

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA DE OCCIDENTE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



TRABAJO DE GRADO

CUANTIFICACIÓN DE PLOMO Y HIERRO EN PERFILES SEDIMENTARIOS EN
ESTERO BARRA DE SANTIAGO APLICANDO LA ESPECTROMETRÍA DE
ABSORCIÓN ATÓMICA

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO (A) EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTADO POR
KEVIN ERNESTO GONZÁLEZ LÓPEZ
KATHERINE ELIZABETH RODRIGUEZ ARRIOLA

DOCENTE ASESOR
MAESTRO MIGUEL ÁNGEL CRUZ

NOVIEMBRE, 2022
SANTA ANA, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

AUTORIDADES



M.Sc ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO
RECTOR

DR. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ
VICERRECTOR ACADÉMICO

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

M.Sc. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL
SECRETARIO GENERAL

LICDO. LUIS ANTONIO MEJÍA LIPE
DEFENSOR DE LOS DERECHOS UNIVERSITARIOS

LICDO. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARIN
FISCAL GENERAL

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA DE OCCIDENTE

AUTORIDADES



M. Ed. ROBERTO CARLOS SIGÜENZA CAMPOS

DECANO

M.Ed. RINA CLARIBEL BOLAÑOS DE ZOMETA

VICEDECANA

LICDO. JAIME ERNESTO SERMEÑO DE LA PEÑA

SECRETARIO

M. Ed. MIGUEL ÁNGEL CRUZ

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

AGRADECIMIENTOS

Dios gracias por permitirnos culminar una etapa más en nuestras vidas, gracias por estar en este proceso que, aunque ha sido largo, cansado de muchos sacrificios y esfuerzos nos permitiste culminar con éxito y satisfacción.

Gracias por los padres y abuelos que nos regalaste que estuvieron ahí para acompañarnos y ayudarnos económicamente en esta etapa de estudios durante nuestra vida.

Gracias por nuestro asesor Lic. Gerardo Ruiz que nos enseñó con mucho amor y paciencia y guió por todo este proceso para que esta tesis fuese una realidad.

Gracias por nuestro asesor Lic. Y Med. Miguel Angel Cruz que nos ayudo a coordinar el proceso de tesis.

Gracias al Licdo. Oscar Amaya por facilitar el acceso al laboratorio de Toxinas permitiendo desarrollar esta tesis brindándonos apoyo en todo lo que se necesitó.

Gracias al Laboratorio de Tóxicos Marinos, a la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, a la Universidad de El Salvador y la Facultad Multidisciplinaria de Occidente de la Universidad de El Salvador que nos permitió cumplir nuestro sueño de ser profesionales.

INDICE

Resumen	xii
Introducción	xiv
CAPITULO I:GENERALIDADES.	16
1.1PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.2 <i>OBJETIVOS</i>	18
1.2.1 Objetivo general	18
1.2.2 Objetivos específicos	18
CAPITULO II:MARCO TEORICO	19
2.1 MARCO TEÓRICO	20
2.1.1 Sitio de estudio: Estero Barra de Santiago	20
2.1.2 Geomorfología.....	21
2.2 <i>Área de muestreo</i>	23
2.3 <i>Variable de estudio: Plomo Y Hierro</i>	23
2.3.1 Plomo.....	23
2.3.2 Hierro	25
2.4 <i>Sedimentos</i>	28
2.5 <i>Método para la cuantificación de Plomo y Hierro</i>	30
2.5.1 Atomización de llama.....	30
2.5.2 Tipos de llamas.....	31
2.5.3 Características de desempeño de atomizadores de llama.	32
2.5.4 Señal de salida	32
2.5.5 Instrumentos para Espectrometría de Absorción Atómica.....	33
2.5.6 Interferencias en Espectroscopía de Absorción Atómica.....	33
2.5.7 La muestra en AAS	34

2.5.8	Aplicaciones de AAS	35
2.5.9	Curvas de calibración	35
2.5.10	Limites de detección.....	35
2.6	<i>Exactitud</i>	36
2.7	<i>Normalización</i>	36
2.7.1	Requisitos de la normalización.....	37
2.7.2	Niveles de contaminación.....	37
2.8	<i>Validación del método</i>	39
2.9	<i>Limite de cuantificación (LoQ):</i>	39
2.10	<i>Intervalo de trabajo (RANGO):</i>	43
2.11	<i>Linealidad (INTERVALO LINEAL):</i>	45
2.12	<i>Precisión:</i>	47
2.13	<i>Sesgo:</i>	48
2.13.1	Valores atípicos	50
CAPITULO III:METODOLOGIA		52
3.1	<i>METODOLOGÍA</i>	53
CAPITULO IV:RESULTADOS Y ANALISIS.....		56
<i>RESULTADOS Y ANALISIS</i>		57
4.1	Tratamiento de Plomo	57
4.1.1	Parámetros de validación:.....	57
4.1.1.1	Rango analítico y linealidad:	57
4.1.1.2	Recuperación	61
4.1.1.3	Precisión	62
4.1.1.4	Sesgo:	62
4.1.2	Análisis de datos para muestras del perfil BS02.	63
4.2	Tratamiento de Hierro	68
4.2.1	<i>Parámetros de validación</i>	68

4.2.2	Análisis de datos para muestras del perfil BS02.	68
4.3	Normalización	69
4.4	El índice de acumulación I-GEO.....	72
4.5	<i>Discusión</i>	73
4.5.1	Validación del Plomo	73
4.5.2	Análisis de Plomo en BS02	74
4.5.3	Validación del Hierro	76
4.5.4	Análisis de Hierro en BS02	76
4.5.5	Relación FE/PB en BS02.....	77
CAPITULO V:CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		78
5.1 CONCLUSIÓN.....		79
5.2 RECOMENDACIONES.....		80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		81
ANEXOS		85

INDICE DE IMÁGENES.

Imagen 1:mapa de Barra de Santiago	20
Imagen 2:materiales superficiales del estero de Barra de Santiago, a la derecha pueden observarse limos y arcillas depositados por los ríos, propios de zonas pantanosas y a la izquierda arena y bancos de arena que son depositados por las corrientes de marea.	20
Imagen 3:Ilustración del Plomo. (Soria Salgado, 2013).....	23
Imagen 4: Ilustración del Hierro. (Soria Salgado, 2013).....	25
Imagen 5: Estructura simplificada de un complejo hierro-porfirina. (Rayner-Canham, 2000).....	26
Imagen 6 : El núcleo Fe ₄ S ₄ de una proteína ferredoxina con cuatro hierros. (Rayner-Canham, 2000)	27
Imagen 7:Procesos que ocurren durante la atomización.	31
Imagen 8: Muestra el acomodo para las mediciones de absorción. Observe que la fuente de radiación de la longitud de onda seleccionada se envía desde la fuente a través de la muestra, y la radiación transmitida se mide por medio de la unidad detector-procesador de la señal y sistema de lectura. En algunos instrumentos las posiciones de la muestra y del selector de longitud de onda están invertidas. (Skoog, 2008)	33

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1: Propiedades de las llamas (Skoog, 2008).....	32
Tabla 2: Límites de detección (ng/mL) a para elementos seleccionados. (Skoog, 2008) ...	36
Tabla 3: Clasificación del grado de contaminación de suelos de acuerdo al cálculo de I-geo. (Pérez -Mora, 2020)	38
Tabla 4: Limite de cuantificación. (Eurachem, Guardado Pérez, & Mercader Trejo, 2005).....	40
Tabla 5: valores del Estadístico de Grubbs (G). (Rivers & Sorto, 2003)	51
Tabla 6: Absorbancias de Plomo para la validación del método.....	58
Tabla 7: valores calculados para el uso de las formulas del capítulo REGRESIÓN Y CORRELACIÓN.....	59
Tabla 8: Parámetros de desempeño del método para cuantificación de Pb en muestras de sedimento marino.....	63
Tabla 9: resultados de lecturas Abs de Pb en AAS.	64
Tabla 10: Concentración de Pb en mg·Pb/Kg en BS02.....	68
Tabla 11: Parámetros de desempeño del método (Resultados de validación interna, para método de análisis cuantitativo).	68
Tabla 12: Concentración de Fe en g·Fe/Kg en BS02.	69
Tabla 13: Logaritmo de la concentración de Pb vrs. concentración de Fe.....	70
Tabla 14: contaminación I-geo: Asignación del grado de contaminación de suelos de acuerdo al cálculo de I-geo.....	72

INDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1:Logaritmo de la concentración Pb Vs. Logaritmo de la concentración Fe.	70
Gráfica 2:profundidad Vs. Relación de Pb-Fe. Se puede observar concentraciones no constantes, que varian en la profundidad.....	71

INDICE DE ECUACIONES.

Ecuación 1: Igeo	38
Ecuación 2: Desviacion estándar (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)	41
Ecuación 3: Media aritmética (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).....	41
Ecuación 5:Desviación estándar para LOQ sin corrección de blanco.....	42
Ecuación 5: desviacion estándar para LOQ con correcion de blanco.	42
Ecuación 6: Limite de cuantificación.La ecuación anterior se usa para calcular el límite de cuantificación, El valor del multiplicador k_Q usualmente es 10, pero se usan comúnmente otros valores como 5 o 6, basado en criterios de “adecuación al uso” (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).....	43
Ecuación 7: Linea Recta. (Miller & Miller, 2002)	46
Ecuación 8: Intercepto. (Microsoft, 2022)	46
Ecuación 9: Pendiente. (Microsoft, 2022)	46
Ecuación 10:Coeficiente de correlación momento-producto. (Miller & Miller, 2002).....	46
Ecuación 11:Coeficiente de determinación. (FAO & Pauly, 1983)	47
Ecuación 12: Desviación estándar relativa porcentual. (Miller & Miller, 2002)	48
Ecuación 13: Sesgo absoluto (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).....	48
Ecuación 14: Recuperacion relativa porcentual (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).....	49
Ecuación 15: Cociente de Grubbs. (Rivers & Sorto, 2003).....	50

Resumen

Se desarrollaron y validaron metodologías para la cuantificación de plomo y hierro en sedimento marino. Dichos metales se analizaron mediante una digestión acida por medio de la técnica de espectrometría de absorción atómica modo flama.

Obteniendo para plomo resultados validados por medio de los siguientes parámetros: Rango analítico de 18-113 mg·Pb/Kg, el límite de cuantificación 18 mg·Pb/Kg, precisión: coeficiente de variación es 10.59 %, exactitud: con una recuperación del 90.67 %.

Y obteniendo para Hierro resultados validados por medio de los siguientes parámetros: Rango analítico de 2.5- 15g·Fe/Kg, el límite de cuantificación 0.039g·Fe/Kg, precisión: coeficiente de variación es 4.67%, exactitud: con una recuperación del 100.84%.

El aumento en la concentración de hierro en el perfil sedimentario BS02 no implica un aumento en la concentración de plomo, es importante considerar que los valores de hierro son considerados de origen natural, aunque no exista una correlación entre las concentraciones de los metales, esto indica que no hay una fuente en común entre ellos, y por consiguiente, la fuente del plomo es muy probable que sea de origen antropogénico.

Es probable que el sedimento del perfil BS02 no abarque época preindustrial, ya que no se obtuvieron datos similares entre sí, esto es posible deducirlo a partir de los datos de (KEMP, R.L., C.I., & J.M, 1976), esto no es una hipótesis, ni una teoría, sino una estipulación que se hace a partir de la naturaleza del perfil sedimentario.

Las concentraciones para Pb que se obtuvieron del análisis de las 20 muestras en las que se dividió el perfil BS02, se encuentran debajo del valor del PEL (17.5 mg·Pb/kg) por lo que es poco probable que representen un peligro para las especies del lugar y la vida humana (no tóxico).

Las concentraciones de Fe obtenidas para el análisis de las 20 muestras en las que se dividió el perfil BS02, oscilan en el 1%; el cual, es menor al valor de Fe en la corteza terrestre (5.1%) (JUÁREZ, CERDÁN, & SÁNCHEZ, 2007) por lo que se puede concluir que dichos valores son de origen natural. Al haber realizado la normalización para Plomo con Hierro y al comparar los valores obtenidos de ambos metales, y observar que no existe correlación ($R^2=0.007$) entre ambos metales, podemos concluir que muy probablemente existe una contaminación de plomo de carácter antropogénico.

Introducción

La presente investigación trata sobre el análisis de un núcleo de sedimentos, tomado en Barra de Santiago, para determinar la concentración en la que se encuentran los metales plomo y hierro.

El sitio Ramsar Barra de Santiago posee la mayor extensión de manglar del lado occidental del país, así como es el refugio más importante de vida silvestre de caimanes, cocodrilos, mamíferos, aves (tanto autóctonas como migratorias) y otros reptiles como las tortugas marinas que anidan en esas playas. Es caracterizado por abundante lluvia, la continuidad de pantanos salobres y dulces (en donde confluyen muchos ríos), y bosque de saturación que se encuentran cerca. (MARN, 2020)

Una contaminación por plomo en este sitio podría dañar el buen funcionamiento del ecosistema: El plomo es una sustancia tóxica acumulativa que afecta a diversos sistemas del organismo, incluidos los sistemas y aparatos neurológico, hematológico, gastrointestinal, cardiovascular, reproductor y renal. Los lactantes y niños de corta edad son especialmente vulnerables a la exposición y a la toxicidad del plomo (Rayner-Canham, 2000)

El uso de hierro como metal de contraste en normalización es fundamentada en las siguientes razones: es refractario en material sedimentario, la actividad humana influye muy poco, muestra una adecuada correlación con el tamaño de partícula, es el segundo metal más abundante en la corteza terrestre, muestra una relación constante con otros elementos proporcionalmente menos abundantes que se encuentran en el material mineral y en los sedimentos (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

La cuantificación de ambos metales es necesaria para determinar si la fuente de plomo y hierro es común; determinando así, si las concentraciones de plomo son de origen natural o antropogénico.

