, a quien le agradezco la orientación y el tiempo dedicado en la preparación de este trabajo, por brindarme su sabiduría, consejos y recomendaciones, por sus valiosas enseñanzas durante mi proceso de formación personal y profesional.

A la Doctora M.Sc. Eliana Valencia por creer en mí, darme la confianza y brindarme la oportunidad de aplicar mis conocimientos en beneficio de la empresa.

A los Jurados por su recepción y colaboración en el mismo.

A mis profesores, por compartir y transmitir sus conocimientos, por guiarme en el camino correcto durante mi formación académica y profesional.

Al personal del laboratorio Chemilab por brindarme su ayuda y colaboración a la hora de llevar a cabo el proyecto bajo la Norma Técnica Colombiana 17025.

A mis compañeros de Agroquímica: Marcela Martínez, Cristian Samboni Camilo Arboleda, por brindarme su colaboración desinteresada y no escatimar su tiempo cada vez que la necesitaba.

A la Universidad del Cauca y al Departamento de Química, por permitirme crecer académicamente utilizando todos los recursos y llegar a ser un profesional en las Ciencias Químicas.

A mi familia por su compañía, afecto y consejo.

Finalmente quiero agradecer a todas y cada una de las personas que de una u otra manera fueron partícipes y me brindaron su colaboración desinteresadamente en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

1.	RESUMEN	13
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
3.	OBJETIVOS	15
3.1	OBJETIVOS GENERALES	15
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
4.	FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	16
4.1	NORMA INTERNACIONAL ISO/IEC 17025	16
4.2	ACREDITACIÓN	16
4.3	PROCESO DE VALIDACIÓN	16
4.4	FIGURAS IMPORTANTES DE MÉRITOS ANALÍTICOS	17
4.4.1	Exactitud.	17
4.4.2	Precisión.	17
4.4.3	Límite de detección (LOD).	18
4.4.4	Límite de cuantificación (LOQ).	18
4.4.5	Límite de detección instrumental (LDI).	19
4.4.6	Linealidad	19
4.4.7	Sensibilidad.	19
4.4.8	Repetibilidad	19
4.4.9	Precisión Intermedia.	20
4.4.10	Incertidumbre.	20
4.4.11	Cálculo de la Incertidumbre teniendo en cuenta las Fuentes Globales	232
4.5	DETERMINACIÓN DE METALES POR EAA	244
4.5.1	Espectroscopia de Absorción Atómica de llama	25
4.5.2	Espectroscopia de Absorción Atómica de Vapor frio	25
4.5.3	Espectroscopia de Absorción Atómica de Generador de Hidruros	25

4.6	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y DE TOXICIDAD DE LOS METALES	276
4.6.1	Plomo determinado por EAA de llama AA	277
4.6.2	Bario determinado por EAA de llama OA	277
4.6.3	Mercurio determinado por EAA de Vapor Frio	28
4.6.4	Arsénico determinado por EAA de Generador de Hidruros	29
5.	METODOLOGÍA	30
5.1	PREVALIDACIÓN	30
5.2	EQUIPOS Y REACTIVOS	31
5.3	VALIDACIÓN	31
5.3.1	Lavado del material.	31
5.3.2	Metodología de calibración de material usado en la validación	31
5.3.3	Implementación de metodologías en la determinación de metales	32
5.3.4	Validación de la metodología en Residuos	33
5.3.5	Preparación de las muestras	33
5.3.6	Aplicación del método 1311 de la EPA US SW-846 (TCLP)	33
5.3.7	Digestión de las muestras para el análisis por EAA	37
5.3.8	Adición o dopaje de las muestras	38
5.3.9	Análisis de muestras por EAA	39
5.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	40
6.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	40
6.1	IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN	40
6.1.1	Linealidad instrumental	41
6.1.2	Precisión instrumental	49
6.1.3	Limites críticos	51
6.2	VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA	54
6.2.1	Validación para las muestras de residuos	57

6.2.2	Estimación de la incertidumbre en la determinación de metales en residuos mediante la metodología de fuentes globales	60
6.3	Resumen de las metodologías validadas	64
7.	CONCLUSIONES	65
8.	BIBLIOGRAFIA	67
	ANEXOS	70

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Codificación de la muestras de Residuos	39
Tabla 2. Parametros de trabajo para la determinación de metales por EAA.	41
Tabla 3. Linealidad instrumental	42
Tabla 4. ANOVA en función de la Linealidad para la Absorbancia	43
Tabla 5. Evaluación de la linealidad instrumental	45
Tabla 6. Correlación de Pearson para evaluar linealidad de curvas.....	46
Tabla 7. Test de regresión lineal para evaluación estadística de la m y del b	47
Tabla 8. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración.....	47
Tabla 9. Prueba de Tukey en función de los niveles de concentración	48
Tabla 10. Curvas de calibración en condiciones de repetibilidad.....	49
Tabla 11. Curvas de calibración en condiciones de precisión intermedia	50
Tabla 12. Precisión instrumental en condiciones de repetibilidad y precisión Intermedia.....	51
Tabla 13. Cálculo de limite de detección LOD y el limite de cuantificación LOQ...53	
Tabla 14. Resultado en la determinación experimental del LOQ.....	54
Tabla 15. Exactitud y precisión del método	55
Tabla 16. Prueba de Levene (Homogenidad de varianzas) en función de los niveles de concentración.....	56
Tabla 17. ANOVA para los % de recuperación	57
Tabla 18. % Recuperación globales e intervalos de confuanza.....	57
Tabla 19. Resultados de análisis de residuos líquidos	58
Tabla 20. Resultados de análisis de residuos sólidos	59
Tabla 21. Incertidumbre del método para residuos líquidos	60
Tabla 22. Incertidumbre del método para residuos sólidos.....	62
Tabla 23. Reporte de resultados del método según la incertidumbre.....	64

Lista de figuras

Figura 1. Equipo Agitador Rotatorio EPA US.....	36
Figura 2. Curvas de calibración bajo condiciones de Linealidad	44
Figura 3. Curvas de calibración para la determinación de limites criticos.....	52
Figura 4. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre para residuos líquidos..	61
Figura 5. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre para residuos sólidos...	63

ACRÓNIMOS

AA: Aire – Acetileno

b: Intercepto de la curva en el eje Y

CV: Coeficiente de variación

EAA: Espectroscopia de Absorción atómica

EPA: Environmental Protection Agency

FOR: Formato

GH: Generador de Hidruros

gl: Grados de libertad

Ha: Hipótesis alternativa

Ho: Hipótesis nula

IUPAC: Union International Pure Appliquéd Chemistry

IT: Instructivo técnico

LOD: Límite de Detección

LOQ: Límite de Cuantificación

m: Pendiente de la curva

OA: Óxido nitroso – Acetileno

PER: Procedimiento de ensayo de Residuos

PGC: Proceso de gestión de calidad

r: Coeficiente de correlación

R²: Coeficiente de regresión

S: Desviación estándar

Sig: Significancia p

SM: Standard methods

TCLP: Toxicity Characteristic leaching Procedure

VP: Vapor Frio

1. RESUMEN

Se implementó y validó el método 1311 (TCLP) de la Norma EPA SW-846 para la evaluación de la concentración de metales como: Arsénico, Bario, Mercurio y Plomo en lixiviados de residuos de cortes generados por la industria petrolera en los procesos de perforación, teniendo en cuenta los niveles permitidos por la misma norma. Los procesos de perforación en la industria petrolera generan residuos con altos contenidos de metales, los cuales deben ser sometidos a tratamientos antes de su disposición final, el método 1311 (TCLP) de la EPA SW 846 permite determinar si el residuo es peligroso en base a la concentración de metales lixiviados, por lo tanto el laboratorio aplicó el método TCLP bajo la norma técnica colombiana NTC 17025 y los estándares de calidad referidos por el mismo laboratorio (ChemiLab S.A.S) en convenio con la Universidad del Cauca, analizando las mejores condiciones para el desarrollo experimental del procedimiento y la validación instrumental bajo la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica EAA, utilizando diferentes técnicas del mismo sistema instrumental como: la generación de un hidruro metálico para el análisis de Arsénico, el procedimiento por llama con acetileno y óxido nitroso para Bario, la generación de un vapor frío de mercurio y el proceso simple por llama aire-acetileno para la determinación de plomo, analizando matrices semisólidas de residuos ya que en general vienen de esta forma. En base a esto se realiza una separación de las fases del residuo y su análisis por separado, reportando los resultados obtenidos en las muestras y teniendo en cuenta figuras de mérito y criterios de confianza de los métodos analíticos, como: la linealidad precisión, exactitud, límite de detección, sensibilidad, incertidumbre, porcentaje de recuperación del método y los tipos de incertidumbres que se presentan en el análisis de las muestras, también se aplicó un análisis estadístico con el programa SPSS 11,2 el cual nos permite concluir si la técnica tiene diferencias significativas en el proceso por días para el análisis de precisión intermedia y con los resultados el mismo día para un análisis de repetitividad de las metodologías desarrolladas, de esta forma se contribuye en el proceso de ampliación, acreditación y alcance del laboratorio CHEMILAB S.A.S. frente al IDEAM.

La metodología implementada es una simulación extrema de lo que sucede en los depósitos de residuos o rellenos sanitarios, donde por percolación de las aguas lluvias y degradación de la materia orgánica se genera un lixiviado acuoso de pH ácido por la presencia de ácido acético, que arrastra todo tipo de contaminante soluble bajo un pH inferior a 7, por ejemplo los metales pesados ya lixiviados y solubles pasan a los suelos donde son absorbidos contaminando gran parte del área o puede ocurrir su filtración hacia los acuíferos contaminando grandes áreas de agua subterránea, que afectan su posterior uso.

Las metodologías TCLP implementada está basada en la norma internacional de la EPA SW-846, metodologías de digestión y determinación de metales por E.A.A.

teniendo como referencia el “Standard methods for the examination of water and wastewater” validando la técnica con patrones de referencia para los metales.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los metales están presentes en los ecosistemas debido a procesos naturales, principalmente como constituyentes de los minerales y los suelos¹, acciones antropogénicas como la dispersión de partículas en el aire por las emisiones industriales, el uso de fertilizantes y principalmente los residuos del proceso de perforación utilizados en la industria del petróleo, están introduciendo cada vez más al suelo y al agua subterránea metales pesados, que pueden llegar a saturar su capacidad de amortiguación y pasar mediante solubilización, lixiviación y escorrentía a los diferentes cuerpos de agua, generando contaminación a las diferentes fases ambientales.² Las empresas del sector hidrocarburo, conscientes de la gran responsabilidad medioambiental, deben cumplir con la normatividad nacional vigente (Decreto 4741 del 30 Diciembre 2005),³ por lo que requieren servicios de laboratorios ambientales que realicen análisis de manera confiable.

Por esta razón, en Colombia es determinante la necesidad de demostrar competencia técnica por parte de los laboratorios de calidad ambiental, a través de sistemas de acreditación con el IDEAM, bajo la norma ISO/IEC 17025. Se requiere la confirmación de la competencia analítica de todos los métodos implementados aun cuando estén normalizados (Standard Methods y EPA), siendo requisito para garantizar la confiabilidad de los resultados que permitan asegurar el cumplimiento de la normatividad cada vez más rigurosa, especialmente en residuos. Los parámetros aceptados en Colombia se reglamentan parcialmente en la resolución 0062 del IDEAM⁴ y la normatividad referida por la EPA⁵, se está iniciando el proceso por lo cual los usuarios se ven en la necesidad de comparar los resultados obtenidos en la determinación de metales pesados con normas internacionales como el “Protocolo de Louisiana, título 43, parte XIX”.⁶

Conscientes de la importancia de la calidad en los procesos analíticos, el laboratorio de calidad ambiental ChemiLab S.A.S. cuenta con un sistema de calidad regido bajo los lineamientos de la norma ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales de Competencia de Laboratorios de Ensayo y calibración”⁷; el cual le permite lograr su acreditación por el IDEAM para producir información cuantitativa y química para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes. El laboratorio ChemiLab S.A.S. en convenio con la Universidad del Cauca, pone a disposición todos los recursos técnicos, humanos y económicos para adelantar la ampliación y el alcance de la acreditación en la determinación de metales en lixiviados de residuos de cortes de perforación, bajo el método 1311 TCLP de la EPA SW846.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Implementar y validar el método 1311 (TCLP) de la EPA SW-846 para la determinación de Plomo, Bario, Mercurio y Arsénico en residuos provenientes de cortes de perforación en pozos petroleros del municipio de Puerto Gaitán Meta, utilizando la técnica analítica de Espectroscopia de Absorción Atómica y considerando el sistema de gestión de Calidad del Laboratorio Chemilab

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Implementar la metodología 1311 de la EPA y la determinación analítica por EAA, para la cuantificación de Plomo, Bario, Mercurio y Arsénico en residuos de cortes de perforación
- Validar la metodología 1311 de cada metal bajo los parámetros de calidad: exactitud, precisión límites de detección y de cuantificación, sensibilidad e intervalo lineal.
- Implementar los procesos de digestión establecidos por el “Standard methods” a los lixiviados de residuos,
- Elaborar los procedimientos de muestreo para residuos según la resolución 0062 del IDEAM, para un muestreo representativo de la población.
- Elaborar la documentación pertinente para la validación de la metodología en el marco del sistema de gestión de calidad del laboratorio.

4. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

4.1 NORMA INTERNACIONAL ISO/IEC 17025

El Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, **ICONTEC** es el organismo nacional de normalización, según el Decreto 2269 de 1993. El **ICONTEC** tiene como misión fundamental brindar soporte y desarrollo al productor y protección al consumidor. Colabora con el sector gubernamental y apoya al sector privado del país, para lograr ventajas competitivas en los mercados interno y externo.

La norma internacional ISO/IEC 17025 fue ratificada por el Consejo Directivo en 2005-10-26. Esta norma establece los requisitos generales para la competencia de laboratorios en la realización de ensayos, muestreos y/o calibraciones, que al cumplirlos se debe demostrar que funcionan con un sistema de calidad, que son técnicamente competentes y que están capacitados para generar resultados válidos. Esta norma proporciona herramientas y la estructura para que el laboratorio pueda generar resultados confiables a sus usuarios mejorando su competitividad y productividad, es empleada en los laboratorios cuando desarrollan sistemas de gestión de calidad para sus actividades administrativas y técnicas. También puede ser utilizada por usuarios del laboratorio, las autoridades reglamentarias y los organismos de acreditación cuando confirman y reconocen la competencia de los laboratorios.⁸

4.2 ACREDITACIÓN

La acreditación es la norma establecida a escala internacional para generar confianza sobre la actuación de un tipo de organizaciones, que se denominan de manera general Organismos de Evaluación de la Conformidad y que abarca a los Laboratorios de ensayo, Laboratorios de Calibración, Entidades de Inspección, Entidades de certificación y Verificadores Ambientales⁸. El proceso de acreditación de un laboratorio ante una organización como el IDEAM proporciona reconocimiento y mayor confianza a los servicios ofrecidos, garantizando la adopción de un sistema de gestión de calidad a todos sus procesos organizativos y además asegura su competencia técnica dando peso a los resultados emitidos por el laboratorio.

4.3 PROCESO DE VALIDACIÓN

La validación es la obtención de evidencia objetiva de un proceso por medio del cual se puede concluir de que se cumplen requisitos parciales para ejecutar dicho proceso, puede incluir procedimientos de muestreo, manejo y transporte de muestras.^{9, 10}

La norma internacional ISO/IEC 17025 no establece el requerimiento de la validación de métodos normalizados aplicados en un laboratorio específico, pero sí establece la obtención de datos sobre el rendimiento de su propio uso, es decir que siempre resulta apropiado contar con ensayos de confirmación, incluso cuando se utilicen métodos normalizados¹.

Los métodos normalizados se pueden aplicar directamente obteniéndose resultados similares a los publicados en el método, pero es común que varíen los resultados esperados debido a condiciones particulares del laboratorio como los reactivos, el equipo, el analista y las condiciones ambientales, por tal motivo, se deben practicar las metodologías propuestas para verificar que su funcionamiento sea competitivamente aceptable y que el laboratorio tenga la envergadura requerida para cumplir el propósito requerido. El laboratorio ChemiLab tiene PGC de validación de metodologías analíticas, que permiten establecer el grado de validación requerido de acuerdo con los servicios ofrecidos, con las políticas de calidad, con la naturaleza de los cambios realizados a un método validado o con las metas de calidad que se haya trazado como parte de los procesos de mejoramiento continuo del sistema de calidad, adicionalmente cuenta con un procedimiento de estimación de Incertidumbre con base en fuentes globales¹.

4.4 FIGURAS IMPORTANTES DE MÉRITOS ANALÍTICOS^{11,12,13}

Durante el proceso de validación se obtiene evidencia la cual puede ser tratada estadísticamente para arrojar resultados o figuras de mérito analítico, que permiten concluir la funcionalidad de la técnica aplicada. A continuación se citan dichos parámetros.

4.4.1 Exactitud. Es la proximidad entre el resultado de una medición y la media de un conjunto de datos y se expresa en términos de porcentaje de error o porcentaje de recuperación. Se puede medir a partir de la comparación de los valores obtenidos por medio de las metodologías disponibles, respecto a los emitidos por la empresa proveedora de las soluciones, o por medio del porcentaje de recuperación o de error (Ecuación 1).

$$\% \text{ Recuperacion} = \frac{\text{resultado obtenido}}{\text{resultado esperado}} \times 100 \qquad \text{Ecuación 1}$$

4.4.2 Precisión. Es la medida del grado de la repetibilidad o correlación de los resultados obtenidos mediante un método analítico. Se puede medir por el grado de reproducibilidad (precisión intermedia) o de repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación. Los parámetros de calidad de la precisión son: *La desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV²).*

La desviación estándar, “S”, expresa la desviación de los valores con respecto a al valor medio (Ecuación 2). Por otra parte, el coeficiente de variación “CV”, proporciona una interpretación porcentual del grado de variabilidad de la desviación estándar (Ecuación 3).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde \bar{X} , es el valor medio obtenido de una serie de datos; X_i es el valor individual obtenido para cada una de las diferentes determinaciones y n es el número de determinaciones o repeticiones.

