

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15
			VERSIÓN	02
			FECHA	03/04/2017
			PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ	APROBÓ	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad	Líder de Calidad	

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): KAREN JULIETH APELLIDOS: MENDIVELSO GOMEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): ADRIANA MIREYA APELLIDOS: ZAMUDIO SANCHEZ

TÍTULO DEL TRABAJO (PROYECTO DE GRADO MODALIDAD PASANTÍA):

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN PARCIAL DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR PLOMO EN SUELO AGRÍCOLA MEDIANTE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA Y CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR LLAMA.

Con el fin de brindar soporte analítico a los agricultores que desean conocer el estado de contaminación de sus suelos por metales pesados, se llevó a cabo la optimización del método de digestión ácida vía abierta mediante ensayos por duplicado utilizando muestras de referencia para diferentes tipos de suelo, y así evaluar su comportamiento ante el agua regia y diferentes condiciones de temperatura y tiempo de calentamiento. Adicionalmente, se ejecutó un ensayo exploratorio con $HCL+HNO_3+HCLO_4$ para observar si hay una respuesta significativa ante el tipo de ácidos implementados. De acuerdo con los métodos de extracción utilizados, los resultados no mostraron diferencias significativas entre las condiciones de tiempo y temperatura. Se concluye que la eficiencia de la cuantificación del plomo por EAA depende de la mezcla ácida a implementar, sin embargo, el tipo de matriz a descomponer determina la elección de la combinación de los ácidos. Por otro lado, la validación del método, se realizó evaluando diferentes parámetros como: Linealidad, veracidad, repetibilidad, límite de detección y cuantificación. Se observó que el comportamiento entre las variables es lineal y se ratificó que los rangos lineales entre 1-10 mg/L son adecuados para realizar la cuantificación de Pb. El porcentaje de recuperación fue del 85% con un % CV menor al 7.3% y se obtuvo un LOD y LOQ de 1,40 mg/kg y 4,20 mg/kg. Demostrando que el método es adecuado para poder brindar el servicio analítico con resultados fiables.

PALABRAS CLAVES: metales pesados, digestión ácida, absorción atómica, plomo, suelo.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 96 PLANOS: _____ ILUSTRACIONES: _____ CD ROOM: _____

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN PARCIAL DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR
PLOMO EN SUELO AGRÍCOLA MEDIANTE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA Y
CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR
LLAMA.

KAREN JULIETH MENDIVELSO GÓMEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

2023

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN PARCIAL DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR
PLOMO EN SUELOS AGRÍCOLAS MEDIANTE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA Y
CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR
LLAMA.

KAREN JULIETH MENDIVELSO GÓMEZ

PROYECTO DE GRADO MODALIDAD PASANTÍA PRESENTADO COMO REQUISITO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTORA:

MSC. ADRIANA MIREYA ZAMUDIO SÁNCHEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

2023

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 08 de septiembre del 2023

HORA: 08:00 A.M.

LUGAR: UFPS - CUCUTA, NORTE DE SANTANDER

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN PARCIAL DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR PLOMO EN SUELO AGRÍCOLA MEDIANTE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA Y CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR LLAMA"

MODALIDAD: PASANTIA

JURADO: JOHN HERMOGENES SUAREZ GELVEZ
RENZO JOSE PARADA SOLANO
LILIAN TRINIDAD RAMÍREZ CAICEDO

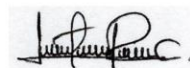
ENTIDAD: Centro de Bio-Sistemas, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano

DIRECTOR: Adriana Mireya Zamudio Sánchez

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Karen Julieth Mendivelso Gómez	1611522	4.5

OBSERVACIONES: MERITORIA.

FIRMA DE LOS JURADOS



John Hermógenes Suárez Gélvez

Renzo Jose Parada Solano

Lilian Trinidad Ramirez Caicedo



Vo. Bo Coordinador Comité Curricular

DEDICATORIA

Quiero dedicar este proyecto de grado a Dios, por haberme guiado en cada momento, el amor y bondad que me otorgas me permite sonreír ante mis logros que son resultado de tu ayuda y por haberme otorgado una familia maravillosa, sin ellos no habría sido posible lograrlo.

Quienes siempre han creído en mí, brindándome ejemplo de superación, esfuerzo, humildad y sobre todo el amor a ti.

Julieth Mendivelso

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de grado no habría sido posible sin el esfuerzo y el acompañamiento de varias personas.

Agradezco al Centro de Bio-Sistemas Alberto Lozano Simonelli de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano por la oportunidad de ejecutar el proyecto de grado modalidad pasantía en una de sus instalaciones, el Laboratorio de Inocuidad, Suelos y Aguas. También a la directora Adriana Zamudio y la Ingeniera química Sofía Naranjo por su colaboración e interés en este proceso de formación, por el suministro de ideas, tiempo, por su amistad y paciencia.

A mis padres que me apoyaron en cada momento, por cada uno de sus esfuerzos para que hiciera realidad este logro y, por su amor y confianza en mí que me motivaron cada día para seguir avanzando en este arduo proceso de formación como profesional y persona.

Finalmente, a cada uno de los evaluadores: el Ing. Renso Parada, Ing. John Hermógenes y la Ing. Lilian Ramírez por el compromiso y cada una de las observaciones fueron fundamentales para el mejoramiento de este trabajo de grado.

A todos los mencionados, mis más sinceros agradecimientos.

Julieth Mendivelso

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	13
1. PROBLEMA	16
1.1. TÍTULO	16
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	18
1.4. JUSTIFICACIÓN	18
1.5. OBJETIVOS	20
1.5.1. OBJETIVO GENERAL	20
1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
1.6. DELIMITACIÓN	20
1.6.1. ESPACIAL	20
1.6.2. TEMPORAL	20
1.6.3. CONCEPTUAL	21
2. MARCO REFERENCIAL	21
2.1. ANTECEDENTES	21
2.2. MARCO TEÓRICO	23
2.2.1. RECURSO SUELO	23
2.2.2. CONTAMINACIÓN DEL SUELO	24
2.2.3. METALES PESADOS	24
2.2.4. PLOMO Y SUS PROPIEDADES	25
2.2.5. MUESTRA INTERNATIONAL SOIL-ANALYTICAL EXCHANGE	26
2.2.6. DIGESTIÓN ÁCIDA	26
2.2.7. ÁCIDOS PARA LA TÉCNICA DE DIGESTIÓN	27
2.2.8. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	27
2.2.9. LÁMPARA DE CÁTODO HUECO (LCH)	29
2.2.10. LÍMITE DE DETECCIÓN	29
2.2.11. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	29
2.2.12. LINEALIDAD	30
2.3. MARCO LEGAL	30
2.4. MARCO CONTEXTUAL	31
3. METODOLOGÍA	31
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	31
3.2. ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN.	31

3.2.1.	ETAPA I: OPTIMIZAR EL MÉTODO DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.	32
3.2.1.2.	ENSAYOS PRELIMINARES DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.	34
3.2.1.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.	38
3.2.1.4.	ENSAYO EXPLORATORIO CON LA DIGESTIÓN PERCLÓRICA COMBINADA.	39
3.2.1.5.	CÁLCULOS	40
3.2.2.	ETAPA II: AJUSTAR LAS CONDICIONES INSTRUMENTALES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN EAA POR LLAMA	41
3.2.2.1.	PREPARACIÓN SOLUCIÓN DE CHEQUEO.	42
3.2.2.2.	CARTA DE CONTROL	42
3.2.3.	ETAPA III: VALIDACIÓN PARCIAL DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR PLOMO EN MATRIZ SÓLIDA (SUELO).	43
3.2.3.1.	CURVA DE CALIBRACIÓN PARA PLOMO	43
3.2.3.2.	PARÁMETROS DE VALIDACIÓN PARCIAL	44
4.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	49
4.1.	RESULTADOS DE LA ETAPA I	49
4.1.1.	RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES	49
4.1.2.	RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL	56
4.1.3.	RESULTADOS DEL ENSAYO EXPLORATORIO	63
4.2.	RESULTADOS DE LA ETAPA II	65
4.2.1.	LISTADO DE LOS PARÁMETROS INSTRUMENTALES	65
4.2.2.	CARTAS DE CONTROL DE ABSORBANCIA Y PMT	66
4.3.	RESULTADOS DE LA ETAPA III	68
4.3.1.	RESULTADOS DE LOS CRITERIOS ANALÍTICOS	68
4.3.1.1.	LINEALIDAD/FUNCIÓN DE RESPUESTA	68
4.3.1.2.	LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	75
4.3.1.3.	VERACIDAD Y REPETIBILIDAD	77
4.3.2.	RESULTADOS MUESTRA PROBLEMA	78
	CONCLUSIONES	81
	RECOMENDACIONES	82
	BIBLIOGRAFÍA	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Condiciones analíticas generales para la EAA por llama.	31
Tabla 2 Cuadro comparativo de muestras internacionales de referencia.	34
Tabla 3 Resultados de las muestras ISE reportadas en los informes WEPAL.	35
Tabla 4 Condiciones de digestión ácida vía abierta según la Norma ISO 54321.	35
Tabla 5 Condiciones de lectura instrumental del método para el análisis de plomo.	37
Tabla 6 Diseño experimental con agua regia (HCL: HNO ₃).	38
Tabla 7 Ensayo exploratorio con digestión perclórica combinada (HCL+HNO ₃ + HClO ₄).	39
Tabla 8 Estándares para la realización de las curvas de calibración.	43
Tabla 9 Criterios analíticos utilizados para la validación parcial del método.	44
Tabla 10 Resultados del informe WEPAL de la muestra ISE para la validación parcial.	47
Tabla 11 Determinación del porcentaje de humedad en el suelo seco a 105 °C.	50
Tabla 12 Lectura instrumental del ensayo preliminar.	51
Tabla 13 Resultados de la concentración de Pb del ensayo preliminar.	51
Tabla 14 Resultados del % de recuperación y del % CV del ensayo preliminar.	52
Tabla 15 Lectura instrumental de la muestra 3	54
Tabla 16 Resultados de la concentración de Pb de la muestra 3.	54
Tabla 17 Resultados del % de recuperación y del % CV de la muestra 3.	54
Tabla 18 Resultados del Z' score de la muestra 3.	56
Tabla 19 Resultados de la muestra 4 reportadas en los informes WEPAL.	56
Tabla 20 Determinación del porcentaje de humedad de la muestra 4 a 105 °C.	56
Tabla 21 Lectura instrumental del diseño experimental.	57
Tabla 22 Resultados de la concentración de Pb del diseño experimental.	58
Tabla 23 Resultados del % recuperación y del %CV del diseño experimental.	58
Tabla 24 Matriz de dos factores del diseño experimental.	59
Tabla 25 Resultados del análisis ANOVA del diseño experimental.	60
Tabla 26 Lectura instrumental del ensayo de verificación de la muestra 1.	61
Tabla 27 Resultados de la concentración de Pb del ensayo de verificación de la muestra 1.	61
Tabla 28 Resultados del % de recuperación y % CV del ensayo de verificación la muestra 1.	61
Tabla 29 Lectura instrumental del ensayo exploratorio.	63
Tabla 30 Resultados de la concentración de Pb del ensayo exploratorio.	63
Tabla 31 Resultados del % de recuperación y el %CV del ensayo exploratorio.	63
Tabla 32 Lectura instrumental de la solución de chequeo y del equipo.	66
Tabla 33 Datos para elaborar la carta de control absorbancia y PMT.	66
Tabla 34 Curva de calibración 1	68
Tabla 35 Curva de calibración 2	68
Tabla 36 Curva de calibración 3	69
Tabla 37 Curva de calibración 4	69
Tabla 38 Curva de calibración 5	69
Tabla 39 Resultados del análisis de Regresión Lineal de las 5 curvas de calibración.	70
Tabla 40 Resultados de la prueba t-student para el coeficiente de correlación.	71
Tabla 41 Resultados de la concentración experimental de cada estándar	74
Tabla 42 Resultados del error porcentual de cada estándar.	74
Tabla 43 Curva de calibración del LOD y LOQ	75
Tabla 44 Valores de respuesta de los blancos de muestra	75

Tabla 45 Determinación del porcentaje de humedad de la muestra 5 y 6 a 105 °C.	77
Tabla 46 Lectura instrumental de la muestra 5	77
Tabla 47 Resultados de la concentración de Pb de la muestra 5	78
Tabla 48 Resultados del parámetro de validación: veracidad y repetibilidad	78
Tabla 49 Resultados determinación de textura	79
Tabla 50 Resultados determinación de carbón orgánico	79
Tabla 51 Lectura instrumental de la muestra 6	79
Tabla 52 Resultados de la concentración de Pb de la muestra 6	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento del carbón orgánico.	49
Figura 2. Metodología propuesta para el método de digestión ácida vía abierta	62
Figura 3. Diseño de los ensayos realizados para la optimización de la digestión ácida	65
Figura 4. Parámetro de validación: Linealidad en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.	72
Figura 5. Resultados prueba de significancia en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.	72
Figura 6. Resultados del parámetro de validación: LOD en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.	76

LISTADO DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Representación de las concentraciones según las diferentes condiciones empleadas	60
Gráfica 2 Carta de control de la absorbancia (A).	67
Gráfica 3 Carta de control del PMT (voltaje).	67
Gráfica 4 Curva de calibración 1	68
Gráfica 5 Curva de calibración 2	68
Gráfica 6 Curva de calibración 3	69
Gráfica 7 Curva de calibración 4	69
Gráfica 8 Curva de calibración 5	69
Gráfica 9 Linealidad de las 5 curvas de calibración.	70
Gráfica 10 Curva de calibración del LOD y LOQ	75

LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1 Resultados determinación de textura	90
Anexo 2 Resultado determinación de carbón orgánico	91
Anexo 3 Protocolo para la Determinación de Plomo en Suelo Agrícola por Espectroscopia De Absorción Atómica Con Llama	92

RESUMEN

Con el fin de brindar soporte analítico a los agricultores que desean conocer el estado de contaminación de sus suelos por metales pesados, se llevó a cabo la optimización del método de digestión ácida vía abierta mediante ensayos por duplicado utilizando muestras de referencia (ISE) para diferentes tipos de suelo, y así evaluar su comportamiento ante la mezcla ácida (HCL+HNO₃) y diferentes condiciones de temperatura y tiempo de calentamiento.

Adicionalmente, se ejecutó un ensayo exploratorio con mezcla ácida de HCL+HNO₃+HCLO₄ para observar si hay una respuesta significativa ante el tipo de ácidos implementados. De acuerdo con los métodos de extracción utilizados, los resultados encontrados no mostraron diferencias significativas entre las condiciones de tiempo y temperatura. Se concluye que la eficiencia de la cuantificación del plomo por EAA depende de la mezcla ácida a implementar, sin embargo, el tipo de matriz a descomponer determina la elección de la combinación de los ácidos.

Por otro lado, la validación parcial para determinar plomo en suelo agrícola por espectrometría de absorción atómica se realizó evaluando diferentes parámetros como son: Linealidad, veracidad, repetibilidad, límite de detección y límite de cuantificación. Se observó que el comportamiento entre las variables (absorbancia vs concentración) es lineal, contando con un $R^2 > 0.995$, la Prueba t de Student confirmó que existe correlación entre las variables y la prueba de significancia ratificó que los rangos lineales entre 1 y 10 mg/L son adecuados para realizar la cuantificación de muestras para Pb. El porcentaje de recuperación fue del 85% con un % CV menor al 7.3% y se obtuvo un LOD y LOQ de 1,40 mg/kg y 4,20 mg/kg. Demostrando que el método es adecuado para poder brindar el servicio analítico con resultados fiables.

Palabras clave: metales pesados, digestión ácida, absorción atómica, plomo, suelo.

ABSTRACT

To provide analytical support to farmers seeking to know the state of contamination of their soils by heavy metals, the optimization of the open acid digestion method was carried out by measuring duplicate tests on reference samples (ISE) for various soil types, the aim was to assess the response of these samples under the acid mixture (HCL+HNO₃) and different conditions of temperature and heating time. Additionally, an exploratory test was carried out with a different acid mixture (HCL+HNO₃+HClO₄) to observe if there was a significant influence on techniques used, the results did not show significant differences in varying time and temperature conditions. In summary, the efficiency of lead quantification via EAA depends on the acid mixture to be implemented, however, the choice of acid combination is determined by the composition of the matrix to be decomposed.

On the other hand, the partial validation to determine lead in agricultural soil by atomic absorption spectrometry evaluated different parameters such as Linearity, accuracy, repeatability, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ). The analysis established a linear relationship between the variables (absorbance vs. concentration), with an $R^2 > 0.995$, The Student's t-test confirmed that there is correlation between the variables and the significance test ratified that the linear ranges between 1 and 10 mg/L are adequate for the quantification of Pb samples. The recovery percentage was 85% with a % CV of less than 7.3% and a LOD and LOQ of 1.40 mg/kg and 4.20 mg/kg were obtained. These findings collectively demonstrate the method is adequate to provide an analytical service with reliable results.

Keywords: heavy metals, acid digestion, atomic absorption, lead, soil.

INTRODUCCIÓN

Colombia es un país históricamente agrícola gracias a sus vastas extensiones cultivables, contando con 43.1 millones de hectáreas aptas para la agricultura, de las cuales sólo 7.1 millones de hectáreas (es decir, 6.3% del área nacional) se utilizan para siembra de cultivos (Bernal *et al.*, 2020). De igual manera, es importante resaltar factores determinantes como la disponibilidad de tierra, suministro de agua, diversidad topográfica y climática, que han convertido a Colombia en el séptimo país del mundo con potencial para convertirse en una despensa agrícola (Villanueva, 2018 como se citó en Colorado *et al.*, 2021).

El suelo es el componente esencial y finito del ambiente, que incluye minerales, aire, agua, materia orgánica, macro y microorganismos, que llevan a cabo procesos bióticos y abióticos permanentemente, desempeñando funciones importantes para la sociedad y el planeta (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible [MADS], 2016). Asimismo, es un medio de interés toxicológico ya que es una vía de exposición por medio del cual el componente tóxico entra en el organismo.

Los indicios de contaminación del suelo incluyen la presencia de residuos peligrosos, el exceso de metales pesados u otras sustancias que tienen un impacto en la biota del suelo, las aguas subterráneas, la inocuidad de los alimentos y consecuentemente la salud humana. Asimismo, el uso inapropiado y excesivo de pesticidas y otros agroquímicos puede conducir a la contaminación de suelo agrícola (Universidad Nacional de Colombia [UNAL], 2009, como se citó en MADS, 2016). Además, se habla de contaminación del suelo por metales pesados cuando el contenido en los mismos excede los valores permisibles en el tipo de suelo que está manipulando. Según Kabata (2004) y Ceccon (2008), las concentraciones de los compuestos metálicos se han incrementado en los últimos 100 años debido a las actividades humanas, de las

cuales la agricultura se ha clasificado como una fuente no puntual, lo que significa que su origen no se puede precisar, porque los contaminantes agrícolas como nitratos, pesticidas, herbicidas, sedimentos y otros productos químicos se encuentran dispersos en un área más grande. (como se citó en Mahecha *et al.*, 2017).

Dado que la biotecnología es un campo del conocimiento reconocido por brindar numerosas oportunidades de crecimiento y desarrollo, los recursos naturales y la ubicación geográfica de Colombia hacen posible su aplicación de esta rama en una variedad de industrias y sectores, incluidos la agricultura, la salud, la industria, y los servicios ecosistémicos, en beneficio del medio ambiente (Buitrago, 2012).

Los metales pesados están directamente relacionados con el riesgo de contaminación del suelo, la toxicidad vegetal y los impactos negativos en la calidad de los recursos naturales y del ambiente, este riesgo depende de diferentes aspectos como, la toxicidad de cada metal, capacidad de bioacumulación, persistencia y no biodegradabilidad (Martínez *et al.*, 2017). De hecho, el mayor riesgo ambiental asociado a la transferencia de metales pesados del suelo a las plantas es su introducción en la cadena alimentaria, la pérdida de cobertura vegetal o de cultivo como resultado de la fitotoxicidad y la absorción de metales del suelo por plantas tolerantes, pueden producir efectos tóxicos tanto en las plantas como en los animales (Kabata, 2004 como se citó en Peris, 2005) siendo relevante para el área agrícola, ya que los metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas y acumularse en los tejidos, provocando intoxicación en el ser humano al ingerir alimentos que contienen altas cantidades.

La agricultura moderna es estimada como una fuente importante de metales pesados debido al uso de fertilizantes, pesticidas, compost a partir de residuos y lodos de las plantas de tratamiento de agua y el estiércol (García y Peñuela, 2022). Además, el suelo contaminado con

metales pesados puede persistir durante cientos de años, incluso después de que su incorporación se haya detenido, donde metales como el Plomo (Pb) puede permanecer entre 740 a 5.900 años en el suelo (Rueda *et al.*, 2011).