La metodología desarrollada es a través de digestiones acidas, para extraer los metales, y así ser analizados por medio de Espectrometría de Absorción Atómica modo Flama, para posteriormente determinar las concentraciones de dichos metales.

Los objetivos planteados en esta investigación se resumen básicamente en el desarrollo de la metodología para la cuantificación de ambos metales, así como de la normalización de plomo con hierro, como metal de contraste, en dicho núcleo, para determinar si existe una contaminación por plomo de carácter natural o antropogénico.

CAPITULO I: GENERALIDADES.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de metales en el ambiente se da por vía natural y antropogénica. Se movilizan en matrices de agua, suelo y aire.

Los metales son persistentes, es decir, no pueden ser creados o degradados, ni mediante procesos biológicos ni antropogénicamente. Una vez que han entrado en los ecosistemas acuáticos, se transforman a través de procesos biogeoquímicos y se distribuyen entre varias especies con distintas características físico-químicas, por ejemplo, material particulado ($>0,45 \mu\text{m}$), coloidal ($1 \text{ nm}-0,45 \mu\text{m}$) y especies disueltas ($=1 \text{ nm}$). (Galindo Riaño & Garcia Vargas, 2010)

La materia particulada y coloidal, tanto orgánica como inorgánica, desempeña un papel clave en la coagulación, la sedimentación y en los procesos de adsorción, los cuales influyen en los tiempos de residencia y transporte de los metales trazas desde la columna de agua a los sedimentos y a otras matrices. (C. Reyes, Vergara, Torres, Díaz, & González, 2016)

El Estero de Barra de Santiago el 23 de julio de 2014 fue designado como humedal de importancia internacional (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013) debido a que en el se encuentran diversas variedades de flora y fauna en peligro de extinción, el estero también es el hogar de muchas familias salvadoreñas, por esto y más razones consideramos que el lugar es de suma importancia para monitorearse.

De esta investigación, pueden plantearse las siguientes preguntas:

¿Cuál es el porcentaje de Plomo con respecto a Hierro, que contiene los perfiles verticales de sedimentos en estero Barra de Santiago? A partir de dichos porcentajes, ¿Cuál es el origen, (natural o antropogénico) de la cantidad de Plomo cuantificada?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

- Cuantificar el Plomo, utilizando normalización con Hierro, en perfiles sedimentarios, desarrollando la metodología de Espectrometría de Absorción Atómica de los respectivos metales, en estero Barra de Santiago.

1.2.2 Objetivos específicos

- Desarrollar la metodología en Espectrometría de Absorción Atómica, para la cuantificación de Plomo y Hierro, en perfiles sedimentarios en estero Barra de Santiago.
- Cuantificar plomo en perfiles sedimentarios en estero Barra de Santiago, aplicando la Espectrometría de Absorción Atómica.
- Cuantificar Hierro en perfiles sedimentarios en estero Barra de Santiago, aplicando la Espectrometría de Absorción Atómica.
- Comparar las concentraciones obtenidas de Plomo y Hierro, para determinar si los niveles obtenidos son debido a contaminación natural o antropogénica.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 Sitio de estudio: Estero Barra de Santiago

El estero Barra de Santiago se encuentra ubicado en los departamentos de Ahuachapán y Sonsonate, atravesando los municipios de San Francisco Menéndez, Jujutla, Acajutla, en el occidente de El Salvador fronterizo con Guatemala, al sur de la carretera litoral (CA-2) (Ramsar, 2013).

El sistema de humedales Complejo Barra de Santiago recibe su nombre de las dos porciones extremas (este y oeste, respectivamente), de un conjunto de formaciones naturales costeras, localizadas en la región oeste del territorio de El Salvador, fronterizo con la República de Guatemala. Incluye una zona marino-costera de mar abierto, de 26 km de frente de costa, hasta una profundidad promedio de 5.5 m; en la zona continental se encuentran ecosistemas de manglar, sucesiones de vegetación pantanosa, bosques inundados, arroyos estacionales y permanentes y lagunas de inundación. Incluye dos unidades del Sistema Nacional de Áreas Protegida: Barra de Santiago, Santa Rita-Zanjón del Chino; así como tres sitios arqueológicos de origen maya-pipil: isla El Cajete, isla El Cajetillo y Cara Sucia (Ramsar, 2013)

El sitio Ramsar complejo Barra de Santiago fue designado como humedal de importancia internacional, el 23 de Julio de 2014 (Ramsar, 2013).



Imagen 1: mapa de Barra de Santiago



Imagen 2: materiales superficiales del estero de Barra de Santiago, a la derecha pueden observarse limos y arcillas depositados por los ríos, propios de zonas pantanosas y a la izquierda arena y bancos de arena que son depositados por las corrientes de marea.

2.1.2 Geomorfología

En general la estructura geomorfológica de la zona está conformada por una serie de sedimentos finos intercalados con material de grosor medio, con un bajo índice de drenaje, debido al tipo de material y a la proximidad de material freático. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

El humedal Ramsar Complejo Barra de Santiago, está compuesto por diversos recursos naturales, entre los cuales se encuentran extensas áreas de bosque Salado, sucesión de vegetación pantanosa, bosques inundados, arroyos estacionales y permanentes, lagunas de inundación, conformando sistemas estuarinos que juegan un rol en el mantenimiento de las poblaciones de diversas especies de flora y fauna, manteniendo la biodiversidad en el humedal, además posee 26 Km de playas arenosas de alta importancia para la vida silvestre pues son aptas y de mayor preferencia para la anidación de tortugas marinas. Un sistema de canales que permiten la navegación y la entrada de masas de agua salada durante todo el año, estableciendo gradientes de salinidad por intercambio de agua dulce en estación de lluvias. La zona de influencia la constituyen, principalmente superficies cultivables que presionan sobre el humedal principalmente, de granos básicos, caña de azúcar, pastizales y ganado. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

Una de las áreas más frágiles del humedal son las áreas de bosques salados y salobres, que brindan servicios ecosistémicos, entre los que se pueden mencionar: sirven de reguladores del microclima, protege la capa del suelo fértil en eventos de inundaciones por tormentas y alto oleaje; sirven de refugio y comederos de diversas aves acuáticas, terrestres, residentes y migratorias; en el desarrollo de parte del ciclo de vida de muchas especies marinas que constituyen la pesca artesanal (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013).

La realizan en los sistemas estuarinos está en estrecha vinculación en la interface de agua estuario y bosque salado y salobre; sirven de captación de CO₂ y provee oxígeno, fibras, madera y alimento a la población que habita en los municipios San Francisco Menéndez, Jututla del departamento de Ahuachapán y Acajutla del departamento de Sonsonate que integran el humedal en su totalidad; pero a pesar de proveer estos servicios ambientales,

ocurren en el varios problemas que se han identificado (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013).

Algunas de las especies de flora y fauna amenazas en el sitio son las siguientes. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

Flora: existen ecosistemas de manglares (*rhizophora mangle*, *rhizophoraracemosa*) y palmares, con predominancia de *brahea salvadorensis*(*palma de escoba*). Que están seriamente amenazados a escala nacional. El área contiene muestras de ambos ecosistemas, que constituyen un reservorio para el mantenimiento de la biodiversidad asociada. Conforme a una visión de utilización sostenible, la conservación de los manglares y palmares es una medida ampliamente apoyada por la comunidad local. Además, existe una especie escasa de helecho de manglar (*Acrostichumaureum*). De igual forma existen varios ejemplares de maderas nobles de la familia Meliaceae (*Cedreleodorata*) que están amenazados a nivel nacional. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

Peces: se encuentran especies en peligro como el *Epinepphelus quinquefasciatus*(Mero), el cual está en peligro de extinción a nivel nacional y en peligro crítico según Lista Roja UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). La especie *Aetobatus narinari*(Gavilán) se encuentra casi amenazada conforme a Lista Roja UICN. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

Anfibios: la especie *Dermophismexicanus* (Tepalcua) es parte de este sitio, y es clasificada como vulnerable según la Lista Roja UICN, y está amenazada a nivel nacional. Existen en el área otras especies de anfibios que están clasificadas como de preocupación menor (LC) según la Lista Roja de UICN, tales como: *Incilius coccifer*(Sapo enano) *Rhinella marina* (Sapo Marino), entre otras especies. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

Reptiles: Dentro de las especies que habitan en el sitio y que se encuentran en peligro se tienen: *Caimancrocodilus* (Caimán) en peligro a nivel nacional, *Crocodylus acutus*

(cocodrilo) mencionado vulnerable según Lista Roja UICN, y en peligro a nivel nacional, Eretmochelysimbricata (Tortuga Carey) se muestra en peligro crítico de acuerdo. (Barraza, Pérez Mena, Chinpagua García, & Fuentes, 2013)

2.2 Área de muestreo

El punto geográfico del muestreo usado en esta investigación se encuentra ubicado en Barra de Santiago. El perfil vertical codificado como “BS02” se compone de 20 secciones de 2 cm de espesor y fue tomado en 2017 en el Área Natural Protegida del Manglar Barra de Santiago en el sitio Ramsar Complejo la Barra de Santiago (13.716873, -90.01174) utilizando un nucleador manual tipo “push corer”, un tubo de PVC con un borde afilado de 4 pulgadas de espesor y aproximadamente 50 cm de altura. Dicho perfil fue tomado con el objeto de medir los niveles de Cesio-137 y debido a que su análisis es de tipo no destructivo, puede reutilizarse el sedimento para análisis complementarios de naturaleza geocronológica, así como para la medición de contaminantes como metales pesados. (Hernández-Cruz, 2021)

2.3 Variable de estudio: Plomo Y Hierro

2.3.1 Plomo

El plomo con símbolo Pb, con número atómico 82, ubicado en el grupo 14 del periodo 6 de la tabla periódica, posee como propiedades un peso atómico de 207.2 UMA, densidad 11340 Kg/m³, punto de fusión 600.61 K, punto de ebullición 2022 K, electronegatividad de 2.33 Pauling, energías de ionización de 715.6 KJ/mol, 1450.5 KJ/mol, 3081.5 KJ/mol. (Soria Salgado, 2013),



*Imagen 3: Ilustración del Plomo.
(Soria Salgado, 2013)*

El Plomo es un sólido blando, negro grisáceo y muy denso que se encuentra de manera casi exclusiva como sulfuro de plomo (II), el mineral galena. El sulfuro de plomo (II) no se puede reducir directamente con carbono porque esa reacción tiene un cambio de energía libre desfavorable. Lo que se hace en cambio es calentar el compuesto en aire para oxidar

los iones sulfuro a dióxido de azufre (lo que según el diagrama de Ellingham es factible). El óxido de plomo (II) se puede reducir (Rayner-Canham, 2000)

Efectos biológicos del Plomo

El plomo es una sustancia tóxica acumulativa que afecta a diversos sistemas del organismo, incluidos los sistemas y aparatos neurológico, hematológico, gastrointestinal, cardiovascular, reproductor y renal. Los lactantes y niños de corta edad son especialmente vulnerables a la exposición y a la toxicidad del plomo. La costumbre de llevarse objetos a la boca conlleva que los niños ingieran el plomo contenido en el polvo. Por si fuera poco, absorben más plomo en el tracto gastrointestinal en proporción al que absorben los adultos. El cerebro y el sistema nervioso aún están en desarrollo durante la infancia temprana y pueden sufrir lesiones debidas a una exposición al plomo que pueden provocar disfunciones en el desarrollo neurocognitivo, una reducción del cociente intelectual y un mayor riesgo de problemas de comportamiento. La exposición crónica al plomo se asocia a un mayor riesgo de hipertensión y enfermedades renales. Una intoxicación grave, ya sea debida a una exposición aguda o crónica, puede ser mortal. (Departamento de Salud Pública, 2017)

Se estima que, en 2015, la exposición al plomo fue la causa de 495 550 muertes y de 9,3 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD) debido a los efectos sobre la salud a largo plazo, con la carga de morbilidad más alta en países de ingresos bajos y medios. Se estimó que solo el coste económico de las disfunciones en el desarrollo neurocognitivo representaba el 1,2% del producto interior bruto mundial en 2011. (Departamento de Salud Pública, 2017)

La ingesta de alimentos con alto contenido de metales pesados es nociva pudiendo originar envenenamientos: agudo y crónico, así como cáncer. Por tal motivo, la FAO y la OMS han establecido niveles máximos para su ingesta diaria: 0,05 mg/kg Pb y 1 µg/kg Cd (8). La FDA (Administración de alimentos y fármacos de los EE. UU.) Ha reglamentado el contenido de Cd en fertilizantes agrícolas, principal mente los fosfatados, pero no ha fijado limitaciones para Pb. (Martí, Burba, & Cavagnaro, 2002)

2.3.2 Hierro

El Hierro con símbolo Fe, con número atómico 26, ubicado en el grupo 8 del periodo 4 de la tabla periódica, posee como propiedades un peso atómico de 55.845 UMA, densidad 7874 Kg/m³, punto de fusión 1808 K, punto de ebullición 3023



K, electronegatividad de 1.83 Pauling, energías de ionización de 762.5 KJ/mol, 1561.9 KJ/mol, 2957 KJ/mol. (Soria Salgado, 2013)

Imagen 4: Ilustración del Hierro. (Soria Salgado, 2013)

Abundancia del Hierro en corteza

El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre después de Si, O y Al, representa el 5,1% de su peso total, su contenido en suelo se estima en un 3,8%.