4.4.3 Límite de detección (LOD). El límite de detección se define como la menor concentración de un elemento en la solución que se puede detectar con un 95% de certeza, por lo tanto, la concentración que produce una desviación igual a 3, veces la desviación estándar de un conjunto de lecturas se puede definir como el límite de detección. Históricamente se ha definido como la concentración de un analito que produce la desviación de la línea base de un registrador gráfico que es igual al doble del pico de la línea base. Este parámetro es una cifra teórica y no debería tratar de medirse rutinariamente, lo común es medir mínimo 10 veces por encima de dicho límite, por ejemplo el límite de detección de Pb es de 0,01 ppm por absorción atómica de llama, el valor confiable que se podría medir de dicho metal es de 0,1 ppm¹⁴. También es definido como se menciona en la (Ecuación 4)

$$LOD = \frac{3 S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde S_b es la desviación estándar promedio de los interceptos de las curvas realizadas y $m_{promedio}$ es el promedio de las pendientes de las curvas de calibración realizadas.

4.4.4 Límite de cuantificación (LOQ). Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método. Se ha sugerido el valor calculado mediante la ecuación 5.

$$LOQ = \frac{10 S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde S_b es la desviación estándar promedio de los interceptos de las curvas realizadas y $m_{promedio}$ es el promedio de las pendientes de las curvas de calibración realizadas.

4.4.5 Límite de detección instrumental (LDI). Es la concentración de analito que produce una señal superior a 5 veces la relación señal/ruido del instrumento. Se ha establecido en 1,645 veces el valor de la desviación estándar de los análisis de los blancos como se indica en la ecuación 6.¹²

$$LDI = 1,645x S_{blanco} \quad \text{Ecuación 6}$$

4.4.6 Linealidad. Es el grado de proporcionalidad directa entre un par de variables de un método analítico. Generalmente se reporta como la variación de la pendiente de la línea de regresión.

Para medirse se realiza una “curva de calibración” con la cual se establece la proporcionalidad existente entre la concentración y la respuesta del método analítico, calculada por el método de ajuste mínimos cuadrados según la ecuación 7.

$$y = mx + b \quad \text{Ecuación 7}$$

Dónde: x , es la concentración del analito; m es la pendiente de la recta; y es la respuesta del método y b es el intercepto con el eje y . Los términos m y b , pueden ser calculados a través de las siguientes ecuaciones (Ecuaciones 8 y 9)

$$m = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \quad \text{Ecuación 8}$$

$$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde n es el número de soluciones patrón. Se calcula además el coeficiente de regresión (r^2) el cual refleja el grado de ajuste de los puntos a la recta, y el coeficiente de correlación o proporcionalidad (r), que demuestra la relación entre las variables.

4.4.7 Sensibilidad. Es la medida de la capacidad del instrumento para detectar pequeñas variaciones en la concentración de un analito, según la IUPAC, la sensibilidad se define como la pendiente de la curva de calibrado, a mayor pendiente mayor sensibilidad.^{11, 12}

4.4.8 Repetibilidad. Resultados obtenidos bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, con los mismos equipos y con la misma muestra homogénea.¹¹

4.4.9 Precisión Intermedia. Resultados obtenidos dentro del laboratorio por el mismo analista, con los mismos equipos, en un intervalo largo de tiempo (días distintos) y con la misma muestra homogénea. ^{11, 12}

4.4.10 Incertidumbre. La palabra “incertidumbre” significa duda, y por lo tanto, en un sentido más amplio “incertidumbre de medición” significa duda en la validez del resultado de una medición. La incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores, que en forma razonable se le podría atribuir a una magnitud por medir. ¹⁵

- **Incertidumbre Tipo A:** Componentes que pueden ser evaluados a partir de distribuciones estadísticas de series de resultados que pueden caracterizarse por desviación estándar.
- **Incertidumbre Tipo B:** Pueden caracterizarse también por desviaciones estándar, pero se evalúan a partir de distribuciones de probabilidades supuestas, basadas en la experiencia o en otro tipo de información.
- **Trazabilidad:** Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón, por la cual pueda ser relacionado a referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones, teniendo todas incertidumbres determinadas.
- **Incertidumbre Estándar:** Incertidumbre del resultado de una medición expresada como una desviación estándar.
- **Incertidumbre Estándar Combinada:** Es la incertidumbre estándar del resultado de una medición, cuando el resultado se obtiene a partir de los valores de algunas otras magnitudes, igual a la raíz cuadrada positiva de la suma términos; varianzas y covarianzas de estas otras magnitudes ponderadas.
- **Incertidumbre expandida:** Cantidad que define un intervalo alrededor de una medición del que se puede esperar que abarque una fracción grande de la distribución de valores que razonablemente pudieran ser atribuidos al mesurando.
- **Calibración:** Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones.

Pasos a seguir en el proceso de evaluación de la incertidumbre.^{15, 16}

Se debe expresar matemáticamente la relación entre la magnitud Y y magnitudes de entrada X_i .

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

Ecuación 10

Determinar el valor (X_i) de cada una de las magnitudes de entrada (X_i) mencionados anteriormente.

Evaluar la incertidumbre estándar $U(X_i)$ con que fue determinado cada valor X_i e identificar fuentes de incertidumbre.

Existen dos (2) tipos de incertidumbre estándar:

- Evaluación de la incertidumbre estándar tipo A. Se denomina “incertidumbre estándar” (U_i), a la desviación estándar experimental del valor medio de una serie de mediciones $S(X_i)$.

$$U_i = \frac{S^*(X_i)}{\sqrt{n}}$$

Ecuación 11

Donde n = número de mediciones efectuados.

$$U_{A(X_i)} = \frac{s^*(X_i)}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} * \frac{\sum_{j=1}^n X_{ij}^2 - X_i^2}{n}}$$

Ecuación 12

Dónde:

X_{ij} = Es el valor de la magnitud X_i en la medición j.

\bar{X}_i = es el valor medio de los valores obtenidos para la magnitud X_i
j = 1 hasta n

- Evaluación de la incertidumbre tipo B. Cuando la incertidumbre no se obtiene a partir de valores obtenidos en una serie de mediciones si no de informaciones preexistentes de diversas índole, decimos entonces que se trata de una incertidumbre tipo B.

Caso 1: La incertidumbre asciende a la resolución de un instrumento de medida.

$$U_{B.RESOLUCION} = \frac{\text{Resolución}}{2 * \sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 13}$$

Caso 2: La especificación de incertidumbre de un elemento de medición se indica respecto de un nivel de confianza.

NC = m % γ_{ef} (grados de libertad) = n .: k = p

$$u_B = \frac{u_E}{k} \quad \text{Factor t student.} \quad \text{Ecuación 14}$$

Caso 3: La especificación de incertidumbre no es explícita si no que se da un límite máximo para el error del instrumento (+/- a).

$$u_B = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Se debe evaluar las covarianzas asociadas a todas las magnitudes que estén correlacionadas, calcular el valor de medición “y” de la magnitud “Y”, utilizando las estimaciones X_i , determinar la incertidumbre estándar compuesta $u_{c(y)}$ a partir de las incertidumbres estándar y de las covarianzas asociadas a las magnitudes de entrada, hallar el número efectivo de grados de libertad γ_{ef} y determinar mediante la fórmula de WELCH-SATTERTH WAITE:

$$\gamma_{Ef} = \frac{u_{c(y)}^4}{\sum_{i=1}^n \frac{u_{i(y)}^4}{\gamma_i}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

γ_i = Número efectivo de grados de libertad de cada contribución $u_{i(y)}$, cuyo valor se obtiene aplicando las siguientes reglas:

γ_i : n – 1 Para evaluaciones tipo A

γ_i = ∞ Cuando se apliquen distribuciones rectangulares.

γ_i = 50 si se deduce de una distribución normal.

Se debe entonces multiplicar la incertidumbre estándar compuesta $u_{c(y)}$ por el factor k de cobertura correspondiente al número efectivo de grados de libertad (γ_{ef}) y de nivel de confianza deseado.

4.4.11 Cálculo de la Incertidumbre teniendo en cuenta las Fuentes Globales de Incertidumbre.^{15, 16}

Se calcula con base en los resultados de evaluaciones de repetibilidad, reproducibilidad y Exactitud, de la siguiente forma:

Se debe calcular inicialmente el promedio de los resultados obtenidos tanto a concentraciones bajas de analito, como a altas concentraciones.

La ecuación a utilizar es:

$$x_{prom} = \frac{\sum xi}{n} \quad \text{Ecuación 17}$$

Se calcula la desviación estándar de los resultados obtenidos, así:

$$s = \sqrt{\sum (xi - x_{prom})^2 / (n - 1)} \quad \text{Ecuación 18}$$

Posteriormente se calcula la desviación estándar relativa de cada grupo de datos:

$$RSD = \frac{s}{x_{prom}} \quad \text{Ecuación 19}$$

Se calcula la Desviación Estándar Relativa del total de datos. RSDt.

$$RSDt = \sqrt{\frac{(((\frac{s_1}{x_{p1}})^2) x(n-1)) + ((\frac{s_2}{x_{p2}})^2) x(n-1))}{(n-1)_1 + (n-1)_2}} \quad \text{Ecuación 20}$$

Adicionalmente se calcula la recuperación de los patrones con base en la ecuación:

$$\% \text{ Recuperacion } (\% R) = \frac{(\text{Concentracion Obtenida Experimental})}{(\text{Concentracion Real Preparada})} \times 100 \quad \text{Ecuación 21}$$

Se calcula el promedio de los recuperados, así:

$$R_p = \frac{\sum Ri}{n} \quad \text{Ecuación 22}$$

La desviación estándar de los recuperados SRp:

$$s_{Rp} = \sqrt{\sum (Ri - R_{prom})^2 / (n - 1)} \quad \text{Ecuación 23}$$

También se debe calcular la incertidumbre en la recuperación promedio, mediante la siguiente ecuación:

$$u_{Rp} = \frac{s_{Rp}}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 24}$$

Se evalúa si el factor de recobro es significativamente diferente de 1 para un nivel de significancia (α) del 5% y un nivel de confianza del 95%, para (n-1) grados de libertad. Es decir para ver si hay diferencia estadísticamente significativa entre el valor obtenido de recuperación y 1.

Se establece la H_0 (hipótesis nula). El factor de recobro es significativamente diferente de 1.

Se calcula el t experimental $|t_{exp}|$ y se compara con el t crítico $|t_{crit}|$

Si el $|t_{exp}| > |t_{crit}|$ se rechaza la H_0 .

Si el $|t_{exp}| < |t_{crit}|$ se acepta la H_0 .

La incertidumbre se calcula así:

- Incertidumbre combinada total (U_c total)

$$u_{ctotal} = \sqrt{\left(\left(\frac{u_{Rp}}{R_p}\right)^2 + RSDt^2\right)} \quad \text{Ecuación 25}$$

Incertidumbre expandida del método (U exp mét) (\pm)

$$u_{exp\ met} = 2 \times u_{ctotal} \quad \text{Ecuación 26}$$

La incertidumbre expandida en la medición u (\pm) se expresa:

$$u = \bar{r}[\] \times u_{exp\ met} \quad \text{Ecuación 27}$$

4.5 DETERMINACIÓN DE METALES POR EAA

Como su nombre lo indica, la espectroscopia de absorción atómica EAA es una técnica donde por un fenómeno fisicoquímico, los átomos de los metales absorben energía proveniente de la radiación ejercida por una lámpara fabricada con un cátodo del metal de interés, aplicando una longitud de onda específica para la absorción de cada metal en cuestión, siendo la cantidad total de absorción dependiente del número de átomos libres presentes y del grado en que los átomos libres puedan absorber la radiación.¹⁷

En la determinación cuantitativa de metales, se hace necesario lograr una disolución homogénea de los metales presentes en la matriz de estudio, como lo es en este caso matrices de residuos sólidos y líquidos, para posteriormente utilizar un método analítico de EAA adecuado para su determinación. La disolución total de metales se puede lograr aplicando un tratamiento a la matriz en medio ácido y calor o digestión.¹⁸ Los ácidos comúnmente usados en dicho proceso son el HNO₃, HCl, y el H₂SO₄, su mezcla o su uso con agentes oxidantes neutros como el peróxido de hidrogeno H₂O₂, persulfato de potasio K₂S₂O₈ y el permanganato de potasio KMnO₄, produce una oxidación y degradación total de la materia orgánica presente en las matrices sólidas y coloides presentes en las matrices líquidas. Las condiciones de digestión utilizadas para la degradación de las diversas matrices influyen en el grado de disolución de los metales presentes en la matriz. La digestión puede realizarse en un recipiente abierto o en un sistema a reflujo o en equipos de digestión que utilizan las ondas microondas, como fuente de energía para calentar la mezcla de ácidos y la muestra, dentro de un recipiente cerrado. Esta metodología permite lograr una digestión más eficiente de las muestras gracias a la combinación de presión alta y temperatura alta.¹⁹

4.5.1 La espectroscopia de absorción atómica por llama directa (EAA-LI), es una técnica analítica que permite la detección y la cuantificación de metales en solución, haciendo de esta técnica la indicada para determinar elementos alcalinos, alcalinotérreos y metales pesados como el plomo (Pb) y el Bario (Ba) presentes en cualquier tipo de muestra, la cual sea posible transformar a una matriz con los metales disponibles en solución, es decir estén en forma iónica.¹⁷ Los átomos de los metales son atomizados por la llama, los cuales en forma libre son capaces de absorber los haces de luz emitidos por la lámpara a determinada longitud onda y así poder cuantificar la concentración en la muestra.

4.5.2 La espectroscopia de absorción atómica por vapor frío (EAA-VF), es una técnica aplicable a la determinación de mercurio, ya que es el único elemento metálico de la tabla periódica con la característica especial de ser líquido a temperatura ambiente y tener una alta presión de vapor.²⁰ Existen numerosas formas químicas de mercurio, incluyendo vapores de mercurio elemental (Hg), cationes mercurioso (Hg (I)), mercuríco (Hg (II)) y compuestos de mercurio orgánico. Con este método todo el mercurio en forma iónica es reducido para formar vapor de mercurio elemental usando un reductor como el cloruro estañoso SnCl₂, bajo condiciones estándar de reacción. Los átomos de mercurio en vapor absorben la radiación de la lámpara de mercurio para su determinación por EAA- VF, donde el flujo del vapor de mercurio transportado por el gas a una celda dual situada a lo largo del paso óptico del espectrofotómetro, permite cuantificar por Absorción Atómica a 253.65nm de longitud de onda.

4.5.3 La espectroscopia de absorción atómica de generador de hidruros (EAA-GH), se utiliza para algunos elementos que son difíciles de volatilizar con una llama o un horno de grafito, para estos elementos se utiliza la técnica de espectroscopia de absorción atómica de generación de hidruros, formando el hidruro metálico del elemento correspondiente (As, Bi, Sb, Sn, Se y Te) o directamente vapores como en el caso del mercurio Hg.²¹ La generación de vapor aumenta la sensibilidad de la técnica de absorción atómica, especialmente en estos elementos que tienen importancia como contaminantes ambientales o en toxicología.²² Una vez formado el hidruro gaseoso utilizando el boro hidruro de sodio NaBH₄ como agente reductor, éste es separado de la solución y transportado por un gas portador hasta una celda de cuarzo, donde es calentado produciéndose la descomposición térmica (atomización): Como la celda está en el paso óptico de la radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco, se produce una absorción de la luz por parte de los átomos del analito que será proporcional a su concentración.

En general la espectroscopia de absorción atómica se fundamenta en la capacidad que tienen los elementos en su estado atómico basal, de absorber radiación electromagnética a longitudes de onda específicas para cada elemento. La cantidad de energía absorbida es directamente proporcional a la concentración de los átomos del metal analizado, de acuerdo con la Ley de Lambert-Beer;¹² los límites de detección logrados son del orden de mg-L⁻¹ (miligramo/Litro) para Plomo y Bario y de µg-L⁻¹ (microgramo/Litro) para Mercurio y Arsénico. En esta técnica, los metales disueltos son llevados a su forma atómica elemental mediante calentamiento por una llama generada en una mezcla de gases combustibles, por la generación de vapor frío y la atomización del hidruro metálico. Las mezclas más empleadas para la llama son: aire-acetileno (AA) para Plomo (Pb) y la atomización del hidruro metálico gaseoso de Arsénico y de óxido nitroso-acetileno (OA) para la determinación de Bario (Ba). Las temperaturas de la llama van de 1900 °C a 2800 °C. Los átomos en forma de nube gaseosa, son irradiados por un haz de luz de una longitud de onda específica, de acuerdo con el metal analizado; esto se logra mediante el empleo de lámparas que se componen del cátodo del metal de interés o con lámparas de descarga sin electrodo.¹⁴ Los átomos absorben una fracción de la radiación proveniente de la lámpara y la fracción restante es captada por un foto detector y un dispositivo transductor, que la convierten en una señal eléctrica, que posteriormente es registrada por un software. El valor de la señal obtenido es proporcional a la concentración de los átomos presentes en la nube de gases; de este modo es posible construir una curva de calibración analizando soluciones patrón de concentración conocida y midiendo la magnitud de la absorción de cada una de ellas, construyendo así una curva lineal que cumpla la ley de Lambert-Beer bajo un rango lineal de concentración versus la absorbancia y aplicar la regla de mínimos cuadrados para interpolar el valor de la absorbancia de la muestra y determinar la concentración del metal de interés.¹⁷

4.6 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y DE TOXICIDAD DE LOS METALES

Los metales analizados tienen unas características químicas que son perjudiciales toxicológicamente para el ser humano, su exposición a elevadas concentraciones, se debe a la contaminación de matrices ambientales debido a los residuos depositados en suelos, sin una previa caracterización toxicológica que permita establecer un tratamiento adecuado antes de su desecho.

