

**IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN DE Ca,  
Mg y Fe EN AGUAS RESIDUALES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN  
ATÓMICA EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS  
CONSTRUCSUELO SUMINISTRO LTDA.**

**YEFERSON VALENCIA VENTE**



**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
POPAYÁN  
2016**

**IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN DE Ca, Mg y Fe EN AGUAS RESIDUALES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS CONSTRUCSUELO SUMINISTRO LTDA.**

**YEFERSON VALENCIA VENTE**

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

**DIRECTOR**

**Ph.D. EDIER HUMBERTO PEREZ  
DIRECTOR GRUPO DE INVESTIGACION EN AGROQUIMICA**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
POPAYÁN  
2016**

**Nota de Aceptación**

---

---

---

---

---

**Director**

---

**Ph D. EDIER HUMBERTO PEREZ**

**Jurado**

---

**Ph D. MARICELA SOLARTE O.**

**Jurado**

---

**Ph D. JOHNNY V. GUTIÉRREZ P.**

**Popayán, 1 Marzo 2017**

## DEDICATORIA

*Esta tesis se la dedico a Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y levantarme siempre encada caída, por darme fuerza para con el tiempo, obtener el conocimiento y sabiduría para cumplir esta meta.*

*Dedico este trabajo de grado a toda mi familia, por su apoyo, consejos, comprensión y ayuda en los momentos difíciles, a Cirilo Venté que siempre confió y se esmeró igual que mí, por ayudarme con los recursos necesarios para lograr esta meta.*

*A mis amigos por estar siempre presente, acompañándome y apoyándome cuando más los necesito.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*A Dios todo poderoso por darme la oportunidad de lograr este triunfo personal, darme salud, sabiduría y entendimiento para cumplir esta meta.*

*A mí querida madre Elena venté Arrechea por ser incondicional y darme su apoyo, a mis hermanos, a mi familia. Gracias por existir y que Dios los bendiga siempre.*

*A la Universidad del Cauca y al departamento de Química.*

*A los profesores Edier Humberto Pérez e Isabel Bravo Realpe por guiarme, por todas sus atenciones y su valiosa colaboración prestada para llegar y conseguir mis objetivos trazados.*

*Al profesor German Cuervo Ochoa que cuando sentí que la vida se me derrumbaba, él me dio su apoyo y no me dejó caer, por darme más que su enseñanzas, enseñarme que en la vida siempre se tiene principio.*

*A todos mis amigos y compañeros por su apoyo y a todos los profesores que me brindaron su conocimiento.*

*A los jurados por su recepción y colaboración en el mismo.*

*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.*

*Muchas gracias por todo.*

	Contenido	Pág.
1.	RESUMEN	14
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3.	OBJETIVOS	17
3.1.	OBJETIVO GENERAL	17
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4.	FUNDAMENTO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE	18
4.1.	AGUAS RESIDUALES	18
4.2.	CARACTERÍSTICA DE LOS METALES EN AGUA RESIDUAL	18
4.2.1.	Hierro en agua residual	18
4.2.2.	Calcio en agua residual	19
4.2.3.	Magnesio en agua residual	19
4.3.	NORMAS INTERNACIONALES ISO/IEC 17025	20
4.4.	IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS	21
4.5.	FIGURAS DE MÉRITO ANALÍTICO	21
4.5.1.	Acreditación	21
4.5.2.	Exactitud	21
4.5.3.	Precisión	22
4.5.4.	Límite de detección (LOD)	22
4.5.5.	Límite de cuantificación (LOQ)	23
4.5.6.	Límite de detección instrumental	23
4.5.7.	Linealidad	23

4.5.8. Sensibilidad	24
4.5.9. Repetibilidad	24
4.5.10. Precisión intermedia	24
4.5.11. Incertidumbre	24
5. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	29
5.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON LLAMA DIRECTA (EAA-LL)	30
5.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA- VAPOR FRIO (EAA-VF)	30
5.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERADOR DE HIDRURO (EAA-GH)	31
5.4. INTERFERENCIAS	31
5.4.1. Interferencias químicas	31
5.4.2. Interferencias espectrales	32
6. METODOLOGÍA	33
6.4. PREVALIDACIÓN	33
6.5. EQUIPOS Y REACTIVOS	33
6.6. IMPLEMENTACIÓN	34
6.6.1. Lavado del material	34
6.6.2. Metodología de calibración de material usado	34
6.6.3. Implementación de la metodología en la determinación de metales	34
6.7. IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA	35
6.7.1. Preparación de la muestra	36

6.7.2. Digestión de la muestra para determinar metales totales	36
6.7.3. Adición o dopaje de las muestras	36
7. ANÁLISIS DE MUESTRA	37
7.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS RESULTADOS	38
7.5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	38
7.6. LINEALIDAD INSTRUMENTAL PARA CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO	39
7.7. PRECISIÓN INSTRUMENTAL PARA CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO	48
7.8. LIMITES CRÍTICOS PARA CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO	51
7.9. IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍAS PARA CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO	52
7.10. IMPLEMENTACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS DE CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO EN AGUA RESIDUAL	55
7.11. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO EN AGUA MEDIANTE LA METODOLOGÍA DE FUENTES GLOBALES.	57
8. RESUMEN DE LAS METODOLOGIAS IMPLEMENTADAS	62
9. CONCLUSIONES	63
10. BIBLIOGRAFIA	64



## Indicé de tablas

	Pag.
Tabla 1. Codificación de muestras de aguas residuales	37
Tabla 2. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental de calcio, magnesio y hierro.	39
Tabla 3. Prueba de normalidad de datos en función del día Shapiro-Wilk	40
Tabla 4. Prueba de normalidad de datos en función del nivel de concentración	40
Tabla 5. ANOVA para absorbancia Vs Nivel de concentración	41
Tabla 6. Prueba de Duncan (post hoc) entre nivel de concentración absorbancia	42
Tabla 7. ANOVA para absorbancia vs día	43
Tabla 8. Evaluación de la linealidad instrumental para el calcio, magnesio y hierro	45
Tabla 9. Correlación de Pearson para evaluar la linealidad de las curva de calcio, magnesio y hierro	46
Tabla 10. Test de regresión lineal para evaluación estadística de m y b	47
Tabla 11. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal.	47
Tabla 12. Curva de calibración bajo condiciones de repetibilidad.	48
Tabla 13. Curvas de calibraciones bajo condición de precisión intermedia	49
Tabla 14. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia para calcio, magnesio y hierro.	50
Tabla 15. Calculo del límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).	52
Tabla 16. Exactitud y precisión del método calcio, magnesio y hierro.	53

Tabla 17	Prueba estadística de homogeneidad de varianza calcio, magnesio y hierro.	54
Tabla 18	Exactitud para la metodología global en la determinación de calcio, magnesio y hierro con base en la mediana.	55
Tabla 19	Resultados en la determinación de calcio, magnesio y hierro soluble y total en muestras de aguas residuales	56
Tabla 20.	Estimación de la contribución de las fuentes aleatorias calcio, magnesio y hierro	57
Tabla 21	Estimación de la contribución de las fuentes sistemáticas calcio, magnesio y hierro	58
Tabla 22.	Evaluación de la significancia entre el factor 1 y el factor de recobro calcio, magnesio y hierro	59
Tabla 23.	Calculo de la incertidumbre del método en la medición de calcio, magnesio y hierro	59
Tabla 24.	Contribución de las fuentes de incertidumbre de calcio, magnesio y hierro	60
Tabla 25.	Resumen de las metodologías implementadas	62

## Índice de figuras

		Pág.
Figura 1.	Curva de calibración del calcio	44
Figura 2.	Curva de calibración del magnesio	44
Figura 3.	Curva de calibración del hierro	44
Figura 4.	curva de calibración del calcio bajo condiciones de repetibilidad	51
Figura 5.	Curva de calibración del magnesio bajo condiciones de repetibilidad	51
Figura 6.	Curva de calibración del hierro bajo condiciones de repetibilidad	52
Figura 7.	Contribución de las fuentes de incertidumbre de calcio	50
Figura 8.	Contribución de las fuentes de incertidumbre de magnesio	60
Figura 9.	Contribución de las fuentes de incertidumbre de hierro	61

## ACRÓNIMOS

AA : Aire-acetileno

ANOVA: Análisis de varianza

b : Intercepto en la curva en el eje Y

CV : Coeficiente de variación

EAA : Espectroscopia de Absorción atómica

EPA : Environmental protection angecy US

FOR : Formato

gl : Grados de libertad.

Ha : Hipótesis alternativa

Ho : Hipótesis nula

IDEAM: Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales

IT : Instructivo técnico

LOD : Límite de detección.

LOQ : Límite de cuantificación.

m : Pendiente de la curva

PEA : Procedimiento de ensayo de aguas

r : Coeficiente de correlación

$r^2$  : Coeficiente de regresión

R : Recuperación.

RSD : Desviación estándar relativa.

RSDt : Desviación estándar relativa total.

S : Desviación estándar

SM : Standard methods for the examination of water and wastewater.

SPSS: Statistical Product and Service solutions.

SR<sub>p</sub> : Desviación estándar relativa de los recuperados.

PGC : Proceso de gestión de calidad

## 1. RESUMEN

Se implementaron metodologías analíticas necesarias para la determinación de calcio, hierro y magnesio en aguas residuales, mediante la técnica analítica de espectroscopía de absorción atómica (EAA), con la cual se contribuyó al proceso de ampliación del alcance de acreditación del laboratorio de aguas de Construcsuelos Suministro Ltda. Las metodologías fueron basadas en las normas internacionales, Standard methods for the examination of water and wastewater y la Enviromental Protection Agency US (EPA).

Se realizaron curvas de calibración para cada metal con estándares de concentraciones conocidas, con el propósito de determinar la linealidad, repetibilidad y rango de trabajo lineal, seguidamente se implementó el procesos de digestión para la determinación de metales totales. Se evaluaron de forma experimental los criterios estadísticos; exactitud, precisión, límite de detección, sensibilidad, linealidad, incertidumbre y porcentaje de recuperación: los cuales soportan el criterio de confianza de las metodologías planteadas y de los métodos analíticos utilizados cumpliendo con la norma ISO/IEC 17025 y procedimientos del sistema de gestión de calidad del laboratorio.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con el paquete estadístico Statical Product and Service solutions (SPSS) versión 15.0. Las metodologías planteadas cumplieron con los parámetros estadísticos requeridos como linealidad y precisión instrumental registrando coeficientes de variación menores al 5%, Los límites de detección y de cuantificación son adecuados para cada curva de calibración en cada metal, registrándose por debajo del primer nivel de concentración y permiten tener una cuantificación sensible a bajas concentraciones. Los porcentajes de recuperación están entre el 95-106 % logrando obtener metodologías sensible y lineal bajo los parámetros trabajados las cuales son adecuadas para la cuantificación de Ca, Mg y Fe en agua residual.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los recursos hídricos son fuente principal de abastecimiento que favorece el desarrollo socio-económico y ambiental de una región. Con el uso de este recurso natural en la industria, la agricultura, y para el servicio humano se le adiciona impurezas, que terminan en las fuentes hídricas superficiales como receptores de aguas residuales y servidas que se generan en los municipios, afectando su calidad<sup>1</sup>. El agua dependiendo del uso para lo cual se requiera debe cumplir unas condiciones determinadas las cuales están establecidas y reguladas por la autoridad ambiental encargada de regular su aprovechamiento y manejo. Los entes de control ambientales se han interesado por estimar el impacto antrópico sobre los cuerpos de aguas por medio de la evaluación físico química y microbiológica; estableciendo los parámetros y los valores máximos permisibles en vertimientos puntuales a las fuentes hídricas y suelos<sup>2</sup>.