La mayoría del hierro se presenta en las estructuras cristalinas de numerosos minerales. Al igual que para el resto de nutrientes el punto de partida del Fe en el suelo son los minerales primarios, que incluyen silicatos ferromagnéticos, como olivino, augita, hornblenda y biotita; estos minerales junto con las biotitas constituyen la mayor fuente de hierro en las rocas ígneas. (JUÁREZ, CERDÁN, & SÁNCHEZ, 2007)

A partir de la meteorización de los minerales primarios se libera Fe soluble a la disolución, que podrá ser utilizado por los organismos, unirse a distintos ligandos orgánicos, o bien ser transformado a minerales secundarios tales como sulfuros, carbonatos, minerales de arcilla, pero fundamentalmente óxidos e hidróxidos de distinta composición y grados de cristalización, que serán los que controlen principalmente la solubilidad de este elemento en el suelo. (JUÁREZ, CERDÁN, & SÁNCHEZ, 2007)

Función biológica del Hierro en humanos

Los papeles biológicos del hierro son tan numerosos que se han escrito libros enteros sobre el tema. Aquí nos concentraremos en tres tipos específicos de macromoléculas que contienen hierro: hemoglobina, ferritina y las ferredoxinas. En la hemoglobina, el hierro tiene un estado de oxidación de +2. Hay cuatro iones de hierro en cada molécula de hemoglobina, y cada uno está rodeado por una unidad de porfirina (véase la figura 5). (Rayner-Canham, 2000)

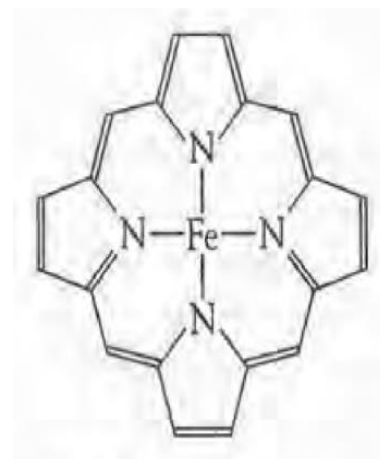


Imagen 5: Estructura simplificada de un complejo hierro-porfirina. (Rayner-Canham, 2000)

Cada molécula de hemoglobina reacciona con cuatro moléculas de dióxígeno para formar oxihemoglobina. Los enlaces con las moléculas de dióxígeno son lo bastante débiles como para que, al llegar al sitio donde se utilizará el oxígeno, como en los músculos, éste pueda liberarse. El monóxido de carbono es extremadamente tóxico para los mamíferos porque el ligante carbonilo se une con mucha fuerza al hierro de la hemoglobina y le impide transportar moléculas de dióxígeno. (Rayner-Canham, 2000)

En la oxihemoglobina el hierro (II) está en el estado diamagnético de bajo espín, y tiene el radio exacto (75 pm) para caber en el plano del anillo de porfirina. Una vez que se pierde el dióxígeno, el hierro de la molécula de desoxihemoglobina se mueve hacia abajo del plano del anillo de porfirina y se aleja del sitio de coordinación vacante, porque se ha convertido en un ion hierro (II) más grande (radio 92 pm), paramagnético, de alto espín. Durante todo el ciclo, el hierro permanece en el estado hierro (II); sólo alterna entre las formas de alto espín y bajo espín. Sólo cuando la hemoglobina roja que contiene hierro (II) se expone al aire se oxida a la especie café con hierro (III), proceso que es irreversible. (Rayner-Canham, 2000)

Tanto las plantas como los animales necesitan almacenar hierro para usarlo en el futuro. Con este fin se utilizan los miembros de una asombrosa familia de proteínas, las ferritinas. Éstas consisten en una coraza de aminoácidos enlazados (péptidos) que rodean a un núcleo de oxohidroxofosfato de hierro (III). (Rayner-Canham, 2000)

Este núcleo es un cúmulo de iones hierro (III), iones óxido, iones hidróxido y iones fosfato. El núcleo es muy grande, y contiene hasta 4500 iones hierro. Con su recubrimiento hidrofílico, este agregado es soluble en agua y se concentra en el bazo, el hígado y la médula ósea. Las plantas y las bacterias usan una familia de estructuras de hierro (III) y azufre como núcleo para sus proteínas redox, las ferredoxinas. (Rayner-Canham, 2000)

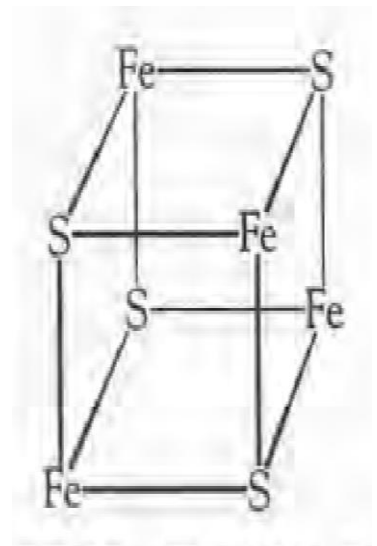


Imagen 6 : El núcleo Fe_4S_4 de una proteína ferredoxina con cuatro hierros. (Rayner-Canham, 2000)

Estas proteínas contienen átomos de hierro y azufre unidos por enlaces covalentes, y actúan como excelentes agentes de transferencia de electrones. Los más interesantes son los núcleos Fe_4S_4 , en los que los átomos de hierro y azufre ocupan esquinas alternadas de un cubo (véase la figura 6). (Rayner-Canham, 2000)

Movilización de metales pesados en el suelo

Un proceso que conduce a la movilización de metales pesados tóxicos es la biometilación. En este proceso, se produce una reacción entre iones metálicos y determinadas sustancias orgánicas naturales, para formar compuestos organometálicos, es decir, compuestos que contienen un enlace carbono-metal. En esta situación, las propiedades fisicoquímicas del metal cambian radicalmente. Estos compuestos suelen ser muy liposolubles, con lo que atraviesan con facilidad membranas biológicas y, en particular, la piel (Doménech, 1993).

Quizás, el proceso de biometilación más importante en la naturaleza sea el enlace entre un catión metálico y el grupo metilo ($-CH_3$) (metilación). La metilación, es el principal mecanismo natural de movilización de cationes de metales pesados. Como agentes metilantes naturales, el que parece jugar un papel más importante es la metilcobalamina (vitamina B-

12), que es bastante ubicua (que está en constante movimiento) en bacterias y otros animales superiores. (Doménech, 1993)

Por otro lado, los metales que ofrecen más afinidad a la biometilación son el mercurio, el plomo, el arsénico y el cromo. Estos metales, están de por sí presentes en muchos tipos de suelos a concentraciones muy bajas. En consecuencia, salvo en casos muy puntuales, la biometilación es despreciable. El problema grave sucede cuando estos metales son añadidos extremadamente en forma de vertidos incontrolados. En este caso, la biometilación es importante y la probabilidad de que los metales se incorporen a la cadena trófica puede ser elevada. (Doménech, 1993)

2.4 Sedimentos

Los sedimentos marinos son el depósito final de las sustancias producidas en las aguas superficiales y de aquellas introducidas a las desembocaduras de los ríos por procesos naturales y entrópicos. Dependiendo de las variaciones físicas y químicas del ambiente de deposición, estos sedimentos pueden actuar como sumidero o fuente de una serie de sustancias que modifican las propiedades naturales de la columna de agua y la trama trófica marina. (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019)

Por tal motivo, el conocimiento de las propiedades y composición de los sedimentos de fondo permite evaluar la condición de los ambientes marinos y reconocer eventuales perturbaciones derivadas de la acumulación de sustancias antropogénicas y naturales que puedan constituir riesgos para la salud del ecosistema. Este conocimiento permite, además, aplicar medidas apropiadas y realistas que no pongan en riesgo la salud de estos ambientes ni el desarrollo socio-económico de las comunidades costeras. (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019)

Directrices de calidad de sedimentos

La esencia de los niveles de referencia y su significado se proporcionan a continuación. Las pautas establecidas definen tres niveles de efectos ecotóxicos y se basan en los efectos crónicos a largo plazo de los contaminantes en los organismos *bénticos*. Estos niveles son (Persaud, Jaagumagi, Branch, Hayton, & Branch, 1993)

1. Un nivel sin efecto en el que no se han observado efectos tóxicos en los organismos acuáticos. Este es el nivel en el que no se espera biomagnificación (aumento en la concentración de un contaminante en los tejidos de organismos en sucesivos niveles de la red trófica) a lo largo de la cadena alimentaria. Calidad y uso del agua

Las pautas también se cumplirán en este nivel.

2. Un Nivel de Efecto Mínimo que indica un nivel de contaminación de sedimentos que puede ser tolerado por la mayoría de los organismos bénticos. *Para Fe=2%*

3. Un nivel de efecto grave que indica el nivel en el que se puede esperar una perturbación pronunciada de la comunidad que habita en los sedimentos. Esta es la concentración en sedimentos de un compuesto que sería perjudicial para la mayoría de las especies bénticas. *Para Fe=4%*.

Otra forma de evaluar la contaminación es según valores de PEL y TEL. (NOAA, 2019)

PEL: nivel de efectos de umbral: la media geométrica del percentil 50 de las concentraciones de contaminantes que se encontró que tienen efectos biológicos en diferentes pruebas y el percentil 85 de las concentraciones de contaminantes en pruebas para las cuales no se informaron efectos biológicos. *Para 112 mg·Pb/Kg*

TEL: nivel de efectos de umbral: la media geométrica del percentil 15 de las concentraciones de contaminantes que tienen efectos biológicos en diferentes pruebas y el percentil 50 de las

concentraciones de contaminantes en las pruebas para las que no se informaron efectos biológicos. Para 30.240 mg·Pb/Kg

Composición de los sedimentos

El estudio de la composición y distribución vertical de los elementos permite conocer la actividad geoquímica e historia de los procesos sedimentarios de un sitio. La importancia de obtener patrones naturales confiables de distribución de metales permite detectar los niveles de alteración ambiental. (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019)

El sedimento marino está constituido por una matriz compleja de fases detríticas de distinto tamaño (gravas, arenas, fango y arcilla), origen (orgánico e inorgánico) y composición química (silicatos, óxidos de hierro y manganeso, materia orgánica) que dificulta la determinación de metales pesados a niveles traza en las técnicas de espectrofotometría de emisión atómica (por ejemplo el plasma acoplado inductivamente) o espectrofotometría de absorción atómica (por ejemplo: con llama, horno de grafito, entre otros). (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019)

2.5 Método para la cuantificación de Plomo y Hierro.

El método espectrométrico atómico óptico que se utilizará para cuantificar el analito presente en la muestra, es la espectrometría de absorción atómica (AAS), que durante casi medio siglo ha sido el método que más se usa para identificar elementos simples en muestras analíticas. La técnica de atomización de muestra que se usara es: la atomización de llama (Skoog, 2008)

2.5.1 Atomización de llama

En un atomizador de llama, una solución de la muestra se *nebuliza* mediante un flujo de oxidante gaseoso mezclado con un combustible también gaseoso y se lleva hacia una llama donde ocurre la atomización. Como se ilustra en la **figura 7**, en la llama ocurre un conjunto complejo de procesos interconectados. El primero es la *desolvatación*, en la que el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular finamente dividido. Luego, éste se *volatiliza*

para formar moléculas de gas. La *disociación* de la mayor parte de dichas moléculas produce un gas atómico. Algunos de los átomos del gas se ionizan para formar cationes y electrones. Otras moléculas y átomos se producen en la llama como resultado de las interacciones del combustible con el oxidante y con las distintas especies de la muestra. Como se indica en la **figura 7**, una fracción de las moléculas, átomos e iones se excita también por el calor de la llama para producir espectros de emisión atómicos, iónicos y moleculares. Con tantos procesos complejos que ocurren, no es sorprendente que la atomización sea el paso más decisivo en la espectroscopía de llama y el único que limita la precisión de tales métodos. Como resultado de la naturaleza determinante del paso de atomización, es importante entender las características de las llamas y las variables que las afectan. (Skoog, 2008)

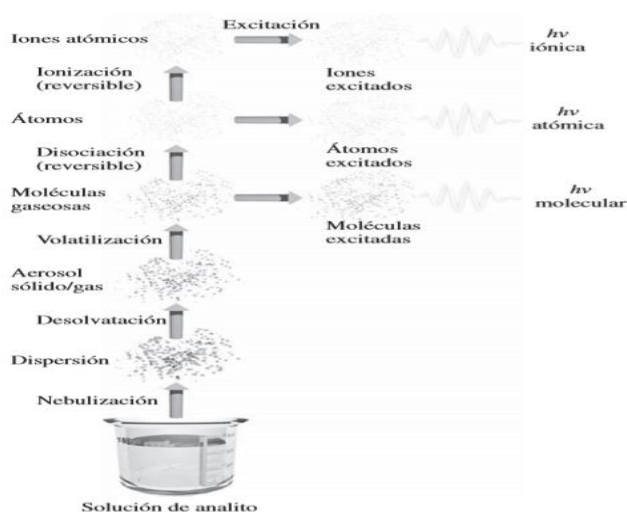


Imagen 7: Procesos que ocurren durante la atomización.