4.6.1 Plomo determinado por EAA de llama AA.

Los minerales de plomo se encuentran en muchos lugares del mundo. El mineral más rico es la galena (sulfuro de plomo $Pb-S$) y constituye la fuente principal de producción comercial de este metal. Otros minerales de plomo son: la cerusita (carbonato $PbCO_3$), la anglesita (sulfato de plomo $PbSO_4$), la corcoita (cromato de plomo $PbCrO_4$), la wulfenita (molibdato $PbMO_4$), la piromorfita (fosfato $PbPO_3$), la mutlockita (cloruro $PbCl$) y la vanadinita (vanadato $PbVO_4$). En muchos casos, los minerales de plomo pueden contener otros metales tóxicos.²³

Las sales de plomo constituyen la base de muchas pinturas y pigmentos, el carbonato y el sulfato de plomo se utilizan como pigmentos blancos y los cromatos de plomo sirven para obtener amarillo, naranja, rojo y verde de cromo. El arseniato de plomo es un insecticida; el sulfato de plomo se utiliza en mezclas de caucho; el acetato de plomo tiene usos importantes en la industria química; el naftenato de plomo es un agente secante muy utilizado y el plomo tetraetilo se utiliza como agente antidetonante para la gasolina en aquellos países en que la legislación aún lo permite.²⁴

Los efectos biológicos del plomo son los mismos independientemente de que entre en el organismo por inhalación o ingestión. El plomo interfiere con la función celular normal y con varios procesos fisiológicos, el destino más sensible de intoxicación por plomo es el sistema nervioso, un estudio demuestra que el daño al sistema nervioso central (SNC), como consecuencia de la exposición al plomo produce una deficiencia continua en el desarrollo neurológico en niños. En adultos también presentan efectos sobre el SNC con niveles relativamente bajos de plomo en sangre, que se manifiestan en cambios de conducta sutiles, fatiga y problemas de concentración. Las lesiones del sistema nervioso periférico, en su mayoría motrices, se observan principalmente en los adultos. La neuropatía por plomo se considera una enfermedad que afecta las neuronas motrices del asta anterior de la médula espinal, con degeneración de las terminales axónicas que avanza hacia el cuerpo neuronal. La parálisis evidente, con caída de la muñeca, sólo se manifiesta como un signo tardío de la intoxicación por plomo.²⁵

4.6.2 Bario determinado por EAA de llama OA

El bario (Ba) es abundante en la naturaleza y representa aproximadamente el 0,04 % de la corteza terrestre. Sus principales fuentes son los minerales barita (sulfato de bario, $BaSO_4$) y witherita (carbonato de bario, $BaCO_3$) se encuentran a menudo en la naturaleza en forma de depósitos minerales subterráneos.²³ A veces el bario se

encuentra naturalmente en el agua potable y en alimentos. Debido a que algunos compuestos de bario (sulfato de bario y carbonato de bario) no se mezclan muy bien con agua, la cantidad de bario que se encuentra generalmente en el agua potable es baja. Otros compuestos de bario, por ejemplo el cloruro de bario, nitrato de bario e hidróxido de bario, se generan a partir del sulfato de bario. Los compuestos de bario como el acetato de bario, cloruro de bario, hidróxido de bario, nitrato de bario y sulfuro de bario se disuelven en agua más fácilmente que el sulfato de bario y el carbonato de bario, pero como no se encuentran comúnmente en la naturaleza, generalmente no terminan en el agua potable, a menos que el agua esté contaminada con compuestos de bario liberados desde sitios de desechos.

Los compuestos de Bario se encuentran en lubricantes, pesticidas, en la industria azucarera, en los anticorrosivos, en los líquidos de perforación y en los ablandadores de agua. También se utiliza en la fabricación de vidrio, la vulcanización del caucho sintético, el refinado de aceite animal y vegetal, en la fabricación de ladrillos, cerámica, pinturas y caucho, en la perforación de pozos petrolíferos y en la industria del papel, así como en la fabricación de esmaltes, sustitutos de mármol, cristales ópticos y electrodos. El cloruro de bario se utiliza como pesticida, se añade a las calderas para ablandar el agua y se emplea como agente de curtido y acabado para el cuero. El nitrato de bario ($\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$) se utiliza en pirotecnia y en electrónica.²⁴

Los compuestos solubles son sumamente tóxicos por vía oral, y la dosis letal de cloruro de Bario se ha establecido entre 0,8 y 0,9 g. Sin embargo, aunque de vez en cuando se observan intoxicaciones por ingestión de estos compuestos, se han descrito muy pocos casos de intoxicación industrial. La intoxicación puede producirse cuando los trabajadores están expuestos a determinadas concentraciones atmosféricas de polvo de los compuestos solubles, como puede ocurrir durante la molturación. Dichos compuestos ejercen una acción estimulante potente y prolongada sobre los músculos, aumentando la contractilidad de forma importante. En el corazón, las contracciones arrítmicas pueden derivar en fibrilación y existen indicios de una acción constrictora en las coronarias. Otros efectos son el aumento del peristaltismo intestinal, el espasmo vascular periférico, la contracción de la vejiga y un aumento en la tensión de los músculos voluntarios. Los compuestos de bario también tienen efectos irritantes sobre las membranas mucosas y los ojos.²⁵

4.6.3 Mercurio determinado por EAA de Vapor frío

El mercurio es un elemento químico que se encuentra en el aire, el agua y la tierra, la forma principal de mercurio en la naturaleza es el cinabrio (HgS), el que constituye la principal fuente de obtención de este metal. Otras formas minerales incluyen la corderoíta ($\text{Hg}_3\text{S}_2\text{Cl}_2$), la livingstonita (HgSb_4S_8), y formas supergénicas tales como el mercurio nativo (Hg^0), el calomelano (HgCl_2), y la schuetteíta ($\text{Hg}_3(\text{SO}_4)\text{O}_2$). Su origen puede ser natural, de actividades volcánicas, suelos o aguas, naturalmente ricos en minerales de mercurio o de emisiones humanas al aire, agua y suelo.²³

El mercurio en su forma inorgánica existe en la naturaleza en tres estados de oxidación Hg^0 (metálico), Hg^{1+} (mercurioso) y Hg^{2+} (mercúrico), los estados mercurioso y mercúrico pueden formar numerosos compuestos químicos tanto orgánicos como inorgánicos. Las formas orgánicas son aquellas en las que el mercurio está unido covalentemente al menos a un átomo de carbono. En su forma elemental, el mercurio es líquido a temperatura ambiente, y su elevada tensión de vapor (0.0012mmHg) hace que esté presente en todas partes una atmósfera saturada de mercurio, a 20°C contiene 15mg/m³ de mercurio.²⁴

También algunas formas de mercurio tales como los derivados de metil y etilmercurio tienen una elevada presión de vapor a temperatura ambiente, por ejemplo la del cloruro de metilmercurio es 0.0085mmHg y la del dimetilmercurio varias veces mayor. La solubilidad en agua difiere mucho de unos compuestos a otros y aumenta en el siguiente orden: cloruro mercurioso > mercurio elemental > cloruro de metilmercurio > cloruro mercúrico. Las constantes de distribución entre aire y agua de los distintos compuestos de mercurio son muy diferentes, siendo mayores las correspondientes a Hg^0 y $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$, 0.29 y 0.31 respectivamente, unos cuatro órdenes de magnitud superiores a las del resto de los compuestos, por lo que es mucho más probable encontrarlos en la atmósfera que al resto, exponiéndose a niveles altos de mercurio perjudicial para el cerebro, el corazón, los riñones, los pulmones y el sistema inmunológico de las personas de todas las edades.²⁵

4.6.4 Arsénico determinado por EAA de Generador de Hidruros

El arsénico inorgánico se halla en la naturaleza formando compuestos minerales, el principal mineral del arsénico es el FeAsS (arsenopirita, pilo); otros arseniuros metálicos son los minerales FeAs_2 (löllingita), NiAs (nicolita), CoAsS (cobalto brillante), NiAsS (gersdorffita) y CoAs_2 (esmalta). Los arseniatos y tioarseniato naturales son comunes y la mayor parte de los minerales de sulfuro contienen arsénico, la As_4S_4 (realgarita) y As_4S_6 (oropimente) son los minerales más importantes que contienen azufre, el óxido arsenolita, As_4O_6 , se encuentra como producto de la alteración debida a los agentes atmosféricos de otros minerales de arsénico.²³

El arsénico inorgánico pentavalente posee diversos usos industriales, por ejemplo: el ácido arsénico ($\text{H}_3\text{AsO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) se utiliza en la fabricación de arsenatos, de vidrio y en los procesos de tratamiento de la madera, el pentóxido de arsénico (As_2O_5) se utiliza como herbicida y conservante de la madera, así como en la fabricación de vidrio coloreado, el arseniato cálcico ($\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$) se emplea como insecticida; Estos compuestos se encuentra también como componente de pinturas, herbicidas y defoliantes, insecticidas, molusquicidas, fungicidas y otros productos, en forma de sulfuro se le encuentra entre otros en minerales de cobre, plomo, hierro, níquel y cobalto. La aplicación de calor para el refinado de cobre suele originar trióxido de arsénico, el cual al volatilizarse y ser arrastrado por los gases de la chimenea se transforma en un importante contaminante ambiental.²⁴

Los compuestos de arsénico, y en especial los inorgánicos, se consideran venenos muy potentes. La toxicidad aguda varía notablemente según el compuesto, dependiendo de su valencia y solubilidad en los medios biológicos. Los compuestos trivalentes solubles son los más tóxicos. La captación de compuestos de arsénico inorgánico en el tracto gastrointestinal es casi completa, aunque puede ser más lenta en las formas menos solubles, como el trióxido de arsénico en forma particulada. La captación tras la inhalación es también casi completa, ya que incluso el material menos soluble depositado sobre la mucosa respiratoria se transfiere al tracto gastrointestinal, donde se absorbe. Dependiendo de la dosis, se pueden presentar diversos síntomas y, si ésta es excesiva, puede resultar fatal. Se han observado síntomas de conjuntivitis, bronquitis, dermatitis y disnea, seguidos por molestias gastrointestinales y vómitos, y posteriormente, síntomas cardíacos y shock irreversible, con un curso temporal de horas. En un caso fatal, se describieron niveles de arsénico en sangre superiores a 3 mgL^{-1} .²⁵

5. METODOLOGÍA

5.1 PREVALIDACIÓN

Siguiendo los procesos establecidos en ChemiLab S.A.S., se inició con la etapa de pre-validación de la siguiente forma:

- ✓ Se realizó un inventario de equipos, reactivos necesarios para el proceso de validación (identificación, cantidad, calidad, pureza), del material de vidrio y demás, señalando las cantidades necesarias para lograr un procedimiento exitoso.
- ✓ Se definieron los intervalos de determinación de cada metal para cada método teniendo en cuenta: protocolos, normas establecidas, ensayos preliminares realizados en el laboratorio y rangos de concentración esperados en muestras de residuos líquidos y sólidos.
- ✓ Se verificó el correcto funcionamiento de los equipos, agitador rotatorio, espectrofotómetro de absorción atómica, contenedores de gases, equipos de medición de volúmenes, hornos de secado, neveras, campanas extractoras y elementos del laboratorio (material de vidrio), mediante ensayos preliminares de acuerdo al protocolo de verificación y/o calibración para cada uno.
- ✓ Se optimizaron las condiciones y parámetros instrumentales, incluyendo digestiones y curvas de calibración usadas para los 4 metales en las 2 matrices de los residuos

- ✓ Se ampliaron los procedimientos PGC existentes en ChemiLab S.A.S, uno sobre el tratamiento (método TCLP) que se le aplica a una muestra de residuo sólido, líquido o semisólido y el procedimiento de muestreo que aplica a las mismas matrices.
- ✓ Se crearon los formatos para consignar la información hallada a medida que avance el proceso de validación, siendo congruentes con el PGC de elaboración y control de documentos de ChemiLab S.A.S.
- ✓ Se establecieron procedimientos analíticos necesarios para la determinación de los 4 metales en las matrices de los residuos, de acuerdo a los materiales y reactivos existentes en el Laboratorio ChemiLab S.A.S.
- ✓ Se creó un procedimiento detallado para la aplicación de método 1311 de la EPA US, que contiene: la separación de las fases sólidas y líquidas de un residuo, su porcentaje de sólido seco y la obtención del lixiviado, preparación de soluciones estándar y análisis de las muestras por espectroscopia de absorción atómica.

5.2 EQUIPOS Y REACTIVOS

Se utilizó un agitador rotatorio aprobado por la EPA, un equipo de absorción atómica marca Perkin Elmer AAnalyst 800, los patrones de metales fueron de 1000 mg-L⁻¹ marca Panreac, el agua desmineralizada utilizada cumplió con una conductividad menor a 2 µS_{cm}⁻¹, el software usado en el equipo fue el WinLab 32 y el paquete estadístico es el SPSS 11.5.

5.3 VALIDACIÓN

El proceso de validación y verificación de un método de análisis consiste en demostrar experimentalmente la funcionalidad del método para las aplicaciones analíticas propuestas, como también en obtener la evidencia documentada del procedimiento seguido, lo cual debe corresponder a un diseño experimental, un tratamiento estadístico apropiado y unos criterios de aceptación,¹⁰ de acuerdo con los atributos que describen cada técnica analítica, para lo cual se establecen las variables químicas e instrumentales que permitan conseguir las mejores condiciones de selectividad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y linealidad basándose en los PGC de validación desarrollados sobre los residuos en el laboratorio, además de la bibliografía referenciada por el IDEAM.

5.3.1 Lavado del material. Inicialmente se lavó el material con solución de un detergente no iónico. Posteriormente se agregó una solución de ácido nítrico al 5%, se agitó vigorosamente y se dejó durante toda la noche, al cabo de la cual se lavó con agua desionizada, hasta obtener un pH neutro en la solución final de lavado.¹²

5.3.2 Metodología de calibración de material usado en la validación. Se calibró el material de vidrio volumétrico clase A de acuerdo al PGC de calibración y verificación de material de vidrio existente en ChemiLab S.A.S. y se revisaron sus respectivos certificados de calidad suministrados por el proveedor. Se verificó la calibración de dos transfer-pipetas (una de 10 – 100 μL y otra de 100 – 100 μL), 1 Handy step electrónica, y una balanza analítica que de 4 cifras decimales.

5.3.3 Implementación de metodologías en la determinación de metales.

- **Preparación de la curva de calibración:** Inicialmente a partir de soluciones patrón de marca PANREAC de 1000 mgL^{-1} se prepararon soluciones de trabajo con el propósito de obtener curvas de calibración en un rango lineal para cada metal, graficando absorbancia en función de concentración y determinando el respectivo coeficiente de correlación para cada metal.
- **Validación del sistema Instrumental:** La validación del sistema instrumental se llevó a cabo con curvas de calibración de cada metal en agua desionizada, las cuales fueron sometidas al proceso de digestión para análisis de metales totales¹⁸. Se evaluó la linealidad, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos. Para la confiabilidad de los resultados se aplicó un tratamiento estadístico mediante el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).
- **Linealidad instrumental:** Se evaluarán 5 niveles de concentración durante 7 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología para cada metal. Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad, permitieron concluir la linealidad instrumental en el rango utilizado.
- **Precisión instrumental:** Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 3 curvas de calibración con 5 niveles de concentración, las cuales se analizarán el mismo día bajo las mismas condiciones. Para el ensayo de precisión intermedia se prepararán 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, para cada metal. Se calculó el porcentaje del coeficiente de variación (%C.V) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.
- **Límites críticos:** Se prepararon 3 curvas de calibración las cuales se analizarán el mismo día, bajo las mismas condiciones. Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados la ecuación de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ($S_{\text{interceptos}}$) y el promedio de las pendientes (m_{prom}).

Finalmente se aplicarán la ecuación 5 para establecer teóricamente el valor para el límite de cuantificación (LOQ).

5.3.4 Validación de la metodología en residuos.

De acuerdo con el método 1311 TCLP²⁶ y el PGC de validación en residuos desarrollado en ChemiLab S.A.S. se utilizó una muestra de residuo semisólido de cortes de perforación de textura franca arcillosa y arenosa suministrados por una empresa petrolera en el municipio de Puerto Gaitán Meta, dichas muestras fueron ingresadas al laboratorio de acuerdo al IT de ingreso de muestras de residuos y de codificación existente en ChemiLab S.A.S. Se aplicó un método de filtración para separar las fases líquidas y sólidas, para posteriormente determinar el porcentaje de sólido seco y la cuantificación total del metal que puede ser lixiviado en toda la masa del residuo.

El análisis de las muestras de residuos se realizó por triplicado durante siete días diferentes, una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolarán en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en el contenido del metal obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el Porcentaje de Recuperación (%R) del método. Se determinó la precisión en términos del % C.V para las muestras.

5.3.5 Preparación de las muestras:

- **Codificación:** La codificación de todas las muestras de la validación incluyendo blancos, patrones, estándares de chequeo y muestras se basa en los PGC de validación y elaboración de documentos y el IT de manejo de muestras de ChemiLab S.A.S.

- **Conservación de los lixiviados y los residuos líquidos :**

La fase líquida del residuo y su lixiviado se recolecta después de la filtración, se acidifica con ácido nítrico concentrado hasta un pH <2 y se almacena a 4° C máximo durante 8 días para prevenir cambios en el volumen por evaporación. De igual forma se conservan los residuos líquidos con un porcentaje de sólidos menor a 0,5%.²⁶

5.3.6 Aplicación del Método 1311 (TCLP) de la EPAUS SW-846

Para residuos semisólidos o de múltiples fases se empezó el procedimiento en el ítem **5.3.6.1** para realizar un análisis del porcentaje de sólidos de la muestra, para residuos 100% sólidos remitirse al ítem **5.3.6.3** y para residuos líquidos con un porcentaje de sólidos menor al 0,5% dirigirse al ítem **5.3.6.7**.

5.3.6.1. Determinación del porcentaje de sólidos en el residuo

Se pesó el filtro de 0,7µm de poro, después de haber sido lavado con ácido nítrico 1:1 y agua desmineralizada; también se pesa el envase que recibirá el líquido filtrado de aproximadamente 100g del residuo. Cuantitativamente se transfiere la muestra del desecho al retenedor del filtro, el material retenido es definido como la fase sólida del desecho y el filtrado como la fase líquida.

Se determinó el peso de la fase líquida y el peso de la fase sólida después del proceso de filtración. Con estos datos se calculó el porcentaje de sólidos aplicando la siguiente ecuación.

$$\% \text{solidos} = \frac{W_s}{W_t} * 100\%$$

Ecuación 28

Dónde:

Ws = Peso sólido.

Wt = Peso total de la muestra.

5.3.6.2 Determinación de porcentaje de sólidos secos

Después de la filtración se removió la fase sólida y el filtro del equipo de filtración, se dejó secar la fase sólida y el filtro a 100 ± 20°C, hasta peso constante con una incertidumbre de 0,01%, registrando el peso final para el cálculo del porcentaje de sólido seco así:

$$\% \text{solidos secos} = \frac{W_s - \text{peso inicial del filtro}}{W_t} * 100\%$$

Ecuación 29

Dónde:

Ws = Peso del filtro y del desecho seco.

Wt = Peso inicial del desecho.

Si el porcentaje de sólidos secos es menor de 0,5%, entonces se procede a la determinación de los metales por EAA, Sin embargo si el porcentaje de sólidos secos es mayor a 0,5%, iniciar el método de reducción de tamaño de partícula si es necesario para la fase sólida.