En el caso de los alimentos en la dieta diaria, es aceptable la ingesta de 0,3 a 0,5 mg de Pb, eliminando el 80% de esa cantidad en la orina. El consumo > 0,6 mg por día de Pb, se acumula en el cuerpo y aumenta la posibilidad de causar una intoxicación. El plomo es un constituyente que se localiza de forma natural en el medio ambiente, mediante fuentes exógenas como el suelo (tierra cultivable, polvo), el agua (océanos, lagos y ríos) y el aire (emisiones estimuladas por la adición en la gasolina) (Salas *et al.*, 2019); Además, debido a su alta biodisponibilidad y potencial de bioacumulación, la concentración en plantas y animales se magnifica a lo largo de la cadena alimentaria.

Para finalizar, cabe señalar que la adecuada determinación de elementos traza en el suelo está íntimamente relacionada con el procedimiento de digestión-extracción utilizado, por lo que la validación del método de digestión en los laboratorios de investigación y la determinación rutinaria de elementos traza en matrices sólidas son procesos que, siendo cruciales, deben estar bajo control analítico y estadístico, para evitar posibles interferencias que puedan afectar directamente la exactitud de los resultados y así el diagnóstico final (Cáceres *et al.*, 2003 como se citó en Blanco Coariti *et al.*, 2009).

Este proyecto da respuesta a la creciente necesidad de conocer el estado de una posible contaminación del suelo por metales pesados. Por este motivo, se llevó a cabo esta investigación para brindar soporte analítico a los agricultores, contando con tres etapas de trabajo, enfocadas en la optimización y validación parcial un método para determinar Pb en suelo agrícola mediante digestión ácida vía abierta y cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica.

1. PROBLEMA

1.1. TÍTULO

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN PARCIAL DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR PLOMO EN SUELO AGRÍCOLA MEDIANTE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA Y CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR LLAMA.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Colombia, una de las fuentes más frecuentes de contaminación del suelo por metales pesados, es la adición indiscriminada de insumos agrícolas, lodos como fertilizante y la deposición de elementos y sustancias atmosféricas producidos industrialmente (Silva, R & Gutiérrez, H, 2010). Los metales pesados más comunes en orden de abundancia en áreas contaminadas, son: Plomo (Pb), Cromo (Cr), Arsénico (As), Zinc (Zn), Cadmio (Cd), Cobre (Cu) y Mercurio (Hg), los cuales son importantes ya que pueden reducir la producción de los cultivos, debido al riesgo de bioacumulación y biomagnificación en la cadena alimentaria (Martínez y Vargas, 2017).

La presencia de estos metales en el cuerpo se debe a sus diferentes vías de exposición (aire, agua, suelo y alimentos), se presenta en el agua debido a la contaminación por vertimientos industriales o infiltración de los mismos que afectan al suelo y sumado al uso de productos nocivos en la agricultura y ganadería que contiene metales pesados, por lo cual, ingresan a la red alimenticia por el consumo de estos alimentos.

Actualmente, existe un interés por parte de los científicos en realizar investigaciones enfocadas con los metales pesados debido a los problemas ambientales que estos ocasionan, ya que son elementos tóxicos que afectan significativamente el suelo, el aire, los recursos hídricos

y, por ende, la salud humana (Mahecha *et al.*, 2017). Entonces, al explotar el potencial agrícola de Colombia, requiere un mayor uso de insumos y maquinaria, lo cual puede conducir a un mayor riesgo de contaminación. En este sentido, los datos científicos sobre las bases geoquímicas de los metales pesados serán esenciales para el desarrollo de programas de monitoreo y seguimiento (Mahecha *et al.*, 2017).

Según Huertos y Baena (2008), de todos los elementos traza que se encuentran en el suelo, 17 se consideran altamente tóxicos y están disponibles en muchos suelos en concentraciones que superan los niveles de toxicidad. Estos son: Plata (Ag), Arsénico (As), Bismuto (Bi), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Paladio (Pd), Platino (Pt), Antimonio (Sb), Selenio (Se), Estaño (Sn), Teluro (Te), Talio (Tl) y Zinc (Zn). La exposición al plomo puede causar anemia, hipertensión, disfunción renal, inmunotoxicidad y toxicidad en los órganos reproductores (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2022), por lo cual, es importante implementar técnicas para determinar la concentración de los metales pesados que se encuentran en los suelos agrícolas, ya que en altas concentraciones puede traer consecuencias a la salud humana.

En este sentido, la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) es un método instrumental para la determinación cuantitativa del contenido de metales, siendo capaz de determinar concentraciones en la escala de partes por billón ppb ($\mu\text{g}/\text{dm}^3$) en una muestra. La técnica es ampliamente utilizada debido a su especificidad, alta sensibilidad y facilidad de uso, dando excelentes resultados incluso en matrices complejas como suelo, agua y alimentos (Castellanos *et al.*, 2018).

Hoy en día los laboratorios deben demostrar que los servicios analíticos brindados suministran resultados fiables, por lo cual la validación de las metodologías proporciona un alto

grado de confiabilidad y seguridad. El Laboratorio de Inocuidad Química del centro de Biosistemas Alberto Lozano Simonelli cuenta con la capacidad analítica, instalaciones, equipos y, acreditación bajo la Norma ISO/IEC 17025:2017, con el fin de brindar soporte analítico a los agricultores en Colombia que desean conocer el estado de la posible contaminación de sus suelos empleando métodos analíticos confiables y optimizados. Por consiguiente, el objeto de este estudio busca validar parcialmente el método para determinar plomo mediante digestión ácida vía abierta y la cuantificación por absorción atómica, y así ampliar la capacidad analítica de los servicios prestados a terceros.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿La optimización de la metodología digestión ácida vía abierta y su cuantificación mediante EAA permite mejorar la veracidad para la adecuada determinación de metales pesados en suelos?

1.4. JUSTIFICACIÓN

Es clave comprender que el suelo es un componente fundamental de los ecosistemas y esencial para el correcto desarrollo y supervivencia de los organismos, incluido el ser humano (Segura, 2015). La calidad del suelo y sobre todo el grado de contaminación afecta de diversas formas la salud de las personas y de los ecosistemas, por lo que un suelo contaminado con metales pesados puede tener un impacto negativo al ambiente, y a su vez, si la concentración excede el límite de tolerancia en el organismo, pueden provocar efectos tóxicos. Por lo tanto, es importante implementar métodos analíticos de medición veraces para su control y para asegurar la validez de los resultados.

El plomo por su parte, el contaminante objeto de este estudio, es un metal que, debido a su naturaleza no biodegradable, es altamente persistente en el medio ambiente (agua, aire, suelo).

Tiene una alta biodisponibilidad y susceptibilidad de ser incorporado a la cadena trófica, lo que representa un riesgo para todo organismo vivo. A diferencia de otros metales pesados, es un elemento no esencial para plantas, animales y humanos. Además, el plomo en el suelo puede volatilizarse pasando a la atmósfera, absorberse en la materia orgánica, precipitarse para formar sales y transformarse en otro compuesto. Este metal tiene efectos tóxicos en la mayoría de los tejidos y órganos del cuerpo, que van desde afecciones neurológicas, renales, cardiovasculares, circulatorios, óseos, gastrointestinales e inmunológicos (Moreno, 2018).

Colombia a través de la Resolución 4506 de 2013, establece los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano, con el fin de proteger la salud humana. En el caso del Plomo, los niveles máximos en los alimentos son: 0,10 mg/kg peso fresco para Hortalizas, 0,20 mg/kg peso fresco para leguminosas verdes, cereales y leguminosas secas; 0,30 mg/kg peso fresco para Hortalizas del género Brassica, hortalizas de hoja y champiñón.

Con el fin de avanzar científicamente se propone este proyecto que busca determinar la concentración de metales pesados en muestras ambientales (suelo), implementando métodos analíticos, como la espectrofotometría de absorción atómica, siendo el más empleado para determinar una gran variedad de elementos en una amplia variedad de matrices, por su alta especificidad, excelente sensibilidad a bajas concentraciones, detección rápida y gran selectividad (Castro, 1994). Sin embargo, es esencial someter las muestras a un proceso de digestión, como paso preliminar para una cuantificación real, ya que se puede encontrar interferentes de diferente naturaleza y el valor analítico de la digestión consiste en pasar el extracto ácido la totalidad de los metales en estudio.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. OBJETIVO GENERAL

Estandarizar y validar parcialmente un método para determinar plomo en suelo agrícola mediante digestión ácida vía abierta y cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica por llama.

1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Optimizar el método de digestión ácida vía abierta evaluando el tiempo de calentamiento y temperatura del bloque de digestión en muestras de suelo agrícola en el Laboratorio de Inocuidad Química.
- Ajustar las condiciones instrumentales para la cuantificación de plomo mediante espectrofotometría de absorción atómica.
- Validar los principales parámetros para la determinación de metales pesados mediante digestión ácida vía abierta y cuantificación por absorción atómica.

1.6. DELIMITACIÓN

1.6.1. ESPACIAL

La investigación se realizó en el Laboratorio de Inocuidad, Suelos y Aguas del Centro de Bio-Sistemas de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, ubicado en Chía y localizado geográficamente en el altiplano Cundiboyacense en la Cordillera Oriental de los Andes, a una altitud de 2600 m.s.n.m.

1.6.2. TEMPORAL

El tiempo estimado para la ejecución de este proyecto y el cumplimiento de los objetivos propuestos es de 4 meses de acuerdo con el cronograma concertado.

1.6.3. CONCEPTUAL

- Suelo Agrícola
- Metales pesados
- Digestión ácida
- Espectrofotometría de absorción atómica

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. ANTECEDENTES

Un primer estudio corresponde a Segura (2015), quien realizó el trabajo de investigación “Implementación del método cuantitativo de absorción atómica para cromo y plomo con estándares trazables en muestras ambientales”. En esta investigación implementaron un método analítico para determinar cromo y plomo por espectrometría de absorción atómica de llama (aire acetileno), con muestras de agua y suelo pertenecientes al municipio de Sibaté, Cundinamarca, Para el desarrollo de este proyecto, realizaron un pretratamiento, que incluyó una concentración para agua y una digestión ácida para ambos tipos de muestra. En el caso del suelo se toman 2,5g previamente secado, se agregan 10mL de HNO_3 (65% v/v), dejando en ebullición por 10min, después se adicionan 5mL de agua tipo 1 con 5mL de HCL (37% v/v). Los autores manejaron parámetros de validación, como: límite de detección y cuantificación. Sin embargo, recomendaron que el método de digestión ácida puede optimizarse por medio del ajuste gradual de los ácidos empleados, con el fin de aumentar los porcentajes de recuperación de las muestras. Se concluye que la implementación de EAA permitió determinar el límite de detección en 0,03061 mg/L para Pb, a su vez el límite de cuantificación fue de 0,05102 mg/L.

Sanmiguel y Guerrero (2017) realizaron su trabajo enfocado en la “Validación del método para determinar Pb, Cd, Ni por espectrometría de absorción atómica de llama en agua y

suelo” en la provincia de orellana, Ecuador. En el caso de las muestras de suelos, una vez secado al ambiente, triturado y tamizado, pesaron lo más cercano a $2 \pm 0,01$ g, después añadieron 10 ml de ácido nítrico concentrado, 10 ml de agua destilada, 2 a 3 perlas de ebullición, y realizaron la digestión a 150 ± 5 °C durante 30 minutos. Se analizaron diferentes parámetros de validación como, Selectividad / Especificidad, Linealidad/Función respuesta, Límite de detección, Límite de cuantificación, Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad), Exactitud e Incertidumbre. Los autores concluyen que el método es el adecuado para su aplicación, es decir, la determinación de metales pesado por EAA ya que bajo el análisis estadístico cumplieron con los criterios de rendimiento.

En Lima, Perú también realizaron un trabajo de investigación enfocado a la validación del método analítico, el cual fue desarrollado por Condori, (2016), denominado “Validación de un método para la determinación de cobre, cromo, manganeso y níquel en suelo por absorción atómica de flama”. Los autores evaluaron diferentes parámetros de validación, con la cual, establecen que el método analítico es veraz, preciso, lineal y sensible. Adicionalmente, el método es robusto a los cambios de masa de muestra, temperatura de secado de muestra y variación en la digestión con HCL. Se concluye que, a través del cumplimiento de los parámetros de validación establecidos, se garantiza la validez del método analítico por medio de una técnica sencilla y rápida para obtener resultados confiables, así como también la alta sensibilidad para determinación de analitos traza.

Sin embargo, se pueden encontrar limitación e interferencias en la técnica, según lo expuesto por Gaitan, (2004) quien afirma que la espectrofotometría de absorción atómica se pueden presentar interacciones debidas a la llama, de ionización (si la llama no es lo suficientemente caliente para disociar las moléculas), debidas a la matriz, espectrales y químicas

(disociación incompleta y formación de compuestos refractarios). También, se pueden presentar interferencias en el análisis del metal, por ejemplo, para el Plomo interfieren altos contenidos de materia orgánica. Asimismo, contenidos de cromo (VI), manganeso, cobalto, níquel, cobre, zinc, plata y cadmio superiores a 5 mg/L y de hierro superior a 1 mg/L puede interferir la señal del plomo. Por otro lado, Remache (2013) recomiendan la adición de ácido nítrico a los patrones preparados, incluyendo las diluciones necesarias, las muestras fortificadas y las muestras blanco, con el fin de asegurar la solubilidad uniforme de los metales la cual se consigue alrededor de pH:2 y así garantizar una transferencia de analito más uniforme y segura.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. RECURSO SUELO

El suelo es la capa superior de la corteza terrestre transformada por la erosión y por procesos físico-químicos y biológicos. Está compuesto de partículas minerales, materia orgánica, agua, aire y organismos vivientes organizados en horizontes genéticos de suelo (ISO, 2013 como se citó en Rodríguez *et al.*, 2019). En este sentido, se puede decir que el suelo aporta importantes funciones ambientales, dentro de los cuales se destaca ser el sustento de alimento para las plantas, almacenamiento de nutrientes, alberga la materia orgánica proveniente de restos de plantas y animales, también es el medio por el cual los organismos que la transforman, dichos factores lo hacen esencial en el desarrollo de los ecosistemas del cual forma parte (Silva y Correa, 2009).

El suelo al ser un sistema dinámico, implica que su composición y comportamiento provoca cambios constantes, a partir de la absorción de nutrientes, la meteorización de los minerales y las reacciones de adsorción-desorción de iones, la infiltración o los cambios en el contenido de agua en el suelo. Sin embargo, desde el punto de vista morfológico la mayoría de

los suelos cambian con las intervenciones del hombre cuando se generan perturbaciones a través de su uso (García y Peñuela., 2022).

2.2.2. CONTAMINACIÓN DEL SUELO

Se refiere a la presencia en el suelo de un químico o una sustancia que está presente en concentraciones mayores de lo normal y tiene efectos adversos sobre cualquier organismo al que no está destinado (Rodríguez *et al.*, 2019)

La contaminación del suelo es un proceso de degradación química resultante de la presencia de ciertos productos químicos, elementos o materiales que son potencialmente nocivos en cantidades que superan las recomendadas para la salud humana, animal y vegetal o que causan daños al medio ambiente.

Según Silva y Correa (2009) la contaminación del suelo es generada por actividades económicas y puede presentarse de dos formas: degradación edáfica, proveniente de fuentes claramente delimitadas, contaminación puntual (actividades antropogénicas) y la causada por fuentes difusas (Agricultura mediante fertilizantes, plaguicidas, etc.).

2.2.3. METALES PESADOS

Se refiere al grupo de metales y metaloides de masa relativamente alta ($>4,5 \text{ g/cm}^3$) como Pb, Cd, Cu, Hg, Sn y Zn, que pueden causar problemas de toxicidad (Kemp, 1998 como se citó en Rodríguez *et al.*, 2019).

Las concentraciones de metales pesados en suelos agrícolas son generalmente bajas y muestran una alta variabilidad debido a diferencias en la composición del material parental y en los procesos de formación y desarrollo del suelo. Estas concentraciones se pueden modificar y aumentar mediante diversas prácticas agronómicas, como fertilizantes minerales y agroquímicos, fertilizantes orgánicos de origen animal o vegetal, compuestos orgánicos, lodos de plantas de

tratamiento de aguas y aguas residuales domésticas utilizadas para riego, que son las principales fuentes de estos metales (Rueda *et al.*, 2011).

La acumulación de metales pesados en suelos agrícolas es un riesgo para la vida de los organismos y la salud humana, y sus efectos negativos dependen de la concentración del metal y las propiedades específicas del suelo (Gjoka *et al.*, 2010 como se citó Rueda *et al.*, 2011)

El interés ambiental por los metales pesados en el suelo está relacionado con sus propiedades de acumulación, no biodegradabilidad, capacidad de acumularse en concentraciones tóxicas en el perfil del suelo y su interacción con diversas propiedades del suelo que determinan su acumulación, movilidad y biodisponibilidad hacia otros componentes del ecosistema (Micó *et al.*, 2007).

2.2.4. PLOMO Y SUS PROPIEDADES

El plomo (Pb), es un elemento que químicamente se considera un metal pesado y se ubica en la tabla periódica en el periodo 6 y grupo IV A, con el número atómico 82, de peso atómico de 207,2, con punto de ebullición de 1725 °C, punto de fusión 327,4 °C y densidad de 11,4 g/mL. Se funde con facilidad a elevadas temperaturas, se encuentra de forma natural en estado sólido y no es biodegradable (Casarett *et al.*, como se citó en Rey *et al.*, 2017).

El plomo, es un xenobiótico que no es necesario para el organismo humano, para ninguna función fisiológica conocida, pero sus efectos secundarios inciden sobre diferentes procesos bioquímicos esenciales y, es tóxico incluso a niveles bajos de exposición (Rey *et al.*, 2017).

En el suelo de terrenos no cultivados se han encontrado de 8 a 20 mg Pb/Kg mientras que en terrenos cultivados puede llegar a encontrarse por encima de 360 mg Pb/Kg y cerca de fuentes

de contaminación industrial, el suelo alcanza contenidos de 10 g Pb/Kg o más (Rubio *et al.*, 2004).

El plomo es un contaminante ambiental mayor y altamente tóxico para el ser humano, su presencia en el ambiente se debe principalmente a actividades antropogénicas. De modo que, los altos contenidos de Pb en el suelo pueden provocar problemas de toxicidad en plantas, animales y humanos (Rodríguez *et al.*, 2006). Según la OMS (2022) el plomo es una sustancia tóxica que va acumulándose en el organismo y afectando a diversos sistemas, el cual se distribuye por el organismo hasta alcanzar el cerebro, el hígado, los riñones y los huesos. Se deposita en dientes y huesos, donde se va acumulando con el paso del tiempo. Las personas pueden verse expuestas al Pb por la ingestión de polvo, agua o alimentos contaminados.

2.2.5. MUESTRA INTERNATIONAL SOIL-ANALYTICAL EXCHANGE

Son muestras de los esquemas de prueba de competencia WEPAL-QUASIMEME para evaluar la competencia de los laboratorios, también están disponibles como material de referencia y así, utilizarse para el desarrollo de métodos o como muestras de referencia para el control de calidad interno.

2.2.6. DIGESTIÓN ÁCIDA

Es un método utilizado para la preparación de muestras, para obtener la solución completa del analito y la descomposición total de la muestra evitando la pérdida o contaminación del analito de interés. Se utiliza para reducir interferencias y convertir los metales a una forma en que se pueda analizarse, mediante técnicas analíticas, como la espectrofotometría de absorción atómica (EAA). Para ejecutar una digestión ácida es necesario el uso de ácidos en concentraciones variables, uno de los más utilizados es el ácido nítrico, ya que es adecuado para la extracción de diversos metales, además de que los nitratos proporcionan una buena matriz para

las determinaciones mediante EAA. Sin embargo, algunas muestras requieren de la adición de diferentes ácidos fuertes, como ácido perclórico o ácido clorhídrico para producir una digestión ácida lo suficientemente fuerte para lograr una digestión completa (Molina y Valdés, 2016).

2.2.7. ÁCIDOS PARA LA TÉCNICA DE DIGESTIÓN

Ácido nítrico (HNO_3): es el ácido que se usa más frecuentemente para la digestión de una gran variedad de muestras. El HNO_3 caliente es un agente oxidante fuerte. La temperatura de ebullición es relativamente baja. Este inconveniente puede eliminarse utilizando una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico (Gutiérrez, 2019).