El aumento de la población mundial no solo ha ejercido presión sobre los recursos hídricos que cada vez son más limitados, sí no que también ha traído consigo el aumentos en la generación de residuos; sin embargo, la mayor parte de los residuos generados, no se tratan en absoluto o son parcialmente tratados, sobre pasando los estándares recomendados antes de ser vertidos en ríos, arroyos y lagos. Los cuerpos hídricos son receptores de vertimientos de origen industrial o municipal, residuos agrícolas y drenaje de minas, los cuales son liberados al medio ambiente<sup>1</sup>. Estos vertimientos contienen gran número de diferentes metales. Entre ellos Ca, Mg, y Fe. Estos elementos principalmente producen cambio en la característica fisicoquímica del agua; color, dureza, salinidad, también generan problemas industriales produciendo incrustaciones en los ductos por los que se transportan y reducen la vida útil de las torres de enfriamiento y calderas. La alta concentración de Ca y Mg constituyen, el principal problema de salinidad y alcalinidad de los suelos estos disminuye la posibilidad de uso para riego agrícola<sup>3,4</sup>.

Las aguas residuales deben ser tratadas antes de ser vertidos o reutilizadas. (Normatividad colombiana decreto 3570 2011, resolución 1207 2014. Por la cual se adoptan disposiciones relacionadas con el uso de aguas residuales tratadas).

Sin embargo la mayor parte de estas aguas no reciben un tratamiento adecuado que garanticen los límites permitidos en la normatividad antes de ser descargadas en los efluentes. Por lo tanto las entidades reguladoras deben de contar con laboratorios certificados que de manera confiable permitan determinar las características fisicoquímicas de los vertidos y de los metales presentes. Por esto la importancia de tener laboratorios con metodologías implementadas con capacidad de evaluar el estado de las aguas residuales obteniendo resultados fiables. En este caso para Ca, Mg y Fe. Estos metales pueden determinarse satisfactoriamente por espectroscopia de absorción atómica, esta técnica es muy sensible, precisa y permite determinar metales o elementos individuales presente

en una muestra en concentraciones de parte por millón ppm; además evita la utilización de metodologías tediosa de separación para eliminar interferencia , lo que la hace una técnica rápida, sencilla y útil para determinar elementos alcalinos, alcalinotérreos y metales pesados en cualquier tipo de muestra a la cual sea posible transformar en una matriz soluble<sup>5,6,7</sup>.

Conscientes de la importancia de la calidad en los procesos analíticos, el laboratorio de calidad ambiental Construcsuelos Suministro Ltda. 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 el cual le permitió lograr su acreditación por el IDEAM para producir información cuantitativa, física y química para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes según resolución No 1965 de 2011.El laboratorio pone a disposición todos los recursos tanto técnicos como humanos necesarios para adelantar dichos procesos para que por medio de un convenio celebrado con la Universidad del Cauca, se realice la ampliación el alcance de la acreditación a la determinación de Ca, Mg y Fe en agua residual.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Implementar las metodologías analíticas necesarias para la determinación de calcio, magnesio y hierro en agua residual por espectroscopia de absorción atómica de llama. En el laboratorio de análisis de aguas CONSTRUCSUELOS SUMINISTRO LTDA.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Implementar la metodología analítica 3111B de la EPA SW-486, y los procesos de digestión establecidos por el Standard Methods para la determinación de Calcio, Magnesio y Hierro en agua residual por espectroscopia de absorción atómica de llama.

Determinar los parámetros: exactitud, precisión (repetibilidad y precisión intermedia), límites de detección y de cuantificación, incertidumbre, sensibilidad e intervalo lineal para cada metodología de los metales a implementar.

Realizar el respectivo procedimiento de ensayos de aguas (PEA), tanto para la digestión como para la determinación de los metales.

Elaborar los formatos de captura de datos para la implementación y análisis de muestras y los instructivos técnicos (IT) necesarios en el proceso de determinación de metales.

Contribuir a la ampliación del alcance de acreditación del laboratorio de análisis de aguas de CONSTRUCSUELOS SUMINISTRO LTDA, mediante la implementación de metodologías analíticas para la determinación de Calcio, Magnesio y Hierro en agua residual utilizando la técnica analítica de Espectroscopia de Absorción Atómica.

## 4. FUNDAMENTO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE

### 4.1. AGUAS RESIDUALES.

Son cualquier tipo de agua o residuos líquidos que contiene impurezas o contaminantes, cuya calidad ha sido afectada por influencias antropogénicas. Las aguas residuales contienen contaminantes en forma de sólidos, líquidos o gases, en una concentración tal que es dañino si se desecha en el entorno sin un previo tratamiento. La FAO define aguas residuales como: Agua que no tiene valor inmediato para el fin para el que se utilizó ni para el propósito para el que se produjo debido a su calidad, cantidad o al momento en que se dispone de ella. No obstante, las aguas residuales de un usuario pueden servir de suministro para otro usuario en otro lugar. Las aguas de refrigeración no se consideran aguas residuales<sup>3,4,8</sup>.

### 4.2. CARACTERÍSTICA DE LOS METALES EN AGUA RESIDUAL.

#### 4.2.1. El hierro en el agua residual.

La mayor preocupación sobre la contaminación de agua se ha centrado en la contaminación asociada con la actividad humana. La contaminación de aguas por hierro está asociada con las actividades mineras y los procesos geoquímicos que a menudo generan drenaje ácido, un fenómeno común asociado a las actividades mineras. Este se produce cuando la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) presente en las minas se expone al contacto con el aire y el agua en presencia de bacterias oxidantes como; *Thiobacillus ferrooxidans*, y se oxidan para producir sulfatos metálicos y ácidos.



A su vez el Fe(II) se oxida para formar Fe(III) de la siguiente manera:



Este proceso no solo deriva en la liberación de cationes de  $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$ , sino que también aumenta la acidez de las aguas. El hierro también, es liberado al medio ambiente debido a los procesos industriales en la obtención de acero, fábricas de imanes y pinturas entre otras.

El hierro es relativamente soluble en aguas naturales y existe como ión ferroso  $\text{Fe}^{2+}$ ; por la exposición al aire o por la adición de cloro el hierro se oxida a férrico  $\text{Fe}^{3+}$  y se puede hidrolizar para formar el óxido férrico hidratado insoluble. Esta es la forma en que se encuentra el hierro en la mayor parte de las muestras en el laboratorio, a no ser que las muestras se tomen bajo condiciones específicas para

evitar la oxidación. El estado del hierro también se puede alterar como resultado de la proliferación de bacterias ferruginosas durante su transporte o almacenamiento. En desechos ácidos, a un pH inferior a 3.5, también puede ser soluble el hierro en el estado férrico<sup>7</sup>.

La estabilidad de las distintas formas químicas del hierro depende del pH, condiciones oxidantes o reductoras del medio, composición de la solución, presencia de materia orgánica acomplejantes. La presencia de hierro puede afectar la potabilidad del agua y, en general es un inconveniente en las aguas industriales por dar lugar a depósitos e incrustaciones, puede darle al agua un sabor, olor y un color rojizo indeseable. Esta coloración está relacionada con tuberías hechas en hierro o aleaciones con alto porcentaje del mismo<sup>9,10</sup>.

#### **4.2.2. Calcio en agua residual.**

El calcio en la forma de ion  $\text{Ca}^{2+}$ , es uno de los mayores cationes inorgánicos, o ion positivo, en las aguas. Este se puede originar de la disociación de sales, tales como cloruro de calcio o sulfato de calcio en aguas.

El ion calcio  $\text{Ca}^{2+}$ , forma sales moderadas mente soluble e insoluble. Precipita fácilmente como  $\text{CaCO}_3$  y contribuye a la dureza del agua.

El calcio pasa al agua por disolución cuando proviene de sulfatos (especialmente de yesos muy solubles) y silicatos, o por la acción del  $\text{CO}_2$  disuelto en el agua cuando se trata de Ca presente en caliza (carbonato de calcio  $\text{CaCO}_3$ ) y dolomita (carbonato de calcio y magnesio  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ).

Las aguas residuales de diversas industrias generan un incremento del metal en el medio, debido a actividades tales como prefabricado de la construcción (terrazo, fibrocemento, corte de piedras canterías), industrial alimentaria (azúcar, ácido tartárico) e industria de papel.

Los altos niveles de calcio no se consideran un problema para la salud, el valor máximo permitido para agua potable 50mg/L, sin embargo por encima de ese valor puede ser problemático debido a que conduce a la obstrucción de las tuberías, calderas e intercambiadores de calor<sup>8</sup>, para el caso de uso industrial.

#### **4.2.3. Magnesio en agua residual.**

El magnesio se distribuye de forma natural en el medio ambiente; encontrándose en agua del mar, ríos y en minerales, entre ellos la dolomita (carbonato de calcio y magnesio  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ) y la magnesita (carbonato de magnesio  $\text{MgCO}_3$ ). El magnesio se desprende de las rocas y va a parar al agua.

El magnesio tiene muchos propósitos y consecuentemente finaliza en el agua de maneras muy distintas. La industria química añade magnesio al plástico y a otros materiales como medida de protección contra el fuego o como material de relleno. También finaliza en el medio ambiente como fertilizante y como alimento de ganado. El sulfato de magnesio se aplica en la industria cervecera, y el hidróxido de magnesio se aplica como floculante en plantas de tratamiento de aguas residuales. Las aleaciones de magnesio se utilizan en la construcción de carros y aviones.

El magnesio es un mineral alimentario para todos los organismos excepto para los insectos. Es el átomo central de la molécula de la clorofila, y por lo tanto es una sustancia necesaria para la función fotosintética de las plantas. El magnesio se presenta principalmente como  $Mg^{2+}$  (aq) en soluciones acuosas, pero también como  $MgOH^+$  (aq) y  $Mg(OH)_2$  (aq). En el agua de mar puede presentarse como  $MgSO_4$ .

Las pautas que establecen el contenido máximo de magnesio en el agua potable son bastante relativas, ya que no se le atribuyen efectos negativos en seres humanos y en animales. Los problemas ambientales provocados por la presencia de magnesio en agua, hacen referencia a la salinidad que aportan a los suelos y la dureza del agua, que limitan su uso a nivel industrial<sup>7,8</sup>.

### **4.3. NORMAS INTERNACIONALES 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 apoyar 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 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 confiables. 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<sup>12,13</sup>.

#### **4.4. IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS.**

Hoy en día, los laboratorios deben demostrar que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables y adecuados para su finalidad o propósito, ya que muchas de las decisiones que se toman están basadas en la información que estos resultados proporcionan. La implementación de las metodologías junto a otras actividades englobadas en el control del aseguramiento de la calidad, permite demostrar a los laboratorios que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables.

Implementar un método analítico consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a unos determinados requisitos, previamente establecidos por el usuario, para poder resolver un problema analítico particular. Estos requisitos son los que definen los parámetros o criterios de calidad que debe poseer el método a utilizar para resolver el problema analítico. Los criterios de calidad pueden ser de tipo estadístico o bien de tipo operativo/ económico<sup>14</sup>.

#### **4.5. FIGURAS DE MÉRITOS ANALÍTICOS.**

En la implementación de metodologías analíticas se obtiene evidencia las cuales son tratadas estadísticamente para arrojar resultados o figuras de mérito analítico, que permiten concluir la funcionalidad de la técnica aplicada. A continuación se citan dichos parámetros.