5.3.6.3 Evaluación del Requerimiento de reducción de tamaño de partículas

Se requiere una reducción de tamaño de partículas, cuando los residuos presentan un porcentaje de sólidos superior a 0.5 % o cuando son 100 % sólidos con área superficial igual o superior a 3,1 cm²/ gramo, o si los sólidos presentan un tamaño

superior a 0,95 cm. Se puede realizar la evaluación a la vista, o en caso de tener dudas pasar la fase sólida a través de un tamiz estándar de 9,5 mm (0,375 pulgadas), si quedan partículas retenidas, se requiere la reducción de tamaño, machacándola, cortándola, moliéndola hasta llegar al área superficial o tamaño requerido.

5.3.6.4 Determinación del fluido de extracción de los metales en la fase sólida del residuo, según su pH.

Se pesaron 5 gramos de la fase sólida del residuo, después de su reducción de tamaño, se agregaron 96,5 mL de agua desmineralizada, se agitó vigorosamente durante cinco (5) minutos utilizando un agitador magnético para medir y registrar el pH. Si el pH es inferior de 5, el fluido de extracción a utilizar con la muestra es el No.1, si el pH es superior de 5 se agregan 3,5 mL de HCl 1N, se mezcla brevemente calentando hasta 50°C y se mantuvo la temperatura por 10 minutos. Luego se llevó la solución a temperatura ambiente y se determinó nuevamente el pH. Si el pH es menor a 5, se utiliza el fluido de extracción 1, si el pH se mantiene mayor a 5 utilizar el fluido de extracción 2.

5.3.6.5 Preparación de los fluidos de extracción 1 y 2.

Fluido de extracción 1. Se tomaron 5,7mL de Ácido acético glacial grado reactivo (17,5N), se disolvió en 200mL de agua desmineralizada, luego se agregaron 64,3mL de NaOH 1N llevando a un volumen de un litro en un balón aforado con agua desmineralizada, al final se verifico que el pH sea de $4,93 \pm 0,05$.

Fluido de extracción 2. Se tomaron 5,7mL de Ácido acético glacial grado reactivo (17,5N), se lleva a un volumen de un litro en un balón aforado verificando que el pH sea de $2,88 \pm 0,05$.

5.3.6.6 Metodología de extracción TCLP para la fase sólida del residuo

Para evaluar la movilidad de los metales, se transfirieron 100g de la fase sólida del residuo o el residuo 100% solido al recipiente de extracción de polietileno de alta densidad, junto con el filtro usado en la separación. Luego se agregó lentamente 2 litros del fluido de extracción 1 o 2 según corresponda, se cerró de forma ajustada con tapas de teflón para asegurar el sello y asegurarse de que no ocurran derrames en el equipo de agitación rotatoria marca DC-20B-12 Place Rotatory Agitator aprobado por la EPA-SW 846-1311. (Fig. 1). Conjuntamente se realizó un blanco, con el fluido de extracción, por cada 20 muestras.

Figura 1. Equipo de Agitación Rotatoria TCLP.



El equipo de agitación rotatoria se calibró para tener una velocidad angular de 30 rpm durante 18 horas a temperatura ambiente del laboratorio (22°C), como lo establece la EPA US. Después de las 18 horas de extracción se separan las fases líquida y sólida por filtración al vacío, a través de un nuevo filtro de fibra de vidrio de 0,7µm, previamente lavado con ácido nítrico 1:1 y agua desmineralizada

5.3.6.7 Análisis de los residuos que contienen un porcentaje de sólidos menor al 0,5%

Para el análisis de residuos líquidos con porcentaje de sólidos inferior al 0.5%, se procede a filtrar con papel filtro (0,7µm de poro) lavado previamente con ácido nítrico 1:1 y agua desmineralizada para eliminar interferencias, luego son preservados máximo durante 8 días con ácido nítrico 1:1 hasta pH 2 hasta su posterior digestión y análisis por Espectroscopia de Absorción Atómica.

5.3.6.8 Determinación del contenido de metales en ambas fases del residuo

Si el residuo contiene fase líquida y sólidos superiores al 0,5%, se verifico si el líquido obtenido en la filtración inicial y el lixiviado obtenido después de la extracción TCLP de la fase sólida son compatibles, para combinarlos y calcular el contenido de metales del residuo; si no son compatibles se registra el volumen de cada uno y se analizan por separado, ambos son extractos TCLP y al final se combina matemáticamente los resultados, usando la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración final del analito} = \frac{V_1 C_1 + V_2 C_2}{V_1 + V_2}$$

Ecuación 30

Dónde:

V_1 = Volumen primera fase

C_1 = Concentración primera fase

V_2 = Volumen segunda fase

C_2 = Concentración segunda fase

Los extractos TCLP deben preservarse con ácido nítrico HNO_3 a pH 2 y refrigerados a 4°C hasta su digestión según el procedimiento PEA 30 del laboratorio Chemilab S.A.S. y su posterior análisis por EAA por llama aire-acetileno para Plomo (Pb), llama óxido nitroso-acetileno para Bario (Ba), vapor frío para Mercurio (Hg) y generador de hidruros para Arsénico (As).

5.3.7 Digestión de las muestras para el análisis por EAA: ²⁷

✓ **Digestión de residuos líquidos y los lixiviados obtenidos de los residuos sólidos, para determinar Bario y Plomo.**

A una alícuota de 100 mL de muestra líquida o del lixiviado, se le agregó 5 mL de HNO_3 para formar el nitrato del metal correspondiente que es más soluble a pH ácido y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 30% para oxidar y degradar toda la materia orgánica presente y liberar los metales a la solución aplicando temperatura hasta una reducción de volumen del 50%. Una vez terminado el proceso se transfiere a balones aforados de 100mL en forma cuantitativa filtrando a través de papel filtro cuantitativo y completar el volumen inicial.

✓ **Digestión de residuos líquidos y los lixiviados obtenidos de los residuos sólidos, para determinar Mercurio.**

A una alícuota de 100 mL de muestra líquida o del lixiviado, se le agregó 5 mL de H_2SO_4 concentrado, 2,5mL de HNO_3 y 15 mL de permanganato de potasio KMnO_4 al 5%, se somete a baño maría a 95°C durante 30 minutos, luego se agregan 8mL de persulfato de potasio $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ al 5% y se calienta en el baño maría durante dos horas más. Después de realizar todo el proceso y justo antes de comenzar el análisis por espectroscopia de absorción atómica por vapor frío, se le agrega una solución de Cloruro de Hidroxilamina al 5% para garantizar la reducción del mercurio de Hg^{2+} a Hg^{1+} y luego con el cloruro estañoso reducir el mercurio a Hg^0 y obtenerlo como un vapor frío.

✓ **Digestión de residuos líquidos y los lixiviados obtenidos de los residuos sólidos, para determinar Arsénico.**

De la digestión de bario o plomo se toman 10mL de muestra y se le agregan 2g de Urea, 0,4g de L-cisteína y 8mL de ácido clorhídrico concentrado, se calienta en baño maría a 95°C durante 1 hora, luego se agrega un gramo de KI yoduro de potasio para garantizar la reducción del arsénico de As^{5+} a As^{3+} y determinarlo como arsenito llevando a un volumen de 25mL.

5.3.8 Adición o dopaje de las muestras:

Se realizó la validación de los metales antes descritos sobre matrices de residuos líquidos y sólidos. Para las matrices líquidas y los lixiviados obtenidos de los residuos sólidos por TCLP, se implementó el procedimiento de digestión para determinar metales totales en las muestras, de acuerdo con las metodologías propuestas por el SM y la EPA.^{18, 19}

Para el proceso de validación se cuantificó la cantidad de metales presentes en una muestra de residuo líquida y en muestras de residuos sólidos se cuantificó la cantidad de metales de los lixiviados obtenidos aplicando la metodología TCLP, con esa información se hicieron adiciones o dopajes de los metales a determinar en cuatro niveles así:

1. Cerca del nivel 1 considerado como muestra de rango bajo,
2. Al nivel 1 más el 30% de la muestra
3. Al nivel 1 más el 70% de la muestra
4. Al nivel 4 (70 % del rango lineal) o muestra de rango alto de la curva realizada para cada metal.

Como la concentración de los metales en las muestras analizadas fue menor al límite de cuantificación de cada curva, se dopan las muestras hasta una concentración cercana a la del primer nivel de la curva para cada metal a analizar, luego se realizaron los 3 dopajes antes mencionados. Para las muestras de residuos sólidos se realizaron adiciones tanto a la muestra sólida seca, como al lixiviado obtenido después de aplicar la metodología TCLP, determinando los porcentajes de recuperación en la extracción que se aplica al residuo sólido. En la tabla 1 se relacionan las muestras a validar debidamente codificadas.

Para los residuos sólidos se aplicaron dos fluidos de extracción como lo indica la metodología TCLP de la EPA²⁶, para muestras con un pH inferior a 5 (MA2) se utiliza el fluido de extracción 1 y para muestras con un pH superior a 5 (MB2) se utiliza el fluido de extracción 2, los extractos obtenidos para cada muestra sólida se codificaron como MA2EA y MB2EA respectivamente.

Tabla 1. Codificación de Muestras de Residuo sólidos y líquidos en la validación

MUESTRAS SÓLIDAS		Dopaje de las muestras para cada metal			
CODIFICACIÓN	TIPO DE MUESTRA	Ba [mgL ⁻¹]	Hg [µgL ⁻¹]	Pb [mgL ⁻¹]	As [µgL ⁻¹]
MA2	Muestra Ácida solida original	<1,0	<3,0	<1,0	<20,0
MA2A	Muestra Acida solida dopada	1,5	12,0	2,0	50,0
MA2EA	Lixiviado dopado	1,5	12,0	2,0	50,0
MB2	Muestra Alcalina solida original	<1,0	<3,0	<1,0	<20,0
MB2A	Muestra Alcalina solida dopada	1,5	12,0	2,0	50,0
MB2EA	Lixiviado dopado	1,5	12,0	2,0	50,0
MUESTRAS LÍQUIDAS					
M1	Muestra rango bajo	1,2	3,2	1,20	22,0
M1a	Muestra rango bajo + 30%	1,6	4,2	1,56	28,6
M1b	Muestra rango bajo + 70%	2,0	5,4	2,04	37,4
M2	Muestra rango alto al 70%	7,0	35,0	7,00	56,0

5.3.9 Análisis de muestras por EAA

Inicialmente se preparan los patrones respectivos para cada curva de calibración, aplicando la digestión correspondiente para cada metal y técnica de cuantificación por EAA con un previo lavado del material en la forma indicada.

Se hace el tratamiento respectivo a las muestras sólidas y líquidas según el método TCLP de la EPA US para la determinación de metales totales en la parte líquida del residuo y metales lixiviados de la fase sólida.

Se ajustan las condiciones apropiadas: longitud de onda, ancho de rendija, quemador de acuerdo al tipo de llama necesario para la determinación de Bario y Plomo, equipo de generador de hidruros y vapor frío para el análisis de Arsénico y Mercurio respectivamente. En la determinación se considera como blanco de reactivos agua desionizada acidulada. El blanco de metales totales corresponde al extracto del procedimiento de digestión aplicado en la determinación de metales totales en los residuos líquidos y en los lixiviados de los residuos sólidos. Con el blanco de reactivos se ajusta la absorbancia a cero en la respuesta del equipo.

Posteriormente se leen los patrones de la curva de calibración respectivamente en orden ascendente. Se realiza cada lectura al menos por triplicado. Se registra los valores de absorbancia en el software del equipo.

Terminada la lectura de los patrones, se aspira el blanco de reactivos y se ajusta el cero de la lectura. Se lee los digeridos de las muestras. Se realiza cada lectura al menos por triplicado. Se registra los valores de absorbancia en el software del equipo. Si la absorbancia o concentración de alguno de los digeridos está por fuera del intervalo de trabajo, se realiza una dilución apropiada y se realiza nuevamente la lectura. Se realiza una lectura del blanco de reactivos y de uno o más patrones de control cada diez determinaciones consecutivas, esto de acuerdo al PGC de aseguramiento de la calidad del laboratorio.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Con el objetivo de validar las metodologías utilizadas, se aplicó un tratamiento estadístico a todos los resultados obtenidos, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 11.5., aplicando pruebas de normalidad para determinar si los resultados vienen de una población normal y aplicar pruebas paramétricas como ANOVA o no paramétricas, según corresponda y así evaluar si los resultados se encuentran en un 95% de confianza para los n datos experimentales obtenidos.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la validación del método 1311 TCLP de la Norma EPA SW-846, para la determinación de 4 metales en los lixiviados de residuos de cortes de perforación de empresas petroleras en el municipio de puerto Gaitán Meta, por EAA de llama aire-acetileno, acetileno-óxido nitroso, vapor frío y generador de hidruros, para contribuir en el alcance de los análisis en el laboratorio Chemilab S.A.S., cumpliendo con todas las normas de calidad establecidas por la Norma ISO 17025.

6.1 IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS METALES (As, Ba, Hg y Pb)

Se implementó el método TCLP para los residuos de cortes de perforación, descrito en la metodología 1311 de la EPAUS SW-846, teniendo referencia de las ventajas que tiene el método para evaluar un residuo como peligroso, aplicando técnicas de determinación como la EAA.^{28, 29} Se prepararon curvas de calibración para los metales en los rangos descritos en la tabla 2 a partir de una solución stock de 1000mg/L para cada metal, teniendo como blanco de reactivos agua desionizada acidificada. Se lee la absorbancia respectiva a las longitudes de onda específica para cada metal.

Tabla 2. Parámetros de trabajo para la determinación de los metales por EAA.

METAL	RANGO DE TRABAJO (mg-L ⁻¹)	PATRÓN DE VERIFICACIÓN	EST. DE CHEQ.	ABS. DEL EST. DE CHEQ.	LONG. ONDA (nm)	FLOW SPOILER	TECNICA DE E.A.A.	LLAMA	NIVEL PERMITIDO EPA (mg-L ⁻¹)
As	0,020 - 0,080	0,02	N.A.	N.A.	193,7	NA	G. H.	A.A.	5,0
Ba	1,0 - 10,0	1,00	20,0	0,250	553,6	Si	LLAMA	O.A.	100,0
Hg	0,003 - 0,03	0,003	N.A.	N.A.	253,7	NA	V.F.	N.A.	0,1
Pb	1,0 - 10,0	1,00	20,0	0,205	283,3	NA	LLAMA	A.A.	5,0

A.A.: Aire – Acetileno., O.A.: Óxido nitroso - Acetileno., N.A.: No Aplica., G.H.: Generador de Hidruros., V.F.: Vapor Frio

Se evaluó la linealidad instrumental, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos, para ello se aplicaron pruebas estadísticas como t de student y análisis de varianza (ANOVA)¹¹ empleando el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

6.1.1 Linealidad instrumental

Se evaluaron 5 niveles de concentración durante 7 días diferentes para cada metal. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología, los resultados se presentan en la tabla 3.

A estos resultados se les aplicó pruebas de normalidad para determinar si se aplican pruebas paramétricas o no paramétricas, de acuerdo a si el valor de la prueba (p) es superior o no a 0.05, (Anexo A Tabla 1.). Los datos se ajustan a la normalidad ($p > 0.05$) en todos los metales, cuando se considera como variable los días de análisis, por tanto se aplican pruebas paramétricas de ANOVA con el fin de establecer si existen diferencias significativas en los valores de absorbancia en términos de linealidad instrumental como se observa en la Tabla 4.

La prueba ANOVA muestra que no existe diferencia significativa en los valores de Absorbancia de las diferentes concentraciones de cada metal al considerar como factor los días de validación, indicando que la absorbancia de cada concentración no presenta variación con el tiempo, lo cual permitiría establecer que las metodologías aplicadas son reproducibles.

La tendencia lineal se evaluó a través de un gráfico relacionando la absorbancia respecto a la concentración de cada uno de los metales, durante los 7 días, la gráfica obtenida se muestra en la Figura 2, donde se observa dicha tendencia lineal, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que relaciona la concentración del metal con la absorbancia.