Agua regia: una mezcla de HCl concentrado y HNO_3 concentrado (volúmenes de 3:1) se denomina comúnmente "aqua regia". Este reactivo tiene un efecto oxidante adicional por la formación de cloruro de nitrosilo - NOCl . La característica principal de esta mezcla es la capacidad de disolución de metales nobles, como Au, Ag y Pd (Gutiérrez, 2019).

Ácido perclórico: es uno de los ácidos minerales más fuertes y presenta un alto poder oxidante a altas temperaturas. Debe manejarse con extremo cuidado debido a su rápida reactividad y, a veces, puede volverse explosivo (Gutiérrez, 2019).

2.2.8. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrofotometría de absorción atómica (EAA) es un método instrumental de análisis, que determina gran variedad de elementos, principalmente metálicos. El principio general de esta técnica es la medición de energía absorbida por el elemento químico a determinar tras hacer incidir sobre una muestra, conteniendo dicho elemento, una radiación de luz monocromática específica. La radiación absorbida se determina por diferencia entre la radiación incidente (inicial) y la radiación después de la interacción con la muestra (EMA, 2008 como se citó en Martínez, 2020).

Este proceso es llamado como absorción atómica, basándose en la capacidad de un átomo para absorber luz a longitudes de onda específicas. Los instrumentos para trabajar en Absorción Atómica requieren tres componentes: fuente de energía (radiación), celda para la muestra y equipo de medida de la energía. Además, el parámetro que se utiliza para caracterizar la absorción de energía en Espectrofotometría de Absorción, es la absorbancia. Este parámetro sigue una relación lineal con la concentración, siguiendo la ley de Lambert-Beer (Martínez, 2020).

Para determinar concentraciones de analito en una muestra, primero deben determinarse las absorbancias de disoluciones estándar o patrones de concentraciones de analito sabidas. Seguidamente se grafica el valor de estas absorbancias vs la concentración, obteniéndose de esta forma la “curva de calibración”. Generalmente se utilizan las concentraciones de analito que tienen una relación lineal con la absorbancia pasando a llamarse la relación absorbancia / concentración “Recta de calibración”. Una vez establecida la recta de calibración se determina la Absorbancia de la muestra, aplicando la relación Absorbancia/concentración de la recta de calibrado, se puede obtener la concentración del analito (Martínez, 2020).

Para realizar las medidas con esta técnica el analito debe ser transformado en átomos gaseosos aplicando calor. Estos átomos en forma gaseosa absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible (Beatty & Kerber., 1993 como se citó en Martínez, 2020).

Por otro lado, la técnica de absorción atómica por flama permite cuantificar variedad de elementos; tales como Al, Ba, Cd, Ca, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Ag, Pb, K, Se, Si, Li, Sn, Na y Zn. Además, el equipo de absorción atómica por horno de grafito cuenta con alta sensibilidad para el

analito de interés, permitiéndonos leer concentraciones muy pequeñas y descartar interferencias por algún otro, permite cuantificar: Al, Cd, Cr, As, Se, Pb y Ni (Martínez, 2017).

Según Giraldo (1999) menciona que la sensibilidad de un método analítico corresponde a la mínima cantidad del analito que puede producir un resultado significativo. Por lo tanto, los parámetros para evaluar la sensibilidad son los límites de detección y cuantificación.

2.2.9. LÁMPARA DE CÁTODO HUECO (LCH)

Es una lámpara que contiene un cátodo que está recubierto con el metal analito de interés y un ánodo, dentro de la lámpara, están llenas de un el gas inerte (neón o argón) se ioniza mediante una corriente eléctrica y estos iones son luego atraídos por el cátodo. Los iones de gas inerte bombardean el cátodo y, al hacerlo, excitan los iones metálicos. recubierto en él. Es esta excitación del metal la que produce la emisión de radiación con longitudes de onda características del analito. Los LCH están disponibles para la mayoría de los elementos metálicos (Hill y Fisher, 2017).

2.2.10. LÍMITE DE DETECCIÓN

Corresponde a la menor concentración del analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, en una muestra, en las condiciones establecidas. Se expresa en unidades de concentración (Giraldo, 1999).

2.2.11. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Corresponde a la menor concentración del analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables de acuerdo al tipo de determinación, también se expresa en unidades de concentración (Giraldo, 1999).

2.2.12. LINEALIDAD

Es la relación entre la concentración de analito y la respuesta (Quattrocchi *et al.*, 1992 como se citó en Giraldo, 1999). Esta relación, denominada comúnmente curva de calibración.

2.3. MARCO LEGAL

El Congreso de la República por medio de la implementación de la Ley 29, de febrero de 1990, Diario Oficial N.º 39.205 del 27, procuraba, “fomentar la investigación científica, el desarrollo tecnológico” y la innovación siendo consciente que la generación y a su vez la apropiación del conocimiento son las bases fundamentales para que se pueda dar un verdadero progreso social, a partir del crecimiento económico.

Los alcances de la Ley, que se persiguen en este caso son de tipo económico y social al reconocer la importancia de la ciencia y tecnología en el desarrollo económico y social de la nación, además de la necesidad de contar con políticas públicas claras, concisas y una institucionalidad que pueda ejecutarlas.

Decreto 393 del 8 de febrero de 1991, Diario Oficial N.º 39.672. Por el cual “se dictan normas sobre asociación para actividades científicas y tecnológicas, proyectos de investigación y creación de tecnologías” Este Decreto da las bases para la realización de actividades científicas y tecnológicas, entre la nación y las entidades descentralizadas.

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA - NTC 3934. CALIDAD DEL SUELO.

Determinación del contenido de cadmio, cromo, cobalto, cobre, plomo, manganeso, níquel y zinc en extractos de suelos con agua regia. Métodos de espectrofotometría de absorción atómica de llama y horno de grafito.

Tabla 1

Condiciones analíticas generales para la EAA por llama.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Tipo de llama	Cloruro de lantano	Interferencias principales	Corrección de fondo
Plomo	217,0	Mezcla oxidante aire/acetileno	No	-	Deuterio

(Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC], 2003)

MÉTODO DE LA ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE NORMALIZACIÓN

– **ISO 54321** “Soil, treated biowaste, sludge and waste – Digestion of aqua regia soluble fractions of elements”.

2.4. MARCO CONTEXTUAL

El presente trabajo se realizó en el Centro de Bio-Sistemas de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; bajo las instalaciones del Laboratorio de Inocuidad, Suelos y Aguas ubicado en el municipio de Chía, departamento de Cundinamarca, localizado en la Autopista Norte Km 10 vía Bogotá – Briceño (4°53'06.6"N 74°00'47.9"W).

3. METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación se ubica dentro del modelo cuantitativo. Es una investigación aplicada puesto que utiliza los conocimientos y saberes para la resolución práctica de problemas, con metodología analítica dado que busca evaluar las condiciones o parámetros que se requieren para la eficacia de su aplicación. Finalmente podemos decir que es de tipo experimental, bajo condiciones a nivel de laboratorio, buscando poder comprender el modo en que ocurren y los factores que intervienen en él.

3.2. ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN.

El desarrollo de la metodología del proyecto de grado se ejecutó en el Laboratorio de Inocuidad, Suelos y Aguas del Centro de Bio-sistemas de la Utadeo, el cual se realizó una

revisión bibliográfica, como etapa inicial, haciendo uso de bases de datos, que permiten tener fuentes confiables. Asimismo, una revisión normativa que se tiene presente para el progreso del proyecto, como la NORMA TÉCNICA COLOMBIANA – NTC 3934. CALIDAD DEL SUELO y, el Método de la Organización Internacional de Normalización (ISO) 54321 “Soil, treated biowaste, sludge and waste – Digestion of aqua regia soluble fractions of elements”. El cual, el desarrollo del proyecto consta de tres etapas: Digestión, Cuantificación y Validación.

3.2.1. ETAPA I: OPTIMIZAR EL MÉTODO DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.

En esta primera etapa se trabajó con suelos de muestra internacional de referencia de Holanda como objeto de estudio (muestras ISE), por lo cual la muestra será digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir el metal en una forma determinable por Espectrofotometría de absorción atómica. De igual forma, se manejaron muestra blanco de proceso lo cual permite evaluar cuánta señal de medida es atribuible al analito. Se verificó por duplicado para obtener una estimación del error experimental y tener confiabilidad de los resultados obtenidos.

Se evaluó el método de digestión ácida en sistema abierto en un bloque de digestión y se manejaron condiciones respecto al tiempo de calentamiento y temperatura del bloque de digestión.

En primer lugar, se realizó ensayos preliminares para escoger la muestra a trabajar con el fin de verificar el comportamiento del método de digestión ácida con diferentes texturas de suelo por medio de la comparación de los resultados con los reportados en los informes WEPAL, y así seleccionar la muestra de trabajo, con la cual se realizará el diseño experimental.

3.2.1.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.

Para llevar a cabo la parte experimental, se requiere del uso de equipos, materiales y reactivos que se detallan a continuación:

Equipos

- Balanza analítica – METTLER TOLEDO – Modelo AB204-S/FACT.
- Horno de calentamiento – BINDER .
- Cámara extractora de gases y Bloque de digestión.
- Sistema de purificación de agua (ultrapura).
- Espectrofotómetro de absorción atómica UNICAM 969.
- Lámpara de cátodo hueco para determinar Plomo.

Materiales

- Balones aforados de 25 y 50 ml
- Vasos de precipitación de 25 y 50 ml
- Micropipeta de 10 ml, 5 ml, 1000 μ l
- Tubos de vidrio
- Canicas de vidrio
- Embudos y Papel filtro 090 mm

Reactivos

- Ácido clorhídrico (HCL)
- Ácido nítrico (HNO_3)
- Ácido perclórico (HClO_4)
- Agua desionizada
- Antiespumante Merck® R.A

3.2.1.2. ENSAYOS PRELIMINARES DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.

- SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Inicialmente, se llevó a cabo un registro de las Muestras ISE disponibles en el laboratorio, obtenidas de la Universidad de Wageningen con el objeto de poder comparar los resultados reportados de los informes WEPAL-QUASIMEME (Tabla 2), ya que cumple la función para el desarrollo de métodos o como muestras de referencia para el control de calidad interno.

Tabla 2

Cuadro comparativo de muestras internacionales de referencia.

CUADRO COMPARATIVO DE MUESTRAS INTERNACIONALES DE REFERENCIA – WEPAL.									
ID	CO			% Arcillas (fracción < 2 μ m)			Pb		
	Valor asignado	Media	Incertidumbre	Valor asignado	Media	Incertidumbre	Valor asignado	Media	Incertidumbre
ISE 2019-4 SAMP 1	40.5 g/kg	40.7 g/kg	1.33	27.2	27.2	1.77	276 mg/kg	271 mg/kg	6.1
ISE 2019-4 SAMP 2	15.3 g/kg	15.3 g/kg	0.39	23.0	23.0	1.23	29.6 mg/kg	29.5 mg/kg	0.85
ISE 2020-3 SAMP 3	18.2 g/kg	18.2 g/kg	0.66	2.77	2.97	0.472	6.64 mg/kg	6.67 mg/kg	0.161
ISE 2020-3 SAMP 4	8.77 g/kg	8.84 g/kg	0.213	12.5	12.9	0.67	29.2 mg/kg	28.8 mg/kg	0.62
ISE 2021-4 SAMP 1	21.2 g/kg	21.0 g/kg	0.62	3.79	3.55	0.427	7.09 mg/kg	7.14 mg/kg	0.191
ISE 2021-4 SAMP 2	35.4 g/kg	35.1 g/kg	1.19	26.5	26.0	1.62	282 mg/kg	283 mg/kg	6.4
ISE 2021-4 SAMP 3	5.53 g/kg	5.48 g/kg	0.197	3.71	4.02	0.401	3.61 mg/kg	3.55 mg/kg	0.177
ISE 2021-4 SAMP 4	12.0 g/kg	12.1 g/kg	0.32	30.9	31.5	1.25	32.1 mg/kg	31.9 mg/kg	0.71
ISE 2022-2 SAMP 1	16.5 g/kg	16.4 g/kg	0.41	2.95	3.03	0.238	13.4 mg/kg	13.4 mg/kg	0.20
ISE 2022-2 SAMP 2	18.4 g/kg	18.6 g/kg	0.38	27.8	26.4	2.23	31.4 mg/kg	31.8 mg/kg	0.87
ISE 2022-2 SAMP 3	20.5 g/kg	20.55 g/kg	0.55	3.30	3.20	0.284	22.9 mg/kg	23.0 mg/kg	0.38
ISE 2022-2 SAMP 4	10.9 g/kg	11.0 g/kg	0.33	33.4	32.9	1.39	15 mg/kg	15.5 mg/kg	0.85
ISE 2023-1 SAMP 1	21.2 g/kg	20.9 g/kg	0.69	13.5	13.2	0.67	240 mg/kg	237 mg/kg	5.2
ISE 2023-1 SAMP 2	10.8 g/kg	11.0 g/kg	0.29	22.6	22.0	0.74	36 mg/kg	35.6 mg/kg	1.14
ISE 2023-1 SAMP 3	22.8 g/kg	22.9 g/kg	0.61	3.95	4.16	0.329	14.3 mg/kg	14.2 mg/kg	0.39
ISE 2023-1 SAMP 4	11.0 g/kg	11.1 g/kg	0.31	31.8	32.3	2.59	44.2 mg/kg	44.3 mg/kg	2.05

Fuente propia

Una vez realizada la comparación de los resultados, se seleccionan las muestras con las cuales se trabajará los ensayos preliminares del estudio, contando con diferentes niveles de concentración del Pb, es decir, alto, medio y bajo (Tabla 3). Para ello, se seleccionaron muestras de diferentes texturas del suelo, la cantidad de carbón orgánico y el porcentaje de arcilla, que son alguno de los factores que influyen en la movilidad de los metales pesados en el suelo, con el fin de mirar la movilidad del Pb dependiendo del tipo de suelo.

Tabla 3

Resultados de las muestras ISE reportadas en los informes WEPAL.

ID	Muestras	Tipo de suelo	CO (g/kg)	% Arcilla (fracción <2 µm)	Concentración de Pb (mg/kg)
ISE 2021-4 SAMP 2	1	Arcilloso	35,4	26,5	282
ISE 2020-3 SAMP 4	2	Limoso	8,77	12,5	29,2
ISE 2021-4 SAMP 3	3	Arenoso	5,53	3,71	3,61

- PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS MUESTRAS

A cada una de las muestras se determinó el porcentaje de humedad, usando el método gravimétrico, el cual se pesó la cápsula anotando el peso exacto y se pesó 1 g de cada muestra, se debe corroborar el número de identificación de cada cápsula, se llevó al horno de calentamiento a una temperatura de 105 °C durante 18 horas; se dejó enfriar las cápsulas dentro del horno aproximadamente 2 h, se retiraron y se pesaron de inmediato, llevando un registro de los datos. Por último, se realizaron los cálculos para hallar el P_w , el cual se implementa como factor de corrección por humedad para las concentraciones de Pb.

- CONDICIONES DE LA DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA

Con base a la Norma ISO 54321 se establecieron las condiciones experimentales para los ensayos preliminares, el cual indica que se debe aumentar lentamente la temperatura hasta el punto de ebullición, y mantener la temperatura en el punto de ebullición durante (120 ± 10) min (Tabla 4); Cada muestra se realizó por duplicado.

Tabla 4

Condiciones de digestión ácida vía abierta según la Norma ISO 54321.

DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA SEGÚN LA NORMA ISO 54321			
Peso	Mezcla ácida	Temperatura del bloque de digestión	Tiempo de calentamiento
4 g	Agua regia (3:1)	110°C	2 horas

Nota: las condiciones del método de digestión ácida vía abierta puede variar a lo largo de los ensayos, con el fin de encontrar las condiciones óptimas y así suministrar resultados fiables.

- **PROCEDIMIENTO DE LA DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA**

1. En primer lugar, se pesó 4 g de la muestra de suelo en una balanza de 0.0001 g de resolución, el cual se anotó el peso exacto de la muestra para poder hacer el cálculo veraz de la concentración de las muestras. Y se transfirió a un tubo de digestión en vidrio.
2. Se añadió en los tubos de digestión 15 ml de agua regia (12 mL de HCL y 4 mL de HNO_3) y se colocaron canicas de vidrio a cada tubo.

Nota: Al momento que la mezcla ácida (agua regia) hizo contacto con la muestra, estas presentaron efervescencia, por lo cual se recomienda adicionar Antiespumante ya que ayuda a controlar la formación de espuma y así las muestras no pierdan propiedades mediante la aparición de estas.

3. Se colocaron los tubos en el bloque de digestión por 2 h, calentado previamente a 110°C .
4. Y se Dejó enfriar a temperatura ambiente.
5. Luego, se transfirió a un balón aforado de 50 y 25 ml, el cual se realizó tres veces un lavado al tubo de digestión.
6. Se completó el volumen con agua desionizada
7. Después se filtró con ayuda de un embudo y papel filtro en balón aforado de 50 y 25 mL.
8. Por último, se realizó la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica.

- **BLANCO DE PROCESO**

Para el blanco de proceso repita el procedimiento descrito en el numeral 2.2.4 pero omitiendo el primer paso.

- CUANTIFICACIÓN POR EAA POR LLAMA

El equipo de absorción atómica funciona mediante el software SOLAAR 32, el cual se opera desde un computador, donde se indica al equipo el elemento que se va a medir en la muestra y las condiciones de operación que se quieren.

Luego se analizaron las muestras para detectar Pb con llama aire-acetileno, el cual se realizaron tres lecturas por muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica UNICAM 969 con Lámpara de cátodo hueco para determinar Plomo; las condiciones instrumentales se cumplieron con base al documento interno, procedimiento Operativo Estándar (POE) “Análisis de Metales Pesados en Materia Orgánica, Foliares, Suelos y Aguas por Espectroscopia de Absorción Atómica con Llama y con Generador de Hidruros”:

Tabla 5

Condiciones de lectura instrumental del método para el análisis de plomo.

Parámetros Generales		Tabla de Secuencia	
<i>Modo instrumental:</i>	Llama	<i>Estánd. Repart.:</i>	Si
<i>Usar SFI:</i>	No	<i>Referencia QC:</i>	Si
<i>Calentamiento:</i>	Ninguna	<i>Modi. Matriz Comp.</i>	Si
<i>Automuestreador:</i>	Ningún	<i>Puntas QC Comprar:</i>	Si
Parámetros Espectrómetro		Determinación de Pb	
<i>Elemento:</i>	Pb	<i>Tipo Señal:</i>	Continuo
<i>λ (nm)</i>	217	<i>Modo Medida:</i>	Absorbancia
<i>Correc. Fondo:</i>	Apagado	<i>Corriente Lámp:</i>	75%
<i>Alta Resolución:</i>	Apagado	<i>Nº Re muestras:</i>	2
<i>Rechazo datos:</i>	No	<i>Optimi. Parame.</i>	Apagado
<i>Tiempo de medida (s)</i>	0.5		
Parámetros De Llama		Parámetros De estabilización	
<i>Tipo de llama:</i>	Aire – Acetileno	<i>Tiempo de estabilización del mechero (min)</i>	0
<i>Flujo de combustible (L/min)</i>	1.1	<i>Tiempo de estabilización de la llama (s)</i>	0
<i>Oxidante auxiliar:</i>	No	<i>Optimización de flujo combustible:</i>	No

3.2.1.3. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE DIGESTIÓN ÁCIDA VÍA ABIERTA.

Una vez seleccionada la muestra, se plantea el diseño experimental en la tabla 6. Se realizaron ensayos por duplicado utilizando como factores la temperatura y tiempo de calentamiento, y teniendo como referencia las condiciones de la Norma ISO 54321 (temperatura y tiempo). El nivel de temperatura más alto se selecciona teniendo en cuenta revisión de literatura en donde realizan digestiones a 150 °C (Olivares *et al.*, 2013; Martínez (2019). La temperatura intermedia se selecciona manteniendo la diferencia entre la temperatura máxima y la temperatura de la norma. Adicionalmente, para la selección de los tiempos de calentamiento se tuvo en cuenta un tiempo menor y mayor al definido en la norma para evaluar el comportamiento de la digestión. Estos tiempos son seleccionados de tal manera que se garantice la digestión de la muestra con el tiempo mínimo (90 minutos).

Tabla 6

Diseño experimental con agua regia (HCL: HNO3).

Método	Peso (g)	Mezcla ácida	Temperatura del Bloque de digestión (°C)	Tiempo de Calentamiento (min)
A	5	Agua regia (3:1)	110	90 min
				120 min
				150 min
B			130	90 min
				120 min
				150 min
C			150	90 min
				120 min
				150 min

Fuente propia.