##### **4.5.1. 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 ambientales<sup>14,15</sup>. 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

##### **4.5.2. 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)<sup>16,17</sup>

$$\%recuperación = \frac{\text{valor obtenido}}{\text{valor esperado}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

#### 4.5.3. Precisión.

Es la medida del grado de la repetibilidad o concordancia 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 y el coeficiente de variación*<sup>13,14,15</sup>.

La desviación estándar, “S”, expresa la desviación de los valores con respecto 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).

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

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

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<sup>9,10</sup>.

**4.5.4. 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 3,14 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<sup>20,21</sup>. Se ha definido como 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.

**4.5.5. Límite de cuantificación (LOQ).** Se define como la mínima concentración de analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con una precisión y exactitud considerable bajo las condiciones que se lleva a cabo el método. Se ha sugerido el valor determinado por la ecuación<sup>15,22</sup>.

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

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.

**4.5.6. Límite de detección instrumental.** 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<sup>16,22</sup>.

$$LDI = 1.645xS_{blanco} \quad \text{Ecuación 6.}$$

**4.5.7. 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<sup>15,16,20</sup>.

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.

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

Donde:  $x$  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 ecuaciones 8 y 9.

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

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

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.

**4.5.8. 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<sup>17,23</sup>.

**4.5.9. 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<sup>20,21</sup>.

**4.5.10. 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<sup>15,16</sup>.

**4.5.11. 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<sup>15,28</sup>.

*Incertidumbre Tipo A:* Componentes que pueden ser evaluados a partir de distribuciones estadísticas de series de resultados que pueden caracterizarse por desviación estándar<sup>20,25</sup>.

*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<sup>25</sup>.

*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<sup>20,25,26</sup>.



*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<sup>15,17</sup>.

*Pasos a seguir en el proceso de evaluación de la incertidumbre*

Se debe expresar matemáticamente la relación entre la magnitud Y y magnitudes de entrada X<sub>i</sub> (Ecuación 10).

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n) \quad \text{Ecuación 10}$$

Determinar el valor (X<sub>i</sub>) de cada una de las magnitudes de entrada mencionados anteriormente.

Evaluar la incertidumbre estándar U<sub>(xi)</sub> con que fue determinado cada valor X<sub>i</sub> e identificar fuentes de incertidumbre.

Existen dos (2) tipos de incertidumbre estándar:

Evaluación de la incertidumbre estándar tipo A. Se denomina “incertidumbre estándar” U<sub>i</sub>, a la desviación estándar experimental del valor medio de una serie de mediciones S<sub>(xi)</sub> (Ecuación 11 y 12).

$$U_i = \frac{S_{(xi)}}{n} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$U_{A(x_i)} = \frac{s^*(X_i)}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} * \frac{\sum_{j=1}^n \bar{X}_{ij} - X_{ij}}{\sqrt{n}}} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde:

Donde n = número de mediciones efectuados.

X<sub>i j</sub> = Es el valor de la magnitud X<sub>i</sub> en la medición j.

$\bar{X}_{i,j}$  = 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 (Ecuación 13).

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

Caso 2: La especificación de incertidumbre de un elemento de medición se indica respecto de un nivel de confianza (Ecuación 14).  $NC = m \% \gamma_{Ef}$  (grados de libertad) =  $n \therefore k = p$  (Ecuación 14)

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

Caso 3: La especificación de incertidumbre no es explícita si no que se da un límite máximo para el error del instrumento (+/- a) (Ecuación 15).

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

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  $\gamma_{Ef}$  y determinar mediante la fórmula de Welch-satterth waite (Ecuación 16):

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

Dónde:

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

$\gamma_i$  : n - 1 Para evaluaciones tipo A

$\gamma_i$  =  $\infty$  Cuando se apliquen distribuciones rectangulares.

$\gamma_i$  = 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  $\gamma_{Ef}$  y de nivel de confianza deseado.

**Cálculo de la Incertidumbre teniendo en cuenta las Fuentes Globales de Incertidumbre.** Se calcula con base en los resultados de evaluaciones de repetibilidad, reproducibilidad y Exactitud, de la siguiente forma<sup>21</sup>.

Se debe calcular inicialmente el promedio de los resultados obtenidos tanto a concentraciones bajas de analito, como a altas concentraciones (Ecuación 17).

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

Se calcula la desviación estándar de los resultados obtenidos (Ecuación 18).

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

Posteriormente se calcula la desviación estándar relativa de cada grupo de datos (Ecuación 19):

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

Se calcula la Desviación Estándar Relativa del total de datos  $RSDt$  (Ecuación 20).

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

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 (Ecuación 22).

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

Y la desviación estándar de los recuperados  $s_{Rp}$  (Ecuación 23).

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

También se debe calcular la incertidumbre en la recuperación promedio (Ecuación 24).

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

Se evalúa si el factor de recobro es significativamente diferente de 1 para un nivel de significancia ( $\alpha$ ) 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 mediante las ecuaciones 25, 26 y 27:

Incertidumbre combinada total ( $u_{ctotal}$ )

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

Incertidumbre expandida del método ( $u_{exp\ met}$ ) ( $\pm$ )

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

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

$$u = \bar{F}C \times u_{exp\ met} \quad \text{Ecuación 27}$$

## 5. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA

La espectroscopia de absorción atómica EAA es la medición de la absorción de radiación por los átomos libres, siendo que la cantidad total de absorción depende del número de átomos libres presentes y del grado en que los átomos libres puedan absorber la radiación.<sup>15,31</sup>

En la determinación cuantitativa de metales se hace necesario lograr una disolución homogénea de los metales presentes en una matriz de estudio para posteriormente utilizar un método analítico adecuado para su determinación. A menos que se requiera la determinación de metales suspendidos o solubles en matrices acuosas, la disolución total de metales se puede lograr con tratamiento de la matriz en medio ácido y calor o digestión. Los ácidos comúnmente usados en dicho proceso son el HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub>, su mezcla o su uso con agentes oxidantes neutros como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Las condiciones de digestión utilizadas en 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 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<sup>24,27</sup>.

La espectroscopia de absorción atómica por llama directa (FAA), 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 presentes en cualquier tipo de muestra a la cual sea posible transformar a una matriz soluble.

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; los límites de detección logrados son del orden de partes por millón (ppm). En esta técnica, los metales disueltos son llevados a su forma atómica elemental mediante calentamiento por una llama generada por una mezcla de gases combustibles. Las mezclas más empleadas son: aire-acetileno (AA) y óxido nitroso-acetileno (OA). 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 con cátodo del metal de interés o con lámparas de descarga sin electrodo. 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 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.<sup>16,22, 27.</sup>

### **5.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON LLAMA DIRECTA (EAA-LL).**

La Espectroscopia de Absorción Atómica por llama directa, 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 presentes en cualquier tipo de muestra a la cual sea posible transformar a una matriz soluble<sup>21</sup>.

### **5.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA - VAPOR FRIO (EAA-VF)**

Esta es una técnica aplicable solamente a la determinación de mercurio, ya que es el único elemento metálico de la tabla periódica con la característica especial de ser líquido y a que tiene una alta presión de vapor a temperatura ambiente. Existen numerosas formas químicas de mercurio, incluyendo vapores de mercurio elemental (Hg), cationes mercurioso (Hg (I)), mercúrico (Hg (II)) y compuestos de mercurio orgánico<sup>18</sup>. Con este método todo el mercurio en forma iónica es reducido para formar vapor de mercurio elemental usando un reductor como el cloruro estañoso SnCl<sub>2</sub>, bajo condiciones estándar de reacción<sup>19</sup>. 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 el

cual estando acoplado al equipo de generación de hidruros, me permite cuantificar por Absorción Atómica a 253,7nm de longitud de onda.

### **5.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERADOR DE HIDRUROS (EAA-GH).**

Esta técnica permite cuantificar en el orden de ppb o ultra trazas elementos como As, Se, Hg, Sn, Sb, Ge, Bi y Te, que tiene la propiedad de formar el hidruro correspondiente, elementos que son difíciles de volatilizar con una llama u horno de grafito, o que generan vapores como en el caso del Hg<sup>17</sup>. 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<sup>20</sup>. La muestra disuelta en ácido diluido<sup>21</sup> se mezcla con un agente reductor, tal como una solución de zinc y ácido clorhídrico, cloruro de estaño (SnCl<sub>2</sub>) o boro hidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>). Una vez formado el hidruro gaseoso 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.

### **5.4. INTERFERENCIAS.**

En los métodos de absorción atómica se presentan dos tipos de interferencias. Las interferencias químicas que se producen como consecuencia de diversos procesos químicos que ocurren durante la atomización y que alteran las características de absorción del analito, y las interferencias espectrales que se producen cuando la absorción de una especie interferente se solapa o aparece muy próxima a la absorción del analito, de modo que su resolución por el monocromador resulta imposible.<sup>16,22</sup>

**5.4.1. Interferencias químicas.** En las interferencias químicas sus efectos se pueden reducir con frecuencia mediante una elección adecuada de las condiciones de operación.

**Formación de compuestos poco volátiles.** Los aniones oxigenados, los fosfatos y los sulfatos producen compuesto de baja volatilidad con el analito los cuales afectan la velocidad de atomización; lo que origina resultados menores que los esperados. Estas interferencias pueden atenuarse aumentando la temperatura y/o empleando cationes que reaccionan con el interferente impidiendo su interacción con el analito.

**Interferencia por ionización.** Este tipo de interferencia ocurre cuando la temperatura de la flama es muy alta y el elemento pierde fácilmente uno o más de

sus electrones más exteriores, esto ocurre en elementos de bajos potenciales de ionización, alcalinos térreos y lantánidos.

***Equilibrio de disociación.*** En el ambiente gaseoso, caliente, de una llama o un horno, numerosas reacciones de disociación y asociación que conducen a la conversión de constituyentes metálicos en estado elemental. Las bandas moleculares surgen de la presencia de óxidos metálicos o hidróxidos en la llama, afectando la emisión y absorción de la llama.

**5.1.2. Interferencias espectrales.** En la EAA se hace incidir radiación de longitud de onda que corresponde exactamente a la longitud de onda requerida para efectuar una transición específica en los átomos de la especie absorbente. Aunque existe la posibilidad de que una especie atómica que no sea de nuestro interés absorba radiación incidente, causando superposición de líneas. Las interferencias espectrales también se producen por la presencia de producto de combustión, que posee bandas de absorción anchas, o de producto de forma de partículas, que dispersan la radiación. Disminuyendo el potencial de haz transmitido dando lugar a errores positivos.



## 6. METODOLOGIA

### 6.1. PREVALIDACIÓN

Siguiendo los procesos establecidos en el laboratorio ambiental de Construcsuelos y suministros Ltda, se dio inicio a la etapa de pre validación de la siguiente manera.

- Se seleccionó el método analítico y se realizaron los procedimientos necesarios para la determinación de Ca, Mg y Fe en agua residual, de acuerdo a los materiales y reactivos existente en el laboratorio.
- Se realizó un inventario de equipos, reactivos necesarios para el proceso de implementación de las metodologías analíticas (identificación, cantidad, calidad, pureza), del material de vidrio y demás, señalando las cantidades necesarias para lograr un procedimiento exitoso.
- Se definió el intervalo de trabajo para la determinación de Ca, Mg y Fe, teniendo en cuenta: protocolos, normas establecidas, ensayos preliminares realizados en el laboratorio y rangos de concentraciones esperados en la muestra de agua residual.
- Se verificó el correcto funcionamiento de, los equipos, espectrofotómetro de absorción atómica, neveras, campana extractoras, desionizador, planchas de calentamiento, material de medición de volúmenes y elementos de laboratorio (material de vidrio). En algunos casos mediante ensayos preliminares de acuerdo el protocolo de verificación y calibración para cada uno, en otros casos se emplearon los certificados.
- Se optimizaron las condiciones y parámetros instrumentales, donde se incluye digestiones y curvas de calibración utilizadas para los metales a determinar.
- Se crearon los formatos para consignar la información hallada a medida que avance el proceso de implementación, siendo congruentes con el proceso de gestión de calidad (PGC ) de elaboración y control de documentos del laboratorio Construcsuelos y suministro Ltda
- Se creó un procedimiento detallado para la digestión de muestras, preparación de soluciones, estándares, muestra y análisis de muestras.