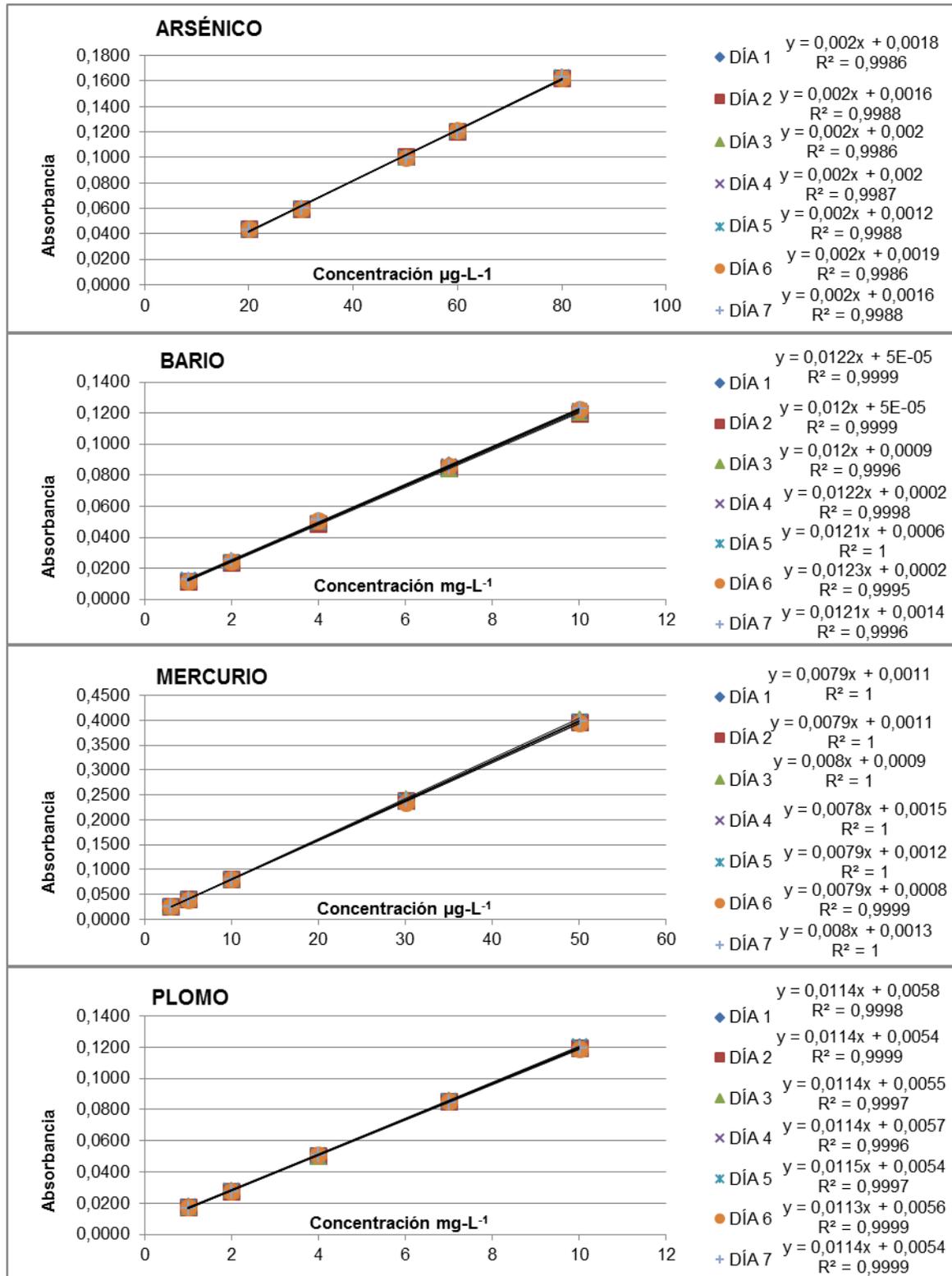
Tabla 3 Linealidad Instrumental: As, Hg, Ba, Pb

	Nivel de []	Absorbancia						
	($\mu\text{g-L}^{-1}$)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
ARSÉNICO	20	0,0440	0,0438	0,0442	0,0441	0,0435	0,0441	0,0436
	30	0,0600	0,0598	0,0605	0,0601	0,0599	0,0600	0,0605
	50	0,1005	0,1008	0,1001	0,1006	0,1003	0,1001	0,1002
	60	0,1205	0,1208	0,1212	0,1206	0,1208	0,1211	0,1206
	80	0,1630	0,1628	0,1632	0,1629	0,1631	0,1628	0,1633
MERCURIO	3	0,0261	0,0258	0,0265	0,0259	0,0260	0,0255	0,0262
	5	0,0402	0,0400	0,0404	0,0398	0,0405	0,0396	0,0404
	10	0,0800	0,0802	0,0806	0,0800	0,0799	0,0798	0,0802
	30	0,2381	0,2391	0,2420	0,2365	0,2380	0,2338	0,2405
	50	0,3982	0,3975	0,4033	0,3939	0,3980	0,3948	0,3993
	Nivel de []	Absorbancia						
	(mg-L^{-1})	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
BARIO	1	0,0122	0,0118	0,0123	0,0121	0,0127	0,0117	0,0129
	2	0,0242	0,0238	0,0246	0,0239	0,0246	0,0243	0,0258
	4	0,0490	0,0487	0,0504	0,0497	0,0494	0,0511	0,0512
	7	0,0865	0,0845	0,0842	0,0858	0,0856	0,0863	0,0851
	10	0,1218	0,1198	0,1205	0,1212	0,1218	0,1224	0,1229
PLOMO	1	0,0180	0,0174	0,0175	0,0180	0,0177	0,0173	0,0172
	2	0,0284	0,0277	0,0283	0,0280	0,0282	0,0276	0,0276
	4	0,0504	0,0507	0,0500	0,0509	0,0503	0,0509	0,0511
	7	0,0857	0,0851	0,0858	0,0844	0,0858	0,0851	0,0844
	10	0,1201	0,1193	0,1197	0,1203	0,1207	0,1187	0,1194

Tabla 4. ANOVA de Absorbancia en función de la linealidad instrumental

As	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Ba	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,00	6,00	0,00	0,00	1,00	Inter-grupos	0,00	6,00	0,00	0,00	1,00
Intra-grupos	0,06	28,00	0,00			Intra-grupos	0,06	28,00	0,00		
Total	0,06	34,00				Total	0,06	34,00			
Hg						Pb					
Inter-grupos	0,00	6,00	0,00	0,00	1,00	Inter-grupos	0,00	6,00	0,00	0,00	1,00
Intra-grupos	0,71	28,00	0,03			Intra-grupos	0,05	28,00	0,00		
Total	0,71	34,00				Total	0,05	34,00			

Figura 2. Curvas de calibración bajo condiciones de precisión intermedia



Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación y sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Evaluación de la linealidad instrumental

ARSÉNICO	SIMBOLO	VALOR
Coeficiente de Correlación	R	0,9994
Pendiente	b	0,0020
Intercepto	a	0,0017
Desviación Estándar para el intercepto	s _a	0,0003
Desviación Estándar para la pendiente	s _b	0,0000
BARIO		
Coeficiente de Correlación	R	0,9999
Pendiente	b	0,0121
Intercepto	a	0,0005
Desviación Estándar para el intercepto	s _a	0,0005
Desviación Estándar para la pendiente	s _b	0,0001
MERCURIO		
Coeficiente de Correlación	R	1,0000
Pendiente	b	0,0079
Intercepto	a	0,0011
Desviación Estándar para el intercepto	s _a	0,0002
Desviación Estándar para la pendiente	s _b	0,0001
PLOMO		
Coeficiente de Correlación	R	0,9999
Pendiente	B	0,0114
Intercepto	A	0,0055
Desviación Estándar para el intercepto	s _a	0,0002
Desviación Estándar para la pendiente	s _b	0,0001

El coeficiente de correlación se evaluó para todos los metales estadísticamente teniendo como hipótesis nula: “No existe correlación entre x e y”. Como se observa en la tabla 6. la prueba de Pearson es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa entre la concentración de los metales y la respuesta brindada por el equipo (absorbancia).

Tabla 6. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de Correlación de Pearson.

ARSÉNICO		ABSORBANCIA	NIVEL ($\mu\text{g-L}^{-1}$)
<i>Correlación de Pearson</i>		1	0,990(**)
<i>Sig. (bilateral)</i>		.	0,000
<i>N</i>		35	35
<i>Correlación de Pearson</i>		0,990(**)	1
<i>Sig. (bilateral)</i>		0,000	.
<i>N</i>		35	35
BARIO			NIVEL (mg-L^{-1})
<i>Correlación de Pearson</i>		1	0,984(**)
<i>Sig. (bilateral)</i>		.	0,000
<i>N</i>		35	35
<i>Correlación de Pearson</i>		0,984(**)	1
<i>Sig. (bilateral)</i>		0,000	.
<i>N</i>		35	35
MERCURIO			NIVEL ($\mu\text{g-L}^{-1}$)
<i>Correlación de Pearson</i>		1	0,936(**)
<i>Sig. (bilateral)</i>		.	0,000
<i>N</i>		35	35
<i>Correlación de Pearson</i>		0,936(**)	1
<i>Sig. (bilateral)</i>		0,000	.
<i>N</i>		35	35
PLOMO			NIVEL (mg-L^{-1})
<i>Correlación de Pearson</i>		1	0,980(**)
<i>Sig. (bilateral)</i>		.	0,000
<i>N</i>		35	35
<i>Correlación de Pearson</i>		0,980(**)	1
<i>Sig. (bilateral)</i>		0,000	.
<i>N</i>		35	35

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se tienen las siguientes hipótesis:

- Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.
- Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en la tabla 7. la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son inferiores a 0,05, por lo que se deben rechazar las hipótesis nulas, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferentes de cero.

Tabla 7. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto.

ARSÉNICO	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados <i>Beta</i>	T	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
	<i>b</i>	<i>Error típ.</i>				<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>
<i>intercepto</i>	0,010	0,002		-4,107	0,000	0,015	0,005
<i>Pendiente</i>	0,030	0,001	0,990	40,573	0,000	0,028	0,031
BARIO							
<i>intercepto</i>	0,025	0,003		-8,540	0,000	0,031	0,019
<i>Pendiente</i>	0,028	0,001	0,984	31,548	0,000	0,026	0,030
MERCURIO							
<i>intercepto</i>	0,134	0,021		-6,529	0,000	0,176	0,092
<i>Pendiente</i>	0,094	0,006	0,936	15,210	0,000	0,082	0,107
PLOMO							
<i>intercepto</i>	0,026	0,003		-8,463	0,000	0,032	0,020
<i>Pendiente</i>	0,026	0,001	0,980	28,520	0,000	0,024	0,028

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración de los metales, los resultados se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración

ARSÉNICO	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,063	1	0,063	1646,128	0,000(a)
Residual	0,001	33	0,000		
Total	0,064	34			
BARIO					
Regresión	0,055	1	0,055	995,291	0,000(a)
Residual	0,002	33	0,000		
Total	0,057	34			
MERCURIO					
Regresión	0,621	1	0,621	231,350	0,000(a)
Residual	0,089	33	0,003		
Total	0,710	34			
PLOMO					
Regresión	0,048	1	0,048	813,372	0,000(a)
Residual	0,002	33	0,000		
Total	0,050	34			

Para evaluar la regresión se tiene como hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 = 0$)”, y como hipótesis alternativa “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 \neq 0$)”. Como se observa en la tabla No 8, la significancia para la regresión es menor de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe diferencia significativa en los valores de Absorbancia de las concentraciones de cada metal.

Para tener una apreciación entre cuáles niveles de concentración está la diferencia se aplica la prueba de Tukey, obteniendo los resultados de la Tabla 9.

Tabla 9. Prueba Tukey en función de los niveles de concentración.

ARSÉNICO	NIVEL ($\mu\text{g-L}^{-1}$)	N	Subconjunto para alfa = .05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukey(a)	20	7	0,0440				
	30	7		0,0604			
	50	7			0,1004		
	60	7				0,1208	
	80	7					0,1630
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000
BARIO	NIVEL (mg-L^{-1})		1	2	3	4	5
HSD de Tukey(a)	1.00	7	0,01229				
	2.00	7		0,02457			
	4.00	7			0,04986		
	7.00	7				0,08557	
	10.0	7					0,12157
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000
MERCURIO	NIVEL ($\mu\text{g-L}^{-1}$)		1	2	3	4	5
HSD de Tukey(a)	3,00	7	0,02610				
	5,00	7		0,04020			
	10,0	7			0,08030		
	30,0	7				0,23970	
	50,0	7					0,39970
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000
PLOMO	NIVEL (mg-L^{-1})		1	2	3	4	5
HSD de Tukey(a)	1,00	7	0,01760				
	2,00	7		0,02810			
	4,00	7			0,05060		
	7,00	7				0,08530	
	10,0	7					0,11980
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Se aprecia que la absorbancia de cada nivel de concentración es significativamente diferente con un $p > 0,05$, el incremento en el nivel de concentración produce incremento significativo y proporcional en el valor de la absorbancia, indicando la relación lineal directa entre la absorbancia y la concentración en las curvas de calibración de cada metal analizado. Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad, permiten concluir que los métodos instrumentales empleados para cada metal son lineales en los rangos de cada una de las curvas, con un coeficiente de correlación superior a 0,995 como lo exige la norma para la determinación de metales por EAA.²⁷

6.1.2 PRECISIÓN INSTRUMENTAL.

Se evaluó bajo condiciones de repetitividad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetitividad se prepararon 3 curvas de calibración con 5 niveles de concentración, las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Condiciones de repetitividad

	Nivel	Absorbancia Día 1	Absorbancia Día 2	Absorbancia Día 3		Nivel	Absorbancia Día 1	Absorbancia Día 2	Absorbancia Día 3
	($\mu\text{g-L}^{-1}$)	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3		(mg-L^{-1})	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3
ARSENICO	20	0,0440	0,0438	0,0442	BARIO	1	0,0122	0,0118	0,0123
	30	0,0604	0,0598	0,0605		2	0,0242	0,0238	0,0246
	50	0,1005	0,1008	0,1001		4	0,0490	0,0487	0,0504
	60	0,1205	0,1208	0,1212		7	0,0865	0,0845	0,0842
	80	0,1630	0,1628	0,1632		10	0,1218	0,1198	0,1205
MERCURIO	3	0,0261	0,0258	0,0265	PLOMO	1	0,0180	0,0174	0,0175
	5	0,0402	0,0403	0,0404		2	0,0284	0,0277	0,0283
	10	0,0802	0,0802	0,0806		4	0,0504	0,0507	0,05
	30	0,2381	0,2391	0,2420		7	0,0857	0,0851	0,0858
	50	0,3982	0,3975	0,4033		10	0,1201	0,1193	0,1197

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 11.

Tabla 11 Curvas de calibración bajo condiciones de precisión intermedia

	Nivel de [] ($\mu\text{g-L}^{-1}$)	Absorbancia Día 1 CURVA 1	Absorbancia Día 2 CURVA 2	Absorbancia Día 3 CURVA 3	Absorbancia Día 4 CURVA 4	Absorbancia Día 5 CURVA 5
ARSENICO	20	0,0442	0,0441	0,0435	0,0441	0,0436
	30	0,0605	0,0601	0,0599	0,0602	0,0605
	50	0,1001	0,1006	0,1003	0,1001	0,1002
	60	0,1212	0,1206	0,1208	0,1211	0,1206
	80	0,1632	0,1629	0,1631	0,1628	0,1633
MERCURIO	3	0,0265	0,0259	0,0260	0,0255	0,0262
	5	0,0404	0,0398	0,0405	0,0396	0,0404
	10	0,0806	0,0803	0,0799	0,0798	0,0802
	30	0,2402	0,2365	0,2380	0,2338	0,2405
	50	0,4033	0,3939	0,3980	0,3948	0,3993
	Nivel de [] (mg-L^{-1})	Absorbancia Día 1 CURVA 1	Absorbancia Día 2 CURVA 2	Absorbancia Día 3 CURVA 3	Absorbancia Día 4 CURVA 4	Absorbancia Día 5 CURVA 5
BARIO	1	0,0123	0,0121	0,0127	0,0117	0,0129
	2	0,0246	0,0239	0,0246	0,0243	0,0258
	4	0,0504	0,0497	0,0494	0,0511	0,0512
	7	0,0842	0,0858	0,0856	0,0863	0,0851
	10	0,1205	0,1212	0,1218	0,1224	0,1229
PLOMO	1	0,0175	0,0174	0,0177	0,0173	0,0172
	2	0,0283	0,0280	0,0282	0,0276	0,0276
	4	0,0510	0,0509	0,0508	0,0509	0,0511
	7	0,0858	0,0844	0,0858	0,0851	0,0844
	10	0,1197	0,1203	0,1207	0,1187	0,1194

Se calculó el % C.V por nivel de concentración bajo condiciones de repetitividad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la tabla 12. Como se observa los % C.V son bajos, inferiores al 4% tanto en términos de repetibilidad como de precisión intermedia, indicando que los métodos son altamente reproducibles, precisos y exactos para la determinación de todos los metales analizados. Se aprecia sin embargo en el Hg una mayor variación en términos de precisión intermedia, pero con CV inferiores al 2% en todos los casos, excepto para el primer y segundo nivel de Bario debido a la variación de presión de la bala de óxido nitroso, produciendo una variabilidad en los datos obtenidos en días diferentes.

Tabla 12. Precisión instrumental bajo condiciones de repetitividad y precisión intermedia

	NIVEL	REPETIBILIDAD		PRECISION INTERMEDIA		NIVEL	REPETIBILIDAD		PRECISION INTERMEDIA		
		DESV. EST	% C.V	DESV. EST	% C.V		DESV. EST	% C.V	DESV. EST	% C.V	
ARSENICO	N1	0,0002	0,45	0,0003	0,74	BARIO	N1	0,0003	2,25	0,0005	3,87
	N2	0,0004	0,6	0,0003	0,47		N2	0,0004	1,65	0,0007	2,88
	N3	0,0004	0,35	0,0002	0,21		N3	0,0009	1,84	0,0008	1,60
	N4	0,0004	0,29	0,0003	0,23		N4	0,0013	1,47	0,0008	0,93
	N5	0,0002	0,12	0,0002	0,13		N5	0,001	0,84	0,0010	0,78
MERCURIO	N1	0,0004	1,34	0,0004	1,42	PLOMO	N1	0,0003	1,82	0,0003	1,83
	N2	0,0002	0,5	0,0004	1,02		N2	0,0004	1,35	0,0003	1,18
	N3	0,0003	0,38	0,0003	0,39		N3	0,0004	0,7	0,0005	0,92
	N4	0,002	0,84	0,0032	1,36		N4	0,0004	0,44	0,0007	0,82
	N5	0,0032	0,79	0,0038	0,95		N5	0,0004	0,33	0,0008	0,65

6.1.3 LÍMITES CRÍTICOS.

Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC³⁰. Se prepararon 3 curvas de calibración las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (Tabla 10), con los resultados se elaboró un gráfico que relaciona la absorbancia y la concentración, el cual se ilustra en la Figura 3, observando una tendencia lineal entre las dos variables cumpliendo con la Ley de Lambert Beer para la determinación de los metales por EAA.

Con los datos obtenidos se calculó mediante el método de mínimos cuadrados las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ($S_{interceptos}$) y el promedio de las pendientes ($m_{promedio}$). Finalmente se aplicaron las ecuaciones 4 y 5 para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) respectivamente, los resultados se muestran en la tabla 13.