3.2.1.4. ENSAYO EXPLORATORIO CON LA DIGESTIÓN PERCLÓRICA COMBINADA.

Adicionalmente, se realizó un ensayo exploratorio con una digestión perclórica combinada ($\text{HCl-HNO}_3\text{-HClO}_4$), en una proporción (3:1:0,5); debido a que el HClO_4 es uno de los ácidos minerales más fuertes y presenta un alto poder oxidante a altas temperaturas, Según Martínez (2019) la digestión perclórica es efectiva para un largo número de especies minerales tales como cobre, plomo, zinc, plata, manganeso, sodio, potasio; dentro del cual se encuentra el metal de interés.

Tabla 7

Ensayo exploratorio con digestión perclórica combinada ($\text{HCl} + \text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$).

Método	Peso (g)	Mezcla ácida	Temperatura del Bloque de digestión (°C)	Tiempo de Calentamiento (min)
D	5	$\text{HCl} + \text{HNO}_3$ + HClO_4	150	90 min
				120 min
				150 min

Fuente propia.

Una vez finalizado los ensayos del diseño experimental, se realizó los respectivos cálculos anteriormente detallados, también se implementó el análisis ANOVA el cual es un método estadístico que permite verificar si los resultados de la prueba presentan diferencias significativas entre ellas; donde un valor $p > \alpha$: las diferencias entre las medias no son estadísticamente significativas, es decir, las diferencias significativas entre las concentraciones de Pb, de los diferentes métodos de digestión (A, B y C), esto con el fin de seleccionar las condiciones óptimas del comportamiento que refleja la muestra, de acuerdo a la evaluación del tiempo de calentamiento y temperatura del bloque de digestión, con el objeto de cumplir con la optimización del método de digestión ácida vía abierta.

3.2.1.5. CÁLCULOS

- Porcentaje de humedad en el suelo a 105 °C

Para el procedimiento del numeral 3.2.2., se realiza el siguiente cálculo:

$$Pw = \frac{(Pmh + Pc) - (Pms)}{(Pms - Pc)} \cdot 100$$

Donde: Pw = porcentaje de humedad en el suelo seco a 105 °C.

Pc= peso de la cápsula.

Pmh= peso de la muestra antes del secado a 105 °C.

Pms= peso de la muestra más el peso de la cápsula después del secado a 105 °C.

- Concentración del metal

La ecuación que se muestra a continuación se utiliza con el objetivo de conocer la concentración del metal presente en las muestras de análisis:

$$Cm = \left(\frac{(Ce - Cb) \times Ve}{Pm} \times fd \right) \times \left(\frac{100 + pW}{100} \right)$$

Donde: Cm = Concentración de la muestra (mg/kg)

Ce = Concentración instrumental de la solución que se determinó en EAA (mg/L)

Cb = Concentración instrumental del Blanco de proceso

Pm = Peso de muestra (g)

Ve = Volumen final de la solución (ml)

fd = factor de dilución

pW = % porcentaje de humedad en el suelo seco a 105 °C.

Por otro lado, se va evaluar el porcentaje de recuperación como veracidad y el porcentaje del coeficiente de variación como repetibilidad del método, para así poder seleccionar la muestra a trabajar. Utilizando las siguientes ecuaciones:

- **Porcentaje de recuperación**

$$\% \text{ recuperación} : \frac{\text{valor real}}{\text{valor teórico}} \times 100$$

- **Porcentaje del coeficiente de variación**

$$\% \text{ Coeficiente de variación} : \frac{\text{Desviación estándar } (\sigma)}{\text{Promedio}} \times 100$$

- **Desviación estándar**

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

3.2.2. ETAPA II: AJUSTAR LAS CONDICIONES INSTRUMENTALES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN EAA POR LLAMA

Para el ajuste de los parámetros instrumentales para la cuantificación de plomo en el espectrofotómetro de absorción atómica UNICAM 969, se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

- | | |
|-----------------------|-------------------------|
| - Flujo del aire | - Longitud de onda (nm) |
| - Flujo del acetileno | - Absorbancia (A) |
| - Altura del quemador | - PMT voltaje |

Nota: las condiciones de lectura instrumental se mantienen igual al POE, que figura en la Tabla 5, estas cumplen con las condiciones analíticas generales para la espectrofotometría de absorción atómica por llama, según la NORMA TÉCNICA COLOMBIA – NTC 3934. CALIDAD DEL SUELO, presente en la Tabla 1.

Se prepararon varias soluciones de chequeo, del cual se obtuvieron los datos de Absorbancia, a fin de conocer el estado del equipo y a partir del montaje del equipo se obtuvieron los demás parámetros instrumentales (PMT → detector: tubo fotomultiplicador) para

conocer el estado de la lámpara, formando un listado de los datos obtenidos en cada lectura instrumental, con el fin de realizar una carta control de las absorbancias y otra para los valores de PMT, para evaluar la repetibilidad del proceso, y como parámetro de aceptación al momento de ejecutar la lectura en el equipo.

3.2.2.1. PREPARACIÓN SOLUCIÓN DE CHEQUEO.

En primer lugar, en un balón aforado de 50 ml se preparó HCL_(ac) al 10% (V/V) (solvente) en una cabina extractora de gases, teniendo en cuenta que primero se debe dejar una cantidad considerable de agua desionizada, debido que al agregarlo directamente se genera una reacción exotérmica y, por último, se completó el volumen con agua desionizada.

Seguidamente de una solución madre de Pb a 100 mg/L, se llevó a cabo una concentración de 9,4 mg/L aforando con HCL_(ac) al 10%, para la preparación de estas soluciones se usa la fórmula de diluciones $C_1V_1=C_2V_2$.

3.2.2.2. CARTA DE CONTROL

Para elaborar la carta de control de absorbancia de la solución de chequeo y PMT del equipo, se deben considerar las siguientes fórmulas:

LÍNEA CENTRAL	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
$LC = \bar{x}$	$LCI = \bar{x} - k(\sigma)$	$LCS = \bar{x} + k(\sigma)$

Donde: $\bar{x}$: promedio.

k: factor de cobertura (k = 2 corresponde a un nivel de confianza del 95 %).

σ : desviación estándar.

3.2.3. ETAPA III: VALIDACIÓN PARCIAL DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR PLOMO EN MATRIZ SÓLIDA (SUELO).

Por último, la validación de un método analítico garantiza que los resultados obtenidos se acerquen lo más posible al valor de referencia real de una muestra. Por lo tanto, se tiene en cuenta, la elaboración de una curva de calibración ya que es la representación gráfica que relaciona una señal instrumental en función de la concentración del analito.

3.2.3.1. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA PLOMO

A partir de una solución patrón de Plomo de 1000 mg/L se preparó una solución madre de plomo de concentración equivalente a 100 mg/L, llevando a volumen final con HCL_(ac) al 10% (V/V), obteniendo la solución de trabajo.

De la solución de trabajo, se elaboró la curva de calibración que se presenta en la tabla 8, empleando en todos los casos balones aforados de 25 mL clase A y para llevar a volumen se utiliza HCL_(ac) al 10% (V/V).

A continuación, se detalla los puntos de calibración para plomo:

Tabla 8

Estándares para la realización de las curvas de calibración.

Nivel	Volumen de la solución de trabajo (mL)	Volumen Final (mL)	Concentración final (mg/L)
1	0,25	25	1
2	0,5	25	2
3	1	25	4
4	1,5	25	6
5	2	25	8
6	2,5	25	10

Fuente propia

Luego, se midió la absorbancia de los estándares, de menor a mayor concentración para verificar la calibración.

Para llevar a cabo el proceso de validación parcial, se tuvo presente la nueva guía “Validación de métodos en análisis químico cuantitativo” del Instituto Nacional de Metrología (INM) por Ahumada *et al.*, (2023), a fin de llevar a detalle los principales parámetros de validación y el procedimiento estadístico.

3.2.3.2. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN PARCIAL

Los parámetros evaluados para la validación del método, se resumen en la tabla 9.

Tabla 9

Criterios analíticos utilizados para la validación parcial del método.

CRITÉRIO ANALÍTICO	PARÁMETRO MEDIDO
Linealidad de respuesta	Regresión lineal del grado de ajuste cumpla con $R^2 \geq 0,995$ Prueba de significancia (Análisis ANOVA)
Límite de detección	Concentración (mg/L)
Límite de cuantificación	Concentración (mg/L)
Veracidad	Porcentaje de recuperación
Repetibilidad	Coefficiente de variación (%CV)

Fuente propia.

- LINEALIDAD/FUNCIÓN DE RESPUESTA

La evaluación de la linealidad está constituida por dos fases, principalmente:

- 1. Análisis Exploratorio:** basado en un análisis de correlación.
- 2. Pruebas de significancia:** basado en la evaluación del modelo y sus parámetros.

En la primera fase, se evaluó el grado de relación entre variables, es decir, señal (absorbancia) y concentración, con el coeficiente de correlación o el coeficiente de determinación, para ello se elaboraron 5 curvas de calibración independientes (diferentes días). Cada curva contó con diferentes niveles de concentración (tabla 8), con el fin de observar el comportamiento de la curva y determinar cualitativamente si la tendencia en la relación entre las variables es lineal, permitiendo visualizar si cuenta con puntos anómalos en la regresión, y poder decidir si repetir el experimento.

Seguidamente, una vez obtenido el coeficiente, se emplea la prueba t de Student con el propósito de evaluar si la relación entre las variables es significativa o no, empleando la siguiente fórmula:

$$t_{cal} = \frac{|R|\sqrt{m-2}}{\sqrt{1-R^2}}$$

Donde: m corresponde al número de niveles de la curva y R al coeficiente de correlación.

Se parte de dos hipótesis: H_0 o hipótesis nula en la cual se estima que no existe correlación entre las variables (dependiente e independiente) y una hipótesis alterna H_1 donde, existe una correlación lineal. Si, el valor t_{cal} es mayor al valor del t_{crit} (obtenido de la tabla de distribución t-student) por lo tanto se acepta H_1 .

Una vez realizado el análisis exploratorio y confirmado que la curva de calibración es en apariencia lineal, se realizaron pruebas estadísticas que permiten soportar dicha linealidad de una manera objetiva, por medio del análisis de varianza permite verificar que la varianza de los datos es explicada por el modelo de regresión (ANOVA de regresión), y evaluar la bondad del ajuste (ANOVA de falta de ajuste), utilizando el aplicado validaR v.1.0.3.2. del INM.

- CRITERIO DE ACEPTACIÓN O RECHAZO (R^2)

Para el ajuste de calibración se aplica el criterio de coeficiente de determinación (R^2) mayor o igual a 0,995 y residuos inferiores al 10%, es decir en el intervalo de [-10%, 10%], se calcula por medio del error porcentual.

- CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL

A partir de la ecuación de la recta de cada curva de calibración ($Y=mX+b$), se determina la concentración experimental de cada nivel de estándar, quedando expresada la ecuación de la siguiente forma:

$$X = \frac{Y - b}{m}$$

Donde: X: concentración experimental (mg/L)

Y: absorbancia instrumental

m: pendiente de la recta (mg/L)

b: ordenada en el origen

- **ERROR PORCENTUAL**

Se aplica el error porcentual el cual consiste en la comparación entre la concentración teórica con la concentración experimental de los estándares para cada curva de calibración, usando la siguiente fórmula:

$$E_{\%} = \left| 100 - \frac{\text{Valor experimental}}{\text{Valor teórico}} \cdot 100 \right|$$

- **LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

Para calcular el límite de detección (LOD), se realizó a través del método de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), el cual se debe aplicar la ecuación con corrección por blanco o por medio del aplicado validaR v.1.0.3.2. del INM.

$$LOD = \frac{3.3 \cdot s_{bl}}{m}$$

Para hallar el límite de cuantificación (LOQ), se aplica la siguiente ecuación:

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_{bl}}{m}$$

Donde: s_{bl} : desviación estándar de la respuesta de los blancos.

m: pendiente de la curva de calibración.

Nota: se realizan 10 medidas repetitivas del blanco.

Seguidamente, se trabajará con la digestión ácida vía abierta con el método optimizado, a 110°C por 90 min para la muestra de referencia (tabla 10) a fin de comprobar la veracidad del

método lo cual indica que tan cerca está el resultado de un valor de referencia, por lo que la medida cuantitativa para evaluar la veracidad es el sesgo, y este puede expresar mediante porcentaje de recuperación y, una muestra problema (muestra 6) perteneciente a un cultivo a campo abierto del Centro de Bio-sistemas, además a dicha muestra se realizaran otros análisis en el laboratorio de suelos y aguas, como indicadores físicos del suelo (textura y carbón orgánico).

Para calcular el porcentaje de recuperación y el coeficiente de variación se utilizan las ecuaciones que se encuentran en el numeral 3.2.1.5. Además, para la selección del criterio de aceptación se empleó la establecida por la Organización Oficial de Químicos Analíticos (AOAC), manejando el intervalo de recuperación de 80-110% y el % CV aceptable de 7.3%.

Tabla 10

Resultados del informe WEPAL de la muestra ISE para la validación parcial.

ID	Muestras	Tipo de suelo	CO (g/kg)	% Arcilla (fracción <2 µm)	Concentración de Pb (mg/kg)
ISE 2021-4 SAMP 4	5	Arcilloso	12,0	30,9	32,1

Para la muestra problema, una vez codificada según el análisis requerido, se coloca en una bandeja metálica después se lleva al horno a 40°C y una vez se encuentre seca, se realiza el proceso de molienda el cual lo lleva a cabo el personal del laboratorio capacitado.

- TEXTURA DEL SUELO

A la muestra problema, se determinó la textura del suelo, usando el método Bouyoucos:

1. Se pesaron 50g de la muestra y se colocaron en un frasco cilíndrico.
2. Se agregaron 50 ml de dispersante de textura (solución hexametafosfato de sodio y carbonato de sodio).
3. Después se adicionó 500 ml de agua sin filtrar y se tapó el frasco.
4. Se agitó durante 2 horas en un agitador recíproco.

5. Se trasvasó la muestra a una probeta plástica graduada de 1000 ml y se agregó agua hasta completar volumen.
6. Se agitó vigorosamente la suspensión con agitador manual por 30 s.
7. Luego, se sacó el agitador; se sumergió el hidrómetro suave y cuidadosamente en la suspensión sin que roce las paredes de la probeta.
8. A los 40 s se tomó la lectura en el menisco superior del hidrómetro.
9. Se retiró el hidrómetro con cuidado y se lavó, dejando la suspensión en reposo por 2h.
10. Al cabo de las 2 h, se sumergió el hidrómetro, y se tomó la lectura. **Nota:** llevar un registro de los datos.

- **CARBÓN ORGÁNICO**

A la muestra problema, se determinó carbón orgánico, usando el método digestión vía húmeda (Walkley – Blanck):

Etapas de extracción

1. En una balanza de 0,001g de precisión, se pesó 0,1 – 0,3 g de suelo seco (negros y pardos oscuros) se colocó en un Erlenmeyer de 125 mL. **Nota:** anotar el peso exacto.
2. Bajo la campana de extracción de gases se agregó con dispensador 5 mL dicromato de potasio 1N y 10 mL de ácido sulfúrico, ya que genera una reacción exotérmica y, se preparó un blanco de proceso (Bp) (dicromato de potasio y ácido sulfúrico).
3. Se dejó en reposo la mezcla por 30 min bajo campana de extracción.
4. Se agregaron 50 mL de agua destilada, para obtener una solución en la que se pueda observar claramente el punto final de titulación y, dejar enfriar la solución.

Etapa de cuantificación

5. Se agregó 1 mL de ácido ortofosfórico y 5 gotas de indicador de ortofenantrolina y un agitador magnético.
6. Se procedió a titular con sulfato de hierro (FeSO_4) hasta el viraje de la solución de naranja o verde a rojo Vinotinto. **Nota:** anotar el volumen gastado.

Los resultados de los análisis son reportados por el laboratorio de suelos y aguas.



Figura 1. Procedimiento del carbón orgánico.

A) Peso (g) **B)** Adición de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2SO_4 y agua destilada **C)** titulación **D)** viraje de color.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1. RESULTADOS DE LA ETAPA I

4.1.1. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

- CÁLCULOS

Teniendo en cuenta el procedimiento de determinación de % de Pw, el registro de los valores se encuentra en la tabla 11. Adicionalmente, se presenta una muestra del cálculo con los resultados para verificar el cálculo de PW (ejemplo 1).

- **PORCENTAJE DE HUMEDAD EN EL SUELO A 105 °C (P_w)**

Tabla 11

Determinación del porcentaje de humedad en el suelo seco a 105 °C.

Muestras	Registro de Datos			Resultados
	P _{mh} (g)	P _c (g)	P _{ms} (g)	% P _w
1	1,0007	13,4759	14,4597	1,717
2	1,0015	10,5039	11,5000	0,542
3	1,0021	10,4036	11,4026	0,310

Fuente propia

Ejemplo 1

$$P_w = \frac{(1,0007g + 13,4759g) - (14,4597g)}{(14,4597g - 13,4759g)} \cdot 100 = 1,717\%$$

Los resultados del %P_w indican que la muestra con mayor retención de agua, es la muestra 1, esto se debe a la textura arcillosa del suelo y también al ser la muestra con mayor contenido de carbón orgánico. Cabe resaltar que, el carbón orgánico es el principal componente de la materia orgánica del suelo. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], (2017) la materia orgánica mejora la agregación del suelo y la estabilidad estructural, y junto con la porosidad determinan la capacidad para retener y controlar la transmisión del agua a través del suelo, lo que también influye químicamente en la absorción del carbono ya que se generan enlaces químicos a las arcillas.

Por consiguiente, los suelos con altos contenidos de arcillas serán más húmedos que aquellos con alto porcentaje de arenas, aunque la cantidad de agua de adhesión es pequeña (Navarro, 2013). Como se presenta en la muestra 3, que presenta menor %P_w, es decir, menor retención de agua.

Cabe señalar que los datos de % P_w son calculados para realizar la corrección por cantidad de agua en la cuantificación de plomo.

- CONCENTRACIÓN DEL PLOMO EN LAS MUESTRAS ISE

En la tabla 12, se muestra los valores de las tres lecturas de cada una de las réplicas de las muestras, el cual con ellos se calcula la concentración del Plomo presente, como se muestra en el ejemplo 2; Sin embargo, para la muestra 1 se realizó una dilución, tomando 500 μL de la muestra y 4500 μL de agua desionizada, en una relación 1:10, Debido a que la concentración supera la concentración máxima de la curva de calibración.

Tabla 12

Lectura instrumental del ensayo preliminar.

Muestras	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
		1	2	3		
Muestra 1	1	23,543	23,454	24,458	4	50
	2	23,097	24,153	23,667	4	50
Muestra 2	1	2,365	2,342	2,336	4	50
	2	2,386	2,278	2,318	4	50
Muestra 3	1	1,144	1,166	1,099	4	25
	2	1,193	1,173	1,183	4	25
Blanco	-		0,0719		-	50

Ejemplo 2

$$C_m: \left(\frac{\left(23,543 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 0,0719 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \cdot \frac{1 \cancel{\text{L}}}{1000 \cancel{\text{mL}}} \cdot 50 \cancel{\text{mL}}}{4 \cancel{\text{g}} \cdot \frac{1 \text{ kg}}{1000 \cancel{\text{g}}}} \cdot 1 \right) \cdot \left(\frac{100 + 1,717}{100} \right) = 298,432 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

En la siguiente tabla, se encuentran los resultados de las concentraciones de cada muestra, obteniendo un promedio por réplica, el cual se presenta como resultado.

Tabla 13

Resultados de la concentración de Pb del ensayo preliminar.

Muestras	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
		Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
Muestra 1	1	298,432	297,296	310,063	301,930
	2	292,759	306,188	299,999	299,649
Muestra 2	1	28,823	28,533	28,457	28,604

	2	29,086	27,719	28,225	28,343
Muestra 3	1	6,724	6,857	6,441	6,674
	2	7,030	6,904	6,963	6,966

Fuente propia

Adicionalmente, se calcula el porcentaje de recuperación por cada duplicado de cada muestra y el % del coeficiente de variación por muestra para verificar la veracidad y la repetibilidad del método, tal como se muestra en los ejemplos 3 y 4. En la tabla 14, se encuentran los resultados de cada una de las muestras.

- Porcentaje de recuperación

Ejemplo 3

$$\% \text{ recuperación} : \frac{301,930 \text{ mg/kg}}{282 \text{ mg/kg}} \times 100 = 107,067$$

- Coeficiente de variación (%CV)

Ejemplo 4

$$\sigma: \sqrt{\frac{(298,432 - 301,930)^2 + (297,296 - 301,930)^2 + (310,063 - 301,930)^2}{3 - 1}} : 7,0659 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

$$\% \text{ Coeficiente de variación} : \frac{7,0659 \text{ mg/kg}}{301,930 \text{ mg/kg}} \times 100 : 2,340$$

Tabla 14

Resultados del % de recuperación y del % CV del ensayo preliminar.