### 6.2. EQUIPOS Y REACTIVOS.

Se utilizó un equipo de espectroscopia absorción atómica marca shimadzu 7000 A, con sus respectivas lámparas de cátodo hueco (Ca, Mg y Fe). Los patrones de

metales fueron de 1000 mg/L marca Panreac, el agua utilizada cumplió con una conductividad menor a 2  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , el software usado en el equipo fue el Winrrad y el paquete estadístico es el SPSS (versión 15)

### **6.3. IMPLEMENTACIÓN.**

El proceso de implementación 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 de acuerdo con los atributos que describen la técnica analítica, para lo cual se establece 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 y las bibliografía aportada por el IDEAM

#### **6.3.1. Lavado del material**

Se debe garantizar que todo el material a utilizar debe estar completamente limpio. El material de vidrio se lavó en una solución de jabón neutro o detergente no iónico, donde se dejó durante 5 horas aproximadamente, luego se enjuagó con abundante agua de la llave y en seguida con abundante agua desionizada. Posteriormente se dejó en una solución de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) al 10% durante 4 horas aproximadas, luego se enjuaga con abundante agua desionizada, de tal forma que el pH del agua de lavado final sea igual al pH del agua desionizada. Finalmente se dejó secar en un sitio apropiado para evitar la contaminación<sup>17,21</sup>.

#### **6.3.2. Metodología de calibración de material usado**

Se calibró el material de vidrio volumétrico de acuerdo al proceso de gestión de calidad (PGC) de calibración y verificación de material de vidrio existente en Construcsuelos suministro Ltda. Se revisaron sus respectivos certificados de calidad suministrados por el proveedor. Se verificó la calibración de dos transferpipetas (una de 1000 – 100  $\mu\text{L}$  y otra de 2000 – 100  $\mu\text{L}$ ), 1 Handy step electrónica, y una balanza analítica que de 4 cifras decimales.

#### **6.3.3. Implementación de metodologías en la determinación de metales**

➤ **Preparación de las curvas de calibración.** Inicialmente se preparó una solución intermedia de 100 mg/L para cada metal. Las cuales fueron preparada a partir de soluciones patrón PANREAC de  $1000 \pm 0.002 \text{mg/L}$ . se prepararon soluciones de trabajo con el propósito de obtener curvas de calibración en un rango línea para cada metal, graficando absorbancia en función de la

concentración y determinando el respectivo coeficiente de correlación para cada metal. Todos los patrones se prepararon con solución de ácido nítrico al 2%.

- **Verificación del sistema instrumental.** La verificación del sistema instrumental se llevó a cabo con la preparación de curvas de calibración para cada metal, en agua desionizada acidulada, las cuales fueron sometidas al proceso de digestión para el análisis de metales totales. con los datos se elaboró un gráfico de absorbancia en función de concentración y se determinó el respectivo coeficiente de correlación. Se evaluó la linealidad, precisión en término de precisión intermedia y límites críticos. Para la confiabilidad de los resultados se aplicó un tratamiento estadístico mediante el software estadístico SPSS (Versión 15).
- **Linealidad instrumental:** Se evaluaron 5 niveles de concentración para cada metal durante 7 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología. Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas se usaron para evaluar la linealidad instrumental en el rango de trabajo establecido para cada metal, permitieron concluir la linealidad instrumental.
- **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.
- **Límites críticos:** Se prepararon 3 curvas de calibración las cuales se analizaron 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 ( $m_{\text{prom}}$ ). Finalmente se aplicó la ecuación 5 para establecer teóricamente el valor para el límite de cuantificación (LOQ).

#### 6.4. IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA.

De acuerdo con el PGC de validación en aguas existente en Construcciones Suministro Ltda. Se utilizó una muestra de agua residual obtenida del punto MANSIONES DEL NORTE ubicado al norte de la ciudad de Neiva, con las siguientes coordenadas geográficas (latitud  $0.2^{\circ}57'28,7''$  longitud  $075^{\circ}18'04,9''$ ), la cual fue tomada por el personal cualificado y capacitado del laboratorio. Las

muestras fueron ingresadas al laboratorio de acuerdo al IT de ingreso de muestras y de codificación existente en Construcsuelos Suministro Ltda.

#### **6.4.1. Preparación de las muestras:**

- **Codificación:** La codificación de las muestras incluyendo blancos, patrones, estándares de chequeo y muestras, se basó teniendo en cuenta los PGC de validación y el IT de manejo de muestras de Construcsuelos Suministro Ltda.
- **Conservación de las muestras:** Se tomaron dos fracciones de muestra una para la determinar metales disueltos, y la otra para determinar metales totales:

Metales totales. Para el análisis de metales totales las muestras fueron acidificadas a pH 2 con ácido nítrico luego de ser tomada con el propósito de minimizar la adsorción de metales en las paredes del recipiente. Una vez acidificada la muestra se preservaron a una temperatura de 4°C hasta su análisis.

Metales disueltos. Para el análisis de metales disueltos se realizó una filtración previa de la muestra colectada sin acidificar.

Se tomó un papel filtro de membrana con porosidad de 0.45µm y colocarlo en el equipo de filtración al vacío de vidrio o de plástico, previamente lavado. El filtro se trató con una solución de ácido nítrico 1N y lavado con agua desionizada antes de su uso. Se filtró un volumen de 3.0 L de la muestra sin acidificar. Los primeros 50 a 100 mL para enjuagar el frasco. Posteriormente se acidificó la muestra a pH 2 con ácido nítrico concentrado y conservó a una temperatura de 4°C para su posterior análisis.

#### **6.4.2. Digestión de las muestras determinación de metales totales.**

Se tomó una alícuota de 50 mL de muestra, se le adicionó 5 mL de ácido nítrico y 1 mL de peróxido de hidrogeno al 30%, se sometió a baño maría a  $92 \pm 3$  °C en una cabina de extracción. La muestra se evaporó sin ebullición hasta tener un volumen cercano a 10 mL. Una vez terminado el proceso se transfirió a balones aforados en forma cuantitativa filtrando a través de papel filtro 0.45µm.

#### **6.4.3. Adición o dopaje de las muestras:**

Se realizó la implementación de los metales antes descritos sobre matrices de aguas residuales. Se realizaron dos procedimientos, el primero corresponde a metales solubles, tomando la muestra y filtrándola por un filtro de 0,45µm de diámetro y el segundo es metales totales en la muestra digestada de acuerdo con las metodologías propuestas por el SM<sup>17</sup>.

Para la implementación se cuantificó la cantidad de metales presentes en una muestra de agua residual, con esa información se hicieron adiciones o dopajes de los metales a determinar en tres niveles de concentración buscando evaluar todo el rango de trabajo de la siguiente manera.

Cerca al nivel 1, estándar de rango bajo se tomó muy cerca al primer punto de la curva para cada metal con los valores de 0,8 mg/L Ca, 0,08mg/L Mg y 0,15 mg/L Fe.

Cerca al 50% del valor de la curva de calibración considerado como rango medio con valores de 2,5 mg/L Ca, 0,15 mg/L Mg y 0,8 mg/L Fe

Cerca del 70% de la curva de calibración considerado como rango alto con valores de 3,5 mg/L Ca, 0,35 mg/L Mg y 1,2 mg/L Fe.

Si la concentración del metal en cuestión fue muy alta, se realizaron diluciones hasta alcanzar concentraciones cercanas al nivel 1 de la curva, luego se realizaron los 3 dopajes antes mencionados. En la tabla 1 se relacionan las muestras a validar debidamente codificadas.

**Tabla 1. Codificación de muestras de aguas residuales.**

Muestra	Descripción	Codificación
Metales Solubles	Muestras natural metal soluble	M1S
	Muestra metal soluble adicionada con nivel rango bajo	M1Sb
	Muestra adicionada con nivel rango medio	M1Sm
	Muestra adicionada con nivel rango alto	M1Sa
Metales Totales	Muestras natural metal total	M1T
	Muestra adicionada con nivel rango bajo	M1Tb
	Muestra adicionada con nivel rango medio	M1Tm
	Muestra adicionada con nivel rango alto	M1Ta

## 7.0. ANÁLISIS DE MUESTRAS

Inicialmente se prepararon los respectivos patrones para cada curva de calibración, con un previo lavado del material, y, se realizó el tratamiento respectivo a las muestras para determinar metales solubles y totales. Posteriormente se ajustaron las condiciones apropiadas del equipo: longitud de onda, ancho de rendija, y quemador de acuerdo al tipo de llama necesario para el análisis.

Se consideró 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. Con el blanco de reactivos se ajustó el cero del equipo. Posteriormente se leyeron los patrones de la curva de calibración en orden ascendente.

En el análisis de calcio y magnesio tanto las curvas como las muestras se le adicionaron 10mL de  $\text{La}_2\text{O}_3$  al 1% antes de aforar, como modificador de la matriz para evitar la interferencia del fosfato, aluminio y silicio.

Las curvas y muestras para la determinación de hierro se trataron con 10 mL de solución de Ca. Con el propósito de mantener la estabilidad del Fe en el momento en la llama y así evitar interferencias por ionización.

Una vez terminada la lectura de los patrones, se aspiró el blanco de reactivos y se ajusta el cero de la lectura. Se lee los digeridos de las muestras. Se realizó cada lectura por triplicado. Los valores de absorbancia fueron registrados 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 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.

La determinación de Ca, Mg y Fe. Se llevó a cabo por aspiración directa en la llama del espectrómetro de absorción atómica con lámparas de cátodos huecos para cada elemento siguiendo las condiciones de uso recomendadas por el manual de instrucciones del equipo de absorción atómica SHIMADZU 7000 A.

## **7.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS RESULTADOS**

Con el objetivo de implementar las metodologías utilizadas, se aplicó un tratamiento estadístico a todos los resultados obtenidos, utilizando el paquete estadístico SPSS (versión 15). Se aplicaron pruebas de normalidad para determinar si los resultados provienen de una población normal y aplicar pruebas paramétricas como ANOVA o no paramétricas, según corresponda y a si evaluar si los resultados se encuentran en un 95% de confianza para los datos experimentales obtenidos.

## **7.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

El análisis de las muestras se realizó por triplicado durante siete días diferentes, una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. 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) empleando el software estadístico SPSS (Versión 15). 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.