2.5.2 Tipos de llamas

Se enlistan los combustibles y oxidantes comunes en la espectroscopía de llama y el intervalo aproximado de temperaturas que se logran con estas mezclas. Observe que cuando el aire es el oxidante, se logran temperaturas de 1700°C a 2400°C con varios combustibles. A estas temperaturas sólo se atomizan las muestras que se descomponen con facilidad, así que se debe usar oxígeno u óxido nítrico como oxidante para muestras más refractarias. Estos oxidantes producen temperaturas de 2500°C a 3100°C con los combustibles comunes. (Skoog, 2008)

Combustible	Oxidante	Temperatura °C	Combustión máxima cm s ⁻¹
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800	285

Tabla 1: Propiedades de las llamas (Skoog, 2008).

2.5.3 Características de desempeño de atomizadores de llama.

Hasta la fecha, la atomización de llama es el más reproducible de todos los métodos de introducción de muestra líquida que han sido perfeccionados para la espectrometría de absorción (y fluorescencia atómica también). Sin embargo, la eficiencia de toma de muestras de otros métodos de atomización y, por tanto, su sensibilidad es notablemente mejores. Hay dos razones principales de la menor eficiencia de muestreo de la llama. Primero, una gran porción de la muestra fluye hacia el drenaje. Segundo, el tiempo de residencia de cada uno de los átomos en la trayectoria óptica es breve (aproximadamente 10^{-4} s). (Skoog, 2008)

2.5.4 Señal de salida

A una longitud de onda a la que ocurre absorbancia, la salida del transductor se eleva a un máximo después de algunos segundos de ignición seguida de un rápido descenso a cero cuando los productos de la atomización escapan hacia los alrededores. El cambio es lo bastante rápido (con frecuencia <1 s) como para requerir un sistema de adquisición de datos

moderadamente rápido. Por lo general las determinaciones cuantitativas se basan en la altura del pico, aunque también se usa el área de éste. (Skoog, 2008)

2.5.5 Instrumentos para Espectrometría de Absorción Atómica

Los instrumentos para Espectrometría de Absorción atómica (AAS) son similares en diseño general, y constan de una fuente de radiación, un soporte de muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de señal y lectura. El soporte de muestra en los instrumentos de absorción atómica es la celda del atomizador que contiene la muestra gaseosa atomizada. (Skoog, 2008)

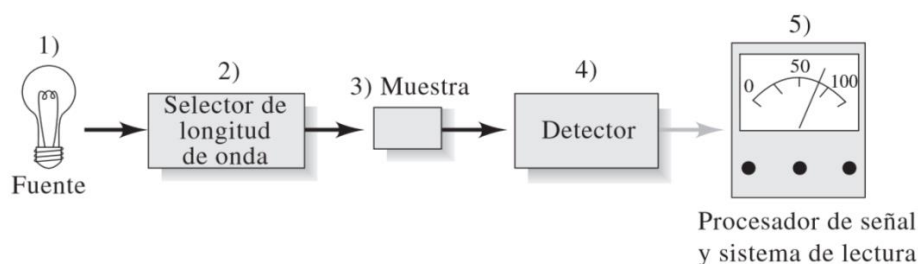


Imagen 8: Muestra el acomodo para las mediciones de absorción. Observe que la fuente de radiación de la longitud de onda seleccionada se envía desde la fuente a través de la muestra, y la radiación transmitida se mide por medio de la unidad detector-procesador de la señal y sistema de lectura. En algunos instrumentos las posiciones de la muestra y del selector de longitud de onda están invertidas. (Skoog, 2008)

2.5.6 Interferencias en Espectroscopía de Absorción Atómica

En los métodos de absorción atómica se encuentran interferencias de dos tipos. Las interferencias espectrales surgen cuando la absorción o emisión de una especie se traslapa o está tan cerca de la absorción o emisión del analito que se vuelve imposible la resolución mediante el monocromador. Las interferencias químicas resultan de varios procesos químicos que ocurren durante la atomización y que alteran las características de absorción del analito. (Skoog, 2008)

La interferencia espectral causada por la dispersión de productos de atomización se encuentra con mayor frecuencia cuando se aspiran en la llama soluciones concentradas que contienen elementos como Ti, Zr y W, que forman óxidos refractarios. Al parecer, se forman partículas de óxidos metálicos con diámetros mayores que la longitud de onda de la luz, y resulta la difusión del haz incidente. (Skoog, 2008).

Por fortuna, con la atomización de llama son escasas las interferencias espectrales por productos matriciales y, con frecuencia, se pueden evitar mediante cambios en las variables analíticas, como la temperatura de la llama y la relación entre combustible y oxidante. Por otro lado, si se conoce el origen de la interferencia, se puede añadir un exceso de sustancia interferente a la muestra y a los estándares. Siempre que el exceso añadido a la muestra estándar sea grande respecto a la concentración de la matriz de la muestra, la contribución de la matriz será insignificante. La sustancia añadida se llama a veces *amortiguador de radiación*. El método de las adiciones estándar se puede usar favorablemente en algunos casos. (Skoog, 2008)

Las interferencias químicas son más comunes que las espectrales. Sus efectos se pueden reducir con frecuencia mediante una elección adecuada de las condiciones de operación. Los equilibrios de interés principal incluyen la formación de compuestos de baja volatilidad, reacciones de disociación y ionización (Skoog, 2008)

2.5.7 La muestra en AAS

Una desventaja de los métodos espectroscópicos de llama es el requisito de que la muestra debe ser introducida en la fuente de excitación en la forma de una solución, por lo común acuosa. Desafortunadamente, muchos materiales de interés, como suelos, tejidos animales, plantas, productos del petróleo y minerales no se pueden disolver directamente en solventes comunes y con frecuencia se requiere de un tratamiento preliminar extenso para obtener una disolución del analito en una forma idónea para la atomización. De hecho, los pasos de descomposición y disolución son a menudo tardados e introducen más error que la medida espectroscópica misma. (Skoog, 2008)

Algunos de los métodos comunes que se usan para descomponer y disolver muestras para métodos de absorción atómica incluyen el tratamiento con ácidos minerales calientes; oxidación con reactivos líquidos, como ácido sulfúrico, nítrico o perclórico (digestión húmeda); combustión en una bomba de oxígeno u otro recipiente cerrado para evitar pérdida de analito, digestión a una temperatura alta, y fusión a temperatura alta con reactivos como óxido bórico, carbonato de sodio, peróxido de sodio o piro sulfato de potasio. (Skoog, 2008)

2.5.8 Aplicaciones de AAS

Es un medio sensible para la identificación cuantitativa de más de sesenta metales o elementos metaloides. (Skoog, 2008)

2.5.9 Curvas de calibración

Desafortunadamente, con frecuencia las curvas de calibración no son lineales, así que es contraproducente realizar un análisis de absorción atómica sin confirmar en forma experimental la linealidad de la respuesta del instrumento. Ya que debe cumplir la ley de Beer en donde la absorbancia es directamente proporcional a la concentración. (Skoog, 2008)

Incluso es mejor usar dos estándares que abarquen la concentración del analito. Cualquier desviación del estándar respecto a la curva de calibración original se puede usar para corregir el resultado analítico. (Skoog, 2008)

2.5.10 Límites de detección

Para muchos elementos, los límites de detección para espectroscopía de absorción atómica con atomización de llama están en el intervalo de 1 a 20 ng/mL, ó 0.001 a 0.020 PPM.

Y más específicamente para el Pb y Fe los límites de detección se muestran la siguiente tabla:

Elemento	Llama en AAS	AAS electrotérmica	Llama de AES	AES ICP	Lama de AFS
Fe	6	0.25	50	0.09	0.3
Pb	8	0.1	200	1	5

Tabla 2: Límites de detección (ng/mL) a para elementos seleccionados. (Skoog, 2008)

2.6 Exactitud

En las condiciones usuales, el error relativo relacionado con un análisis de absorción atómica de llama es del orden de 1% a 2%. Con precauciones especiales, esta cifra se puede reducir a algunas décimas de por ciento. (Skoog, 2008)

2.7 Normalización

Las técnicas de normalización son las más usadas para interpretar las concentraciones de metales observadas en los sedimentos. Algunas de ellas han incluido el tamaño de grano, el carbón orgánico total, y los elementos como hierro, aluminio y litio. (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

La normalización respecto al hierro ha sido estudiada con mucho éxito, fundamentada en las siguientes razones: es refractario en material sedimentario, la actividad humana influye muy poco, muestra una adecuada correlación con el tamaño de partícula, es el segundo metal más abundante en la corteza terrestre, muestra una relación constante con otros elementos proporcionalmente menos abundantes que se encuentran en el material mineral y en los sedimentos. (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

La normalización de la razón del logaritmo de las concentraciones del hierro/aluminio y la regresión lineal con sus límites de predicción, es una herramienta interpretativa utilizada por varios autores para determinar el enriquecimiento por metales pesados en los sedimentos marinos. (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

Esta metodología toma en cuenta la variabilidad natural de los metales y determina el enriquecimiento respecto a las concentraciones naturales esperadas. Esta herramienta interpretativa se puede utilizar en aplicaciones que incluye: 1) distinción de las concentraciones naturales y enriquecidas de metales en sedimentos costeros, 2) comparación de las concentraciones de los metales dentro de un sistema estuarino, 3) comparación de las concentraciones de los metales en sistemas estuarinos diferentes, 4) identificación de las fuentes de contaminación, 5) vigilancia de las tendencias en las concentraciones de metales con el tiempo en estos cuerpos de agua, y 6) evaluación del procedimiento de muestreo o errores de laboratorio. (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

2.7.1 Requisitos de la normalización

El análisis requiere que los datos sean distribuidos normalmente. La transformación de los datos al logaritmo de la razón de concentraciones elemento/Hierro debe cumplir con esta condición. Utilizando esta transformación y el criterio de normalidad de Anderson-Darling, se evalúan los datos del logaritmo de la razón de concentraciones elemento/Hierro. (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012)

2.7.2 Niveles de contaminación

El índice de geo-acumulación (I-geo) propuesto por Müller (1969), es ampliamente utilizado para evaluar la contaminación a través de la relación de la concentración de un analito en la matriz de estudio frente a los valores de referencia o control. El índice de geoacumulación se calcula de acuerdo a la *Ecuación 1* donde C_n es la concentración medida del metal contaminante n (mg/kg) en el suelo, B_n es el valor de fondo geoquímico (mg/kg) del elemento en la muestra control y el factor de 1.5 (Pérez -Mora, 2020) es introducido para reducir al mínimo los efectos de las posibles variaciones en los valores de fondo que puede atribuirse a efectos litogénicos. El resultado del I-geo da una medida del grado de

contaminación de un suelo o sedimento y los clasifica en siete categorías de acuerdo a la tabla 3

PEREZ MORA EVALUACION DE IGEO

$$I_{geo} = \log_2 \frac{C_n}{1.5 * B_n}$$

Ecuación 1: Igeo

(Pérez -Mora, 2020)

Valor I-geo	Clasificación I-geo	Nivel de contaminación
<0	0	No contaminado
0-1	1	No contaminado a moderadamente contaminado
1-2	2	Moderadamente contaminado
2-3	3	De moderado a fuertemente contaminado
3-4	4	Fuertemente contaminado
4-5	5	De fuertemente contaminado a extremadamente contaminado
>5	6	Extremadamente contaminado

Tabla 3: Clasificación del grado de contaminación de suelos de acuerdo al cálculo de I-geo. (Pérez -Mora, 2020)

2.8 Validación del método

¿QUÉ ES LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO?

La validación de un método es el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Está implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Los estudios de validación de métodos dependen de la determinación de los parámetros de desempeño global del método. Estos se obtienen durante el desarrollo del método y con estudios interlaboratorio, o siguiendo protocolos de validación internos.

La SMPRs (Standard Method Performance Requirements) considera las siguientes herramientas mínimas de validación, para un método cuantitativo (SMPR, 2019).

- Rango analítico y linealidad
- Límite de cuantificación
- Recuperación
- Precisión
- Sesgo

2.9 Límite de cuantificación (LoQ):

Estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad. Algunas veces también se conoce como “límite de determinación”. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

¿Qué es el blanco de muestra y como se elige?

Los blancos permiten evaluar cuánta señal de medida es atribuible al analito y cuánta a otras causas. Existen varios tipos de blancos: (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Blancos de reactivos (o blanco de ensayo): Los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución) se analizan para determinar si contribuyen a la señal de la medida.