Muestras	Réplicas	Concentración (mg/kg)	% recuperación	% CV	
Muestra 1	1	301,930	107,067	2,340	2,092
	2	299,649	106,258	2,243	
Muestra 2	1	28,604	97,960	0,675	1,670
	2	28,343	97,066	2,437	
Muestra 3	1	6,674	184,875	3,181	3,115
	2	6,966	192,956	0,901	

Fuente propia

Según Taverniers *et al.*, 2004 "Analytical method validation and quality assurance", los % de recuperación aceptables en función de la concentración del analito, es del 80 – 110%. Por lo cual, se seleccionó el % de recuperación más grande de acuerdo al espectro de concentraciones de las muestras que se analizaron.

De modo que, las muestras 1 y 2 cumplen con los % de recuperación, lo que indica que la metodología propuesta presenta una buena extracción del plomo presente en el tipo de suelo de las muestras. Además, los coeficientes de variación reflejan un buen resultado del procedimiento realizado, mostrando una buena repetibilidad del ensayo.

Las diferencias en los porcentajes de recuperación encontrados en las muestras se debe principalmente por las características químicas de los suelos, tal como lo afirma Victoria y Kunimine (2003) “la distribución química del plomo en el suelo depende del pH, de la mineralogía, de la textura, del contenido en materia orgánica,” donde la textura favorece la entrada e infiltración de la contaminación de metales pesados en el suelo, por ejemplo, la capacidad de la arcilla para capturar metales pesados se debe a su estructura cristalina, que le permite intercambiar iones con los metales pesados. La arcilla tiene una carga negativa en su superficie, lo que atrae a los iones positivos de los metales pesados (Rosas *et al.*, 2014), por el contrario, los suelos arenosos con bajo contenido de materia orgánica presentan un riesgo particular para la filtración de contaminantes debido a la escasez de lugares de adsorción (Rodríguez *et al.*, 2019) lo cual carecen de capacidad de fijación de los metales pesados.

Debido a que los resultados de la muestra 3 presentó una concentración entre 6,674 – 6,966 mg/kg, es decir, mayor a la reportada en el informe WEPAL de 3,61 mg/kg. Y, como no hay un límite de cuantificación instrumental, se realizó un segundo ensayo de la muestra, de esta

manera podemos determinar si el alto resultado de recuperación corresponde a un error aleatorio en la extracción o el resultado pueda estar debajo del Límite de Cuantificación.

Se empleó el mismo procedimiento de digestión ácida manteniendo la proporción de agua regia, sin embargo, se utilizaron en este caso 5 g de la muestra con el fin de verificar si el equipo leyó ruido debido a que la concentración de la muestra es baja.

Los resultados de concentración de plomo de la muestra 3, se observan en la tabla 16.

Tabla 15

Lectura instrumental de la muestra 3

Muestras	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
		1	2	3		
Muestra 3	1	0,6117	0,5897	0,5761	5	25
	2	0,6477	0,5989	0,5726	5	25
Blanco	-	-0,2746			-	50

Fuente propia

Tabla 16

Resultados de la concentración de Pb de la muestra 3.

Muestras	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
		Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
Muestra 3	1	4,445	4,335	4,335	4,349
	2	4,626	4,381	4,381	4,419

Fuente propia

Tabla 17

Resultados del % de recuperación y del % CV de la muestra 3.

Muestra	Réplicas	% recuperación	% CV
Muestra 3	1	120,470	2,072
	2	122,401	4,325

Fuente propia

Los porcentajes de recuperación son mayores a los establecidos, sin embargo, disminuyeron respecto al primer ensayo, por lo cual, la concentración de la muestra puede

afectar la relación señal-ruido (SNR) en las mediciones, por ejemplo, una SNR alta conduce a una medición más precisa, significa que la señal de absorción es más fuerte en relación con el ruido de fondo generado por el instrumento. En caso contrario, la señal analítica disminuye y el ruido instrumental se vuelve más evidente.

Además, se calculó el Z'score como se muestra en el ejemplo 5, con el fin de corroborar que los resultados son aceptables, es decir, $-2 < X < +2$.

- EVALUACIÓN DEL Z'score

$$Z'_i = \frac{(x_i - x_{pt})}{\text{Total error}}$$

Donde: Xi: Valor obtenido en el laboratorio

Xpt: La media con el modelo NDA (reportada en el informe WEPAL)

Total error: Desviación estándar NDA

Para la evaluación de los resultados del valor de Z'score, se tiene que son:

Cuestionables los resultados $2 < |Z'_i| < 3$ (señal de aviso)

Resultados insatisfactorios con $|Z'_i| > 3$ (señal de acción)

Ejemplo 5

$$Z'_i = \frac{(4,349 - 3,61) \text{ mg/kg}}{0,708 \text{ mg/kg}} = 1,043$$

El Z'score indica el número de desviaciones estándar de la media de un punto de información. Por lo cual, el valor obtenido se considera satisfactorio. Esta interpretación se basa en que los resultados analíticos que se ajustan a una distribución Normal se encuentran dentro de dos desviaciones estándar con una probabilidad de 95%.

Tabla 18

Resultados del Z'score de la muestra 3.

Muestra	Réplicas	Z'score
Muestra 3	1	1,043
	2	1,476

Fuente propia

Del registro de las muestras ISE, se seleccionó otra muestra de tipo de suelo arenoso (tabla 19) para trabajar en el diseño experimental, con una concentración mayor de Pb que se encontrará aproximadamente entre el nivel 3, y con esto se garantizará que se encuentre por encima del LOQ. Además, para el ensayo exploratorio se desarrollará con la muestra 2, ya que presentó una buena extracción y resultados favorables en los ensayos preliminares.

Tabla 19

Resultados de la muestra 4 reportadas en los informes WEPAL.

ID	Muestra	Tipo de suelo	CO (g/kg)	% Arcilla (fracción <2 µm)	Concentración de Pb (mg/kg)
ISE 2022-2 SAMP 3	4	Arenoso	20,5	3,30	22,9

4.1.2. RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

A la muestra 4, se realizó el mismo proceso del porcentaje de humedad a 105°C con su respectivo cálculo como anteriormente se detalló, en la tabla 20, se puede observar el registro de datos y el resultado del %Pw.

- PORCENTAJE DE HUMEDAD A 105 °C (Pw)

Tabla 20

Determinación del porcentaje de humedad de la muestra 4 a 105 °C.

Muestra	Registro de Datos			Resultado
	Pmh (g)	Pc (g)	Pms (g)	% Pw
4	1,0007	13,4759	14,4597	0,675

Fuente propia.

- RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL CON AGUA REGIA

En las siguientes tablas podremos observar los datos obtenidos de la lectura, los resultados de concentración ya calculados y, por último, los % de recuperación y % CV.

Tabla 21

Lectura instrumental del diseño experimental.

Método	Muestra	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
			1	2	3		
A	4	1	3,9629	3,9952	4,0411	5	25
		2	4,2832	4,4017	4,4472		
	Blanco	-		0,0271		-	
	4	1	3,4816	3,6264	3,6713	5	
		2	3,9099	3,9118	3,8431		
	Blanco	-		-0,0636		-	
	4	1	3,331	3,4691	3,4245	5	
		2	3,7482	3,9048	3,8587		
	Blanco	-		0,2182		-	
B	4	1	3,6482	3,5314	3,5585	5	25
		2	3,937	4,0462	3,9464		
	Blanco	-		0,096		-	
	4	1	3,9192	3,8982	3,965	5	
		2	4,1203	4,1342	3,7054		
	Blanco	-		0,0482		-	
	4	1	3,6346	3,6669	3,7197	5	
		2	4,1736	4,2564	4,2942		
	Blanco	-		0,0768		-	
C	4	1	3,5077	3,5165	3,5324	5	25
		2	3,8751	3,8405	3,9111		
	Blanco	-		-0,0246		-	
	4	1	3,2114	3,1812	3,1873	5	
		2	4,0737	3,8792	4,0587		
	Blanco	-		-0,0156		-	
	4	1	3,7603	3,7558	3,5986	5	
		2	4,3393	4,3651	4,3122		
	Blanco	-		0,0814		-	

Fuente propia

Tabla 22*Resultados de la concentración de Pb del diseño experimental.*

Método	Muestra	Tiempo (min)	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
				Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
A	4	90	1	19,812	19,975	20,206	19,997
			2	21,424	22,021	22,250	21,898
		120	1	17,846	18,575	18,801	18,407
			2	20,002	20,011	19,665	19,893
		150	1	15,669	16,364	16,140	16,058
			2	17,769	18,557	18,325	18,217
B		90	1	17,881	17,293	17,429	17,534
			2	19,335	19,884	19,382	19,534
		120	1	19,486	19,380	19,716	19,527
			2	20,498	20,568	18,410	19,825
		150	1	17,909	18,072	18,338	18,106
			2	20,622	21,039	21,229	20,964
C	90	1	17,781	17,825	17,905	17,837	
		2	19,630	19,411	19,811	19,617	
	120	1	16,244	16,092	16,123	16,153	
		2	20,585	19,606	20,509	20,233	
	150	1	18,519	18,496	17,705	18,240	
		2	21,433	21,563	21,297	21,431	

Fuente propia

Tabla 23*Resultados del % recuperación y del %CV del diseño experimental.*

Método	Muestra	Tiempo (min)	Réplicas	% recuperación		% CV	
A	4	90	1	87,325	91,475	0,989	5,169
			2	95,626		1,946	
		120	1	80,380	83,624	2,711	4,604
			2	86,868		0,990	
		150	1	70,121	74,836	2,209	7,183
			2	79,552		2,224	
B	4	90	1	76,570	80,935	1,755	6,090
			2	85,300		1,559	
		120	1	85,272	85,922	0,881	4,066
			2	86,573		6,187	
		150	1	79,066	85,305	1,194	8,105
			2	91,544		1,481	
C	4	90	1	77,891	81,778	0,353	5,256
			2	85,666		1,023	

120	1	70,537	79,445	0,498	12,432
	2	88,354		2,693	
150	1	79,650	86,618	2,541	8,945
	2	93,586		0,621	

Fuente propia

Con base a los resultados obtenidos, los % de recuperación de la mayoría de los ensayos se encuentran dentro de los establecidos (80 – 110%), a excepción de la digestión A en 150 min y la digestión C a 120 min, además este ensayo presentó un alto % CV, esto puede deberse a algún error sistemático durante el proceso.

- ANÁLISIS ANOVA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el diseño experimental, se realizó el análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, donde para el valor p, en la mayoría de los análisis, un nivel de significancia (alfa) de 0,05 se utiliza como el límite de significancia. Seguidamente se diseñó una matriz de dos factores, colocando como valor de la concentración un promedio entre las repeticiones, también se realizó una representación gráfica de la tabla 24, ya que nos permite mostrar una distribución de los datos de forma visual.

Tabla 24

Matriz de dos factores del diseño experimental.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)		
	90	120	150
110	20,948	19,150	17,138
130	18,534	19,676	19,535
150	18,727	18,193	19,835

Fuente propia

Tabla 25

Resultados del análisis ANOVA del diseño experimental.

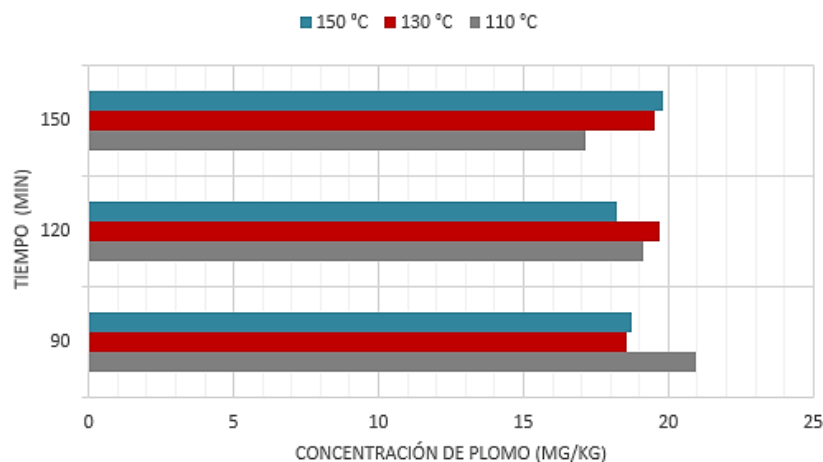
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0,1633935	2	0,0816967	0,0365689	0,9644100	6,944271
Columnas	0,5078468	2	0,2539234	0,1136608	0,8953428	6,944271
Error	8,9361791	4	2,2340447			
Total	9,6074195	8				

Fuente propia

Al observar los datos obtenidos del ANOVA de dos factores, se tienen dos aspectos a estudiar: la diferencia de concentraciones entre temperaturas y entre tiempos. Al ver la sección “Filas” está comparando si las pruebas tienen las mismas concentraciones o no. Como vemos, el valor F es 0,03 es menor al valor crítico de F (6,94), indicando que las concentraciones de los ensayos a diferentes temperaturas son estadísticamente iguales. Luego, para la sección de “Columnas” está comparando las concentraciones a diferentes tiempos, el cual refleja que no hay diferencias significativas en el cambio de los tiempos. Por lo tanto, no hay una diferencia significativa entre los ensayos.

Gráfica 1

Representación de las concentraciones según las diferentes condiciones empleadas



Fuente propia

Por lo tanto, al no reflejar una diferencia significativa entre los ensayos, se selecciona las condiciones óptimas de 110°C y 90 min (método A), esto se debe a que se gasta menos tiempo y es la temperatura recomendada por la ISO 54321.

También, para corroborar que estas condiciones sean adecuadas para un suelo con carbón orgánico mayor al de un suelo arenoso, como lo es el tipo arcillo, se realizó un ensayo de verificación, con la muestra 1, obteniendo los siguientes resultados de concentración (Tabla 27) y % de recuperación y %CV (tabla 28).

Tabla 26

Lectura instrumental del ensayo de verificación de la muestra 1.

Muestras	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
		1	2	3		
Muestra 1	1	14,231	14,3	14,271	5	100
	2	14,2105	14,4295	13,9358	5	100
Blanco	-	-0,0429			-	50

Fuente propia

Tabla 27

Resultados de la concentración de Pb del ensayo de verificación de la muestra 1.

Muestra	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
		Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
1	1	290,382	291,786	291,196	291,121
	2	289,965	294,420	284,377	289,587

Fuente propia

Tabla 28

Resultados del % de recuperación y % CV del ensayo de verificación la muestra 1.

Muestra	Réplicas	% recuperación	% CV
1	1	103,234	0,242
	2	102,691	1,738

Fuente propia

Se observó un buen comportamiento con las condiciones empleadas (5 g de la muestra a 110°C por 90 min), el cual hubo un % de recuperación mayor a los obtenido en el ensayo preliminar, por lo cual, se deduce que estas condiciones son adecuadas para los tipos de suelos que se manejaron (arcilloso, limoso y arenoso).

Por lo tanto, se propone el siguiente diseño experimental para el método de digestión ácida vía abierta:

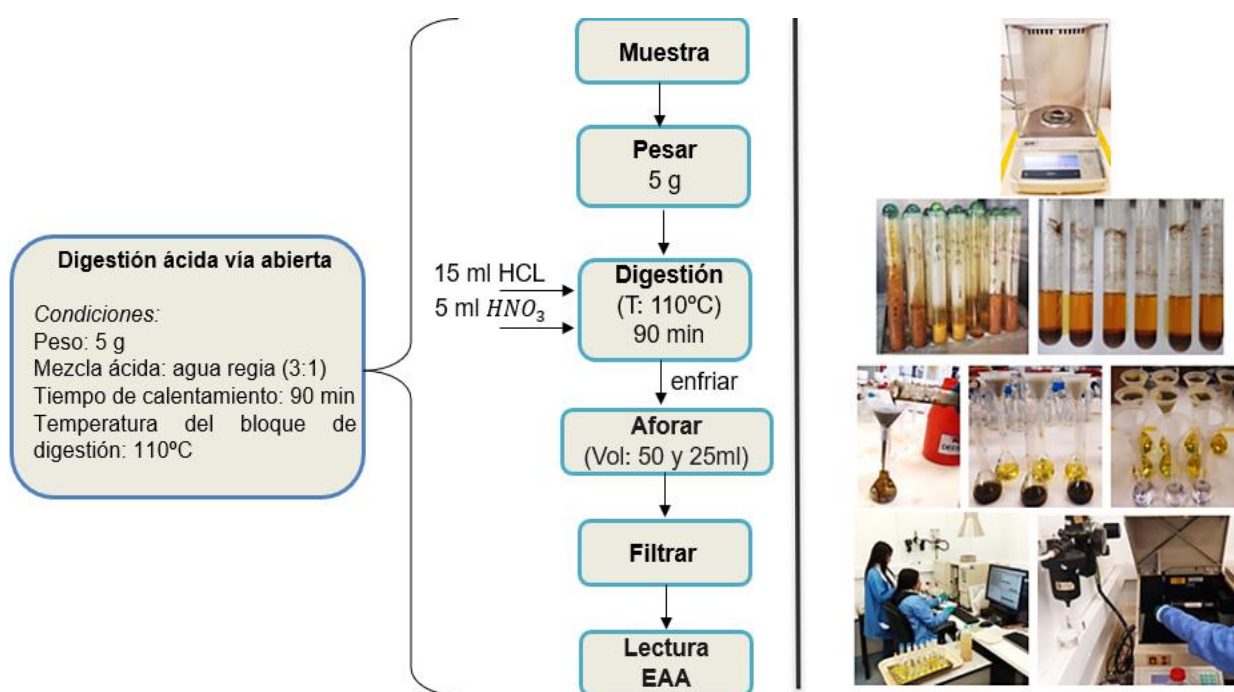


Figura 2. Metodología propuesta para el método de digestión ácida vía abierta

4.1.3. RESULTADOS DEL ENSAYO EXPLORATORIO

En las siguientes tablas podremos observar los datos obtenidos de la lectura, los resultados de concentración ya calculados y, por último, los % de recuperación y % CV.

Tabla 29

Lectura instrumental del ensayo exploratorio.

Método	Muestra	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
			1	2	3		
D	2	1	3,1748	3,1739	3,2538	5	50
		2	3,545	3,528	3,5198		
	Blanco	-	0,0049			-	
	2	1	3,1502	3,1711	3,1111	5	
		2	3,0499	3,0759	3,1478		
	Blanco	-	-0,0282			-	
	2	1	2,9586	3,0048	3,0454	5	
		2	3,0457	3,1275	3,072		
	Blanco	-	-0,0669			-	

Fuente propia

Tabla 30

Resultados de la concentración de Pb del ensayo exploratorio.

Método	Muestra	Tiempo (min)	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
				Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
D	2	90	1	31,871	31,862	32,665	32,133
			2	35,593	35,422	35,340	35,451
		120	1	31,956	32,166	31,563	31,895
			2	30,948	31,209	31,932	31,363
		150	1	30,419	30,884	31,292	30,865
			2	31,295	32,117	31,559	31,657

Fuente propia

Tabla 31

Resultados del % de recuperación y el %CV del ensayo exploratorio.

Método	Muestra	Tiempo (min)	Réplicas	%recuperación	% CV
D	2	90	1	110,043	5,454
			2	121,409	

120	1	109,231	0,960	1,505
	2	107,408	1,626	
150	1	105,701	1,415	1,852
	2	108,414	1,326	

Fuente propia

En cuanto a la extracción de Pb, los resultados mostraron que la digestión con ácido clorhídrico- nítrico-perclórico (Método D) en una proporción de (3:1:0,5) a 150°C sin diferencia significativa del tiempo, fue más eficiente que la mezcla de agua regia en una proporción de (3:1) a 110°C por 90 min (ensayo preliminar), debido a que el % de recuperación fue mayor al reportado anteriormente, esto podría deberse al uso de ácido perclórico, ya que es uno de los ácidos minerales más fuertes y a medida que aumenta la temperatura también aumenta su alto poder oxidante (Muller *et al.*, 2014) lo que ayuda a descomponer la matriz de la muestra, y en combinación con otros ácidos, como el ácido nítrico que se logra una extracción eficiente; también al aumento de la cantidad de la muestra. Por otra parte, en la repetición 2 a 90 min se concluye que se presentó un error aleatorio en el proceso ya que el valor obtenido en el % de recuperación se encuentra por fuera del rango establecido (80-110%).

De acuerdo, con los métodos de extracción utilizados, los resultados encontrados no mostraron diferencias asignativas entre las condiciones de tiempo y temperatura, sin embargo, respecto a estos hallazgos, se podría decir que la eficiencia de la cuantificación del plomo por EAA depende de la mezcla ácida a implementar, sin embargo, el tipo de matriz a descomponer determina la elección de la combinación de los ácidos o de un ácido individual.