### 7.3. LINEALIDAD INSTRUMENTAL PARA CALCIO, MAGNESIO Y HIERRO.

Los datos fueron tomados como se estableció en el apartado 6.3.3. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2. Absorbancia niveles de concentración Vs días curvas de calibración para análisis de la linealidad instrumental.**

Elemento	Concentración mg/L	Día						
		1	2	3	4	5	6	7
<b>Ca</b>	0,5	0,0384	0,0344	0,0374	0,0355	0,0360	0,0349	0,0348
	1,0	0,0683	0,0716	0,0667	0,0706	0,0697	0,0677	0,0670
	2,0	0,1318	0,1399	0,1308	0,1406	0,1354	0,1335	0,1324
	4,0	0,2625	0,2659	0,2608	0,2576	0,2743	0,2622	0,2615
	5,0	0,3328	0,3273	0,3315	0,3280	0,3349	0,3333	0,3359
<b>Mg</b>	0,05	0,1063	0,1044	0,1038	0,1043	0,1021	0,1036	0,1033
	0,1	0,1933	0,1969	0,1957	0,1943	0,1937	0,1956	0,1931
	0,2	0,3720	0,3741	0,3768	0,3745	0,3617	0,3694	0,3677
	0,3	0,5543	0,5542	0,5482	0,5528	0,5551	0,5565	0,5501
	0,4	0,7250	0,7272	0,7369	0,7343	0,7293	0,7252	0,7292
<b>Fe</b>	0,1	0,0184	0,0173	0,0160	0,0160	0,0153	0,0174	0,0171
	0,5	0,0622	0,0624	0,0582	0,0583	0,0627	0,0633	0,0574
	1,0	0,1127	0,1133	0,1078	0,1095	0,1152	0,1156	0,1166
	1,5	0,1692	0,1664	0,1594	0,1632	0,1765	0,1642	0,1732
	2,0	0,2246	0,2250	0,2133	0,2156	0,2308	0,2254	0,2252

A estos resultados se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk considerando que el número de datos es menor a 50, para determinar si se aplican pruebas paramétricas o no paramétricas, de acuerdo a si el valor de significancia ( $p$ ) de la prueba es superior o no a 0,05, (Tabla 3 y 4 ). Se planteó como hipótesis nula,  $H_0$ : “el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal” y como hipótesis alternativa,  $H_a$ : “Los datos obtenidos no provienen una población normal”. Los resultados se pueden ver en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Prueba de normalidad de datos en función del día Shapiro-Wilk.

Día	Ca		Mg		Fe	
	Est.	Sig.	Est.	Sig.	Est	Sig.
1	0,922	0,543	0,960	0,807	0,981	0,939
2	0,923	0,540	0,963	0,829	0,984	0,957
3	0,921	0,538	0,965	0,842	0,982	0,947
4	0,932	0,610	0,963	0,826	0,980	0,936
5	0,915	0,498	0,960	0,811	0,980	0,934
5	0,922	0,543	0,961	0,817	0,987	0,969
7	0,923	0,549	0,962	0,821	0,974	0,897

Est: estadístico, Sig: significancia

Tabla 4. Prueba de normalidad de datos en función del nivel de concentración

Nivel	Ca		Mg		Fe	
	Est	Sig.	Est	Sig	Est.	Sig.
1	0,899	0,325	0,945	0,688	0,950	0,728
2	0,933	0,577	0,918	0,456	0,814	0,056
3	0,874	0,201	0,942	0,652	0,922	0,489
4	0,854	0,134	0,928	0,535	0,974	0,928
5	0,923	0,495	0,899	0,325	0,860	0,150

Est: estadístico, Sig: significancia

Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro-Wilk encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística ( $p > 0.05$ ), como se puede observar en las tablas 3 y 4, por lo que se acepta la hipótesis nula y se aplican pruebas paramétricas de ANOVA con el propósito de establecer si existen diferencias significativas entre las medias de los valores de absorbancia en término de la linealidad instrumental para cada metal en los 5 niveles de concentración, La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Se aplicó la prueba ANOVA para saber si existen diferencias significativas entre las medias de los valores de absorbancia de cada uno de los 5 niveles de concentración. Los resultados se presentan en la tabla 5.



**Tabla 5. ANOVA para absorbancia Vs Nivel de concentración.**

Metal		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Ca	Inter-grupos	0,451	4	0,113	9339,230	0,000
	Intra-grupos	0,000	30	0,000		
	Total	0,451	34			
Mg	Inter-grupos	1,836	4	0,459	39146,636	0,000
	Intra-grupos	0,000	30	0,000		
	Total	1,836	34			
Fe	Inter-grupos	0,188	4	0,047	2580,801	0,000
	Intra-grupos	0,001	30	0,000		
	Total	0,189	34			

Los resultados obtenidos indica que la absorbancia difiere significativamente entre cada nivel de concentración ( $p < 0,05$ ). Para determinar en cuales niveles hay diferencia se aplica la prueba de Duncan como se puede observar en la tabla 6.

La prueba de Duncan. Indica siete grupos en donde cada absorbancia es significativamente diferente, se aprecia que la absorbancia de cada nivel de concentración es significativamente diferente con un valor de significancia ( $p > 0,05$ ), lo cual indica la relación lineal directa entre concentración y absorbancia, es decir el incremento en el nivel de concentración produce un incremento significativo y proporcional en el valor de absorbancia.

**Tabla 6. Prueba de Duncan (post hoc) entre nivel de concentración absorbancia.**

elemento	Nivel	N°	Subconjunto para alfa = 0,05				
			1	2	3	4	5
<b>Ca</b>	1	7	0,03617				
	2		0,0697				
	3			0,1344			
	4				0,2623		
	5					0,3300	
	sig		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<b>Mg</b>	1	7	0,10397				
	2		0,1946				
	3			0,3708			
	4				0,5530		
	5					0,7295	
	sig		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<b>Fe</b>	1	7	0,01678				
	2		0,0606				
	3			0,1139			
	4				0,1665		
	5					0,2228	
	sig		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Considerando el día como factor independiente se aplicó la prueba del ANOVA. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla 7. Donde Se observa que no existe diferencia significativa entre los valores de absorbancia de las diferentes concentraciones en los diferentes días del ensayo con una significancia estadística ( $p > 0,05$ ). Se encuentra que los resultados provienen de una población con distribución normal y se concluye que la absorbancia de cada concentración no presenta variación con el tiempo y por tanto, se establece que la metodología aplicada es reproducible. La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico

**Tabla 7. ANOVA para absorbancia vs día.**

Metal		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Ca</b>	Inter-grupos	0,000	6	0,000	0,001	1,000
	Intra-grupos	0,451	28	0,016		
	Total	0,451	34			
<b>Mg</b>	Inter-grupos	0,000	6	0,000	0,000	1,000
	Intra-grupos	1,836	28	0,066		
	Total	1,836	34			
<b>Fe</b>	Inter-grupos	0,000	6	0,000	0,001	1,000
	Intra-grupos	0,269	28	0,010		
	Total	0,269	34			

Como los datos de absorbancia difieren significativamente para cada nivel de concentración y a medida que incrementa el nivel de concentración incrementa la absorbancia. La tendencia lineal de los datos se evaluó a través de un gráfico relacionando la absorbancia respecto al nivel de concentración, la gráfica se muestra en la en las figuras 1, 2 y 3 para cada metal. Donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplica el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que relaciona la concentración con la absorbancia

Figura 1. Curva de calibración del calcio.

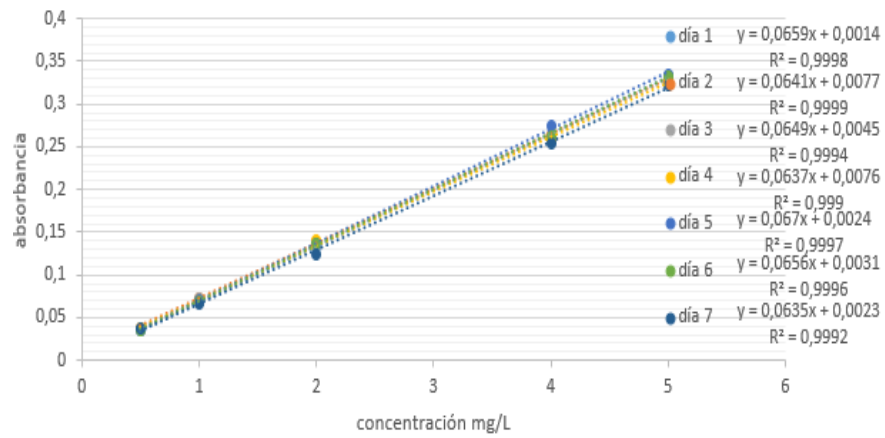


Figura 2. Curva de calibración de magnesio.

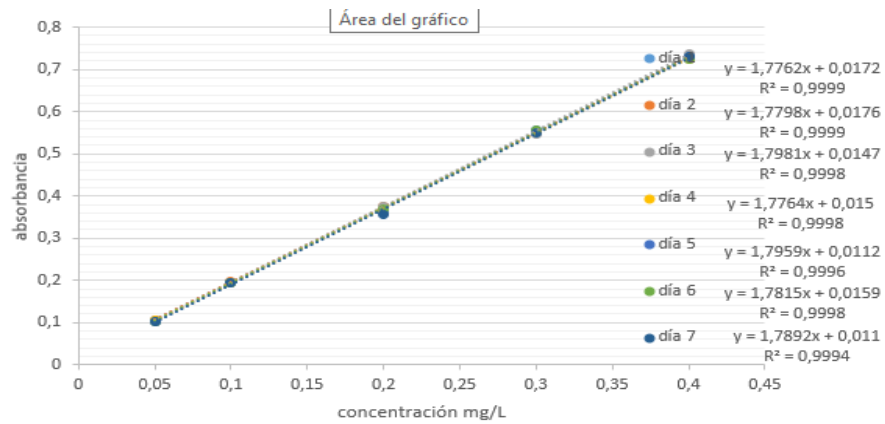
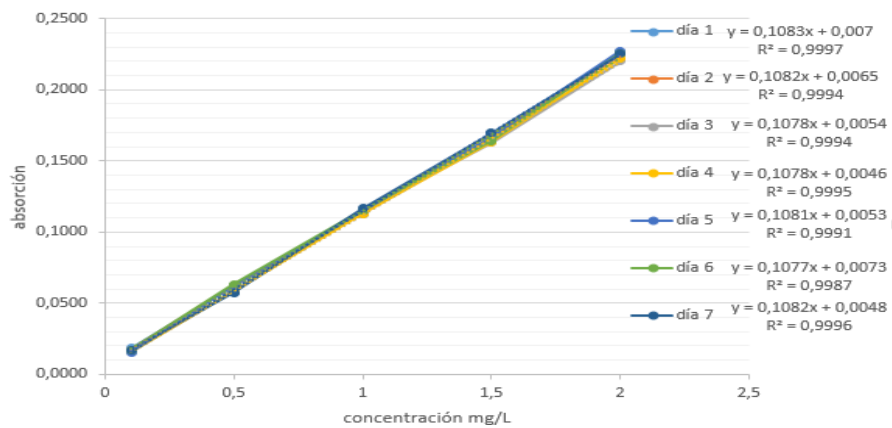


Figura 3. Curva de calibración de hierro.



Se determinaron los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación y se hallaron sus respectivas desviaciones estándar, obteniendo los resultados expresados en la tabla 8.

**Tabla 8. Evaluación de la linealidad instrumental para el calcio, magnesio y hierro.**

Metales	Parámetro	Símbolo	Valor	S	CV
<b>Ca</b>	Coeficiente de correlación	r	0,9995	0,0003	0,0329
	Pendiente	m	0,0650	0,0013	2,0
	Intercepto	b	0,0041	0,0026	
<b>Mg</b>	Coeficiente de correlación	r	0,9997	0,0002	0,018
	Pendiente	m	1,7853	0,0091	0,5
	Intercepto	b	0,0147	0,0026	
<b>Fe</b>	Coeficiente de correlación	r	0,9995	0,0004	0,04
	Pendiente	m	0,1081	0,0034	3,2
	Intercepto	b	0,0059	0,0011	

El correlación de las variables se evaluó estadísticamente teniendo como Ho: “No existe correlación significativa entre las variables x e y”. Para ello se realiza una prueba de significancia con el propósito de aceptar o rechazar la hipótesis nula (tabla 9).