- Blancos de muestra: Se trata de Muestras matriz sin presencia de analito, por ejemplo, muestra de sedimento sin presencia del metal de interés a cuantificar. Los blancos de muestra pueden ser difíciles de obtener, pero son necesarios para tener una estimación más real de las interferencias que pueden aparecer en un análisis de muestras de rutina.

Limite de cuantificación (LoQ)	
¿Qué se analiza?	¿Qué calcular a partir de los datos?
a) 6 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno	Desviación estándar de la muestra “s” de los blancos de muestra
	Expresar LoD como la concentración del analito correspondiente a los valores del blanco de muestra más: 6s
Obtener un blanco de muestra verdadero puede ser difícil.	
b) Fortificar alícuotas de un blanco de muestra a varias concentraciones de analito cercanas al LoD.	Calcular la desviación estándar “s” de los valores del analito a cada concentración. Graficar “s” contra concentración y asignar un valor al LoQ por inspección.
Medir, una vez cada una, 6 réplicas independientes a cada nivel de concentración.	Expresar LoQ como la concentración mínima del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de incertidumbre.

Tabla 4: Limite de cuantificación. (Eurachem, Guardado Pérez, & Mercader Trejo, 2005)

Para calcular la desviación estándar, s a partir de la media aritmética, \bar{x} , y aplicar la Ecuación de limite de detección (LoQ). (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

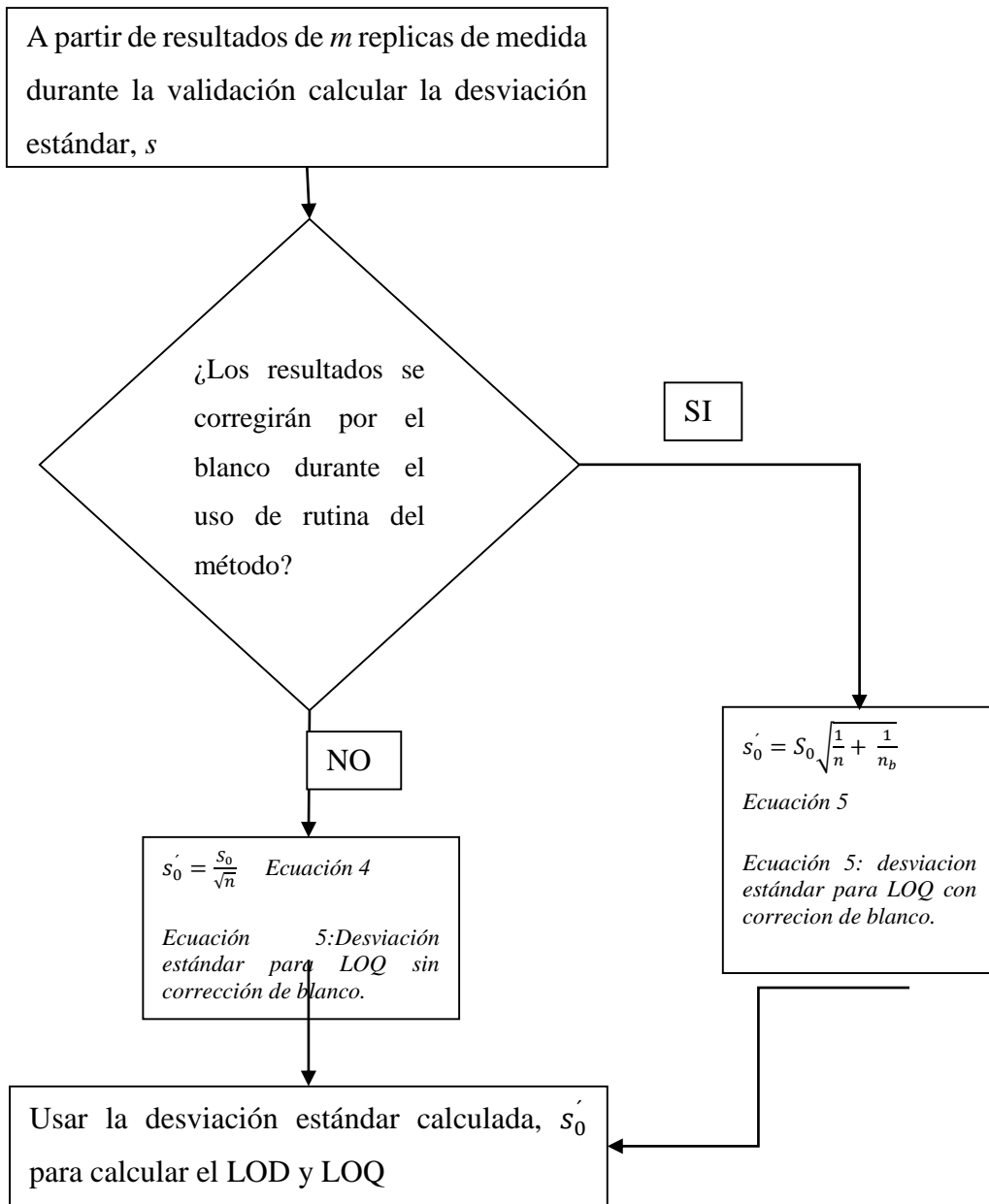
La desviación estándar, s , de n medida está dada por la siguiente ecuación:

$s = \frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n - 1}$	<i>Ecuación 2: Desviación estándar (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)</i>
---	--

Para la ecuación anterior es necesario conocer la media, \bar{x} , que esta dada por la siguiente ecuación;

$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$	<i>Ecuación 3: Media aritmética (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)</i>
--------------------------------	---

Donde el dato, x , es la respuesta del instrumento.



Donde: s es la desviación estándar estimada de m resultados individuales en o cerca de concentración cero. s'_0 es la desviación estándar usada para calcular LoD y LoQ. n es el número de réplicas de observación promediadas cuando se informan resultados donde cada réplica es obtenida siguiendo enteramente el procedimiento de medición. n_b es el número de observaciones de blanco promediadas cuando se calcula la corrección del blanco de acuerdo al procedimiento de medición. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

$$LoQ = k_Q * s'_o$$

Ecuación 6: Limite de cuantificación. La ecuación anterior se usa para calcular el límite de cuantificación, El valor del multiplicador k_Q usualmente es 10, pero se usan comúnmente otros valores como 5 o 6, basado en criterios de “adecuación al uso” (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).

2.10 Intervalo de trabajo (RANGO):

El ‘intervalo de trabajo’ es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, LoQ. El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

El intervalo de trabajo del método que se va a validar, debe indicarse en el alcance del procedimiento documentado, durante la validación, es necesario confirmar que el método puede utilizarse en este intervalo. Para evaluar el intervalo de trabajo, el laboratorio tiene que considerar tanto la linealidad del método como el procedimiento de calibración propuesto indicado en el método. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

En general, las revisiones de linealidad requieren medir un blanco más patrones de calibración, a 6-10 concentraciones, de 2-3 veces espaciadas uniformemente en el rango de interés (rango lineal de preferencia). (Eurachem, Guardado Pérez, & Mercader Trejo, 2005)

Muchos métodos se basan en que la muestra de ensayo recibida en el laboratorio (la muestra de laboratorio) sea procesada (digerida, extraída, diluida) antes de que pueda presentarse al instrumento de medición y se registre una señal. En estos casos, hay dos intervalos de trabajo. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

El intervalo de trabajo del método, dado en el alcance del método, se relaciona con la concentración de la muestra de laboratorio. Se expresa, por ejemplo, en mg/kg para una muestra de ensayo sólida. El intervalo de trabajo del instrumento está definido en términos

de la concentración de una muestra de ensayo procesada presentada al instrumento para su medición (por ejemplo, mg/L en una solución después de extraer la muestra). (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

La concentración medida es el resultado obtenido aplicando el procedimiento de medición (incluyendo cualquier preparación de muestras) usando el instrumento calibrado de acuerdo con el método. Durante la validación, se debe evaluar tanto el intervalo de trabajo del instrumento como el del método. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Entre el LoQ y el extremo superior del intervalo de trabajo del instrumento, la respuesta de esté sigue una relación conocida, por ejemplo, lineal, curvilíneal, etc. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Durante la validación, es necesario (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016) Confirmar esta relación.

- a) Demostrar que el intervalo de trabajo del instrumento es compatible con el rango indicado en el alcance del método.
- b) Verificar que el procedimiento de calibración instrumental propuesto (un solo punto, bracketing, multipunto) sea adecuado.

Para evaluar el intervalo de trabajo del instrumento y confirmar su aptitud para el uso, se deberían estudiar patrones de calibración con un alcance de concentración que sobrepase el rango de concentración esperado en $\pm 10\%$ o incluso $\pm 20\%$ y graficar las señales. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Se deben espaciar uniformemente las concentraciones seleccionadas en el rango. La evaluación inicial del intervalo de trabajo se realiza mediante una inspección visual de la curva de respuesta. El siguiente paso es confirmar la relación entre la concentración y la respuesta del instrumento revisando las estadísticas de regresión y el gráfico de residuales del modelo elegido.

La evaluación también puede incluir medidas estadísticas especiales, tales como pruebas de la 'bondad del ajuste'. A partir de la curva de respuesta y las estadísticas de apoyo obtenidas en el intervalo de trabajo del instrumento, el analista puede evaluar si el procedimiento de

calibración propuesto indicado en el método es apropiado. Además, esto se determina evaluando el intervalo de trabajo del método. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Para evaluar el intervalo de trabajo del método se sigue (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016):

1. muestras con concentraciones conocidas y blancos de muestra deberían estar disponibles.
2. las muestras utilizadas deberían someterse al procedimiento de medición completo
3. las concentraciones de las diferentes muestras deben cubrir, de preferencia, todo el rango de interés
4. El resultado de medición para cada muestra de ensayo se calcula de acuerdo con el procedimiento documentado. Estos valores se grafican en el eje y en función de las concentraciones conocidas de las muestras (eje x).

El intervalo de trabajo y la linealidad del método se evalúan mediante una inspección visual del gráfico, con el apoyo de estadísticas y un gráfico de residuales de una regresión lineal. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

2.11 Linealidad (INTERVALO LINEAL):

Es una propiedad importante de los métodos que se utiliza para medir en un rango de concentraciones. Se puede determinar la linealidad de la respuesta a patrones puros y a muestras reales. En general, la linealidad no se cuantifica pero se comprueba mediante examen o utilizando pruebas de significación para ausencia de linealidad. Una ausencia de linealidad significativa se corrige habitualmente mediante el uso de funciones de calibración no lineales o se elimina al elegir un rango de trabajo más restringido. Cualquier resto de desviación de linealidad se considera suficientemente explicada mediante una estimación de la precisión global que cubra diversas concentraciones, o entre las incertidumbres asociadas a la calibración. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Se supondrá que la recta de calibrada toma la forma algebraica:

$$y = a + bx$$

Ecuación 7: Línea Recta. (Miller & Miller, 2002)

Donde “*b*” es la pendiente de la recta y “*a*” ordenada en el origen, donde los puntos individuales se denotaran por $(x_1, y_1) \dots (x_n, y_n)$

Estime el intercepto (*a*) por medio de la relación:

$$a = \left[\frac{\sum y}{n} - \left(b \frac{\sum x}{n} \right) \right]$$

*Ecuación 8:
Intercepto. (Microsoft, 2022)*

Estime la pendiente (*b*) por medio de la relación:

$$b = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sum(x - \bar{x})^2}$$

*Ecuación 9:
Pendiente.
(Microsoft, 2022)*

De la *Ecuación 7* surge la pregunta ¿Es la representación gráfica de calibrado lineal?

Para estimar la bondad con que se ajustan los puntos experimentales a una línea recta, se calcula el *coeficiente de correlación momento-producto* (*r*). Para simplificar, a este dato estadístico se le denomina *coeficiente de correlación*, debido a que en las ciencias cuantitativas es con mucho el tipo de coeficiente de correlación más usado. El valor de viene dado por (Miller & Miller, 2002):

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}$$

*Ecuación 10: Coeficiente de correlación momento-producto.
(Miller & Miller, 2002)*

Puede demostrarse que r puede tomar valores en el intervalo de $-1 \leq r \leq +1$. De manera que cuando $r=+1$ se tiene una correlación positiva perfecta, es decir, todos los puntos están exactamente sobre una línea de pendiente positiva perfecta, es decir, todos los puntos están exactamente sobre una línea de pendiente positiva. Cuando no existe correlación entre x e y el valor de r es cero. (Miller & Miller, 2002)

Entonces, lo único necesario es calcular. El “coeficiente de determinación” (R). El cual lo proporciona la ecuación:

$$R = r^2$$

Ecuación 11: Coeficiente de determinación. (FAO & Pauly, 1983)

2.12 Precisión:

La repetición es esencial para obtener estimaciones fiables de características de desempeño del método. Los experimentos que implican análisis repetidos deben ser diseñados para tener en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas que se pueden esperar durante el uso rutinario del método. El objetivo debería ser determinar la variabilidad típica y no la variabilidad mínima. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Condiciones de precisión (precisión de la medida) es una medida de cuán cerca están los resultados entre sí. Por lo general, se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, típicamente la desviación estándar (o desviación estándar relativa), calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones repetidas en un material adecuado en condiciones específicas. La decisión sobre las "condiciones específicas" es un aspecto importante de la evaluación de la precisión de la medida - las condiciones determinan el tipo de estimación obtenida de la precisión. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

$$\text{RSD}(\%) = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

Ecuación 12: Desviación estándar relativa porcentual. (Miller & Miller, 2002)

RSD, cuyas unidades se expresan obviamente en tanto por ciento, es un ejemplo de error relativo, es decir, una estimación del error dividida por una estimación del valor absoluto de la cantidad medida. Los errores relativos se utilizan con frecuencia al comparar las precisiones de los resultados que tienen diferentes unidades o magnitudes, y resultan de nuevo importantes en los cálculos de la propagación de errores. (Miller & Miller, 2002)

2.13 Sesgo:

El sesgo del método se examina a menudo antes o durante los estudios interlaboratorio, cuando es posible comparar con métodos y materiales de referencia. Cuando el sesgo, la incertidumbre en los valores de referencia usados, y la precisión asociada al análisis del sesgo, son todos pequeños comparados con s_R , no es necesario realizar consideraciones adicionales para la incertidumbre del sesgo. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Una determinación práctica del sesgo se basa en la comparación de la media de los resultados (\bar{x}) del método candidato con un valor de referencia adecuado (x_{ref}). Existen tres enfoques generales: a) análisis de materiales de referencia, b) experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas, y c) comparación con resultados obtenidos mediante otro método:

El *Sesgo Absoluto*:

$$b = \bar{x} - x_{ref}$$

Ecuación 13: Sesgo absoluto (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).