En la siguiente Figura se observará de manera general los ensayos que se realizaron para el cumplimiento del objetivo 1:

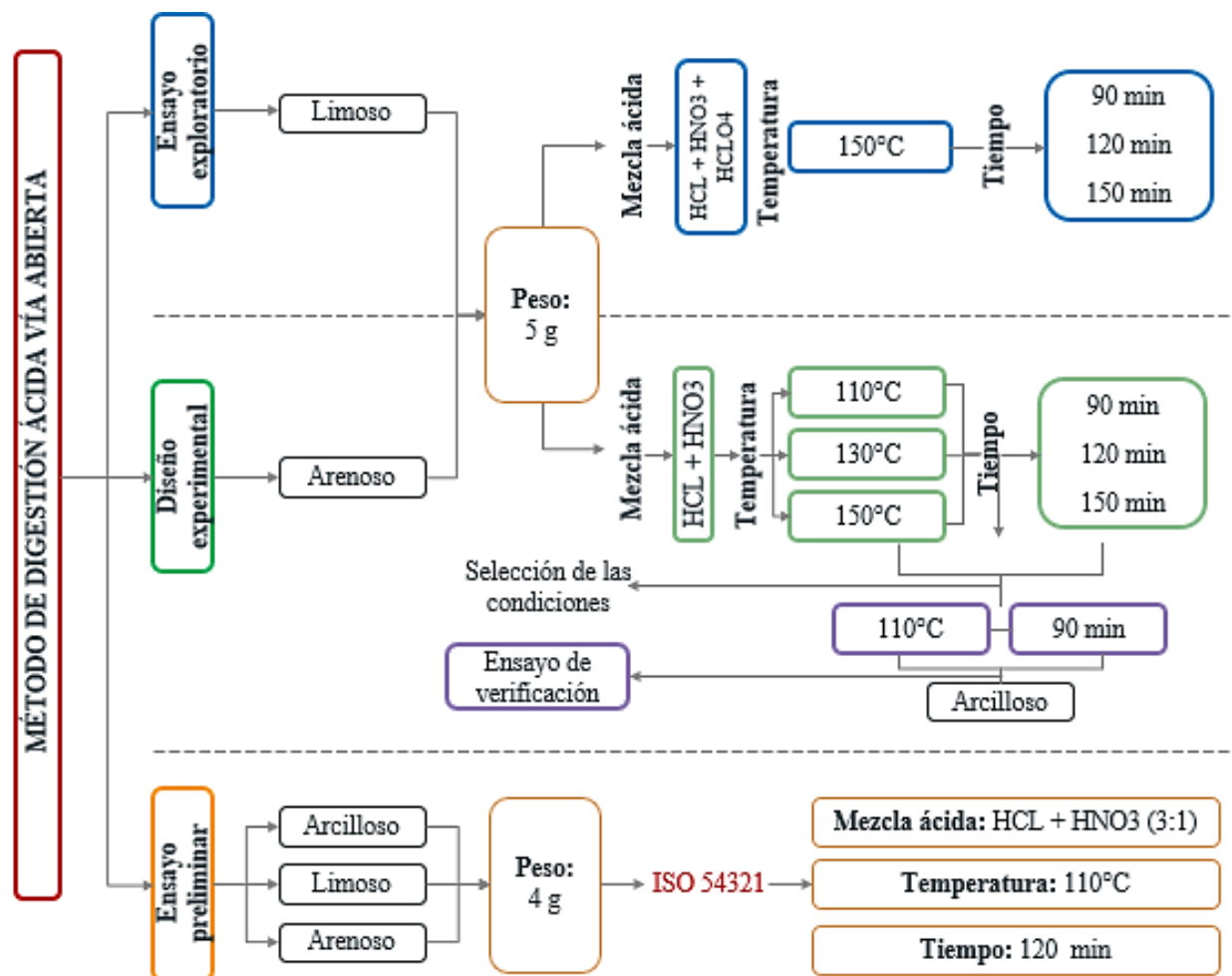


Figura 3. Diseño de los ensayos realizados para la optimización de la digestión ácida

4.2. RESULTADOS DE LA ETAPA II

4.2.1. LISTADO DE LOS PARÁMETROS INSTRUMENTALES

Se registraron 18 datos en total, de las cuales variaron la absorbancia y el PMT, seguidamente se elaboró su respectiva carta de control como se muestra en la gráfica 2 y 3.

Tabla 32

Lectura instrumental de la solución de chequeo y del equipo.

N° de Datos	PARÁMETROS					
	Flujo de aire	Flujo de acetileno	Altura del quemador (mm)	Longitud de onda (nm)	PMT voltaje	Absorbancia
1	40	20	9,5	217	661	0,123
2	40	20	9,5	217	661	0,122
3	40	20	9,5	217	666	0,125
4	40	20	9,5	217	666	0,110
5	40	20	9,5	217	666	0,117
6	40	20	9,5	217	660	0,123
7	40	20	9,5	217	660	0,106
8	40	20	9,5	217	660	0,116
9	40	20	9,5	217	666	0,103
10	40	20	9,5	217	666	0,112
11	40	20	9,5	217	666	0,109
12	40	20	9,5	217	666	0,104
13	40	20	9,5	217	666	0,115
14	40	20	9,5	217	666	0,107
15	40	20	9,5	217	666	0,116
16	40	20	9,5	217	666	0,117
17	40	20	9,5	217	666	0,116
18	40	20	9,5	217	666	0,115

Fuente propia

4.2.2. CARTAS DE CONTROL DE ABSORBANCIA Y PMT

Los resultados de los cálculos indicados en el numeral 3.2.2.2., son:

Tabla 33

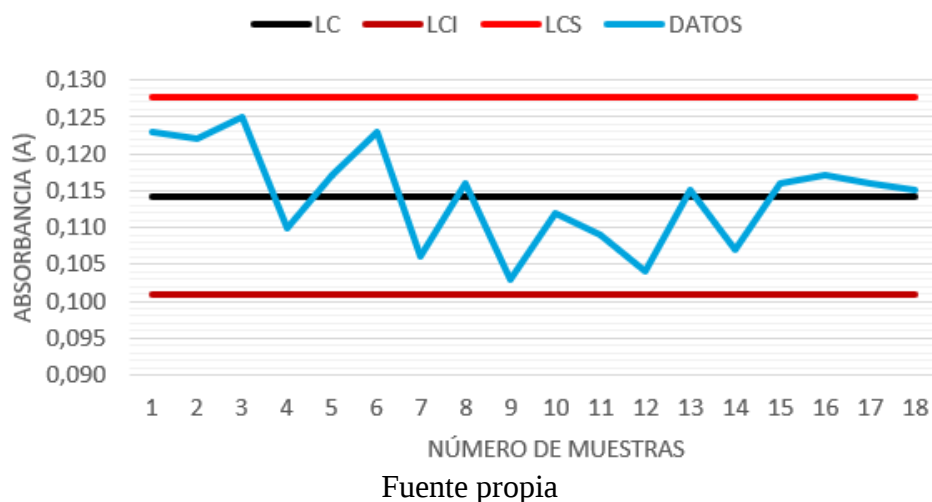
Datos para elaborar la carta de control absorbancia y PMT.

PARÁMETROS	Promedio ($\bar{x}$)	Desviación estándar	LÍMITES DE CONTROL		
			LC ($\bar{x}$)	LCI	LCS
Absorbancia	0,114	0,007	0,114	0,101	0,128
PMT	664	2,59	664	659	670

Fuente propia.

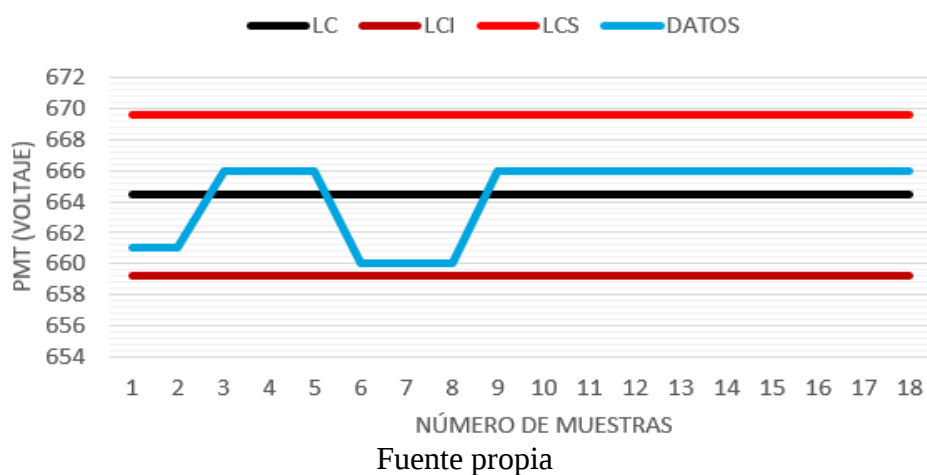
Gráfica 2

Carta de control de la absorbancia (A).



Gráfica 3

Carta de control del PMT (voltaje).



Las cartas de control es una herramienta de calidad a partir de un método gráfico que permite observar y hacer seguimientos de los datos, por lo cual se evidencia que no hay datos anómalos, es decir, todos los datos de las lecturas realizadas se encuentran dentro de los criterios de la carta control, lo cual garantiza la preparación de soluciones y el estado del equipo. Teniendo en cuenta esto, se determina que los rangos de las cartas de control quedan establecidos, para garantizar una condición instrumental adecuada para futuros análisis.

4.3. RESULTADOS DE LA ETAPA III

4.3.1. RESULTADOS DE LOS CRITERIOS ANALÍTICOS

4.3.1.1. LINEALIDAD/FUNCIÓN DE RESPUESTA

A través del modelo de regresión lineal de mínimos cuadrados (OLS), se obtuvo la ecuación lineal por el cual estimaron los parámetros de regresión: pendiente, intercepto y el R^2

- GRÁFICO DE DISPERSIÓN

Tabla 34

Curva de calibración 1

CURVA DE CALIBRACIÓN 1		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,0000	-0,001
1	1	0,017
2	2	0,03
3	4	0,053
4	6	0,082
5	8	0,103
6	10	0,130

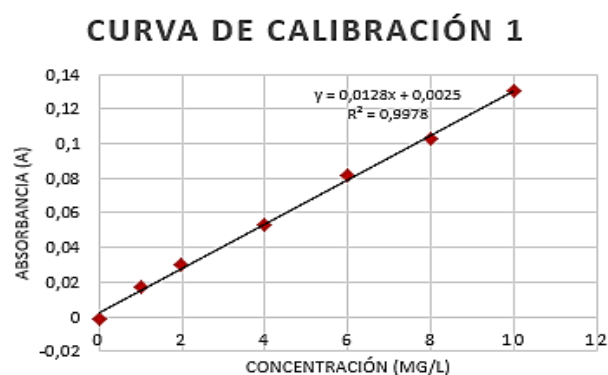
Tabla 35

Curva de calibración 2

CURVA DE CALIBRACIÓN 2		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,000	0,000
1	1	0,014
2	2	0,026
3	4	0,051
4	6	0,074
5	8	0,099
6	10	0,120

Gráfica 4

Curva de calibración 1



Gráfica 5

Curva de calibración 2

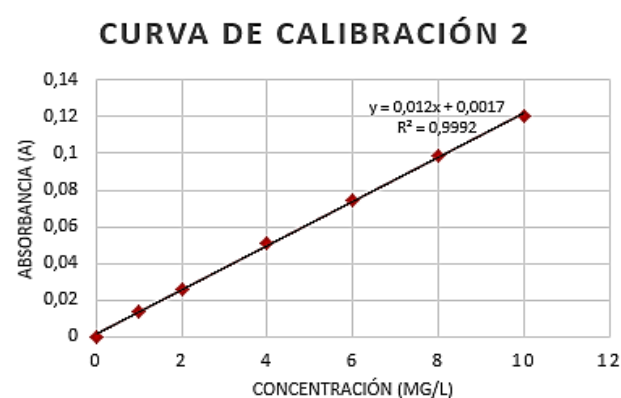


Tabla 36*Curva de calibración 3*

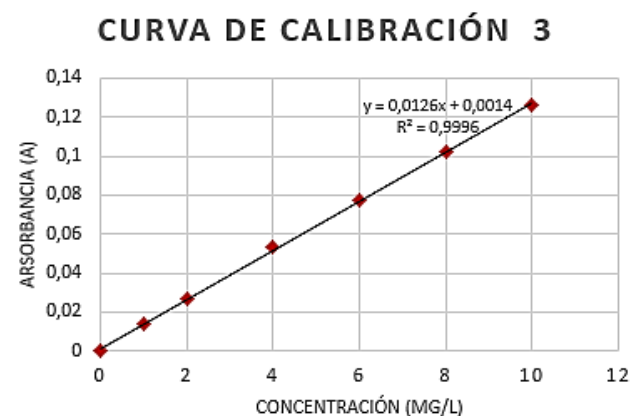
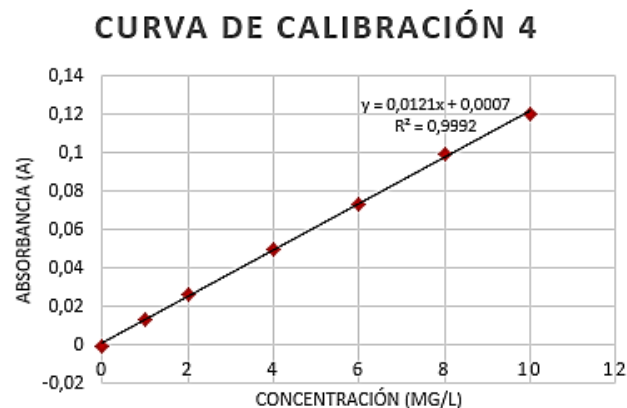
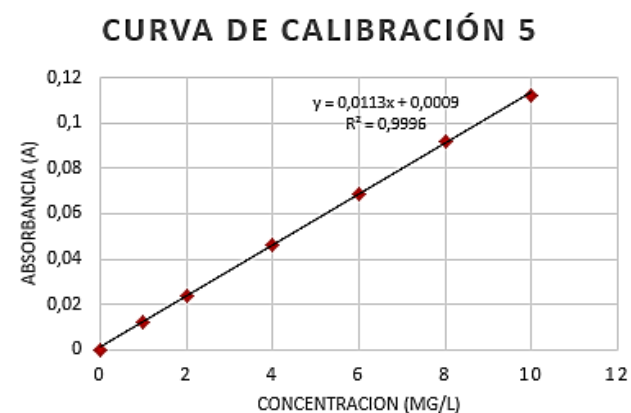
CURVA DE CALIBRACIÓN 3		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,000	-0,000
1	1	0,014
2	2	0,027
3	4	0,053
4	6	0,077
5	8	0,102
6	10	0,126

Tabla 37*Curva de calibración 4*

CURVA DE CALIBRACIÓN 4		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,000	-0,001
1	1	0,013
2	2	0,026
3	4	0,05
4	6	0,073
5	8	0,099
6	10	0,120

Tabla 38*Curva de calibración 5*

CURVA DE CALIBRACIÓN 5		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,000	-0,001
1	1	0,012
2	2	0,024
3	4	0,046
4	6	0,069
5	8	0,092
6	10	0,112

Gráfica 6*Curva de calibración 3***Gráfica 7***Curva de calibración 4***Gráfica 8***Curva de calibración 5*

- ANÁLISIS DE REGRESIÓN

En la siguiente tabla, se observa cada uno de los parámetros de regresión de cada curva.

Tabla 39

Resultados del análisis de Regresión Lineal de las 5 curvas de calibración.

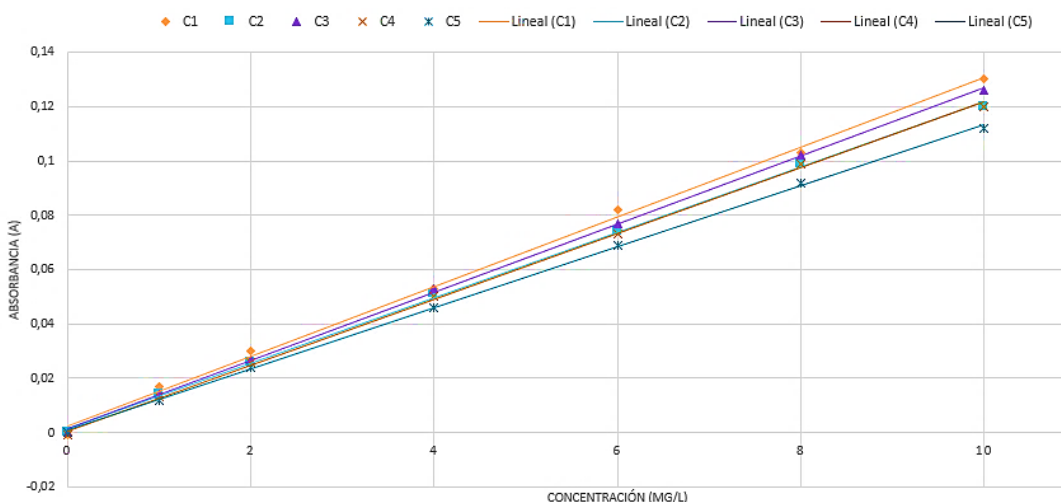
Curva	Intercepto	Pendiente	r	R ²	Criterio de decisión	Conclusión
1	0,0025	0,0128	0,9988	0,9978	>0,9950	Aceptable
2	0,0017	0,012	0,9996	0,9992		Aceptable
3	0,0014	0,0126	0,9998	0,9996		Aceptable
4	0,0007	0,0121	0,9996	0,9992		Aceptable
5	0,0009	0,0113	0,9998	0,9996		Aceptable

Fuente propia

Se puede observar un coeficiente de determinación bastante alto en las 5 curvas de calibración entre 0,9978 – 0,9996, por lo que se pudiese confirmar que el ajuste lineal es óptimo, el cual cumple con el criterio de aceptación (0,995).

Gráfica 9

Linealidad de las 5 curvas de calibración.



Fuente propia

El test de hipótesis para “r” permite establecer la correlación entre las variables de la concentración como variable independiente (X) vs la señal del equipo como variable dependiente (Y). En la tabla 12 se presenta el cálculo de verificación de la prueba t para la correlación de cada curva, se muestra el cálculo de t_{cal} en el ejemplo 6.

Dado que los valores de t_{cal} con respecto a r es mayor que $t_{crítico}$ se rechaza la hipótesis H_0 que asume la no correlación entre X y Y , por lo cual, se acepta que hay una correlación lineal significativa, con un criterio de significancia estadística (α) de 0.05.

Tabla 40

Resultados de la prueba t-student para el coeficiente de correlación.

Curva	t_{cal}	$T_{crítico}$	Criterio de decisión	Conclusión
1	40,788	2.132	Si: $ t > t_{tab} $ rechazo H_0 , hay una relación lineal	Hay una relación lineal en cada curva de calibración.
2	70,689			
3	99,984			
4	70,689			
5	99,984			

Nota: donde t_{tab} es el valor crítico, el cual se determinó con la tabla de distribución t - student, que requiere los grados de libertad (v), siendo en este caso $n-2$, donde n es el número de datos ($v = 6 - 2: 4$), y el nivel de significancia con el valor de alfa, $1-\alpha$ ($1-0,05 = 0,95$). Por lo cual, $t_{tab} = 2.132$.