En la tabla 9, se puede observar que la prueba de significancia tiene un valor de 0.000, tanto para calcio, magnesio y hierro, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una correlación altamente significativa entre la concentración y la absorbancia con un coeficiente de Pearson de 1.0

**Tabla 9. Correlación de Pearson para evaluar la linealidad de las curva de calcio, magnesio y hierro.**

Correlaciones		Ca		Mg		Fe	
		Abs	N.C	Abs	N.C	Abs	N.C
Abs	C.P	1	1,000	1	1,000	1	0,999
	Sig. B		0,000		0,000		0,000
	N	35	35	35	35	35	35
N.C	C.P	1,000	1	1,000	1	0,999	1
	Sig. B	0,000		0,000		0,000	
	N	35	35	35	35	35	35

Abs: absorbancia, N. C nivel de concentración, N número de datos, C.P correlacion de Pearson, Sig. B significancia bilateral

Para evaluar estadísticamente la pendiente (m) e intercepto (b) se tiene las siguientes hipótesis.

Para la pendiente se tiene como Ho: "la pendiente no es significativamente diferente de cero" la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig.  $\leq 0,05$ .

Para el intercepto se tiene como Ho: "El intercepto no es significativamente diferente de cero", la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig.  $\leq 0,05$ .

Los resultados se registran en la tabla 10, donde la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son menores a 0,05, por lo que se debe rechazar la hipótesis nula, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferente de cero para cada metal.

**Tabla 10. Test de regresión lineal para evaluación estadística de pendiente (m) e intercepto (b).**

Metal	modelo 1	Coeficiente no estandarizado		Coeficiente estandarizado Beta	t	Sig.
		B	Error típ.			
<b>Ca</b>	m	0,004	0,001		3,275	0,002
	b	0,065	0,000	0,999	156,319	0,000
<b>Mg</b>	m	0,015	0,001		13,179	0,000
	b	1,788	0,005	1,000	389,269	0,000
<b>Fe</b>	m	0,006	0,001		4,640	0,000
	b	0,108	0,001	0,999	104,905	0,000

Con el propósito de evaluar estadísticamente la regresión en la curva, se realizó un análisis de varianza (ANOVA); la cual se representa en la tabla 11.

**Tabla 11. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal.**

Metal	Modelo 1	Suma de cuadrados	gl gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Ca</b>	Regresión	0,443	1	0,443	24435,689	0,000
	residual	0,001	33	0,000		
	total	0,444	34			
<b>Mg</b>	Regresión	1,836	1	1,836	151530,6	0,000
	residual	0,000	33	0,000		
	total	1,836	34			
<b>Fe</b>	Regresión	0,189	1	0,189	11005,020	0,000
	residual	0,001	33	0,000		
	total	0,189	34			

Para evaluar la regresión lineal se tiene como hipótesis nula: “No existe 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 puede observar en la tabla 11, la significancia para la regresión es menor de 0,05 por lo

que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, lo cual nos permite concluir que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad permite concluir que el método es lineal en el rango entre (0,5 a 5,0 mg/L, 0,05 a 0,4mg/L 0,1 y 2,0 mg/L) empleado para determinar Ca, Mg y Fe respectivamente, con coeficientes de correlación superiores a 0,995 como la exige la norma para la determinación de metales por EAA, cumpliendo con la ley de Beer-Lambert.

#### 7.4. Precisión instrumental calcio, magnesio y hierro.

La precisión refleja la reproducibilidad de las medidas es decir, la cercanía entre los resultados obtenidos entre sí. Refleja el grado de concordancia entre ensayos independientes obtenidos bajo unas condiciones estipuladas. Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon tres curvas de calibración con cinco niveles de concentración las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 12.

**Tabla 12. Curva de calibración bajo condiciones de repetibilidad.**

Nivel	Ca			Mg			Fe		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0,0358	0,0375	0,0365	0,1071	0,1057	0,1061	0,0165	0,0154	0,0161
2	0,0713	0,0668	0,0691	0,1957	0,1919	0,1923	0,0591	0,0569	0,0590
3	0,1315	0,1326	0,1343	0,3728	0,3719	0,3714	0,1097	0,1073	0,1016
4	0,2645	0,2594	0,2585	0,5524	0,5513	0,5592	0,1591	0,1559	0,1645
5	0,3304	0,3313	0,3309	0,7278	0,7231	0,7242	0,2186	0,2148	0,2134

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon cinco curvas de calibración durante cinco días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados se expresan en la tabla 13.



**Tabla 13. Curvas de calibraciones bajo condición de precisión intermedia.**

Nivel	Días				
	1	2	3	4	5
<b>Ca</b>					
1	0,0348	0,0384	0,0344	0,0374	0,0355
2	0,0683	0,0716	0,0733	0,0706	0,0697
3	0,1318	0,1399	0,1308	0,1406	0,1354
4	0,2625	0,2659	0,2608	0,2576	0,2743
5	0,3328	0,3273	0,3315	0,3280	0,3349
<b>Mg</b>					
1	0,1034	0,1066	0.1086	0.0978	0.1021
2	0,1975	0,1965	0.1932	0.1912	0.1946
3	0,3705	0,3753	0.3677	0.3675	0.3725
4	0,5517	0,5435	0.5503	0.5546	0.5501
5	0,7283	0,7348	0.7288	0.7247	0.7326
<b>Fe</b>					
1	0.0172	0.0171	0.0162	0.0165	0.0153
2	0.0613	0.0633	0.0587	0.0591	0.0612
3	0.1159	0.1159	0.1063	0.1097	0.1124
4	0.1648	0.1684	0.1572	0.1591	0.1765
5	0.2237	0.2237	0.2166	0.2186	0.2301

Se determinó el porcentaje de coeficiente de variación (%CV) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la tabla 14.

**Tabla 14. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia para calcio, magnesio y hierro.**

Nive	Repetibilidad			Precisión intermedia		
	Promedio	S	%CV	Promedio	S	%CV
<b>Ca</b>						
1	0,0366	0,0009	3,7	0,0361	0,002	3,8
2	0,0691	0,0023	2,8	0,0707	0,002	2,7
3	0,1328	0,0014	2,6	0,1360	0,003	2,5
4	0,2608	0,0032	2,4	0,2639	0,006	2,4
5	0,3309	0,0005	1,4	0,3309	0,003	1,0
<b>Mg</b>						
1	0,1057	0,002	4,2	0,1037	0,004	4.03
2	0,1966	0,001	1.46	0,1946	0,002	1.30
3	0,3729	0,002	1.64	0,3707	0,003	1.89
4	0,5492	0,005	1.90	0,5501	0,004	1.74
5	0,7303	0,004	1.53	0,7298	0,004	1.54
<b>Fe</b>						
1	0,0160	0,0001	3,5	0,0165	0,001	3,8
2	0,0583	0,0012	2.1	0,0607	0,002	3.1
3	0,1062	0,0041	3.9	0,1120	0,004	3.7
4	0,1598	0,0043	2.7	0,1652	0,007	2,7
5	0,2156	0,0027	1.2	0,2225	0,005	1.4

S: desviación estándar, CV: coeficiente de variación

Como se puede observar en la tabla 14. Los %CV son bajos los primeros niveles de concentración presenta mayor variabilidad en condiciones de repetibilidad como en condiciones de precisión intermedia. Sin embargo los %CV para los tres metales es inferior al 5%, se debe tener en cuenta que el SM al igual que Construcsuelos suministro Ltda proponen que los coeficientes de variación deben ser inferiores a 10%. Sin embargo no se observa variabilidad en los resultados en días diferentes (precisión intermedia) respecto a los obtenidos el mismo día (repetibilidad), lo cual indica que la preparación diaria de las curvas de calibración y la variabilidad en el comportamiento del equipo entre días es constante.

### 7.5. Límites críticos para calcio, magnesio y hierro.

Los límites de detección y cuantificación de Ca, Mg y Fe se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC y el PGC de aseguramiento de la calidad del laboratorio de Construcción y Suministro Ltda.

Se prepararon tres curvas de calibración para cada metal, las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones, ver tabla 12. Con los resultados obtenidos, se elaboró un gráfico donde se relacionó la absorbancia vs la concentración las cuales se muestran en las figura 4, 5 y 6 para Ca, Mg y Fe.

Figura 4. Curva de calibración de calcio bajo condiciones de repetibilidad.

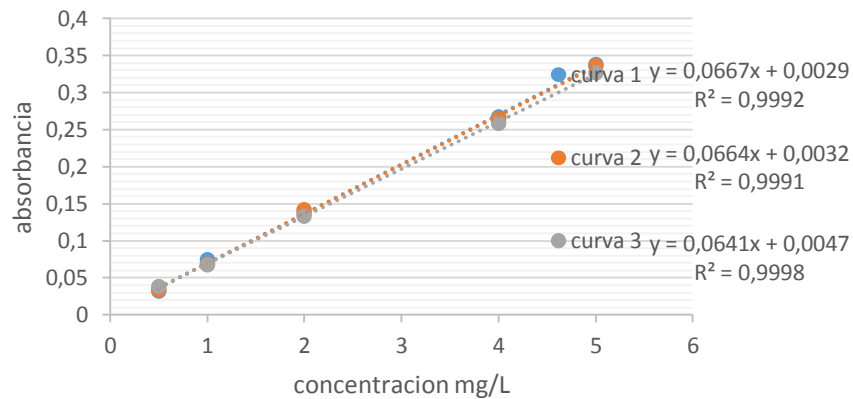


Figura 5. Curva de calibración de magnesio bajo condiciones de repetibilidad.

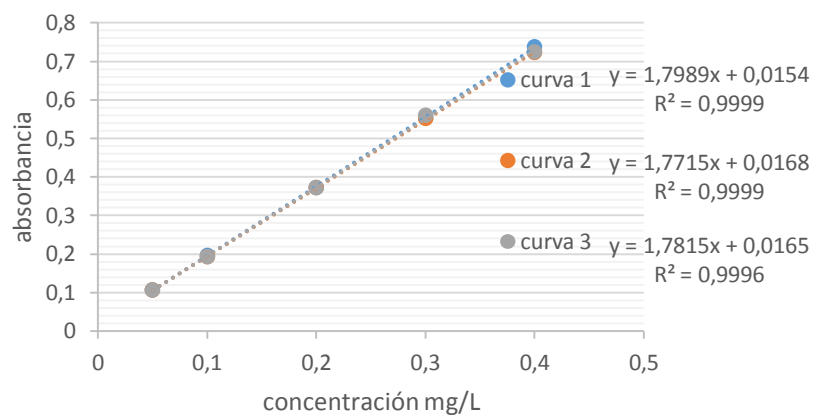
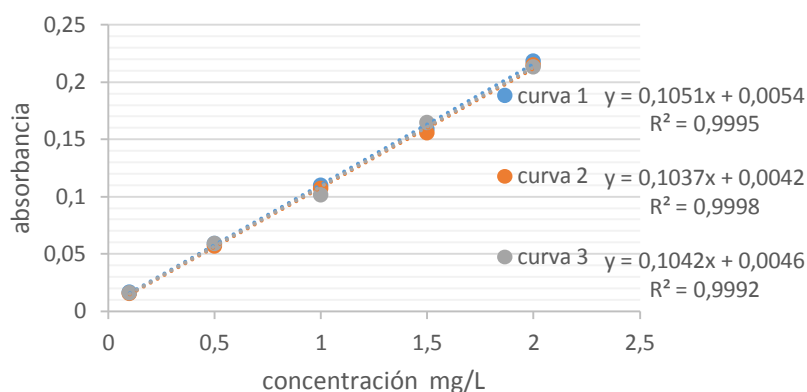


Figura 6. Curva de calibración de hierro bajo condiciones de repetibilidad.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimo 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 curvas de calibración, con esos datos se determinó la desviación estándar de los intercepto ( $S_b$ ) y el promedio de las pendientes (promedio  $m$ ). Finalmente se aplicaron las ecuaciones 4 y 5 para establecer teóricamente los valores del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), los resultados se muestran en la tabla 15.