Sin embargo, en algunos sectores de medición analítica, también se utiliza la *Recuperación Relativa (Recuperación aparente)* en porcentaje.

$$R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} * 100$$

Ecuación 14: Recuperación relativa porcentual (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).

Para determinar el sesgo utilizando un material de referencia (MR), se determinan la media y la desviación estándar de una serie de mediciones repetidas y se comparan los resultados con el valor asignado para la propiedad del MR. El MR ideal es un material de referencia de matriz certificado con valores de las propiedades próximas a las de las muestras de ensayo de interés. Se acepta en general que los materiales de referencia certificados (MRC) proporcionan valores trazables. También es importante recordar que un determinado MR debería utilizarse únicamente para un fin durante un estudio de validación. Por ejemplo, un MR usado para la calibración no debería utilizarse para evaluar el sesgo. En comparación con la amplia variedad de tipos de muestra y analitos que los laboratorios encuentran, la disponibilidad de MR es limitada, pero es importante que el material seleccionado sea apropiado para su uso. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016)

Hay que distinguir entre material de referencia (MR) y material de referencia certificado (MRC) ya que su uso en el proceso de validación es diferente. Los MR pueden ser cualquier material empleado como valor de referencia, ya sean reactivos de laboratorio de pureza conocida, productos químicos industriales u otros dispositivos. La propiedad o analito debe ser estable y homogénea pero no necesita contar con el alto grado de caracterización, trazabilidad nefrológica, incertidumbre y documentación exigida a los MRC. La evaluación del sesgo requiere de un valor de referencia fiable, preferiblemente un MRC con la misma matriz y en concentraciones del analito similares a las muestras reales. (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).

2.13.1 Valores atípicos

La prueba de Grubbs, también conocida como la prueba del máximo residuo normalizado (esta prueba es la recomendada por la EPA como la prueba estadística para la determinación de outliers, se utiliza cuando un sistema está bajo un buen control estadístico, para una muestra de tamaño n en el intervalo de 3 a 150 ($3 < n < 150$). La prueba de Grubbs detecta un dato anómalo cada vez. El dato anómalo es eliminado del set de datos y la prueba es iterada hasta que no se detectan más datos anómalos. Sin embargo, las iteraciones múltiples cambian las probabilidades de detección, y la prueba de esta forma no puede usarse para muestras de tamaño seis o menos. (Rivers & Sorto, 2003)

El procedimiento para la prueba es el siguiente:

1. Calcule la desviación estándar s de los datos existentes.
2. Definir la distancia $DM = \text{QuestionableData} - \bar{x}$, donde x es el dato sospechoso
3. Calcular el cociente $G = DM/s$, para pruebas iterativas el estadístico de Grubbs se define como:

$G = \frac{ \text{Questionable data} - \bar{x} }{s}$	<i>Ecuación 15: Cociente de Grubbs. (Rivers & Sorto, 2003)</i>
--	--

A continuación, se muestran algunos valores del Estadístico de Grubbs (G)

n	Significance Level		n	Significance Level	
	0.01	0.05		0.01	0.05
3	1.155	1.153	17	2.785	2.475
4	1.492	1.463	18	2.821	2.504
5	1.749	1.672	19	2.854	2.532
6	1.944	1.822	20	2.884	2.557
7	2.097	1.938	21	2.912	2.58
8	2.221	2.032	22	2.939	2.603
9	2.323	2.11	23	2.963	2.624
10	2.41	V.176	24	2.987	2.644
11	2.485	2.234	25	3.009	2.663
12	2.55	2.285	26	3.029	2.681
13	2.607	2.331	27	3.049	2.698
14	2.659	2.371	28	3.068	2.714
15	2.705	2.409	29	3.085	2.73
16	2.747	2.443	30	3.103	2.745

Tabla 5: valores del Estadístico de Grubbs (G). (Rivers & Sorto, 2003)

CAPITULO III: METODOLOGIA

3.1 METODOLOGÍA

Para que se cumplieran los objetivos planteados se llevaron a cabo una serie de pasos que se describen a continuación.

Primeramente, se realizaron sesiones virtuales para estudiar y analizar los manuales de funcionamiento y mantenimiento del equipo de absorción atómica que se utilizó para la realización de los análisis.

También se realizaron unas sesiones presenciales donde se recibió capacitación sobre el uso correcto del equipo, su mantenimiento y las partes de las que este compuesto, de igual manera se recibió explicación de manera clara, sobre el funcionamiento interno del equipo y porque es recomendado para el análisis de metales pesados, debido a su sensibilidad y buenos resultados.

Después de las sesiones introductorias al uso del equipo, se procedió a hacer varias curvas de calibración, tomando en cuenta los parámetros sugeridos que trae el software del equipo, en el apartado Cookbook para poder obtener valores de coeficiente de correlación lineal de Pearson lo más cercanos a 1 que se pudiera obtener.

Mientras se hacían las curvas de calibración, se aprovechó para optimizar los parámetros del equipo como; flama, parámetros ópticos, tiempos de inyección, tiempos de retardo, etc. Con el objetivo de alcanzar los niveles más altos de absorción que se podían obtener.

Cuando se obtuvieron los parámetros correctos para el software y el equipo, se procedió a definir los valores de la curva de calibración para; Plomo se utilizaron los valores de TEL y PEL del (NOAA, 2019) y se determinaron los límites de la siguiente manera.

TEL: $30.24 \text{ mg/Kg} = 2.42 \text{ mg Pb/L}$

PEL: $112 \text{ mg/Kg} = 8.96 \text{ mg Pb/L}$

Para la definición de los valores de la curva de calibración de Hierro no se contaba con los valores de PEL y TEL de (NOAA, 2019) entonces se determinaron basados en los valores del MRC intentando que este valor quedase al centro de la curva de calibración puesto que es una muestra ya analizada por varios laboratorios, el Valor del MRC IAEA-158 para Fe = 26.3 g/ kg.

Cuando se tenían estos valores se procedió a hacer unas mediciones de prueba, con digestiones para ver si los valores de absorbancia eran aceptables, de igual manera mientras se realizaban las curvas de prueba, se programaba la lectura de blancos, entre ellas, para confirmar que las absorbancias estuvieran bien y que los tiempos de inyección y retardo fueran los correctos, y no existiesen absorbancias cruzadas.

Para lograr obtener los porcentajes más altos de recuperación posibles, se realizaron digestiones con materiales de referencia, para comprobar que el método de extracción nos permitiese, obtener buenos resultados entre de R (%) de 80 a 120 % (Esto implicó mejorar parámetros del método y aplicar pasos adicionales de mantenimiento y preventivos).

La validación de las metodologías, tanto para plomo, como para hierro, se realizaron determinando los siguientes parámetros; rango analítico, linealidad, límite de cuantificación, recuperación, precisión y sesgo.

Para la determinación de plomo que, se realizó, se hizo una digestión parcial basada en la digestión propuesta por (Burton Jr, 2002). Primeramente se quitó toda la materia orgánica de los crisoles en el horno mufla hasta que estos llegaron a peso constante, después se pesaron 4 gramos de la muestra y se colocaron en los crisoles que nuevamente se metieron al horno mufla, para eliminar toda la materia orgánica y dejar enfriar, luego se solubilizan las cenizas de los crisoles con agua y después se agregó HCl concentrado, después se colocan en el hotplate hasta que no se observaron vapores, se dejaron enfriar y pasaron a un frasco para centrifugar, luego filtrar la solución con papel Whatman #41, para que la solución obtenida filtrada por Whatman GD/X 0.45 μm sea mas fácil de obtener, este filtrado se llevo a balones

volumétricos de 50 ml y se aforaron con agua destilada y homogenizaron, se pasó a tubos para ser analizado.

Analizadas las muestras se procedió a hacer el procedimiento estadístico, para determinar las concentraciones de las muestras del perfil BSO2 y para la validación del método, se dio tratamiento a los resultados para conocer los parámetros de validación de dicha metodología.

Para la determinación de hierro se realizó una digestión total, basada en la metodología propuesta por (Loring & Rantala, 1992). Primero se pesaban 0.200 g de muestra de sedimento en una bomba de teflón y a esto se le agregan 1 ml de agua regia y 3 ml de ácido fluorhídrico, se cierra la bomba de teflón y se coloca en un hotplate a 200 por 20 horas, pasado el tiempo se retiran del hotplate y se dejan enfriar, después de esto se trasladó a un tubo tipo Corning, se agrega 2.8 g de ácido bórico, diluido en 20 ml de agua destilada, para poder pasar la digestión a un balón de 50ml y esto se aforo con agua destilada y se pasó a tubos para analizar las digestiones. Y se tratan los resultados como los de plomo anteriormente mencionado.

Los resultados de plomo y hierro se contrastaron para determinar si existe una contaminación de plomo o no en el perfil sedimentario BS02.

CAPITULO IV: RESULTADOS Y ANALISIS

RESULTADOS Y ANALISIS

4.1 Tratamiento de Plomo

Se explicará en detalle el tratamiento estadístico de las Absorbancias obtenidas en la curva de calibración para metal Pb.

NOTA: Se ejemplificará con solo un dato del grupo, excepto cuando sea necesario ejemplificar con más datos.

4.1.1 Parámetros de validación:

4.1.1.1 Rango analítico y linealidad:

Rango analítico obtenido directamente de la curva de calibración 1.4-9 mg·Pb/L ó 17.5-112.5 mg·Pb/Kg, este valor se obtiene como se explica a continuación:

$$\frac{17.5 \text{ mg}}{\text{kg}} * \frac{0.004 \text{ Kg}}{0.05 \text{ L}} = 1.4 \frac{\text{mg} \cdot \text{Pb}}{\text{L}}$$

Donde el primer término es el extremo inferior de la curva de calibración. El segundo término es el factor de conversión, es decir 0.05 L=50 mL es el volumen final de la digestión MRC de IAEA-158, y 0.004 Kg=4g es el peso de la muestra de las diferentes partes en que se dividió el perfil.

A continuación, se presentan los datos de absorbancia, obtenidos en equipo de AAS modo flama, para cada concentración en la elaboración de la curva de calibración correspondiente a la validación del método:

Concentración n (x)	Absorbancias (y)									
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	87	91	64	83	86	92	89	62	65	81
1.4	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	34	93	01	44	36	25	46	12	37	05
2.8	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	00	90	83	94	60	03	94	79	70	73

4.2	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	67	81	23	30	26	15	42	19	30	43
5.6	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02
	79	96	63	22	84	10	07	05	07	78
7	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04
	41	50	79	95	83	96	71	61	91	29
8.4	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.04	0.04	0.04
	15	70	03	44	91	55	78	54	50	61
CRM1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	85	78	94	81	09	13	81	74	94	98

Tabla 6: Absorbancias de Plomo para la validación del método.

A cada set de absorbancias obtenidas para cada una de las concentraciones, se procedió a realizarles la Prueba de Grubbs para eliminar datos atípicos. Para ello, fue necesario adicionalmente, calcular la media aritmética y la desviación estándar. A continuación, se presentan los cálculos realizados para las absorbancias obtenidas en la concentración de 1.4 mg·Pb//L y tomando como dato sospechoso la absorbancia registrada de 0.01339.

Prueba de Grubbs para eliminar datos atípicos:

Para Media aritmética usar *Ecuación 3*; para $n=10$

$$\bar{x} = \frac{0.1234}{10} = 0.01234$$

Para Desviación estándar usar *Ecuación 2*: para $n=10$

$$s^2 = \frac{0.0018}{9}$$

$$s = 0.0019$$

Prueba de Grubbs:

NOTA: Se hace la Prueba de Grubbs para cada uno, hasta evaluarlos todos y verificar cada uno de acuerdo al parámetro. Valor del estadístico de Grubbs “G” para un 95 % confianza y 10 observaciones es $G=2.176$ Tabla 5. Si G calculada $>G$ tabla el dato cuestionable se elimina. Usar ecuación 15.