Ejemplo 6

$$t_{cal} = \frac{|0,9988|\sqrt{6-2}}{\sqrt{1-(0,9988)^2}} = 40,788$$

- ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EVALUACIÓN DE LA BONDAD DE AJUSTE

Una vez ingresado al aplicativo validar v.1.0.3.2. Herramientas para la validación de métodos químicos cuantitativos, se seleccionó el parámetro de validación: Linealidad, como primer paso se indican las características del diseño (Número de niveles y número de réplicas por nivel), después se completó una tabla indicando el nivel de concentración de cada nivel y, por último, se registraron los valores de respuesta para cada nivel, seleccionando el nivel de confianza para la prueba de linealidad, como se muestra en la siguiente figura:

INM Instituto Nacional de Metrología de Colombia

Aplicativo validaR v.1.0.3.2

Herramientas para la validación de métodos químicos cuantitativos

Inicio

Glosario de términos

Herramientas estadísticas

Validación de métodos

Introducción

Plan de validación

Parámetros de validación

Selectividad

Precisión

Veracidad

Linealidad

Límite de detección

Robustez

Bibliografía

Parámetros de validación: Linealidad

1. Indique las características de su diseño para confirmar la linealidad:

Número de niveles: 6

Número de replicas por nivel: 5

2. Llene la siguiente tabla con los valores de concentración de cada nivel. Indique las unidades de concentración que está utilizando:

	Nivel.1	Nivel.2	Nivel.3	Nivel.4	Nivel.5	Nivel.6
Concentración:	1	2	4	6	8	10

[mg/L]

3. Llene la siguiente tabla con los valores de las respuestas para cada nivel:

	Nivel.1	Nivel.2	Nivel.3	Nivel.4	Nivel.5	Nivel.6
Respuesta. 1	0.017	0.03	0.053	0.082	0.103	0.13
Respuesta. 2	0.014	0.026	0.051	0.074	0.099	0.12
Respuesta. 3	0.014	0.027	0.053	0.077	0.102	0.126
Respuesta. 4	0.013	0.026	0.05	0.073	0.099	0.12
Respuesta. 5	0.012	0.024	0.046	0.069	0.092	0.112

4. Compruebe que los datos estén completos, escoja un nivel de confianza para la prueba de linealidad y presione el botón que sigue para calcular:

Nivel de confianza: ☐ 90% ☒ 95% ☐ 99%

Hacer análisis de linealidad

Figura 4. *Parámetro de validación: Linealidad en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.*

Luego, se obtienen los resultados de la evaluación de pruebas de significancia:

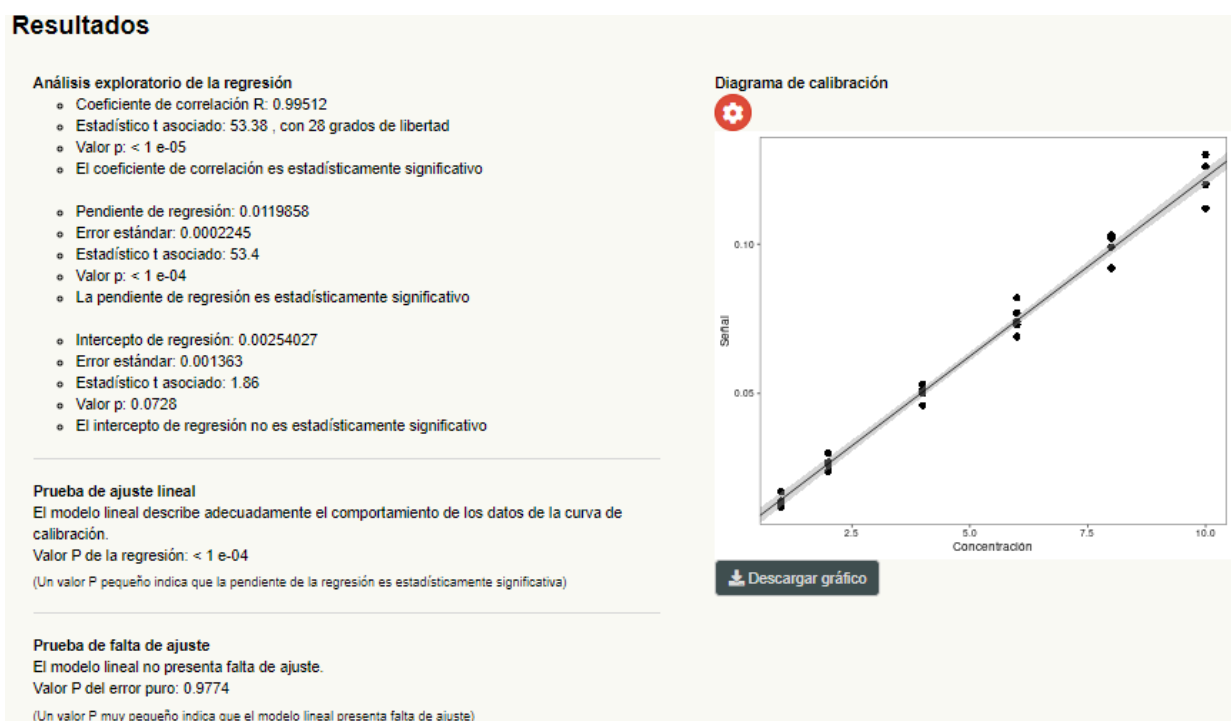


Figura 5. *Resultados prueba de significancia en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.*

El intervalo lineal del método se encuentra entre 1 mg/L y 10 mg/L. Dentro de este intervalo es adecuado realizar la cuantificación de muestras.

Con base a otros estudios realizados para cumplir con el parámetro de validación de Linealidad, Segura (2015), en su trabajo de grado evaluaron la regresión lineal a través del programa IBM SPSS statistics 20, obteniendo un modelo estadístico, donde la curva de calibración para Pb, contó con 5 niveles en un rango de concentración de 1 mg/L a 5 mg/L (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mg/L), donde tuvieron en cuenta sólo las curvas con un coeficiente de correlación mayor o igual a 0,995 manipulando el espectrofotómetro de absorción atómica en llama (aire acetileno) Varian AA 140, con lámparas de cátodo hueco de Pb. Por otro lado, Sanmiguel y Guerrero (2017) construyeron la curva de calibración con 5 estándares de concentración de 0.15, 0.50, 1, 2 y 3 mg/L preparándolos con una solución de HNO_3 0,5 N. teniendo como resultado el cumplimiento del criterio de aceptación $R^2 \geq 0,995$, también determinaron un rango de 0,0355-0,0398 para la pendiente y el intercepto entre -0,0008 - 0,0057, utilizando el Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer 300 con la lámpara de cátodo hueco Perkin Elmer de Plomo. De modo que el intervalo lineal del método varía según el tipo de equipo, y también el espectro de cuantificación que requería el laboratorio.

- RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL

En la siguiente tabla, podemos observar la concentración experimental de cada estándar para cada una de las curvas de calibración. Adicionalmente, se presenta una muestra del cálculo utilizando la ecuación de la recta de la curva de calibración 1 para el estándar 1 (ejemplo 7).

Tabla 41*Resultados de la concentración experimental de cada estándar*

CURVA DE CALIBRACIÓN 1 - 5							
Estándar	Concentración teórica (mg/L)	Concentración experimental (mg/L)					Promedio mg/L
		1	2	3	4	5	
1	1	1,04	1,03	1,00	1,02	0,98	1,014
2	2	2,05	2,03	2,03	2,09	2,04	2,048
3	4	3,85	4,11	4,10	4,07	3,99	4,024
4	6	6,12	6,03	6,00	5,98	6,03	6,032
5	8	7,76	8,11	7,98	8,12	8,06	8,006
6	10	9,87	9,86	9,89	9,86	9,83	9,862

Fuente propia.

Ejemplo 7

$$X = \frac{0,017 - 0,0025}{0,0128} = 1,04 \text{ mg/L}$$

- RESULTADOS DEL ERROR PORCENTUAL

En la tabla 42, se presentan los resultados del % error porcentual de cada curva de calibración, es decir, los residuos del análisis de regresión lineal.

Tabla 42*Resultados del error porcentual de cada estándar.*

ERROR PORCENTUAL (%)					
Estándar	Curva de calibración				
	1	2	3	4	5
1	-3,91	-2,50	0	-1,65	1,77
2	-2,73	-1,25	-1,59	-4,55	-2,21
3	3,71	-2,71	-2,38	-1,86	0,22
4	-1,95	-0,42	0	0,41	-0,44
5	3,03	-1,35	0,20	-1,55	-0,77
6	1,33	1,42	1,11	1,40	1,68

Fuente propia.

Según el intervalo definido en la sección de criterio de aceptación o rechazo, los valores se encuentran dentro del rango, por lo cual se indica que la ecuación predice bien los valores de concentración y los estándares fueron preparados adecuadamente para determinar la ecuación de la recta.

4.3.1.2. LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Se realizó una curva de calibración, para obtener la pendiente donde se manejó el promedio de respuesta de las 5 curvas de calibración, como se muestra en la siguiente tabla:

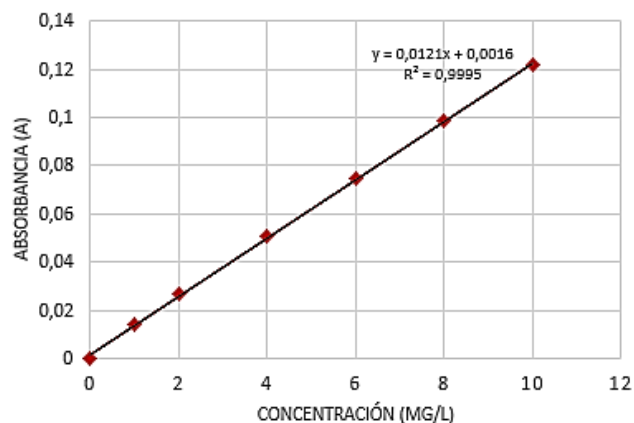
Tabla 43

Curva de calibración del LOD y LOQ

CURVA DE CALIBRACIÓN		
Estándar	Concentración (mg/L)	Absorbancia (A)
0	0,000	0
1	1	0,014
2	2	0,0266
3	4	0,0506
4	6	0,075
5	8	0,099
6	10	0,1216
Pendiente: 0,0121 mg/L		

Gráfica 10

Curva de calibración del LOD y LOQ



Luego, se midieron los blancos de muestra y se construyó la siguiente tabla con sus valores de respuesta:

Tabla 44

Valores de respuesta de los blancos de muestra

IDENTIFICACIÓN	ABSORBANCIA
BLANCO 1	0,0039
BLANCO 2	0,0007
BLANCO 3	0,0005
BLANCO 4	0,0008
BLANCO 5	0,0022
BLANCO 6	0,0006
BLANCO 7	0,0014
BLANCO 8	0,0011
BLANCO 9	0,0001
BLANCO 10	0,0011
Promedio ($\bar{x}$)	0,00124
Desviación estándar (s_{bl})	0,00104

Fuente propia

El límite de detección instrumental para la detección de plomo por EAA utilizando el enfoque de la IUPAC, basado en blanco de muestras es de 0,298 mg/L (Fig.7) y el límite de cuantificación es de 0,857 mg/L. Al aplicar la conversión se tiene que los LOD y LOQ de trabajo de plomo en el suelo es de 1,404 mg de Pb /kg de suelo y 4,201 mg/kg, respectivamente. Respecto a otros estudios, Olivares *et al.*, (2013) reportaron el LOD de 3,5 mg/kg y LOQ de 6,0 mg/kg, por otro lado, Sanmiguel y Guerrero (2017) fijaron un LOD de 15 mg/kg y LOQ de 25 mg/kg y Segura (2015), obtuvieron el límite de detección y cuantificación instrumental de Pb de 0,030 mg/L y 0,051 mg/L, respectivamente.

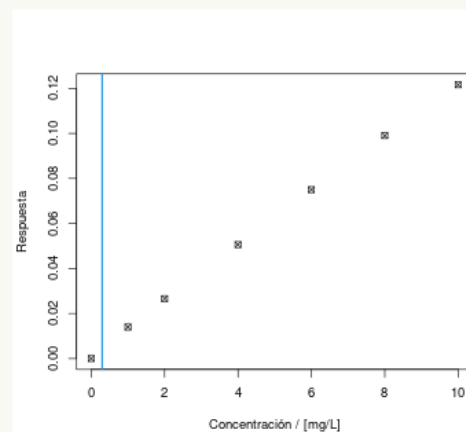
Resultados

Estimación del límite de detección utilizando el enfoque de la IUPAC basado en blancos de muestra:

El límite de detección es 0.29832 [mg/L]

La pendiente de la curva de calibración fue 0.0121201 / [mg/L]

Representación gráfica del límite de detección



La línea vertical azul indica el límite de detección estimado.

Figura 6. Resultados del parámetro de validación: LOD en el aplicativo validaR v.1.0.3.2.

4.3.1.3. VERACIDAD Y REPETIBILIDAD

En la siguiente tabla, podemos observar los resultados de %Pw para la muestra 5 y 6:

Tabla 45

Determinación del porcentaje de humedad de la muestra 5 y 6 a 105 °C.

Muestra	Registro de Datos			Resultado
	Pmh (g)	Pc (g)	Pms (g)	% Pw
5	12,2503	1,0008	13,2342	1,717
6	10,2365	6,003	16,1161	2,098

Fuente propia

Los resultados de la lectura instrumental y concentración de plomo de la muestra 5 (ISE), se observan en la tabla 46 y 47, respectivamente.

Tabla 46

Lectura instrumental de la muestra 5

Muestras	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
		1	2	3		
Muestra 5	1	5,5104	5,5348	5,6008	5	50
	2	5,2194	5,1589	5,1949	5	50
Blanco	-	0,049			-	

Fuente propia

Para la evaluación de la veracidad del método se tiene en cuenta el sesgo, es decir, la diferencia de los resultados de prueba y el valor de referencia. Por lo tanto, la muestra de referencia reporta una concentración de 32,1 mg/kg y la concentración promedio de las repeticiones es de 26.604 mg/kg, obteniendo un sesgo de -5.496 mg/kg este puede ser positivo o negativo, por lo que estas diferencias se pueden atribuir a algún error, como: la presencia de interferencias analíticas o pérdida de analito por una extracción incompleta.

Tabla 47*Resultados de la concentración de Pb de la muestra 5*

Muestras	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
		Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
Muestra 5	1	27,307	27,429	27,759	27,498
	2	25,852	25,550	25,730	25,710

Fuente propia

Seguidamente, se estima el porcentaje de recuperación haciendo referencia a la cantidad medida de analito y la cantidad conocida, expresada en porcentaje. es decir, la recuperación hace referencia a la estimación del error sistemático y, al igual que para el caso del sesgo (Ahumada *et al.*, 2023), donde los resultados conseguidos en las dos réplicas son del 25,710 y 27,498 mg/kg contando con un porcentaje de recuperación entre el 80 – 85% y la repetibilidad o variación aceptable del método, expresado como % CV, por lo cual entre las repeticiones es del 3,7 %, concluyendo que ambos parámetros dan cumplimiento al criterio de aceptación de la AOAC. Por lo cual, teniendo en cuenta los resultados se deduce que el método es veraz.

Tabla 48*Resultados del parámetro de validación: veracidad y repetibilidad*

Muestra	Réplicas	% recuperación	% CV
Muestra 5	1	85,665	0,850
	2	80,094	0,592

Fuente propia

4.3.2. RESULTADOS MUESTRA PROBLEMA

Con base al análisis de determinación de textura, la muestra 6 se clasifica como un suelo franco (Anexo 1), el cual se corrobora los resultados obtenidos según lo expuesto por Castellanos (2000) indicando que los suelos pueden agruparse en 3 grupos texturales más amplios: suelos de textura gruesa, suelos de textura media y suelos de textura fina o pesada, por lo cual, según lo descrito por el autor, los suelos de textura media contienen menos del 40% de arcilla y menos del

50% de arena, tienen una porosidad equilibrada que permite buena aireación y drenaje, el cual se denominan suelos francos. Además, son considerados ideales para la producción agrícola por su capacidad productiva, disponibilidad de agua y nutrientes. Por otro parte, respecto a la determinación de carbón orgánico la muestra cuenta con el 3,13%, donde Matus y Maire (2000) en su estudio concluyeron que la textura del suelo está directamente vinculada con la acumulación de materia orgánica.

Tabla 49

Resultados determinación de textura

ID	% Arena	% Limo	% Arcilla	Clasificación
Muestra 6	39,4	34,1	36,5	Franco

Tabla 50

Resultados determinación de carbón orgánico

ID	% Carbón orgánico	%M.O.
Muestra 6	3,13	5,35

Estos análisis se realizaron con el fin de conocer las propiedades físicas del suelo, como lo es la textura y la cantidad de carbón orgánico, debido a que la acumulación de metales pesados está relacionada con el contenido de arcilla y materia orgánica (Mendoza *et al.*, 2021) por la porosidad de este tipo de suelo ya que sus poros son de menor tamaño lo cual les permite tener una alta capacidad de retención (Castellanos, 2000). Siendo de utilidad al momento de emplear un método de digestión ácida ya que uno de los propósitos de la técnica es reducir la interferencia causadas por la materia orgánica por medio de sustancias ácidas.

Tabla 51

Lectura instrumental de la muestra 6

Muestras	Réplicas	Lectura (mg/L)			Peso (g)	Vf (mL)
		1	2	3		
Muestra 6	1	3,1265	2,8086	2,811	5	25

	2	2,8605	2,6764	2,7854	5	25
	3	2,9075	2,9024	2,836	5	25
Blanco	-		0,049		-	

Fuente propia

Con respecto al valor encontrado del plomo en la muestra problema entre 13,62– 14,33 mg/kg, es considerablemente mayor a otros estudios reportados en Colombia, en el departamento del Atlántico de 4,21 mg/kg (municipio de santa lucia), 5,06 mg/kg (municipio de manatí), en el departamento de Córdoba una concentración de 0,065 mg/kg, pero en el departamento del meta el contenido de Pb fue de 16,7 mg/kg (Mahecha *et al.*, 2015). Sin embargo, Colombia no cuenta con normatividad respecto a los niveles permisibles de metales pesados en suelos, con base a investigaciones, Huertos y Baena (2008) mencionan que los valores máximos permitidos para Pb son 100 – 200 mg/Kg, pero la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) plantea que el contenido normal de Pb en suelo es de 10 mg Pb/kg, pero el rango de toxicidad propuesto se encuentra entre los 50 a 100 mg/kg, por otro lado, Kabata y Pendias (2001) mencionan que para denominar a un suelo contaminado por Pb este debe superar los 100 mg/Kg (como se citó en Mahecha *et al.*, 2015).

Teniendo en cuenta lo anterior, el suelo de la muestra problema no está contaminado por lo cual no representa toxicidad o afectación al medio ambiente y por consiguiente a la salud humana.

Tabla 52*Resultados de la concentración de Pb de la muestra 6*

Muestras	Réplicas	Resultado (mg/kg)			Promedio (mg/kg)
		Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	
Muestra 6	1	15,388	13,798	13,810	14,332
	2	14,058	13,137	13,682	13,626
	3	14,293	14,267	13,935	14,165

Fuente propia

CONCLUSIONES

De acuerdo con los métodos de extracción utilizados para la optimización del método de digestión ácida vía abierta, los resultados encontrados no mostraron diferencias significativas entre las condiciones de tiempo y temperatura. Adicionalmente, se concluye que la eficiencia de la cuantificación del Pb por EAA depende de la mezcla ácida a implementar, sin embargo, el tipo de matriz a descomponer determina la elección de la combinación de los ácidos o de un ácido individual. Por lo tanto, la optimización del proceso de digestión en matriz sólida influye en la extracción y cuantificación del contenido de Pb, es decir una digestión inadecuada podría generar un inconveniente analítico, por medio de una mala interpretación de los resultados y por consiguiente afectando directamente al agricultor que desea conocer el estado de una posible contaminación del suelo.

Respecto a la validación parcial para la determinación sensible de Pb para suelos por EAA por llama, la respuesta del R^2 entre la absorbancia respecto a la concentración, se encuentra por encima del valor de aceptación (0.995), adicionalmente, a través de la prueba t como indicador estadístico se confirmó que existe correlación entre las variables, y por medio de la prueba de significancia se ratificó que los rangos lineales entre 1 y 10 mg/L son adecuados para realizar la cuantificación de muestras. Por lo tanto, es posible afirmar que en el análisis de Pb cumple con el criterio de Linealidad y veracidad. Seguidamente, respecto a los demás parámetros de validación de LOD y LOQ se obtuvo un 1,404 mg/kg y 4,201 mg/kg, respectivamente. Por otro lado, mediante las cartas de control se puede detectar si hay desviaciones en los ensayos ya sea por falla del equipo u otras condiciones no apropiadas que afecten el resultado de los análisis.

Se concluye que los resultados presentan una distribución normal, sin datos atípicos. Lo cual el método es lineal, sensible y veraz, como se confirmó a través de las pruebas estadísticas.

RECOMENDACIONES

Se debe tener presente las condiciones fisicoquímicas del suelo, es decir, el tipo de suelo (Textura) y la cantidad de carbón orgánico ya que está relacionado con la capacidad de absorción de metales pesados.

Se sugiere realizar una exhaustiva revisión bibliográfica referente a las diferentes mezclas ácidas en relación con la matriz a trabajar y conocer el tipo de interferencias que se pueden presentar.