Figura 3. Curvas de calibración para la determinación de límites críticos

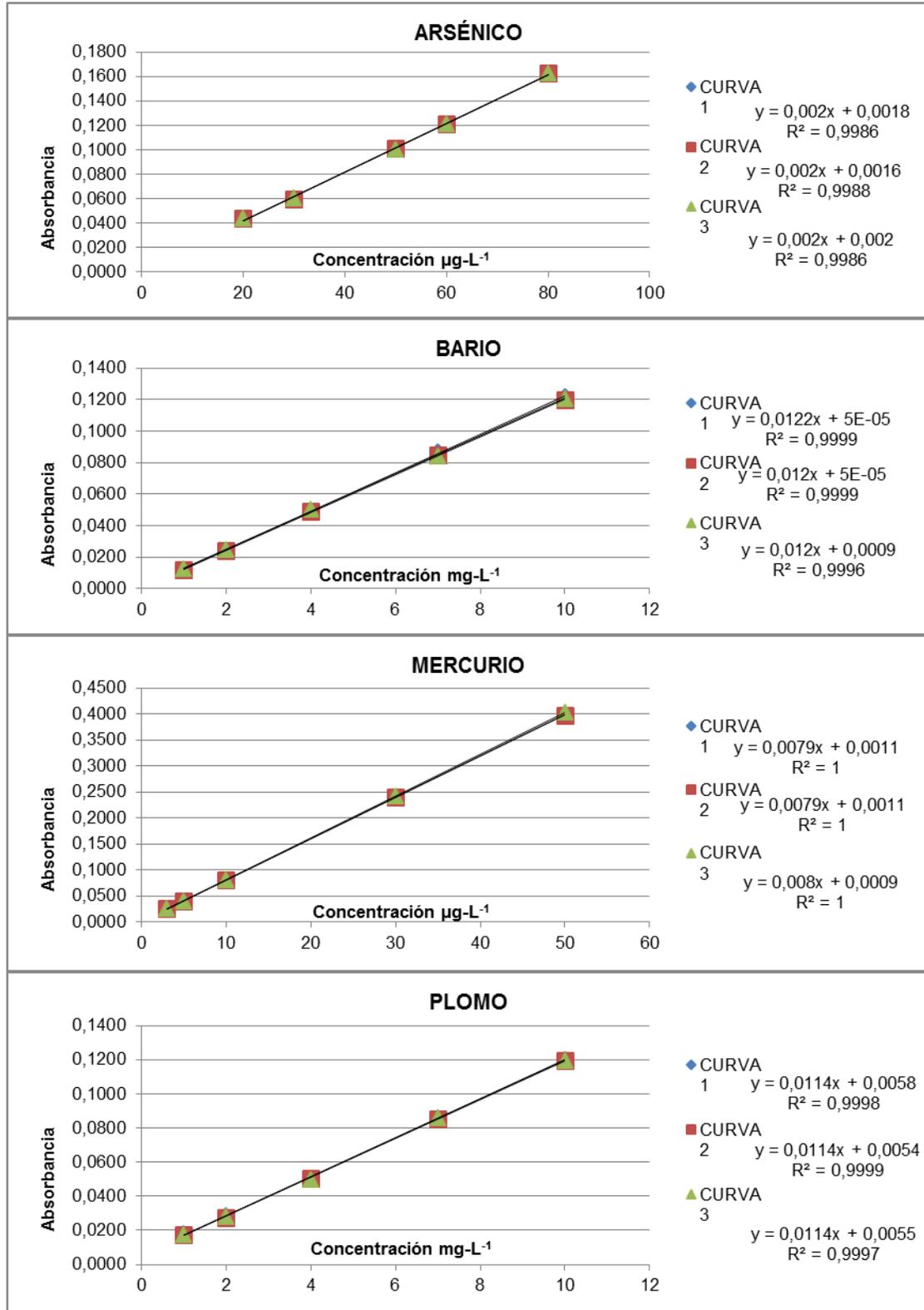


Tabla 13. Calculo del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ).

	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	S Intercepto	m promedio	LOD	LOQ
ARSÉNICO						($\mu\text{g-L}^{-1}$)	($\mu\text{g-L}^{-1}$)
<i>Pendiente</i>	0,002	0,002	0,002	0,0002	0,002	0,304	1,013
<i>Intercepto</i>	0,00179	0,001642	0,002042				
MERCURIO							
<i>Pendiente</i>	0,0079	0,0079	0,008	0,0001	0,008	0,041	0,136
<i>Intercepto</i>	0,00108	0,001143	0,000934				
BARIO						(mg-L^{-1})	(mg-L^{-1})
<i>Pendiente</i>	0,0122	0,012	0,012	0,0005	0,0121	0,129	0,431
<i>Intercepto</i>	0,00005	0,000048	0,000949				
PLOMO							
<i>Pendiente</i>	0,0114	0,0114	0,0114	0,0002	0,0114	0,051	0,169
<i>Intercepto</i>	0,00579	0,005441	0,005475				

El límite crítico LOQ determinado teóricamente se evaluó en forma experimental preparando 3 réplicas de una solución, estableciendo teóricamente la concentración de los límites de cuantificación. Estas soluciones se analizaron de acuerdo a la metodología descrita en el ítem 5.3.9 para el análisis de muestras por EAA. Los valores de absorbancia se promediaron e interpolaron en una curva de calibración preparada y analizada el mismo día, con estos resultados se halla la precisión y la exactitud al LOQ como se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados para la determinación experimental de LOQ.

	Absorbancia	Concentración Teórica ($\mu\text{g-L}^{-1}$)	Concentración Experimental ($\mu\text{g-L}^{-1}$)	% R	% C.V
ARSÉNICO	0,00386				
	0,00385	1.013	1,012	99,95	0,49
	0,00384				
MERCURIO	0,00212				
	0,00213	0.1360	0,1355	99,81	1,41
	0,00215				
BARIO	Absorbancia	(mg-L^{-1})	(mg-L^{-1})		
	0,00554				
	0,00557	0.431	0.430	99.69	0,69
PLOMO	0,00749				
	0,00751	0.169	0,168	99,51	1,51
	0,00752				

Como se observa el sistema instrumental brinda una exactitud y precisión adecuadas al LOQ con un %C.V. menores a un 2%.

6.2 VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA.

Para la validación de la metodología se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos. Para la evaluación estadística de estos parámetros se empleó el software estadístico SPSS (Versión 11.5.1).

Linealidad.

Correspondiente a la linealidad instrumental, se evaluaron curvas de calibración de los metales en agua desmineralizada, para la cuantificación total en las muestras de residuos.

Precisión y Exactitud.

Se determinó la precisión y exactitud del método obteniendo los %R y los %C.V. de las curvas de calibración para el análisis de precisión intermedia (Tabla 11.), los resultados obtenidos se presentan en la tabla 15. Los % C. V son inferiores al 4 % y los % R son adecuados.

Tabla 15. Exactitud y precisión del método.

ARSÉNICO				BARIO			
NIVEL	PRECISION INTERMEDIA			NIVEL	PRECISION INTERMEDIA		
	DESV. EST	% C.V	% R		DESV. EST	% C.V	% R
N1	0,0003	0,74	99,94	N1	0,0005	3,87	99,64
N2	0,0003	0,47	99,92	N2	0,0007	2,88	99,81
N3	0,0002	0,21	99,96	N3	0,0008	1,6	100,02
N4	0,0003	0,23	99,95	N4	0,0008	0,93	99,77
N5	0,0002	0,13	100,01	N5	0,0010	0,78	99,81
MERCURIO				PLOMO			
NIVEL	PRECISION INTERMEDIA			NIVEL	PRECISION INTERMEDIA		
	DESV. EST	% C.V	% R		DESV. EST	% C.V	% R
N1	0,0004	2,05	100,01	N1	0,0003	1,83	100,03
N2	0,0004	1,28	99,46	N2	0,0003	1,18	99,92
N3	0,0003	0,44	99,66	N3	0,0005	0,92	99,84
N4	0,0032	1,41	99,7	N4	0,0007	0,82	99,79
N5	0,0038	0,96	100,08	N5	0,0008	0,65	100,06

Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba de Levene, donde la significancia estadística p basándose en la mediana y con los grados de libertad corregidos es superior a 0.05 para cada metal, los resultados se observan en la Tabla 16., por lo que la prueba estadística es no significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos para cada una de las curvas de calibración (Anexo B).

Tabla 16. Prueba de Levene (Homogeneidad de varianzas) para los % R

ARSÉNICO		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Porcentaje Recuperación	Basándose en la media	1,546	4	20	0,227
	Basándose en la mediana.	0,602	4	20	0,666
	Basándose en la mediana y con gl corregido	0,602	4	14,33	0,668
	Basándose en la media recortada	1,550	4	20	0,226
BARIO					
Porcentaje recuperación	Basándose en la media	5,003	4	20	0,086
	Basándose en la mediana.	0,811	4	20	0,533
	Basándose en la mediana y con gl corregido	0,811	4	6,18	0,560
	Basándose en la media recortada	3,743	4	20	0,070
MERCURIO					
Porcentaje recuperación	Basándose en la media	8,571	4	20	0,070
	Basándose en la mediana.	2,514	4	20	0,074
	Basándose en la mediana y con gl corregido	2,514	4	7,97	0,125
	Basándose en la media recortada	7,937	4	20	0,071
PLOMO					
Porcentaje Recuperación	Basándose en la media	4,433	4	20	0,010
	Basándose en la mediana.	3,277	4	20	0,082
	Basándose en la mediana y con gl corregido	3,277	4	7,272	0,079
	Basándose en la media recortada	4,236	4	20	0,012

También se aplican pruebas de normalidad para la Absorbancia de cada nivel de la curva en función de la concentración (Anexo A Tabla 2.) y a los porcentajes de Recuperación en función de la concentración (Anexo A Tabla 3) obteniendo un $p > 0,05$ en todos los metales, indicando que los datos provienen de una población normal y podemos aplicar pruebas paramétricas como ANOVA. Con los resultados de la prueba de ANOVA que se aprecian en la Tabla 17 se confirma que no existe diferencia significativa entre los porcentajes de recuperación con un $p > 0,05$ permitiendo aceptar y confirmar la hipótesis nula de la prueba de Levene.

Tabla 17 ANOVA para los % de Recuperación

ARSÉNICO	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,008	4	0,002	0,822	0,526
Intra-grupos	0,047	20	0,002		
Total	0,055	24			
BARIO					
Inter-grupos	0,282	4	0,071	1,307	0,301
Intra-grupos	1,080	20	0,054		
Total	1,362	24			
MERCURIO					
Inter-grupos	0,957	4	0,239	1,714	0,187
Intra-grupos	2,793	20	0,140		
Total	3,750	24			
PLOMO					
Inter-grupos	1,299	4	0,325	0,908	0,478
Intra-grupos	7,153	20	0,358		
Total	8,453	24			

Con los resultados estadísticos obtenidos en la prueba de Levene y ANOVA, podemos calcular un % R_{prom} y un % $C.V_{typ}$ para la metodología global, así como también el intervalo de confianza para el % R_{prom} , los resultados se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Porcentajes de Recuperación Globales e intervalos de confianza

ARSÉNICO	Intervalo de Confianza		
% R_{prom}	% $R - sz/\sqrt{n}$	% $R + sz/\sqrt{n}$	% $C.V_{typ}$
99,96	99,92	100,01	0,05
BARIO			
% R_{prom}	% $R - sz/\sqrt{n}$	% $R + sz/\sqrt{n}$	% $C.V_{typ}$
99,79	99,55	100,03	0,24
MERCURIO			
% R_{prom}	% $R - sz/\sqrt{n}$	% $R + sz/\sqrt{n}$	% $C.V_{typ}$
99,69	99,29	100,09	0,40
PLOMO			
% R_{prom}	% $R - sz/\sqrt{n}$	% $R + sz/\sqrt{n}$	% $C.V_{typ}$
99,8	99,20	100,39	0,59

6.2.1 Validación del método para las muestras de residuos

De igual forma para el análisis de los residuos se realizó el análisis de las muestras sólidas y de las muestras líquidas por triplicado durante cinco días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración obtenida para cada muestra teniendo en cuenta el

%R promedio del método. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las muestras,

✓ **Validación de las muestras con residuos líquidos**

Se utilizaron muestras de residuos proveniente de la empresas petroleras del municipio de Puerto Gaitán Meta, se aplica la metodología 1311 TCLP de la EPA SW-846, obteniendo la fase líquida del residuo y aplicando el procedimiento de digestión para muestras líquidas según el Standard Methods (SM) y su determinación por EAA, teniendo en cuenta la utilidad del método TCLP en residuos.³¹ Se aplica el método de validación estipulado en el laboratorio CHEMILAB para muestras líquidas bajo los niveles de concentración siguientes: un rango bajo (M1T) que concierne a la concentración del metal en la matriz, un rango bajo + el 30% de adición a la muestra (M1Ta), un rango bajo + el 70% de adición a la muestra (M1Tb) y un rango alto (M2T) con un adición del 70% de concentración del nivel superior de la curva, (tabla 1). Se analizaron tres réplicas de dichas muestras durante cinco días diferentes, preparando una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente, en la que los patrones fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras. Se realizó la corrección en la concentración del metal obtenido para cada muestra, teniendo en cuenta el % R promedio del método, se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las tres muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 19.

Tabla 19. Resultados de los análisis a residuos líquidos

	Muestra	Promedio $\mu\text{g-L}^{-1}$	S	%CV	Exactitud (% R)	Muestra	Promedio mg-L^{-1}	S	%CV	Exactitud (% R)
Arsénico	M1T	22,038	0,039	0,18	NA	M1T	1,171	0,037	3,17	NA
	M1Ta	28,607	0,015	0,05	99,99	M1Ta	1,561	0,042	2,71	100,01
	M1Tb	37,407	0,026	0,07	99,92	M1Tb	2,041	0,006	0,29	100,02
	M2T	55,996	0,110	0,20	99,92	M2T	6,994	0,044	0,63	99,98
Mercurio	M1T	3,241	0,067	2,07	NA	M1T	1,212	0,006	0,47	NA
	M1Ta	4,220	0,065	1,54	100,04	M1Ta	1,532	0,024	1,59	99,83
	M1Tb	5,388	0,044	0,82	99,77	M1Tb	2,044	0,006	0,31	99,58
	M2T	35,09	0,057	0,16	100,06	M2T	7,165	0,097	1,36	100,18

✓ **Validación con muestras de Residuos sólidos.**

Se utilizaron muestras de cortes de perforación de cuatro pozos petroleros en Puerto Gaitán Meta, donde el procedimiento de muestreo fue desarrollado por el pasante, bajo la metodología implementada y desarrollada en el proyecto, se determinó la concentración de metales totales en los lixiviados obtenidos bajo la metodología 1311 TCLP de la EPA US. Se analizaron tres réplicas de dicha muestra durante cinco días diferentes, preparando una curva de calibración por día y

los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente, (Los patrones fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras). Las muestras sólidas con pH ácido (MA2) y básico (MB2), fueron analizadas aplicando los dos fluidos de extracción que exige la norma EPA (F₁ y F₂), para este tipo de matrices. Se realizó la corrección en la concentración del metal obtenido para cada muestra, teniendo en cuenta el % R del método. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las muestra. La concentración de los metales en la muestra de cortes, fue inferior al límite de cuantificación establecido, por lo tanto se hizo adición de un patrón al extracto obtenido del método TCLP (MA2EA, MB2EA) y al corte sólido (MA2A, MB2A) antes de someter la muestra a la metodología TCLP, los resultados se muestran en la tabla 20.

Tabla 20. Resultados de los análisis a residuos sólidos

	Muestra	Promedio µg-L ⁻¹	S	% CV	Exactitud (% R)	Muestra	Promedio mg-L ⁻¹	S	% CV	Exactitud (% R)
Arsénico	MA2A F1	48,00	0,017	NA	NA	MA2A F1	1,37	0,013	NA	NA
	MA2EA F1	50,00	0,077	0,15	99,98	MA2EA F1	1,52	0,025	1,67	100,02
	MB2A F2	48,63	0,006	NA	NA	MB2A F2	1,47	0,010	NA	NA
	M1EA F2	50,03	0,073	0,15	100,01	M1EA F2	1,52	0,006	0,37	99,84
Mercurio	MA2A F1	12,03	0,019	NA	NA	MA2A F1	1,48	0,073	NA	NA
	MA2EA F1	12,08	0,034	0,28	100,07	MA2EA F1	1,49	0,009	0,58	99,26
	MB2A F2	12,23	0,080	NA	NA	MB2A F2	1,51	0,009	NA	NA
	M1EA F2	12,08	0,071	0,59	99,85	M1EA F2	1,51	0,044	2,88	99,85

En las tablas 19 y 20 observamos que los resultados para el análisis de residuos tienen un coeficiente variación inferior al 3% , lo que indica que son resultados confiables y que a su vez tienen un porcentaje de recuperación entre los intervalos de confianza globales del método (tabla 18), establecido en la validación de la técnica.

6.2.2 Estimación de la incertidumbre en la determinación de metales en residuos mediante la metodología de fuentes globales

Se determinó la incertidumbre de las metodologías validadas con muestras de residuos líquidos y sólidos para concentraciones del metal cercana al nivel 1 y al nivel 5 de la curva (Anexo C Tabla 1 y 2). Inicialmente se muestra la contribución de las fuentes aleatorias encontrándose un valor promedio, una desviación estándar y una desviación estándar relativa de cada grupo de datos con los cuales se calcula la desviación estándar relativa del total de los datos (**RSDt**). También se determina la contribución de las fuentes sistemáticas en la incertidumbre del método con los porcentajes de recuperación de la concentración de estos dos patrones, donde se hace necesario calcular el promedio de los recuperados, su desviación estándar

para poder calcular la incertidumbre en la recuperación promedio (U_{Rp}). Se evalúa si el factor de recobro es significativamente diferente de 1 para un nivel de significancia del 5% y un nivel de confianza del 95% para $(n-1)$ grados de libertad, es decir; para ver si hay diferencia estadísticamente significativa entre el valor obtenido de recuperación y estableciendo como H_0 “el factor de recobro es significativamente diferente de 1”, para esto se calcula el $|t_{exp}|$ y se compara con el $|t_{crit}|$, siendo que si $|t_{exp}| > |t_{crit}|$ se rechaza la H_0 y si el $|t_{exp}| < |t_{crit}|$ se acepta la H_0 .

En las tablas 21 y 22 se muestran los resultados en los cuales se observa que para estos metales, el t experimental es menor que el t crítico en todos los casos tanto para muestras sólidas como líquidas, por lo tanto se utiliza la fórmula de incertidumbre combinada total, con la que se calcula la incertidumbre expandida y combinada del método como se muestra en las tablas, aceptando la hipótesis nula.

Tabla 21. Incertidumbres del método para residuos líquidos.

	BARIO	PLOMO	ARSENICO	MERCURIO
<i>Precisión (fuentes aleatorias) RSDt</i>	0,021	0,008	0,002	0,015
<i>Sesgo (fuentes sistemáticas)</i>	0,005	0,002	0,000	0,004
<i>Incertidumbre en la recuperación promedio $U(Rp)$</i>				
<i>t exp (valor absoluto)</i>	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>t crítico (valor absoluto)</i>	2,16	2,16	2,16	2,16
<i>Incertidumbre combinada total (U_{ctotal}):</i>	0,021	0,009	0,002	0,015
<i>Incertidumbre expandida del método ($U_{exp\ mét}$): \pm</i>	0,043	0,017	0,004	0,030

Tabla 22. Incertidumbres del método para residuos sólidos.