Para Abs 1=0.01339:

$$G = \frac{|0.01339 - 0.01234|}{0.00190} = 0.54875$$

Como G calculada $<G$ tabla, el dato cuestionable no se elimina, es decir, se conserva. Este procedimiento se realiza a cada uno de los datos.

Posteriormente, se calculara la *pendiente* y el *intercepto* de los pares de datos de absorbancias y concentración obtenidos de la elaboración de la curva de calibración sin tomar en cuenta los valores ya eliminados por el Test de Grubbs.

Regresión y correlación:

Pendiente: Para el valor de la *Pendiente* (b), el conjunto de datos que se usara será *Absorbancia* (y) y *Concentración* (x). La *Absorbancia* será el valor obtenido en el equipo. Y la *Concentración* será el valor asignado al estándar para hacer la curva de calibración. La concentración cero corresponde al blanco de reactivos. Usar *Ecuación 9*

Los datos mostrados a continuación se calculan a partir de la *tabla 6*

\bar{x}	\bar{y}	$\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})$	$\sum (x - \bar{x})^2$	$\sum (y - \bar{y})^2$
4.2	0.0247	2.35	548.8	0.0104

Tabla 7: valores calculados para el uso de las formulas del capítulo REGRESIÓN Y CORRELACIÓN.

$$b = \frac{2.35}{548.8} = 0.0043$$

Intercepto: usar Ecuación 8:

$$a = 0.0247 - 0.0043 * 4.2 = 0.0068$$

Ahora podemos obtener la ecuación de la curva de calibración, de la Ecuación pendiente-intercepto (Ecuación 7; Curva de calibración), quedando de la siguiente manera y correspondiendo al parámetro de linealidad:

$$y = 0.0043x + 0.0068$$

Adicionalmente, de la serie de pares de datos de la curva de calibración, es posible determinar su coeficiente de *correlación lineal* (Ecuación 10) y *coeficiente de determinación* (Ecuación 11) que indican el grado de correlación entre variables:

Correlación lineal:

Usar Ecuación 10, y valores de la Tabla 7:

$$r = \frac{2.3506}{\sqrt{(548.8 * 0.0104)}} = 0.98$$

Coeficiente de determinación:

Usar Ecuación 11 y valores de la Tabla 7:

$$R = 0.96$$

Limite de cuantificación:

Debido a que los resultados no se corregirán por el blanco (0 ppm, Tabla 6) durante el uso de rutina del método, se utilizará la Ecuación 6 para calcular el *Límite de Cuantificación* (LoQ):

Usar Ecuación 3

$$s_0 = \frac{0.00118}{\sqrt{5}}$$

Usar Ecuación 6:

$$LoQ = 10 * \frac{0.00118}{\sqrt{5}} = 0.00529 \frac{mg \cdot Pb}{L}$$

El factor $k_Q = 10$ es el valor recomendado en la (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016).

El denominador $\sqrt{5}$ es debido a que las lecturas del perfil se realizaron cinco veces de acuerdo a la metodología desarrollada.

Luego multiplicar LoQ por el factor de conversión para obtener la cantidad en $mg \cdot Pb/Kg$:

$$LoQ = 0.00529 \frac{mg \cdot Pb}{L} * \frac{0.5 L}{0.004 Kg}$$

$$LoQ = 0.066 \frac{mg \cdot Pb}{Kg}$$

4.1.1.2 Recuperación

Para determinar la recuperación, primero calcularemos la concentración teórica de Pb ($mg \cdot Pb/L$) del MRC IAEA-158 para las condiciones de digestión detalladas en el método (4g de masa y 50 mL de solvente).

$$\frac{4 g \text{ de muestra}}{50 mL \text{ solvente}} * \frac{1000 mL \text{ solvente}}{1 L \text{ solvente}} * \frac{39.6 mg Fe}{1000 g \text{ muestra}} = 3.168 \frac{mg \cdot Pb}{L}$$

El primer término $4 g \text{ muestra}/50 mL \text{ solvente}$: es la masa de muestra /volumen al final de la digestión. El tercer término es el valor de la concentración encontrado en el documento del MRC IAEA-158: 39.6mg/ Kg

La respuesta anterior se usará en la fórmula de *Recuperación Relativa* (Ecuación 14) y será el denominador X_{ref} en la siguiente ecuación. El numerador será el valor calculado a partir de las *Abs* obtenidas en el equipo de AAS.

$$R(\%) = \frac{2.87}{3.168} * 100\% = 90.67 \%$$

4.1.1.3 Precisión

Para determinar la precisión, se calculó el RSD% (*Ecuación 12*) de las Abs del MRC:

$$RSD\% = \frac{0.30}{2.87} * 100 = 10.59$$

Al ser una medida de dispersión, entre más cercano a cero sea el valor, se tiene mejor resultado.

4.1.1.4 Sesgo:

El *Sesgo Absoluto* es calculado a partir de la *Ecuación 13*, que corresponde a la diferencia entre el valor calculado a partir de las Abs del MRC obtenidas en AAS $\bar{x} = 35.91$ y el Promedio (valor teórico, x_{ref}). La Concentración de Pb en MRC IAEA 158 en 50 mL de solvente (mg/Kg) es $39.6 = X_{ref}$.

Usar *Ecuación 13*:

$$b = 35.91 - 39.6 = -3.69 \frac{g \cdot Pb}{Kg}$$

Parámetro de Validación	Valor obtenido
Rango analítico	18-113 mg·Pb /Kg
Linealidad	$y = 0.0043x + 0.0068$
Limite de Cuantificación <i>LoQ</i>	0.066mg ·Pb /Kg
Recuperación Relativa <i>R</i> (%)	90.67%
Precisión <i>RSD</i> %	10.59%

Sesgo Absoluto <i>b</i>	-3.69mg·Pb /kg
--------------------------------	----------------

Tabla 8: Parámetros de desempeño del método para cuantificación de Pb en muestras de sedimento marino.

4.1.2 Análisis de datos para muestras del perfil BS02.

Se explicará en detalle el tratamiento estadístico de las Absorbancias obtenidas en las lecturas del perfil nombrado BS02. Contiene los datos de las veinte secciones en que se dividió el perfil sedimentario

Los datos de la *curva de calibración* de este día se trabajaron de igual forma que en el apartado anterior con lecturas por cinco veces. A las Absorbancias de la curva de calibración se les aplico el Test de Grubbs. Luego se calculó la Pendiente, Intercepto, coeficiente de correlación *r* y *R*, los cuales se presentan en la Tabla 9

Resultados crudos obtenidos de las lecturas de las muestras del perfil estudiado para el metal plomo

Nombre	abs 1	abs 2	abs 3	abs 4	abs 5
CRM 1	0.0192	0.02195	0.02065	0.02224	0.02193
BLANCO	0.00867	0.00983	0.00742	0.00589	0.0079
BS02-M1	0.03369	0.03673	0.03695	0.03607	0.03771
BS02-M2	0.0354	0.03609	0.03218	0.03343	0.03518
BS02-M3	0.03617	0.03489	0.03774	0.03643	0.03261
BS02-M4	0.0371	0.03369	0.03721	0.03287	0.03867
BS02-M5	0.03392	0.03769	0.03793	0.03665	0.03662
BLANCO	0.00784	0.00821	0.00739	0.0081	0.00784
BS02-M6	0.03345	0.03401	0.03557	0.03862	0.03864
BS02-M7	0.03977	0.03511	0.03608	0.03472	0.03571
BS02-M8	0.03102	0.03649	0.03537	0.04079	0.03374
BS02-M9	0.03234	0.03524	0.03213	0.03604	0.03695
BS02-M10	0.03638	0.03661	0.03676	0.0369	0.03547
CRM 1	0.0225	0.0194	0.01826	0.02057	0.02105

CRM 2	0.02067	0.02137	0.02354	0.02091	0.02085
BLANCO 2	0.00685	0.00718	0.0078	0.00669	0.00889
BS02-M11	0.03014	0.03275	0.03606	0.03072	0.03207
BS02-M12	0.03584	0.03555	0.03603	0.03277	0.03592
BS02-M13	0.03463	0.0345	0.03329	0.03239	0.03644
BS02-M14	0.03537	0.03478	0.03535	0.03226	0.03357
BS02-M15	0.03199	0.03486	0.03278	0.03381	0.03222
BLANCO 2	0.00845	0.00664	0.0091	0.00739	0.00678
BS02-M16	0.03578	0.03462	0.03489	0.03478	0.03472
BS02-M17	0.03481	0.03349	0.03698	0.03584	0.03564
BS02-M18	0.03332	0.03278	0.03339	0.03079	0.03526
BS02-M19	0.035	0.04144	0.03662	0.03557	0.03458
BS02-M20	0.03398	0.03835	0.03199	0.03485	0.03351
BLANCO 2	0.00689	0.00686	0.00678	0.00607	0.00572
CRM 2	0.0205	0.02161	0.02079	0.02575	0.01975

Tabla 9: resultados de lecturas Abs de Pb en AAS.

El valor de *Profundidad media del perfil en cm* es el valor medio de la profundidad en centímetros, (esto para que el grafico tenga una mejor visualización) es decir, si el valor es 1 cm, corresponde a segmento 0-2 cm de profundidad.

La “Absorbancia” corresponde al valor obtenido en el análisis del perfil BS02 en AAS.

El valor *Concentración del Extracto (CEMB=x)* se calcula al despejar la ecuación Pendiente-intercepto:

$$[\text{CEMB}] = \frac{y - b}{a}$$

Autoría Propia

$$x = \frac{y - 0.0079}{0.0053}$$

Se usa de la misma fórmula para calcular la concentración del MRC.

Por ejemplo, para la profundidad 1, Absorbancia=0.03623

$$x = \frac{0.03623 - 0.007918429}{0.005377653} = 5.2646705 \frac{mg}{L}$$

El valor *Peso de la Muestra [Kg] (PMKg)* corresponde al peso en kilogramos de la muestra para la digestión. En caso de profundidad 0, el valor corresponde a 0.0 Kg, ya que se trata del blanco de reactivos.

El valor *Concentración corregida por Recuperación (CCR)* es la concentración en mg/L, corregido según el valor de *Recuperación Porcentual Aparente R (%)*.

$$\frac{CEMB \left[\frac{mg}{L} \right] - 90.67\%}{CCCR \left(\frac{mg}{L} \right) - 100\%}$$

La regla de tres simple es para corregir la concentración de acuerdo a la *Recuperación porcentual aparente R (%)*. Su interpretación es que *CEMB* es una cantidad con una *R (%)* de *Validación de Pb R(%)_{val}=90.67 %*. Para corregir los valores de recuperación de *CCR* se necesita que sea al 100% de una manera ideal, aunque en la práctica se necesita que el valor sea de entre 80-120%.

La ecuación despejada quedaría de la siguiente forma:

$$CCR \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{CEMB \left[\frac{mg}{L} \right] * 100\%}{90.67 \%}$$

Para *CEMB*= 5.26 mg/L:

$$CCR \left[\frac{mg}{L} \right] = \frac{5.26 * 100\%}{90.67\%} = 5.80 \frac{mg}{L}$$

El valor *Concentración Menos la Adición de estándar (CAD)* está dado por la resta de: CCR menos el valor de la Adición de Estándar de Plomo=4.975 mgPb/L se explica a continuación.

Para la masa:

$$5 \times 10^{-5} L * 1000 \frac{mg}{L} = 0.05 mg \cdot Pb$$

Donde el primer término es 0.05 mL de estándar. El segundo término es la concentración del estándar.

Para volumen:

$$10.05 mL * \frac{1 L}{1000 mL} = 0.01005 L$$

Donde el primer término es volumen final de muestra tomada, más el volumen de estándar 10 mL +0.05 mL. El segundo término es la conversión de mL a L.

Se procede a calcular la concentración:

$$\frac{0.05 mgPb}{0.01005 L} = 4.975 \frac{mgPb}{L}$$

El valor obtenido se resta, por ejemplo para CCR=5.81 mg/L:

$$CAD = CCR - \frac{0.05}{0.01005} \frac{mg \cdot Pb}{L} \quad \text{Autoría propia}$$

$$CAD = 5.81 \frac{mg}{L} - \frac{0.05}{0.01005} \frac{mgPb}{L} = 0.83$$

El valor *Concentración Final (CF)* viene dada por la siguiente fórmula:

$$CF = \frac{CAD (mg)}{L} * \frac{0.05 [L]}{PMKg [Kg]} \quad \text{Autoría Propia}$$

Donde el segundo término es el cociente del volumen al final de la digestión según la metodología, y el peso de la muestra en Kg.

Ejemplo para $CAD [mg/L]=0.83$

$$CF = 0.83 \frac{mg \cdot Pb}{L} * \frac{0.05 [L]}{0.0040013} 10.38 \frac{mg}{Kg}$$

El valor de CF es la concentración que corresponde al valor del segmento del perfil BS02 0-2 cm y es el valor que resulta según la metodología desarrollada.

Concentración de las secciones del perfil BS02 para Plomo:

Profundidad media del perfil [cm]	Concentración [mg·Pb/Kg]
0	
1	10.38
3	5.84
5	8.71
7	9.56
9	11.22
11	9.94
13	8.27
15	8.46
17	6.05
19	11.48
21	0.44
23	9.35
25	5.30
27	5.34
29	2.44

31	6.59
33	8.13
35	2.38
37	8.35
39	6.03

Tabla 10: Concentración de Pb en mg·Pb/Kg en BS02.