**Tabla 15. Calculo del límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) del método.**

Meta	Parámetros	Curvas			Promedio	Desviación	LOD	LOQ
		1	2	3				
<b>Ca</b>	Pendiente	0,0667	0,0664	0,0641	0,0657	0,0014	0,0426	0,1419
	Intercepto	0,0029	0,0032	0,0047	0,0036	0,0009		
<b>Mg</b>	Pendiente	1,7525	1,7715	1,7815	1,7684	0,014	0,004	0,012
	Intercepto	0,0211	0,0168	0,0165	0,0181	0,001		
<b>Fe</b>	Pendiente	0,1051	0,1037	0,1042	0,1043	0,0007	0,02	0,06
	Intercepto	0,0054	0,0042	0,0046	0,0048	0,0006		

## 7.6. Implementación de la metodología para calcio, magnesio y hierro.

Para la implementación de las metodologías se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos de acuerdo a los PGC de la metodología analítica. Para la evaluación de estos parámetros se empleó el software estadístico SPSS (versión 15).

**Linealidad.** Corresponde a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración sometidas a la metodología planteada.

**Precisión y exactitud.** Se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se expresan en la 13. Se determinó la precisión y exactitud por niveles de concentración en las curvas de calibración, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 16. Los %CV obtenidos son inferiores al 5% y los % R son adecuados.

**Tabla 16. Exactitud y precisión del método calcio, magnesio y hierro.**

Nivel	Ca			Mg			Fe		
	Precisión intermedia			Precisión intermedia			Precisión intermedia		
	S	%CV	% R	S	%CV	% R	S	%CV	% R
1	0,002	3,2	96,3	0,002	2,12	99,4	0,001	4,7	100,9
2	0,002	2,7	101,0	0,002	0,92	100,9	0,002	3,1	102,4
3	0,003	2,5	100,3	0,005	1,4	99,4	0,005	3,7	98,9
4	0,006	2,4	99,4	0,003	0,49	100,8	0,008	4,7	98,8
5	0,003	1,0	100,4	0,004	0,57	99,9	0,005	2,4	100,8

S: desviación estándar, R: recuperación, CV: coeficiente de variación

Con el propósito de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se le aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianza (estadístico de Levene), teniendo como  $H_0$  que " El nivel de concentración no afecta la variabilidad de los porcentajes de recuperación". Los resultados de la prueba se presentan la tabla 17.

**Tabla 17. Prueba estadística de homogeneidad de varianza calcio, magnesio y hierro.**

metal		Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
<b>Ca</b>	Basándose en la media	3,013		4	30	0,043
	Basándose en la mediana	1,529		4	30	0,232
	Basado en la mediana y con gl corregido	1,529		4	13,816	0,248
	Basado en la mediana recortada	2,852		4	30	0,051
<b>Mg</b>	Basándose en la media	3,191		4	30	0,027
	Basándose en la mediana	1,882		4	30	0,140
	Basado en la mediana y con gl corregido	1,882		4	11,249	0,182
	Basado en la mediana recortada	2,892		4	30	0,039
<b>Fe</b>	Basándose en la media	3,229		4	30	0,026
	Basándose en la mediana	2,780		4	30	0,065
	Basado en la mediana y con gl corregido	2,780		4	11,676	0,077
	Basado en la mediana recortada	3,024		4	30	0,033

En la tabla 17 se observa, la significancia estadística basándose en la media para el estadístico de Levene es menor de 0,05, por lo que la prueba estadística es significativa y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración si afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Por lo tanto para cada nivel de concentración se debe tener en cuenta su porcentaje de recuperación.

La significancia estadística basándose en la mediana para el estadístico de Levene es mayor a 0,05 (sig = 0,232, 0,140 y 0,065) para calcio, magnesio y hierro respectivamente, 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. Esto permite calcular un  $\%R_{\text{promedio}}$  basándose en la mediana de los datos del porcentaje de recuperación para cada nivel y un % C.V para la metodología global. Los resultados se presentan en la tabla 18.

**Tabla 18. Exactitud para le metodología global en la determinación de calcio, magnesio y hierro con base en la mediana.**

%R metal (mediana )	Nivel					$R_{\text{promedio}}$	S	% CV
	1	2	3	4	5			
<b>Ca</b>	96,3	101,3	100,8	99,5	100,2	99,6	1,96	1,97
<b>Mg</b>	99,04	100,97	99,40	100,95	99,89	99,94	0,77	0,768
<b>Fe</b>	101,1	101,4	99,1	99,6	100,4	100,3	1,0	0,96

Los % R obtenidos en base a la mediana y el  $\% R_{\text{promedio}}$  son aceptables, encontrándose dentro del intervalo normal (95 al 105 %), de igual forma los %CV son inferiores al 5%<sup>9,12,27</sup>.

### 7.7. Implementación de las metodologías de calcio, magnesio y hierro en aguas residuales.

Se analizaron tres réplicas de cada muestra (muestras adicionadas) 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 los que los patrones fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras. Se realizó la correlación en la concentración del metal obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método. Se determinó la precisión en términos del %CV, obteniendo los resultados que se presentan en la tabla 19. Donde se aprecia que en las adiciones efectuadas para los niveles bajos medios y altos tanto en la determinación de metales totales, como soluble presentan bajos valores de % CV, y valores de %R dentro de los parámetros establecidos (95-110%). Lo que demuestra que el proceso de digestión para la determinación de metales totales es satisfactorio y las metodologías implementadas generan resultados exactos.

**Tabla 19. Resultados en la determinación de calcio, magnesio y hierro soluble y total en muestras de aguas residuales.**

<b>Ca</b>				
Muestra	Xp	S	%CV	% R
M1S	0,8442	0,033	3,9	NA
M1Sb	1,635	0,042	2,6	98,9
M1Sm	3,2763	0,1118	3,5	97,3
M1Sa	4,3148	0,1042	2,8	98,4
M1T	1,0422	0,0422	4,0	NA
M1Tb	1,822	0,0422	2,4	97,5
M1Tm	3,487	0,0422	3,4	97,8
M1Ta	4,607	0,0422	3,0	101
<b>Mg</b>				
Muestra	Xp	S	%CV	% R
M1S	0,0547	0,002	3,02	NA
M1Sb	0,1336	0,002	1,4	97,2
M1Sm	3,2763	0,003	1,3	98,7
M1Sa	4,3148	0,002	2,2	99,7
M1S	0,0596	0,002	4,2	NA
M1Sb	0,1385	0,003	1,5	97,5
M1Sm	0,3089	0,002	2,0	98,6
M1Sa	0,4010	0,002	1,2	99,7
<b>Fe</b>				
Muestra	Xp	S	%CV	% R
M1S	0,2464	0,017	3,7	NA
M1Sb	0,3932	0,018	3,3	97,8
M1Sm	1,0309	0,016	2,4	98,3
M1Sa	1,4072	0,046	2,6	98,04
M1S	0,5116	0,025	4,8	NA
M1Sb	0,6560	0,020	3,1	96,3
M1Sm	1,3025	0,021	2,3	97,9
M1Sa	1,6672	0,046	2,8	98,6

N.A no aplica  
[56]



### 7.8. Estimación de la incertidumbre en la determinación de calcio, magnesio y hierro en aguas mediante la metodología de fuentes globales.

Se determinó la incertidumbre de la metodología de determinación de calcio con muestras de agua de concentración de este metal cercana al nivel 1 de la curva y al nivel 5 de la curva.

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). Los resultados se presentan en la tabla 20.

**Tabla 20. Estimación de la contribución de las fuentes aleatorias calcio, magnesio y hierro.**

No. de análisis	Ca		Mg		Fe	
	Rb (mg/L)	Ra (mg/L)	Rb (mg/L)	Ra (mg/L)	Rb (mg/L)	Ra (mg/L)
1	0,7997	4,4519	0,0808	0,3507	0,1402	1,2169
2	0,8270	4,4869	0,0826	0,3471	0,1472	1,2227
3	0,8143	4,5112	0,0834	0,3471	0,1503	1,2397
4	0,7754	4,4990	0,0793	0,3512	0,1475	1,2130
5	0,7951	4,5341	0,0818	0,3467	0,1464	1,2338
6	0,8133	4,4550	0,0791	0,3477	0,1465	1,1733
7	0,8050	4,4634	0,0779	0,3477	0,1494	1,2164
X <sub>p</sub>	0,8043	4,4859	0,0807	0,3423	0,1468	1,2165
S	0,0165	0,0310	0,0020	0,0029	0,0015	0,021
No.	7	7	7	7	7	7
RSD	0,0205	0,007	0,0247	0,0085	0,010	0,0176
RSDt	0,015		0,019		0,014	

No número de análisis ,X<sub>p</sub> promedio, S desviación estándar, RSD desviación estándar relativa, RSDt desviación estándar relativa total, Ra: rango alto, Rb: rango bajo

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 rangos, donde se hace necesario calcular el promedio de los recuperados, su desviación estándar para poder calcular la incertidumbre en la recuperación promedio (U<sub>Rp</sub>), los resultados se presentan en la tabla 21.

**Tabla 21. Estimación de la contribución de las fuentes sistemáticas calcio, magnesio y hierro.**

No	Ca		Mg		Fe	
	Rb	Ra	Rb	Ra	Rb	Ra
1	0,99	0,98	1,01	1,00	0,99	1,01
2	1,03	0,99	1,03	0,99	0,98	1,02
3	1,02	1,00	1,04	0,99	1,00	1,03
4	0,97	0,99	0,99	0,99	0,99	1,01
5	0,99	1,01	1,02	1,00	0,98	1,03
6	1,02	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98
7	1,01	0,99	0,97	0,97	0,99	1,01
$R_p$		0,99		0,99		1,00
$S_{Rp}$		0,017		0,019		0,02
No.		14		14		14
$U_{Rp}$		0,004		0,005		0,02

$R_p$ : recuperación promedio,  $S_{Rp}$ : desviación estándar de lo recuperado, Rb: recuperación rango bajo, Ra: recuperación rango alto, No: número de análisis,  $U_{Rp}$  : incertidumbre promedio de recuperación.

Por otro lado 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 1 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 la tabla 22 se muestran los resultados de acuerdo a los cuales se observa que el t experimental es menor que el t crítico, por lo tanto se utiliza la fórmula de incertidumbre combinada total, con la que se calcula la incertidumbre expandida del método como se muestra en la tabla 23.