	BARIO	PLOMO	ARSENICO	MERCURIO
<i>Precisión (fuentes aleatorias) RSDt</i>	0,0048	0,0354	0,0070	0,0023
<i>Sesgo (fuentes sistemáticas)</i>	0,0019	0,0132	0,0018	0,0006
<i>Incertidumbre en la recuperación promedio $U(Rp)$</i>				
<i>t exp (valor absoluto)</i>	0,3872	0,0721	0,000	0,000
<i>t crítico (valor absoluto)</i>	2,1604	2,1604	2,1604	2,1604
<i>Incertidumbre combinada total (U_{ctotal}):</i>	0,0051	0,0378	0,0072	0,0024
<i>Incertidumbre expandida del método ($U_{exp\ mét}$): \pm</i>	0,0103	0,0756	0,0144	0,0048
	BARIO	PLOMO	ARSENICO	MERCURIO
<i>Precisión (fuentes aleatorias) RSDt</i>	0,0027	0,0174	0,0061	0,0062
<i>Sesgo (fuentes sistemáticas)</i>	0,001	0,0046	0,0016	0,0016
<i>Incertidumbre en la recuperación promedio $U(Rp)$</i>				
<i>t exp (valor absoluto)</i>	0,4493	0,7679	0,000	0,000
<i>t crítico (valor absoluto)</i>	2,1604	2,1604	2,1604	2,1604
<i>Incertidumbre combinada total (U_{ctotal}):</i>	0,0029	0,018	0,0063	0,0064
<i>Incertidumbre expandida del método ($U_{exp\ mét}$): \pm</i>	0,0059	0,0361	0,0126	0,0128

Con los cálculos de las incertidumbres obtenemos las gráficas de las Figuras 4 y 5 representadas en forma de barras, donde observamos que la principal fuente de incertidumbre en la medida del análisis de las muestras, es por fuentes aleatorias que no se pueden controlar y afectan la medición en la determinación de metales por EAA., mientras que las fuentes sistemáticas que pueden ser las del equipo o las del operario no presentan un efecto mayor en la medida.

Figura 4. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre para residuos Líquidos

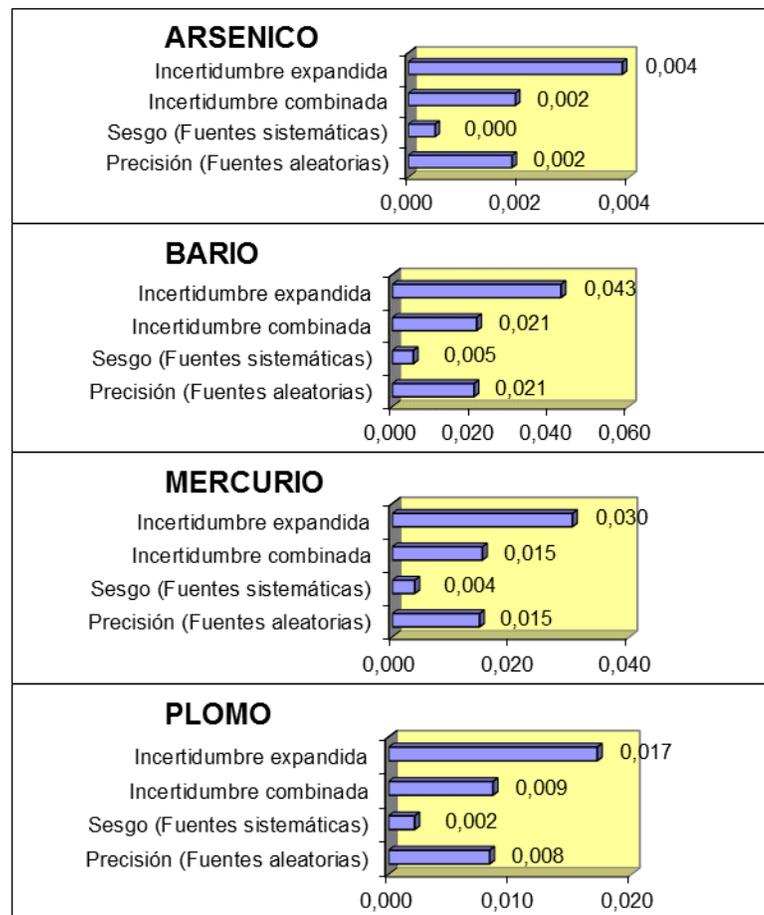
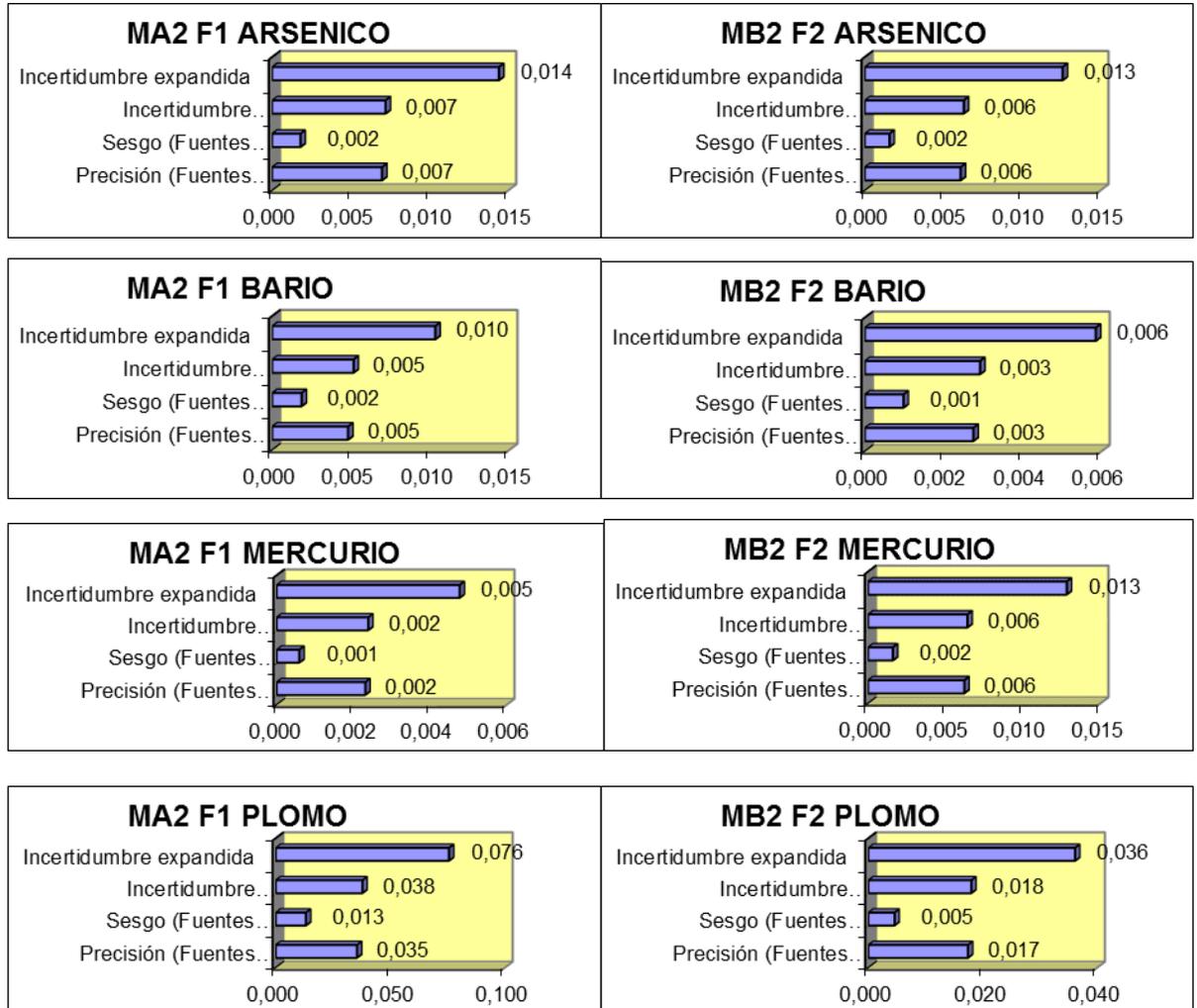


Figura 5. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre para residuos sólidos.



Con los resultados obtenidos en el cálculo de las incertidumbres, podemos definir la incertidumbre en la medida a la hora de determinar las concentraciones de metales como: Arsénico, Bario, Mercurio y Plomo en los lixiviados de los residuos de cortes de perforación de Industrias petroleras o residuos líquidos con un porcentaje de sólidos inferior al 0,5%; en la tabla 23 tenemos las incertidumbres para las medidas que se obtienen en el análisis de estas muestras.

Tabla 23. Reporte de resultados de metales para residuos teniendo en cuenta la incertidumbre de la medición

Residuos Líquidos	
As (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,004)
Ba (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,043)
Hg (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,030)
Pb (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,017)
Residuos sólidos ácidos	
As (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,014)
Ba (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,010)
Hg (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,005)
Pb (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,076)
Residuos sólidos Básicos	
As (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,013)
Ba (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,006)
Hg (μgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,013)
Pb (mgL^{-1})	= valor medido \pm (valor medido \times 0,036)

Con los datos de las incertidumbres para las muestras de residuos, se concluye que hay aproximadamente un 95% de probabilidad de que el valor verdadero de la concentración de los metales validados (Anexo D Tabla 1, 2, 3 y 4) en una muestra de residuo, se encuentre dentro del intervalo dado por el valor obtenido al analizar la muestra y su incertidumbre.

Los resultados fueron obtenidos sometiendo el método TCLP a una norma técnica Colombiana (NTC 17025), como lo hacen otros laboratorios bajo una normatividad existente, generando un reporte real y conciso sobre un residuo, como lo exigen las Políticas de Calidad Ambiental.³² Con los parámetros del laboratorio y los equipos, los residuos pueden evaluarse como peligrosos o no en el Laboratorio de Calidad Ambiental Chemilab S.A.S, para realizar un debido tratamiento antes de su disposición³³, teniendo datos reales que permitan definir sus características tóxicas.

6.3 RESUMEN DE LAS METODOLOGÍAS VALIDADAS

En los anexos, se muestra las pruebas de normalidad aplicadas para continuar con el análisis estadístico, según correspondan con pruebas paramétricas o no paramétricas en la metodología estandarizada, los porcentajes de recuperación para cada una de las curvas analizadas por EAA y demás datos obtenidos en el desarrollo del proyecto.

7. CONCLUSIONES

1. Se implementó la metodología 1311 (TCLP) de la EPA US para la determinación de Arsénico, Bario, Mercurio y Plomo en residuos de cortes de perforación (Lodos), aplicable a otras matrices ambientales, por la técnica de espectroscopia de absorción atómica, bajo la resolución 0062 (IDEAM 2005), EPA SW-846 y la NTC 17025
2. Se implementaron procesos de digestión según el SM en los lixiviados de la muestras de residuos para determinar metales totales extraídos por TCLP con la técnica analítica de EAA implementada debidamente para cada metal.
3. Los límites de detección y de cuantificación son adecuados para cada curva de calibración en cada metal, están por debajo del primer nivel y permiten tener una cuantificación sensible a bajas concentraciones del metal.
4. Los resultados de las muestras están dentro de los intervalos del porcentaje de recuperación del método global, afirmando que la técnica es adecuada para la determinación de metales para este tipo de matrices (Lodos) con %C.V. inferiores al 3%.
5. La incertidumbre para el análisis de las muestras se calcula con un t experimental menor al t crítico obtenido de los resultados estadísticos aplicados para todos los metales validados, calculando la incertidumbre expandida a partir de la incertidumbre total combinada, observando que la incertidumbre del método proviene con mayor proporción de las fuentes aleatorias que de las fuentes sistemáticas.
6. Los datos obtenidos en la validación provienen de una población de datos normales permitiendo aplicar pruebas estadísticas paramétricas como ANOVA, para determinar las diferencias significativas en los resultados obtenidos en base a repetitividad y precisión intermedia del método.
7. Se concluye que el método 1311 TCLP para la determinación de metales en residuos queda debidamente implementado en el laboratorio Chemilab S.A.S, siendo un método robusto, sensible, preciso, exacto, lineal y reproducible.
8. Se estableció el Procedimiento de muestreo para todo tipo de residuo sólido, semisólido y líquido, teniendo como referencia: La *Resolución 0062 del IDEAM*, Los procedimientos de muestreo para suelos y aguas aplicados por el laboratorio Chemilab S.A.S. y la Norma Técnica Colombiana NTC 17025, realizando cadenas de vigilancia y custodia para los residuos.

9. Se estableció el PER 024 aplicando el método 1311 TCLP de la Norma EPA SW-846, para la separación de las fases del residuo, determinación del porcentaje de sólidos totales y obtención del lixiviado para los residuos,
10. Se elaboraron los respectivos formatos de captura de datos, protocolos de ensayo e instructivos técnicos en residuos, necesarios para llevar a cabo de manera clara la determinación de metales en los lixiviados del residuo.
11. El laboratorio ChemiLab S.A.S. extendió su alcance en el muestreo y análisis de matrices de residuos sólidos, semisólidos y líquidos, para la determinación de metales por EAA según la *Resolución 0062 de 2005 del IDEAM*, aplicando las metodologías de digestión del Standard Methods (SM) y llevando a cabo la validación del método 1311 (TCLP) de la EPA US SW—846.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Z.L. He, X.E. Yanga, P.J. Stoffellab, Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment, Rev. J. Trace Elem. Med. Biol. 19 (2005) 125-140.
2. Herbert E. Allen, Chin P. Huang, George W. Bailey. METAL SPECIATION AND CONTAMINATION OF SOIL. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Lewis Publishers is an imprint of CRC. Press International Standard Book Number 0-87371-697-3 1995. Pag 313, Pag 319, Pag 344,
3. Decreto 4741 30 de Diciembre 2005. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial República de Colombia.
4. Resolución 0062. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia 2005.
5. US Environmental Protection Agency. Method 1311 – toxicity characteristic leaching procedure (TCLP), 35 p, July 1992.
6. Louisiana Administrative Code. Title 43, part XIX. December 2008.
7. Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración
8. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia 2005
9. CASTILLO A., Beatriz, GONZÁLEZ H., Rolando. Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la cuantificación de Fármacos. Revista Cubana de Farmacología.
10. UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Validation of Compendial Methods. USP Capítulo. [en línea]:
11. Miller, J., Miller, J. ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA Para Química Analítica. 4ª Edición. Editorial Prentice Hall. España. 2000. 278p.
12. SKOOG, D. Principios De Análisis Instrumental. 5ª Edición. Editorial Mcgraw Hill. España. 2001.

13. IDEAM. Programa de Físico-química Ambiental. Protocolo estandarización de métodos analíticos. Bogotá, 1999. 10 p.
14. Jhon Edward Cattle. ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY, TECHNIQUES AND INSTRUMENTATION IN ANALYTICAL CHEMISTRY. Vol 5. Ed ELSEIVIER. ISBN 0 4 4 4 2 0 1 5 4 Pag 47- 50.
15. Silfredo J. Sáez Ruiz. Luis Font Avila. INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION TÉORIA Y PRÁCTICA. Maracay Estado de Aragua. Febrero del 2001
16. GTC 51: Guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones.
17. Espectroscopia de absorción atómica, [EN LINEA] <<http://es.scribd.com/doc/35172981/Espectroscopia-de-Absorcion-Atomica>> [Consulta: 20 de Noviembre de 2012]
18. Andrew D. EATON. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER. Centennial edition. 21st Edition. 2005. SM 3030 E, SM 3111 B, SM 3111D.
19. EPA US. Acid digestion of sediments sludge's and soils. Method 3050 B. December 1996.
20. US Environmental Protection Agency. Method 7470A – mercury in liquid waste (manual cold-vapor technique), 6 p, September 1994.
21. Morand, Enzo E.1 - Giménez, María C.1 - Benitez, Mónica E.1 - Garro, Oscar A. Determinación de arsénico en agua por espectrometría de absorción atómica con generación de hidruro (HG-AAS). Cátedra de Química Analítica General. Facultad de Agroindustrias - UNNE.
22. Tony Jong, David L. Parry. EVALUATION OF THE STABILITY OF ARSENIC IMMOBILIZED BY MICROBIAL SULFATE REDUCTION USING TCLP EXTRACTIONS AND LONG-TERM LEACHING TECHNIQUES. Environmental Analytical Chemistry Unit, School of Science and Primary Industries, Faculty of Education, Australia. 14 December 2004.
23. COTTON, F.A.; WILKINSON, G.; MURILLO, C.A.; BOCHMAN, M. "Advanced Inorganic Chemistry: A Comprehensive Text", 6th Ed., Wiley & Sons, 1999.
24. GREENWOOD, N.N. & EARNSHAW, A. "Chemistry of the Elements", 2^a ed., Butterworth-Heinemann, 1997.
25. Jeanne Mager Stellman. ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO. Ed Chantal Dufresne, BA. ISBN: 84-7434-998-2, año 1999.

26. US Environmental Protection Agency, 1996. Toxicity characteristic leaching procedure (TCLP): method 1311. In: Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd Edition. (Revision III, December 1996).
27. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. "Determinación de Metales Pseudototales en Suelos y Bioabonos y Metales Totales en Forrajes, por Espectrofotometría Atómica - Llama Directa, Espectrofotometría Atómica – Horno de Grafito y Emisión por Plasma – (Digestión Abierta a Reflujo)". 31/01/2008.
28. M.G. Goergen, V.F. Murshak, P. Roettger, I. Murshak, D. Edelman, ICP-MS ANALYSIS OF TOXIC CHARACTERISTICS LEACHING PROCEDURE (TCLP) EXTRACT: ADVANTAGES AND DISADVANTAGES, At. Spectrosc. 13 (1) (1992) 11–18.
29. Cheryl E. Halim, Rose Amala, Donia Beydoun, Jason A. Scott, Gary Low. EVALUATING THE APPLICABILITY OF A MODIFIED TOXICITY CHARACTERISTIC LEACHING PROCEDURE (TCLP) FOR THE CLASSIFICATION OF CEMENTITIOUS WASTES CONTAINING LEAD AND CADMIUM. Centre for Particle and Catalyst Technologies, School of Chemical Engineering and Industrial Chemistry, Australia 11 July 2003.
30. McNAUGHT, A.D., WILKINSON, A. IUPAC. Compendium Of Chemical Terminology, 2nd Ed. (The "Gold Book"). Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). [en línea]: <http://goldbook.iupac.org/L03540.html> [citado en febrero 9 de 2009]
31. Sorini, S.S., Jackson, L.P. EVALUATION OF THE TOXICITY CHARACTERISTIC LEACHING PROCEDURE (TCLP) ON UTILITY WASTES. Nuclear and Chemical Waste Management 8, 217–223 1988.
32. J. Hansen, C. Reed, M. Scudese, L. Lazarus, F. Park, TECHNICAL ASSISTANCE DOCUMENT FOR COMPLYING WITH THE TC RULE AND IMPLEMENTING THE TOXICITY CHARACTERISTIC LEACHING PROCEDURE (TCLP), Report No. EPA-902-B-94-001, United States Environmental Protection Agency, 1994.
33. George Skodras, Panagiotis Grammelis, Maria Prokopidou, Emmanuel Kakaras, George Sakellarpoulos. CHEMICAL, LEACHING AND TOXICITY CHARACTERISTICS OF CFB COMBUSTION RESIDUES. Chemical Process Engineering Laboratory, Chemical Engineering Department, Aristotle University of Thessaloniki Greece, 14 de Julio 2007.