Se recomienda tomar todas las precauciones necesarias para evitar riesgos de contaminación o pérdida del analito, el cual se debe trabajar con material volumétrico de alta calidad y conocer el estado del equipo por medio de un mantenimiento ya que de esto depende un buen funcionamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahumada, D., Paredes, C., Abella, J., & González, I. (2023). *Validación de métodos en análisis químico cuantitativo*. Instituto Nacional de Metrología - INM, Colombia.
https://inm.gov.co/web/wp-content/uploads/2023/05/Guia_ValidacionMetodosAnalisisQuimicoCuantitativo-16.pdf
- Bernal Suárez, A. L., Pinzón Carreño, K. D., Gutiérrez Mejía, D. P., & Colmenares Botía, L. L. (2020). Oportunidades de Desarrollo Económico Local que podrían potencializarse a través de la Cooperación Internacional, en el Sector Agrícola del Municipio de Socha-Boyacá. *Revista de Economía del Caribe*, (26), 66-94.
- Blanco Coariti, E. F., Quintanilla Aguirre, J., Herbas, C., & Morales, P. (2009). *Evaluación y validación de métodos de digestión de suelos para la determinación de elementos traza* (Doctoral dissertation).
- Buitrago Hurtado, G. (2012). Tres décadas de biotecnología en Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 5-6.
- Castellanos, I., Velandia, J., González, M., Varela, D., & Ramírez, E. (2018). Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro de absorción atómica aa-700de shimadzu.
- Castellanos, J. Z. 2000. Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas. 2ª edición. INTAGRI.
- Castro Campos, E. (1994). Control de calidad de insumos y dietas acuicolas. Primer Curso Regional de Capacitacion (Santiago de Chile, 20/9-8/10/1993). (No. F009. 046). FAO.
- Colorado Hernández, J. A., & Ocampo García, J. S. (2021). Asociatividad campesina como factor de mejora en la comercialización, la productividad y el acceso a programas sociales y de

- estímulo a la producción: los casos de tres organizaciones agrarias del oriente antioqueño (2010-2020).
- Condori Castro, W. (2016). Validación de un método para la determinación de cobre, cromo, manganeso y níquel en suelo por absorción atómica de flama.
- Congreso de la República de Colombia*, Ley 29 de 1990. Diario Oficial N.º 39.205 del 27 de febrero de 1990.
- Congreso de la República de Colombia*. Decreto 393 de febrero de 1991. Diario Oficial N.º 39.672, del 8 de febrero de 1991.
- FAO. 2017. Carbono Orgánico del Suelo: el potencial oculto. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Roma, Italia.
- Gaitan, M. (2004). Determinación de Metales Pesados totales con digestión ácida y solubles lecturas directas por Espectrofotometría de Absorción Atómica. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. República de Colombia.
- García Leguizamón, L. D., & Peñuela Moreno, E. P. (2022). Tratamiento de suelos contaminados por elementos traza hierro, cromo y aluminio mediante la aplicación de zeolitas como agente inmovilizador. Recuperado de:
https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/1992.
- Giraldo, G. (1999). Validación de métodos analíticos de laboratorio. *Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales*, 32.
- Gutiérrez Rodríguez, M. (2019). Optimización de un Procedimiento de Disolución de Muestras de suelo para la Determinación de Contenidos Totales de Elementos Traza Utilizando un Diseño de Experimentos.

- Hill, S. J., & Fisher, A. S. (2017). Atomic Absorption, Methods and Instrumentation. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 37–43. doi:10.1016/b978-0-12-803224-4.00099-6.
- Huertos, E. G., & Baena, A. R. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *MACLA, revista de la Sociedad Española de Mineralogía* (10), 48-60.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (2003). *CALIDAD DEL SUELO. Determinación Del Contenido De Cadmio, Cromo, Cobalto, Cobre, Plomo, Manganeso, Níquel Y Zinc En Extractos De Suelo Con Agua Regia. Métodos De Espectrofotometría De Absorción Atómica De Llama Y Horno De Grafito*. (NTC 3934).
- Mahecha-Pulido, J. D., Trujillo-González, J. M., & Torres-Mora, M. A. (2017). Análisis de estudios en metales pesados en zonas agrícolas de Colombia. *Orinoquia*, 21, 83-93.
- Martínez Cardozo, L. A., & Vargas Peña, Y. A. (2017). Evaluación de la contaminación en el suelo por plomo y cromo y planteamiento de alternativa de remediación en la represa del Muña, municipio de Sibaté-Cundinamarca.
- Martínez Guijarro, M. (2020). Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica (EAA).
- Martínez Rojas, M. (2019). Optimización económica en el proceso del análisis químico de minerales de cobre, plomo y zinc por espectroscopía de absorción atómica en la empresa SGS del Perú SAC.
- Martínez, E., (2017). Análisis de Metales por Espectrofotometría Atómica. Obtenido de: <https://www.microlabindustrial.com/blog/analisis-de-metales-por-espectrofotometria-atomica>.

- Martínez, Z., González, M. S., Paternina, J., & Cantero, M. (2017). Contaminación de suelos agrícolas por metales pesados, zona minera El Alacrán, Colombia. *Temas agrarios*, 22(2), 21-31.
- Matus, F. J., & Maire, C. R. (2000). Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. *Agricultura Técnica*, 60(2), 112-126.
- Mendoza-Escalona, B., Torres-Rodríguez, D., Marcó, L. M., Gómez, C., Estanga-Barrios, M., & García-Orellana, Y. (2021). Concentración de metales pesados en suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de labranza. *TecnoLógicas*, 24(51), 4-15.
- Micó, C., Peris, M., Recatalá, L., & Sánchez, J. (2007). Baseline values for heavy metals in agricultural soils in an European Mediterranean region. *Science of the total environment*, 378(1-2), 13-17.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (2016). Política para la gestión sostenible del suelo. Bogotá, D.C: Colombia.
- Ministerio de Salud y Protección Social (2013). Resolución 4506 (30 de octubre de 2013). *Por la cual se establecen los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano y se dictan otras disposiciones*.
- Molina, C & Valdés, C. (2016). Validación del Método de Digestión Ácida, para la Determinación de Cobre en Muestras de Minerales Mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica.
- Moreno Fernández, M. (2018). La contaminación del suelo por plomo y sus consecuencias sobre la salud humana.
- Muller, E. I., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Gracias, A. K., & Flores, E. M. M. (2014). Chapter: 4 Wet digestion using microwave heating. *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*; Erico, M., Moraes, F., Eds, 99-142.

- Navarro García, G. (2013). Química agrícola: química del suelo y de los nutrientes esenciales para las plantas. Ediciones Mundi-Prensa.
- Olivares Rieumont, S., García Céspedes, D., Lima Cazorla, L., Saborit Sánchez, I., Llizo Casals, A., & Pérez Alvares, P. (2013). Niveles de Cadmio, Plomo, Cobre y Zinc en Hortalizas cultivadas en una zona altamente urbanizada de la ciudad de la Habana, Cuba. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29(4), 285-294.
- Organización Internacional de Normalización. (2020) “Soil, treated biowaste, sludge and waste – Digestion of aqua regia soluble fractions of elements”. (ISO 54321)
- Organización Mundial de la Salud. (2022). Intoxicación por plomo y salud. Obtenido de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health#:~:text=La%20exposici%C3%B3n%20al%20plomo%20tambi%C3%A9n,asociados%20al%20plomo%20son%20irreversibles.>
- Peris Mendoza, M. (2005). Estudio de metales pesados en suelos bajo cultivos hortícolas de la provincia de Castellón.
- Remache Tixe, A. M. (2013). Validación de métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica.
- Rey, A. R., Luna, L. C., Cantillo, G. M., & Espinosa, M. E. S. (2017). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 251-271.
- Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. 2019. La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma, FAO.
- Rodríguez-Ortiz, J. C., Rodríguez-Fuentes, H., de Lira-Reyes, G., Martínez-de la Cerda, J., & Lara-Mireles, J. L. (2006). Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos contaminados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(3), 239-239.

- Rosas, N., Guerrero, V.H., & Cañar, F. (2014). Activación química de nanoarcillas y su aplicación en la remoción de metales pesados.
- Rubio, C., Gutiérrez, A. J., Izquierdo, R. M., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de toxicología*, 21(2-3), 72-80.
- Rueda Saa, G., Rodríguez Victoria, J. A., & Madriñán Molina, R. (2011). Metodologías para establecer valores de referencia de metales pesados en suelos agrícolas: Perspectivas para Colombia. *Acta agronómica*, 60(3), 203-217.
- Salas-Marcial, C., Garduño-Ayala, M. A., Mendiola-Ortiz, P., Vences-García, J. H., Zetina-Román, V. C., Martínez-Ramírez, O. C., & Ramos-García, M. D. (2019). Fuentes de contaminación por plomo en alimentos, efectos en la salud y estrategias de prevención. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20(1).
- Sanmiguel Torres, J. X., & Guerrero Carrera, S. R. (2017). Validación del método para determinar Pb, Cd, Ni por espectrometría de absorción atómica de llama en agua y suelo (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Segura Beltrán, A. B. (2015). Implementación del método cuantitativo de absorción atómica para cromo y plomo con estándares trazables en muestras ambientales.
- Silva Arroyave, S. M., & Correa Restrepo, F. J. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre económico*, 12(23), 13-34.
- Silva, R. L., & Gutiérrez, H. B. (2010). Remediación de un suelo de la cuenca alta del río Bogotá contaminado con los metales pesados cadmio y cromo. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 61-70.

- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(8).
- Victoria, C. A. L. A., & Kunimine, Y. (2003). Distribución de plomo en suelos contaminados en el entorno de una planta de reciclaje de baterías ácidas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 19(3), 109-115.

ANEXOS

Anexo 1

Resultados determinación de textura


**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
CENTRO DE BIO-SISTEMAS**

Autopista Norte Km. 10 Vía Bogotá-Briceño Chía (Cundinamarca)
Teléfono 2427030 Ext 2430/2431

**LABORATORIO DE SUELOS Y AGUAS
ANÁLISIS FÍSICO DE SUELOS**

Muestra No. Muestra: 000450 Orden de Trabajo No.: 000675 Fecha de Solicitud: 17-jul.-23 Fecha de Impresión: 25-jul.-23	Cliente Nombre: UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO Dirección: CR 4 22-61 Municipio: BOGOTÁ Teléfono: 2427030 E-Mail: Solicitante: Julieth Mendivelso	Finca Nombre: CENTRO DE BIO-SISTEMAS Municipio: CHÍA Departamento: Cundinamarca
---	---	---

		RESULTADOS DETERMINACIÓN DE TEXTURA			
No. MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	Arena	Limo	Arcilla	Clasificación
		%	%	%	
450	LOTE M	39.4	34.1	26.5	Franco

Franco

Poseen buena penetración y retienen bien el agua y los nutrientes. Su fertilidad natural va de media a alta. Se pierde poco agua y nutrientes por lixiviación.

Metodología

Textura por Bouyoucos sin destrucción de materia orgánica

Quim. Adriana Mireya Zamudio S.
Jefe Laboratorio de Suelos y Aguas

Anexo 2

Resultado determinación de carbón orgánico



FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO CENTRO DE BIO-SISTEMAS

Autopista Norte Km10 Vía Bogotá -Briceño Chia (Cundinamarca)
Teléfono 2427030 Ext 2430/2431

LABORATORIO DE SUELOS Y AGUAS ANÁLISIS FERTILIDAD EN SUELOS

Cliente

Nombre: UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO
Dirección: CR 4 22-61
Municipio: BOGOTÁ
Teléfono: 2427030 **Fax:**
E-Mail:

Finca

Nombre: CENTRO DE BIO-SISTEMAS
Municipio: CHIA
Departamento: Cundinamarca
Teléfonos:

Solicitante: Julieth Mendivelso

No. Muestra: 001179
Identificación: LOTE M

Orden de Trabajo No.: 000675
Fecha de Solicitud : 17-jul.-23

Otros Análisis y Parámetros de la Muestra

% Carbón Orgánico	% M.O.
3.13	5.38

Metodología:

Carbono Organico por Walkey Black

Quim. Adriana Mireya Zamudio S.
Jefe Lab. de Suelos y Aguas

Anexo 3

Protocolo para la Determinación de Plomo en Suelo Agrícola por Espectroscopia De Absorción

Atómica Con Llama

1. OBJETIVO

Describir el procedimiento para la determinación de plomo (Pb) en suelo agrícola mediante digestión ácida vida abierta y cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica con llama.

2. ALCANCE

Análisis de plomo en suelo mediante espectrofotometría de absorción atómica con llama.

3. NOTAS DE SEGURIDAD

- Utilice todos los implementos de seguridad: bata, guantes, gafas de seguridad, careta para vapores ácidos y para metales.
- Trabaje en la campana de extracción al momento de la digestión ácida.
- Los residuos pueden disponerse como residuos de metales pesados.
- Lea las fichas técnicas de seguridad de los reactivos que empleará previo a realizar el análisis.

4. REACTIVOS

- Ácido clorhídrico R.A. (HCL)
- Ácido nítrico R.A. (HNO₃)
- Agua desionizada
- Antiespumante Merck® R.A
- Solución patrón de plomo de 1000 mg/L con certificación NIST o equivalente.

5. MATERIALES E INSTRUMENTOS

Materiales usuales de laboratorio como:

- Tubo Kjeldahl de digestión de 100 mL de capacidad en vidrio
- Balones aforados clase A de 25 y 50 mL
- Vasos de precipitación de 25 y 50 mL
- Micropipeta de 10 mL, 5 mL y 1000 µL
- Pipeta Pasteur.
- Sistema de reflujo para digestión
- Embudo Buchner 90 mm diámetro
- Papel filtro grado cualitativo, gramaje 65 g/m², poro 7 – 10 µm o similar.

6. EQUIPOS

- Balanza analítica de 0,0001g de resolución.
- Balanza de 0,01 g de resolución.
- Cámara extractora de gases
- Bloque de digestión VELP 42 puestos.
- Sistema de purificación de agua desionizada (ultrapura).
- Espectrofotómetro de absorción atómica UNICAM 969.
- Lámpara de cátodo hueco para determinar Pb.

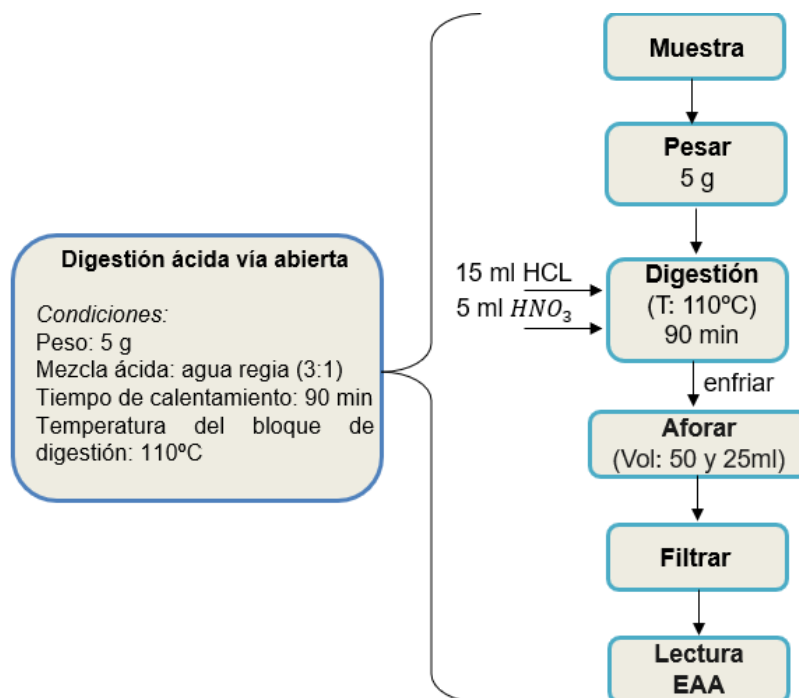
7. DIGESTIÓN Y EXTRACCIÓN DE PLOMO EN LA MUESTRA.

1. Pesar 5,00 g $\pm$ 0,05 g de muestra de suelo en una balanza de 0,0001 g de resolución y anotar el peso exacto de la muestra para poder hacer el cálculo veraz de la concentración de la muestra.
2. Transferir cuantitativamente la muestra de suelo al tubo de digestión Kjeldahl.
3. Adicionar al tubo de digestión 20 ml de agua regia: 15 ml HCL + 5 ml HNO₃ y colocar un sistema de reflujo apropiado.
4. Colocar los tubos en el bloque de digestión a una temperatura de 110°C, una vez llegue a la temperatura en el programador, contabilizar por 90 min.
5. Adicionar antiespumante a la muestra, si el contenido de materia orgánica es muy alto en la muestra
6. Dejar enfriar a temperatura ambiente
7. Transferir cuantitativamente a un balón aforado de 50 mL o de 25 mL (Según el contenido de materia orgánica y/o de arcillas, que permita una cuantificación de Pb por encima del límite de cuantificación) y realizar tres veces un lavado con agua desionizada al tubo de digestión.
8. Completar a volumen con agua desionizada
9. Filtrar a través de papel filtro con ayuda de un embudo en balón aforado de 50mL o 25 mL
10. Realizar la cuantificación mediante el ajuste de condiciones instrumentales indicado en el numeral 10.
11. Registrar la lectura de Pb (mg/L), en el espectrofotómetro de absorción atómica.

8. BLANCO Y CONTROL DE CALIDAD

- **Blanco de reactivo.**
Adicione al tubo de digestión la mezcla ácida de agua regia, filtre cuantitativamente y complete a volumen con agua desionizada.
- **Blanco de proceso**
Para el blanco de proceso repita el procedimiento descrito en el numeral 7 pero omitiendo el peso de la muestra.
- **Muestra control**
Incluya una muestra control de suelo de concentración conocida de Pb y, realice la totalidad del proceso de digestión y extracción de Pb en la muestra, descrito en el numeral 7.

Figura 1. Metodología para el método de digestión ácida vía abierta



9. CURVA DE CALIBRACIÓN

- Curva de calibración para Pb

A partir de una solución patrón de Pb de 1000 mg/L, preparar una solución madre de concentración equivalente a 100 mg/L, Llevar a volumen final con HCL_(ac) al 10% (V/V).

A partir de la solución de trabajo, construir la curva de calibración que se presenta en la tabla 1, en balones aforados de 25 mL clase A y completar a volumen con solución de HCL_(ac) al 10% (V/V).

A continuación, se detalla los puntos de calibración para Pb:

Tabla 1. Estándares para la realización de las curvas de calibración.

Estándar	Volumen de la solución de trabajo (mL)	Volumen Final (mL)	Concentración final (mg/L)
1	0,25	25	1
2	0,5	25	2
3	1	25	4
4	1,5	25	6
5	2	25	8
6	2,5	25	10

Luego, medir la absorbancia de los estándares, de menor a mayor concentración para verificar la calibración.

10. CONDICIONES INSTRUMENTALES.

En la tabla 2 se muestran los parámetros instrumentales del método para la determinación de Pb, con base al Manual del equipo del espectrofotómetro de absorción atómica Unicam.

Tabla 2. Parámetros del método para el análisis de plomo.

Parámetros Generales		Tabla de Secuencia	
Modo instrumental:	Llama	Estánd. Repart.:	Si
Usar SFI:	No	Referencia QC:	Si
Calentamiento:	Ninguna	Modi. Matriz Comp.	Si
Automuestreador:	Ningún	Puntas QC Comprar:	Si
Parámetros Espectrómetro. Determinación de Pb			
Elemento:	Pb	Tipo Señal:	Continuo
λ (nm)	217	Modo Medida:	Absorbancia
Correc. Fondo:	D2	Corriente Lámp:	75%
Alta Resolución:	Apagado	N° Re muestras:	2
Rechazo datos:	No	Optimi. Parame.	Apagado
Tiempo de medida (s)	0.5		
Parámetros De Llama		Parámetros De estabilización	
Tipo de llama:	Aire - Acetileno	Tiempo de estabilización del mechero (min)	0
Flujo de combustible (L/min)	1.1	Tiempo de estabilización de la llama (s)	0
Oxidante auxiliar:	No	Optimización de flujo combustible:	No

11. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN O RECHAZO.

Para el ajuste de calibración se aplica el criterio de coeficiente de determinación (R^2) mayor o igual a 0,995 y residuos inferiores al 10%, es decir en el intervalo de [-10%, 10%].

12. LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Tabla 3. Los límites de detección/cuantificación para Pb por EAA

Límite de detección		Límite de cuantificación	
Instrumental	Método	Instrumental	Método
0,29 mg/L	1,40 mg/kg	0,857 mg/L	4,20 mg/kg

13. CÁLCULOS

- Concentración del metal

La ecuación que se muestra a continuación se utiliza con el objetivo de conocer la concentración del metal, en base seca, presente en las muestras de análisis:

$$Cm = \left(\frac{(C_e - C_b) \times V_e}{P_m} \times f_d \right) \times \left(\frac{100 + pW}{100} \right)$$

Donde: Cm = Concentración de la muestra de Pb (mg/kg)

Ce = Concentración instrumental del digesto de la muestra (mg/L)

Cb = Concentración instrumental del Blanco de proceso

Pm = Peso de muestra (g)

Ve = Volumen final de la solución (ml)

fd = factor de dilución

pW = % porcentaje de humedad en el suelo seco a 105 °C.