**Tabla 22. Evaluación de la significancia entre el factor 1 y el factor de recobro calcio, magnesio y hierro.**

Metales	$\alpha$ (%)	Nivel de confianza	gl	t. critico	t. experimental
Ca					1,23
Mg	5	95	13	2,1604	1,35
Fe					1,917

**Tabla 23. Calculo de la incertidumbre del método en la medición de calcio, magnesio y hierro.**

Parámetros	Ca	Mg	Fe
$U_{C_{total}}$	0,015	0,02	0,0197
$U_{exp\ mét}$	0,031	0,04	0,039
C.A	100,00	100,00	100,00
$U_{exp\ mét} \times 100$	3,11	4	3,9

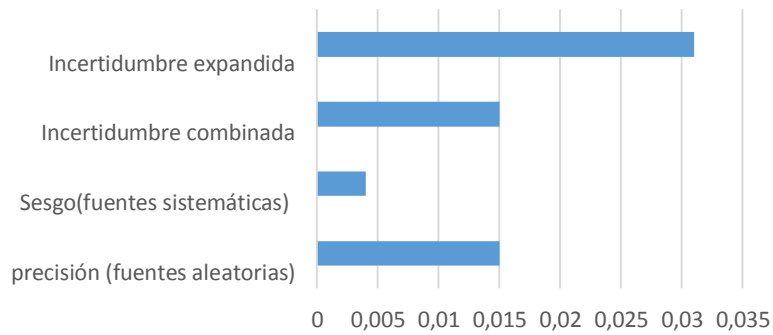
$U_{C_{total}}$ : Incertidumbre combinada total,  $U_{exp}$ : Incertidumbre expandida del método,  
C.A: Concentración del analito,

En la tabla 24 y figura 7,8 y 9. Se muestra la contribución de las diferentes fuentes de incertidumbre a la incertidumbre global en la determinación de calcio, magnesio y hierro en aguas residuales.

**Tabla 24. Contribución de las fuentes de incertidumbre de calcio, magnesio y hierro.**

	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Fe</b>
Precisión (fuentes aleatorias)	0,015	0,019	0,014
Sesgo (fuentes sistemáticas)	0,004	0,005	0,0197
Incertidumbre combinada	0,015	0,02	0,0196
Incertidumbre expandida	0,031	0,04	0,039

**Figura 7. Contribución de las fuentes de incertidumbre calcio**



**Figura 8. Contribución de las fuentes de incertidumbre de magnesio.**

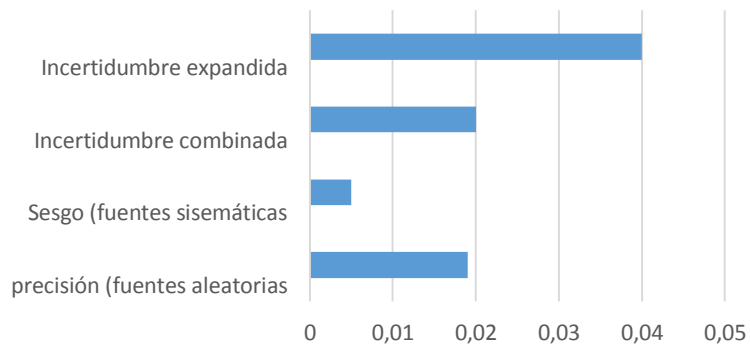
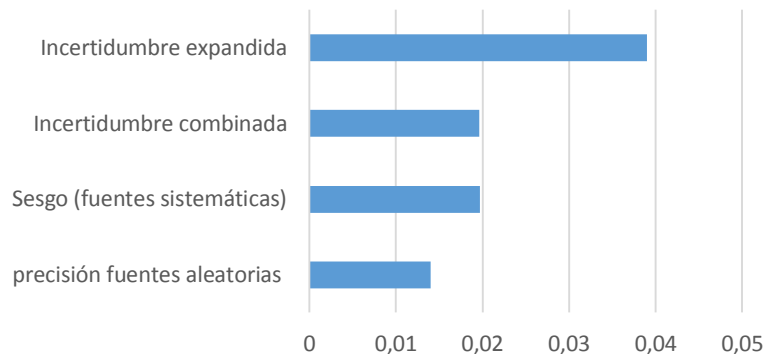


Figura 9. Contribución de las fuentes de incertidumbre de hierro.



Donde se observa que la mayor contribución la hace la incertidumbre combinada aportada por fuentes aleatorias. El reporte de la incertidumbre en un análisis se hace en las mismas unidades del parámetro determinado a través de la desviación estándar. Por lo tanto, para la determinación de calcio, magnesio y hierro en aguas se reportaría de la siguiente manera:

$$\text{Ca (mg/L)} = \text{valor medido} \pm (\text{valor medido} \times 0,03)$$

$$\text{Mg (mg/L)} = \text{valor medido} \pm (\text{valor medido} \times 0,04).$$

$$\text{Fe (mg/L)} = \text{valor medido} \pm (\text{valor medido} \times 0,039)$$

Hay aproximadamente un 95% de probabilidad de que el valor verdadero de la concentración de calcio, magnesio y hierro de una muestra de agua residual se encuentre dentro del intervalo dado por el valor obtenido al analizar la muestra y su incertidumbre.

De todas las consideraciones anteriores, se deduce que las metodologías para determinar calcio, magnesio y hierro en aguas quedan debidamente implementadas, siendo un método robusto, sensible preciso exacto y lineal<sup>12,14,15,17</sup>.

## 8. RESUMEN DE LAS METODOLOGÍAS IMPLEMENTADAS

En la tabla 25. Se muestra el resumen general de las metodologías implementadas en la cual se describen parámetros como: método, rango de trabajo, longitud de onda, límites críticos, coeficiente de correlación, porcentajes de recuperación y coeficientes de variación para cada metal.

**Tabla 25. Resumen de las metodologías implementadas.**

Metal	$\lambda$ ( nm)	Intervalo Trabajo	LOD	LOQ	linealidad	%R	%CV
Ca	422,7	0,5-5	0,04	0,14	0,9995	97,6	1,9
Mg	285,2	0,05-0,4	0,004	0,012	0,9997	99,94	1,0
Fe	248.3	0,1-2	0,02	0,06	0,9995	100,3	1,0

$\lambda$  : longitud de onda, LOD, límite de detección, LOQ:límite de cuantificación, %R :porcentaje de recuperación, CV :coeficiente de variación,

## 9. CONCLUSIONES

Se implementaron las metodologías analíticas necesaria para la determinación de calcio, magnesio y hierro en aguas residuales por espectroscopia de absorción atómica en llama en el laboratorio de análisis de aguas Construcsuelos suministro Ltda. Las metodologías quedan debidamente implementadas, siendo métodos robustos, sensibles, precisos, exactos, lineales y reproducibles.

Se encontró que los datos obtenidos en la validación provienen de una población normal, permitiendo aplicar pruebas estadísticas paramétricas (ANOVA), los porcentajes de recuperación del método global para cada metal están dentro del intervalo establecido por PG y SM, con %CV inferiores al 5% y límites de detección y de cuantificación adecuados permitiendo tener una cuantificación sensible a bajas concentraciones.

La incertidumbre para el análisis de las muestras se calculó 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.

Se implementaron procesos de digestión según el SM y NTC, para la determinación de metal total en aguas residuales, se elaboraron los formatos de captura de datos para la implementación y análisis de muestras y los instructivos técnicos (IT) necesarios en el proceso de determinación de metales. Permitiendo contribuir con la ampliación del alcance de acreditación del laboratorio con la técnica analítica de espectroscopia de absorción atómica.

## BIBLIOGRAFIA.

1. ABEGUNRIN, T.P, AWE, G.O, IDOWU, D.O, ADEJUMOBI, M.A Impact of wastewater irrigation on soil physico-chemical properties, growth and water use pattern of two indigenous vegetables in southwest Nigeria. *Catena* 139(2016) 167-178.
2. Normatividad Colombiana decreto 3930 2010, Resolución 0631 17 mayo de 2015. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.
3. SINCERO, ARCADIO P. SINCERO A, G. Physical-chemical treatment of water and wastewater. New York Washington, D.C. CRC press LLC.N.W corporate 2003. 19,20,21,22 pg.
4. ABOURACHED, C. MARSHALL, J. E. HONG, L. Wastewater treatment by Microbial Fuel Cell (MFC) prior irrigation water reuse. *Journal of Cleaner Production*. 137(2016)144-149.
5. KEGGLI, C.V, BOHRER D, NASCIMENTO, P.C, CARVALHO, L.M. Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc and iron in emulsified chocolate samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 124(2011)1189-1193.
6. UZDAVINENE, D, TAUTKUS, S. Determination of calcium in mineral waters by flame atomic absorption spectrometry. *Chemija* 18(2007)34-37.
7. ARSLAN, Z, TYSON, J.F. Determination of calcium, magnesium and strontium in soils by flow injection flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 50 (1999) 929-937.
8. KARIA, G.L, CHRISTIAN R,A. Wastewater treatment concepts and design approach, 2<sup>da</sup> edition, PHI Learning private limited, New Delhi 2013.
9. APHA, AWWA, APCF. Métodos Normalizados para análisis de aguas potables y residuales. Ediciones Díaz de Santos S.A. 17 edición. España 1192. pp. 2-57 – 2-62.
10. SPELLMAN, F. y DRINAN J. Manual de agua potable. Editorial Acribia. Zaragoza (España). Pp. 143.
11. SARIN P. Iron release from corroded iron pipes in drinking water distribution systems: effect of dissolved oxygen. *Elsevier Water Research* 38 (2004) 1259–1269.
12. Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
13. SWARTZ, M. Analytical Method Development and Validation. 1a edición. CRC Press. New York. 1997.
14. United states pharmacopeia (USP). Validation of compendial methods. USP capítulo en línea:  
<http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0c1225.html>. Citado en diciembre 9 de octubre 2016.



15. MILLER, J., MILLER, J. Estadística y Quimiometría Para Química Analítica. 4ª Edición. Editorial Prentice Hall. España. 2000. 278p
16. SKOOG, D. Principios De Análisis Instrumental. 5ª Edición. Editorial Mcgraw Hill. España. 2001.
17. IDEAM. Programa de Físico-química Ambiental. Protocolo estandarización de métodos analíticos. Bogotá, 1999. 10 p.
18. EPA US. Acid digestion of sediments, sludges and soils. Method 3050 B. December 1996.
19. US Environmental Protection Agency. Method 7470A – mercury in liquid waste (manual cold-vapor technique), 6 p, September 1994.
20. CENAM (2005). Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados (J. Guardado; F. Mercader, Trads.). 2<sup>da</sup> Ed. México. (Trabajo original publicado en 1998).
21. CASTILLO A., B, GONZÁLEZ H. R. 1996. Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la cuantificación de Fármacos. Revista Cubana de Farmacología. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003475151996000100009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475151996000100009). Citado 14/10/16.
22. CANTLE J. E. Atomic absorption spectrometry, techniques and instrumentation in analytical chemistry. Vol 5. Ed ELSEIVER. ISBN 0 4 4 4 2 0 1 5 4 Pag 47- 50.
23. APHA; AWWA; WPCF. MÉTODOS NORMALIZADOS para el análisis de aguas potables y residuales. Madrid (España): Ediciones Díaz de Santos, 1992. ISBN: 84-7976-031-2.
24. GTC 51: Guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones. (1997-11-26) EVALUACIÓN Y EXPRESIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN LM01-I04-SIC- Versión 2. 2008-05-09.
25. CENTRO ESPAÑOL DE METROLOGÍA (2008). Evaluación de Datos de Medición. Guía para la Expresión de la Incertidumbre de Medida (JCGM/WG 1, Ed. Y Trads). España. (Trabajo original publicado en 1995)
26. CENAM (2000). Cuantificación de Incertidumbre en Mediciones Analíticas (E. Castro; F. Mercader, Trads.). México. (Trabajo original publicado en 1995).
27. ANDREW D. E. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER. Centennial edition. 21<sup>st</sup> Edition. 2005. SM 3030 E, SM 3112 B.