ANEXOS

Anexo A

Tabla 1. Pruebas de normalidad de valores de Absorbancia en función de la linealidad durante los 7 días de validación

	DÍAS DE VALIDACIÓN	Kolmogorov-Smirnov(a)		
		Estadístico	gl	Sig.
ARSÉNICO	1	0,185	5	0,200(*)
	2	0,186	5	0,200(*)
	3	0,183	5	0,200(*)
	4	0,185	5	0,200(*)
	5	0,184	5	0,200(*)
	6	0,185	5	0,200(*)
	7	0,181	5	0,200(*)
BARIO	1	0,185	5	0,200(*)
	2	0,180	5	0,200(*)
	3	0,175	5	0,200(*)
	4	0,179	5	0,200(*)
	5	0,188	5	0,200(*)
	6	0,180	5	0,200(*)
	7	0,176	5	0,200(*)
MERCURIO	1	0,285	5	0,200(*)
	2	0,284	5	0,200(*)
	3	0,285	5	0,200(*)
	4	0,283	5	0,200(*)
	5	0,285	5	0,200(*)
	6	0,283	5	0,200(*)
	7	0,285	5	0,200(*)
PLOMO	1	0,195	5	0,200(*)
	2	0,188	5	0,200(*)
	3	0,196	5	0,200(*)
	4	0,188	5	0,200(*)
	5	0,195	5	0,200(*)
	6	0,185	5	0,200(*)
	7	0,183	5	0,200(*)

Tabla 2. Pruebas de normalidad de valores de Absorbancia en función de los niveles de concentración.

	NIVEL($\mu\text{g-L}^{-1}$)	Kolmogorov-Smirnov(a)		
		Estadístico	gl	Sig.
ARSÉNICO	20,0	0,215	7	0,200(*)
	30,0	0,235	7	0,200(*)
	50,0	0,176	7	0,200(*)
	60,0	0,214	7	0,200(*)
	80,0	0,150	7	0,200(*)
BARIO	NIVEL(mg-L^{-1})			
	1,00	0,435	7	0,200(*)
	2,00	0,338	7	0,200(*)
	4,00	0,258	7	0,200(*)
	7,00	0,241	7	0,200(*)
MERCURIO	NIVEL($\mu\text{g-L}^{-1}$)			
	3,00	0,121	7	0,200(*)
	5,00	0,216	7	0,200(*)
	10,0	0,219	7	0,200(*)
	30,0	0,172	7	0,200(*)
PLOMO	NIVEL(mg-L^{-1})			
	1,00	0,185	7	0,200(*)
	2,00	0,216	7	0,200(*)
	4,00	0,195	7	0,200(*)
	7,00	0,227	7	0,200(*)
	10,0	0,129	7	0,200(*)

Tabla 3. Pruebas de normalidad para los % Recuperación de los niveles de concentración en las curvas de calibración

	Niveles de concentración	Shapiro-Wilk			
		Estadístico	gl	Sig.	
ARSENICO	20	0,783	5	0,159	
	30	0,934	5	0,623	
	Porcentaje Recuperación	50	0,937	5	0,643
	60	0,901	5	0,415	
	80	0,847	5	0,184	
BARIO	1	0,602	5	0,064	
	2	0,816	5	0,109	
	Porcentaje recuperación	3	0,776	5	0,065
	4	0,721	5	0,076	
	5	0,793	5	0,071	
PLOMO	1	0,788	5	0,065	
	2	0,827	5	0,132	
	Porcentaje Recuperación	3	0,926	5	0,566
	4	0,940	5	0,665	
	5	0,846	5	0,182	
MERCURIO	3	0,949	5	0,730	
	5	0,902	5	0,422	
	Porcentaje recuperación	10	0,880	5	0,310
	30	0,889	5	0,355	
	50	0,974	5	0,901	

Anexo B
Porcentajes de recuperación para las curvas de Calibración

Arsénico										
□ ppb curva 1	□ ppb curva 2	□ ppb curva 3	□ ppb curva 4	□ ppb curva 5	% R CURVA 1	% R CURVA 2	% R CURVA 3	% R CURVA 4	% R CURVA 5	% R prom
21,12	21,13	21,07	21,17	21,00	99,96	100,05	99,94	100,05	99,96	99,99
29,29	29,16	29,24	29,14	29,44	99,94	99,99	99,89	99,94	99,95	99,94
49,13	49,47	49,39	49,24	49,28	100,02	99,96	100,01	99,95	99,90	99,97
59,70	59,51	59,61	59,77	59,47	99,91	99,98	99,94	99,92	99,99	99,95
80,75	80,73	80,70	80,67	80,81	99,96	99,90	100,03	99,91	100,03	99,97
Bario										
□ ppm curva 1	□ ppm curva 2	□ ppm curva 3	□ ppm curva 4	□ ppm curva 5	% R CURVA 1	% R CURVA 2	% R CURVA 3	% R CURVA 4	% R CURVA 5	% R prom
0,95	0,98	1,00	0,94	0,95	99,80	99,80	99,82	99,75	98,80	99,59
1,98	1,95	1,98	1,96	2,01	99,80	99,86	99,80	99,81	99,92	99,84
4,13	4,07	4,02	4,14	4,11	99,89	99,82	99,88	99,87	99,89	99,87
6,96	7,04	7,01	7,01	6,91	99,94	99,92	99,95	99,90	99,70	99,88
9,99	9,95	9,99	9,95	10,03	99,90	99,50	99,90	99,50	100,00	99,76
Mercurio										
□ ppb curva 1	□ ppb curva 2	□ ppb curva 3	□ ppb curva 4	□ ppb curva 5	% R CURVA 1	% R CURVA 2	% R CURVA 3	% R CURVA 4	% R CURVA 5	% R prom
3,18	3,12	3,14	3,14	3,13	99,75	99,94	99,81	99,91	99,99	99,88
4,91	4,89	4,97	4,94	4,92	99,25	99,34	99,30	99,48	99,34	99,34
9,91	10,01	9,94	10,06	9,91	99,06	100,11	99,37	100,60	99,15	99,66
29,98	29,96	29,89	29,67	30,05	99,92	99,87	99,62	98,92	100,16	99,70
50,03	50,03	50,08	50,18	49,99	99,85	99,88	99,74	99,91	99,98	99,87
Plomo										
□ ppm curva 1	□ ppm curva 2	□ ppm curva 3	□ ppm curva 4	□ ppm curva 5	% R CURVA 1	% R CURVA 2	% R CURVA 3	% R CURVA 4	% R CURVA 5	% R prom
1,05	1,08	1,07	1,04	1,04	100,06	100,08	100,02	100,07	100,08	100,0
2,00	1,96	1,99	1,95	1,96	99,99	99,92	99,33	99,33	99,78	99,67
3,90	3,97	3,91	4,00	4,02	99,53	99,31	97,73	100,09	100,56	99,44
7,04	6,92	7,00	7,02	6,95	100,54	98,80	99,96	100,33	99,31	99,79
10,01	10,07	10,03	9,99	10,03	100,08	100,07	100,03	99,89	100,01	100,0

Anexo C

Tabla 1. Datos de las muestras para el cálculo de las incertidumbres para Bario y Plomo

BARIO

NIVEL	NB	CONC REAL	% R	NIVEL	NA	CONC REAL	% R
M RB	1,17	1,179	100,744	M RA	6,99	6,9937	99,998
M RB	1,17	1,171	100,033	M RA	6,99	7,021	100,389
M RB	1,17	1,1057	94,451	M RA	6,99	6,9673	99,621
M RB	1,17	1,187	101,399	M RA	6,99	7,0177	100,341
M RB	1,17	1,194	101,997	M RA	6,99	7,007	100,189
M RB	1,17	1,2077	103,165	M RA	6,99	6,9337	99,14
M RB	1,17	1,1497	98,21	M RA	6,99	7,0163	100,322
	x	1,17	100		x	6,99	100
	s	0,03396			s	0,03242	
	%cv	2,9			%cv	0,46	
Promedio, Xp			0,117	2,049			
Desv estándar, s			0,0037	0,025			
RSD			0,031	0,012			
RSD†				0,024			
No. de datos, n			7	7			

PLOMO

NIVEL	NB	CONC REAL	% R	NIVEL	NA	CONC REAL	% R
M RB	1,21	1,2133	100,086	M RA	7,16	7,2247	100,835
M RB	1,21	1,211	99,894	M RA	7,16	7,224	100,825
M RB	1,21	1,2097	99,784	M RA	7,16	7,254	101,244
M RB	1,21	1,2093	99,756	M RA	7,16	7,1413	99,672
M RB	1,21	1,218	100,471	M RA	7,16	7,0177	97,946
M RB	1,21	1,2137	100,114	M RA	7,16	7,1093	99,225
M RB	1,21	1,211	99,894	M RA	7,16	7,183	100,253
	x	1,21	100		x	7,16	100
	s	0,00301			s	0,08231	
	%cv	0,25			%cv	1,15	
Promedio, Xp			1,212	7,165			
Desv estándar, s			0,003	0,082			
RSD			0,002	0,011			
RSD†				0,008			
No. de datos, n			7	7			

Tabla 2. Datos de las muestras para el cálculo de las incertidumbres para Arsénico y Mercurio

ARSÉNICO

NIVEL	NB	CONC REAL	% R	NIVEL	NA	CONC REAL	% R
M RB	22,04	22,081	100,193	M RA	55,996	56,015	100,034
M RB	22,04	22,102	100,288	M RA	55,996	56,071	100,134
M RB	22,04	22,035	99,984	M RA	55,996	56,053	100,102
M RB	22,04	22,012	99,88	M RA	55,996	56,112	100,207
M RB	22,04	22,034	99,98	M RA	55,996	55,789	99,63
M RB	22,04	22,007	99,857	M RA	55,996	56,021	100,044
M RB	22,04	21,998	99,817	M RA	55,996	55,912	99,85
	x	22,04	100		x	56	100
	s	0,03917			s	0,11047	
	%cv	0,18			%cv	0,2	
Promedio, Xp			22,038	55,996			
Desv estándar, s			0,0392	0,11			
RSD			0,002	0,002			
RSDf				0,002			
No. de datos, n			7	7			

MERCURIO

NIVEL	NB	CONC REAL	% R	NIVEL	NA	CONC REAL	% R
M RB	3,241	3,246	100,159	M RA	35,09	35,031	99,831
M RB	3,241	3,164	97,628	M RA	35,09	35,068	99,936
M RB	3,241	3,183	98,215	M RA	35,09	35,192	100,289
M RB	3,241	3,289	101,485	M RA	35,09	35,035	99,842
M RB	3,241	3,184	98,246	M RA	35,09	35,082	99,976
M RB	3,241	3,347	103,275	M RA	35,09	35,134	100,124
M RB	3,241	3,273	100,992	M RA	35,09	35,091	100,002
	x	3,24	100		x	35,09	100
	s	0,06724			s	0,05685	
	%cv	2,07			%cv	0,16	
Promedio, Xp			3,241	35,09			
Desv estándar, s			0,0672	0,057			
RSD			0,021	0,002			
RSDf				0,015			
No. de datos, n			7	7			

Anexo D

Tabla 1. Plantilla de validación para Bario

Identificación de la muestra	Bk	Rb	RA	M1T	M1Ta	M1Tb	M2T
Día							
14-ago-02	0,00	1,00	9,96	1,18	1,54	2,039	6,99
15-ago-12	0,00	0,94	9,96	1,17	1,55	2,043	7,02
16-ago-22	0,00	0,97	9,98	1,11	1,49	2,037	6,97
17-ago-32	0,00	0,99	9,95	1,19	1,61	2,037	7,02
20-ago-12	0,00	1,01	9,98	1,19	1,56	2,044	7,01
21-ago-12	0,00	0,94	9,95	1,21	1,62	2,043	6,93
23-ago-12	0,00	0,99	10,01	1,15	1,56	2,04	7,02
Promedio (xprom)	0,00	0,978	9,969	1,171	1,561	2,041	6,994
Desviación estándar (s)	0,00	0,027	0,021	0,034	0,042	0,003	0,032
Desviación promedio (sprom)	0,00	0,02	0,02	0,02	0,03	0,00	0,02
CV, %	0,00	2,78	0,21	2,90	2,71	0,15	0,46
% Error	0,00	2,22	0,31	2,45	0,09	0,06	0,09
% Recuperación	N.A.	98	100	98	100	100	100
Número de datos	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Mínimo	0,00	0,94	9,95	1,11	1,49	2,04	6,93
Máximo	0,00	1,01	10,01	1,21	1,62	2,04	7,02
Intervalo	0,00	0,07	0,06	0,10	0,12	0,01	0,09
T bajo	0,00	1,35	1,02	1,91	1,67	1,25	1,85
T alto	0,00	1,37	1,80	1,09	1,29	0,99	0,84
t(n-1)	0,00	3,57	4,57	2,57	2,57	2,57	2,57

Tabla 2. Plantilla de validación para PLOMO

Identificación de la muestra	Bk	Rb	RA	M1T	M1Ta	M1Tb	M2T
Día	0,00						
14-ago-02	0,00	1,04	9,99	1,21	1,50	2,045	7,22
15-ago-12	0,00	1,07	10,03	1,21	1,55	2,049	7,22
16-ago-22	0,00	1,05	10,01	1,21	1,53	2,035	7,25
17-ago-32	0,00	1,05	10,01	1,21	1,53	2,047	7,14
20-ago-12	0,00	1,08	10,07	1,22	1,53	2,047	7,02
21-ago-12	0,00	1,07	10,03	1,21	1,54	2,041	7,11
23-ago-12	0,00	1,04	10,03	1,21	1,54	2,04	7,18
Promedio (xprom)	0,00	1,058	10,024	1,212	1,532	2,044	7,165
Desviación estándar (s)	0,00	0,017	0,025	0,003	0,015	0,005	0,082
Desviación promedio (sprom)	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	0,00	0,06
CV, %	0,00	1,61	0,25	0,25	0,97	0,23	1,15
% Error	0,00	5,84	0,24	NA	1,80	0,18	2,36
% Recuper	N.A.	106	100	NA	98	100	102
Número de datos	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Mínimo	0,00	1,04	9,99	1,21	1,50	2,04	7,02
Máximo	0,00	1,08	10,07	1,22	1,55	2,05	7,25
Intervalo	0,00	0,04	0,08	0,01	0,05	0,01	0,24
T bajo	0,00	1,24	1,35	0,98	2,07	1,86	1,79
T alto	0,00	1,37	1,81	1,90	0,99	1,04	1,08
t(n-1)	0,00	3,57	4,57	2,57	2,57	2,57	2,57

Tabla 3. Plantilla de validación para Arsénico

Identificación de la muestra	Bk	Rb	RA	M1T	M1Ta	M1Tb	M2T
Día	0,00						
03/09/2012	0,00	21,15	80,76	22,08	28,61	37,381	56,02
04/09/2012	0,00	21,09	80,61	22,10	28,63	37,416	56,07
05/09/2012	0,00	21,12	80,75	22,04	28,60	37,436	56,05
06/09/2012	0,00	21,13	80,73	22,01	28,60	37,387	56,11
07/09/2012	0,00	21,07	80,70	22,03	28,58	37,376	55,79
08/09/2012	0,00	21,17	80,67	22,01	28,61	37,435	56,02
10/09/2012	0,00	21,00	80,81	22,00	28,61	37,42	55,91
Promedio (xprom)	0,00	21,104	80,719	22,038	28,607	37,407	55,996
Desviación estándar (s)	0,00	0,057	0,063	0,039	0,015	0,026	0,110
Desviación promedio (sprom)	0,00	0,04	0,05	0,03	0,01	0,02	0,08
CV, %	0,00	0,27	0,08	0,18	0,05	0,07	0,20
% Error	0,00	5,52	0,90	NA	0,02	0,02	0,01
% Recuper	N.A.	106	101	NA	100	100	100
Número de datos	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Mínimo	0,00	21,00	80,61	22,00	28,58	37,38	55,79
Máximo	0,00	21,17	80,81	22,10	28,63	37,44	56,11
Intervalo	0,00	0,17	0,19	0,10	0,05	0,06	0,32
T bajo	0,00	1,81	1,65	1,03	1,52	1,23	1,88
T alto	0,00	1,17	1,36	1,62	1,62	1,12	1,05
t(n-1)	0,00	3,57	4,57	2,57	2,57	2,57	2,57

Tabla 4. Plantilla de validación para Mercurio

Identificación de la muestra	Bk	Rb	RA	M1T	M1Ta	M1Tb	M2T
Día	0,00						
03/09/2012	0,00	3,15	50,08	3,25	4,12	5,392	35,03
04/09/2012	0,00	3,11	50,00	3,16	4,28	5,409	35,07
05/09/2012	0,00	3,18	50,03	3,18	4,17	5,428	35,19
06/09/2012	0,00	3,12	50,03	3,29	4,25	5,401	35,04
07/09/2012	0,00	3,14	50,08	3,18	4,17	5,392	35,08
08/09/2012	0,00	3,14	50,18	3,35	4,24	5,400	35,13
10/09/2012	0,00	3,13	49,99	3,27	4,30	5,29	35,09
Promedio (xprom)	0,00	3,139	50,054	3,241	4,220	5,388	35,090
Desviación estándar (s)	0,00	0,024	0,065	0,067	0,065	0,044	0,057
Desviación promedio (sprom)	0,00	0,02	0,05	0,05	0,05	0,03	0,04
CV, %	0,00	0,75	0,13	2,07	1,54	0,82	0,16
% Error	0,00	4,62	0,11	NA	0,47	0,23	0,26
% Recuper	N.A.	105	100	NA	100	100	100
Número de datos	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Mínimo	0,00	3,11	49,99	3,16	4,12	5,29	35,03
Máximo	0,00	3,18	50,18	3,35	4,30	5,43	35,19
Intervalo	0,00	0,07	0,19	0,18	0,18	0,14	0,16
T bajo	0,00	1,21	1,00	1,14	1,49	2,18	1,05
T alto	0,00	1,71	1,94	1,58	1,22	0,92	1,79
t(n-1)	0,00	3,57	4,57	2,57	2,57	2,57	2,57