4.2 Tratamiento de Hierro

4.2.1 Parámetros de validación.

A partir de los datos de obtenidos de la curva de calibración para la validación del método (Anexo D), se calculan los parámetros de validación (Tabla 11).

Parámetro de Validación	Valor obtenido
Rango analítico	2.5- 15g/Kg
Linealidad	$y = 0.009x + 0.003$
Limite de Cuantificación <i>LoQ</i>	0.038g/Kg
Recuperación <i>R</i> (%)	100.84%
Precisión <i>RSD</i> %	4.69 %
Sesgo Absoluto <i>b</i>	-19.77g/kg

Tabla 11: Parámetros de desempeño del método (Resultados de validación interna, para método de análisis cuantitativo).

4.2.2 Análisis de datos para muestras del perfil BS02.

Concentración de las secciones del perfil BS02 para hierro:

Profundidad media del perfil [cm]	Concentración [g·Fe/Kg]
0	
1	10.32

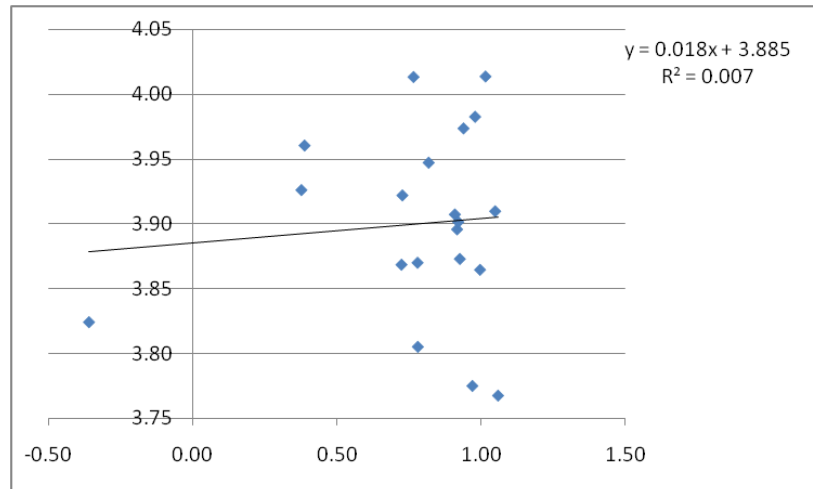
3	10.31
5	9.41
7	9.61
9	8.12
11	7.32
13	7.87
15	7.46
17	6.39
19	5.86
21	6.67
23	5.96
25	7.39
27	8.36
29	9.13
31	8.85
33	8.08
35	8.43
37	7.97
39	7.41

Tabla 12: Concentración de Fe en g-Fe/Kg en BS02.

4.3 Normalización

Utilizando el criterio de normalidad de Anderson-Darling, se evalúan los datos del logaritmo de la razón de concentraciones plomo/hierro. Se realizó una regresión lineal del logaritmo de la concentración de plomo como variable dependiente y el logaritmo de la concentración del hierro como variable independiente.

log Pb	log Fe
1.02	4.01
0.77	4.01
0.94	3.97
0.98	3.98
1.05	3.91
1.00	3.86
0.92	3.90
0.93	3.87
0.78	3.81
1.06	3.77
-0.36	3.82
0.97	3.78
0.72	3.87
0.73	3.92
0.39	3.96
0.82	3.95
0.91	3.91
0.38	3.93
0.92	3.90
0.78	3.87



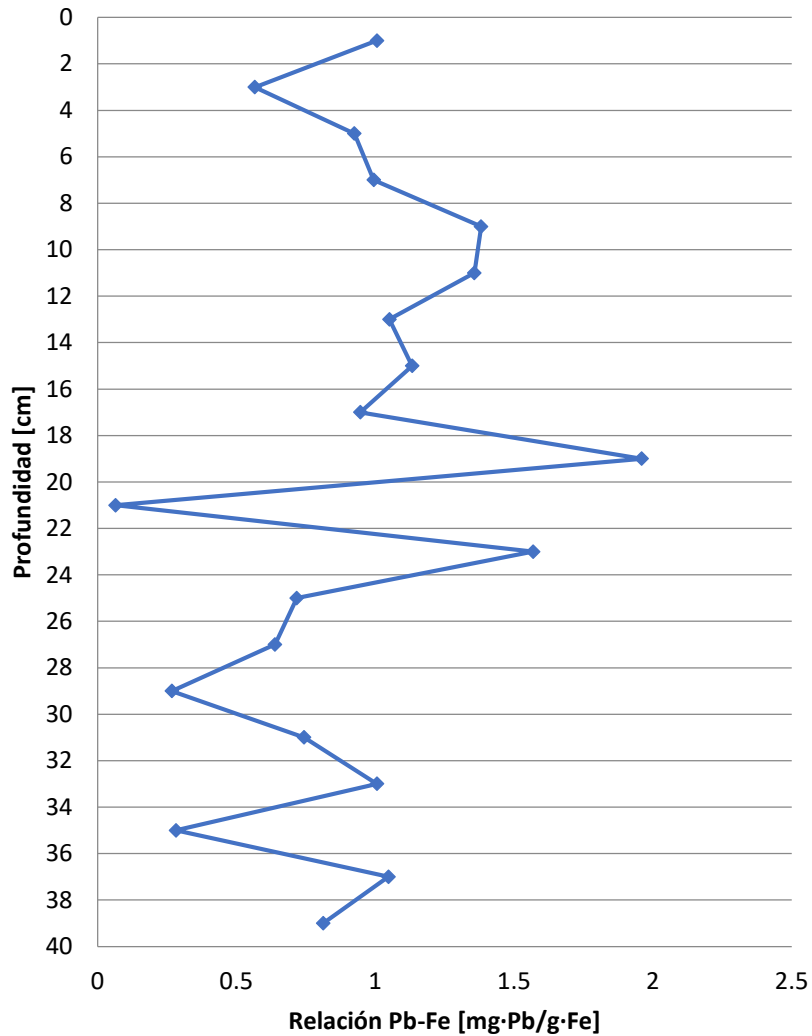
Gráfica 1: Logaritmo de la concentración Pb Vs. Logaritmo de la concentración Fe.

En la *Grafica 1* se puede observar que no existe correlación $R=0.007$ entre la concentración de Pb y la concentración de Fe.

Tabla 13: Logaritmo de la concentración de Pb vs. concentración de Fe.

Otras graficas:

El siguiente grafico muestra una mejor visualización de la concentración de los metales en relación a la profundidad en el perfil sedimentario BS02



Gráfica 2: profundidad Vs. Relación de Pb-Fe. Se puede observar concentraciones no constantes, que varían en la profundidad.

4.4 El índice de acumulación I-GEO

Calculado a partir de la *Ecuación 1* y coloreado de acuerdo a *Tabla 3*. Donde $B_n = 1.2$ es el valor de fondo geoquímico (mg/kg). Al no saber en específico para el plomo, se usó el valor máximo detectado para metales en sedimentos por (Michell & Scott, 1998).

Ver *tabla 3* para niveles de contaminación .

profundidad media del perfil en cm	Igeo
0	-----
1	2.53
3	1.70
5	2.27
7	2.41
9	2.64
11	2.47
13	2.20
15	2.23
17	1.75
19	2.67
21	-2.05
23	2.38
25	1.56
27	1.57
29	0.44
31	1.87
33	2.17
35	0.40
37	2.21
39	1.74

Tabla 14: contaminación I-geo: Asignación del grado de contaminación de suelos de acuerdo al cálculo de I-geo.

4.5 *Discusión*

4.5.1 Validación del Plomo

El límite de cuantificación es 0.06617 mg·Pb/Kg. Para este metal se realizó Adición de estándar, vale la pena aclarar que todos casi todos los datos (19 muestras de 20) se encontraban entre el valor del LoQ y el blanco, y para minimizar el efecto de la contribución o disminución de la señal, debido al efecto de matriz y también para obtener datos más robustos, debido a la menor dispersión de los datos en el medio de la curva de calibración. Fue necesario el uso de una adición de estándar para determinar las concentraciones de Pb en la muestra, que se encontraban debajo de 1.4 mg·Pb/L.

El LoQ se puede mejorar haciendo uso del blanco de métodos (EPA, 2007), en nuestro caso no fue posible elaborar y usar uno debido a la complejidad de la matriz, esto también afectó al hierro por tratarse de la misma muestra. El valor del límite de cuantificación utilizando un blanco de métodos probablemente sea mucho mejor al encontrado, razón por lo cual, se considera como una medida de contención definir el rango del análisis entre las concentraciones de la curva de calibración; es decir, de 1.4 a 8.4 mg·Pb/L (18-113 mg·Pb/kg).

Se tomó en consideración los tiempos y temperaturas de digestión utilizados en (Ritter, Cothorn, & Zamierowski, 1978) y el trabajo de (LANDAVERDE MARTINEZ & RIVAS RIVAS, 2019) para definir el tiempo y temperatura de digestión. El tiempo de digestión de 2.5 horas y temperatura de 550 °C de Ritter son mayores a Landaverde y Rivas; 2 horas y 500 °C; el uso de un menor tiempo y temperatura en la digestión seca, se justifica debido al uso de un modificador de matriz, por reducir interferencias químicas y aumentar la recuperación R (%) (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019) en comparación con (Ritter, Cothorn, & Zamierowski, 1978).

Considerando que la temperatura para la eliminación de la materia orgánica es de 500 °C según (Ritter, Cothorn, & Zamierowski, 1978). Se decidió extender el tiempo de digestión seca hasta 4 horas, esto debido a que no se tenía el modificador de matriz, y también para compensar la disminución de temperatura; 500 °C

En el presente trabajo R (%) es aceptable 80-120% (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016). Ya que R (%) = 90.67 %. Por lo cual, se logró el objetivo planteado al realizar dicho cambio en tiempo y temperatura de digestión seca.

Si no se agrega ningún modificador químico, entonces hay una supresión significativa de la señal de Pb (Campbell, Azemard, & Oh, 2008). Para que la R (%) de plomo pueda ser superior, se debe agregar un modificador de matriz; Nitrato de Paladio (II) (Landaverde Martinez & Rivas Rivas, 2019).

La precisión es la desviación estándar relativa porcentual. La imprecisión de un método aumenta a medida que disminuye la concentración del analito (SMPR, 2019) DSR (%) = 10.59%. La estructura del sistema pulverizador de la cámara de mezclas optimiza la formación del aerosol, ya que la bola de impacto no formaba parte de este, durante el análisis, el coeficiente de correlación $r_{validación}=0.98$ se vio afectado,

4.5.2 Análisis de Plomo en BS02

Los resultados obtenidos de la cuantificación de plomo no son “constantes”, como se puede observar, conforme bajamos (en profundidad) en el perfil sedimentario no llegamos a datos constantes (*Tabla 10*), lo que hace suponer que existe una contaminación, nuestros datos son avalados gracias a los parámetros de validación ,(ver *tabla 8*) , lo que comprueba que los datos son reproducibles, teniendo estos valores no constantes los comparamos con los valores de PEL y TEL del SQuiRT’s (NOAA, 2019), a partir de estos valores se puede deducir que estas alteraciones en las concentraciones, es muy probable que no representen peligro para las especies del lugar, (New York State Department of Environmental Conservation Division of Fish, 2014)ni para la vida humana. Es muy probable que el origen de la contaminación se deba a las actividades agrícolas que se realizan en la barra de Santiago según RAMSAR (Ramsar, 2013). La investigación de la doctora Dina Larios, de la Universidad de Ohio, Estados Unidos. Agregó además que existen varias hipótesis del por qué hay metales pesados en la Barra de Santiago (incluye plomo): “una de ellas son los restos de la erupción del volcán de Santa Ana, en el 2005, que cayeron en cuencas de ríos, trasladando de esta manera la ceniza a la Barra...”

Al comparar la muestra BS02 a nivel superficial, es de 10.38 mg·Pb /kg y el valor obtenido por (Ayo-Bali, 2019) para Pb es de 3.3 mg·Pb /kg (Valor superficial El cajete) y el valor obtenido por (LAINEZ MOLINA, 2019) para Pb en El Cajetillo 2.9093 mg·Pb /Kg. El dato obtenido en la presente investigación es alto en comparación con los obtenidos por las otras investigaciones, se hizo la comparación en El Cajetillo por la cercanía geográfica. (LAINEZ MOLINA, 2019) concluye que este contaminante puede atribuirse a los procesos industriales que utilizan plomo o productos que lo contienen y las naftas adicionadas de tetraetilo de plomo.

El aumento en la concentración de hierro en el perfil no implica un aumento en la concentración de plomo, es importante considerar que los valores de hierro son considerados de origen natural, y que no exista una correlación entre las concentraciones de los metales, indica que no hay una fuente en común entre ellos y, por consiguiente, la fuente del plomo es muy probable que sea de origen antropogénico.

Es probable que el sedimento del perfil BS02 no abarque época preindustrial, ya que no se obtuvieron datos similares entre sí, esto es posible deducirlo a partir de los datos de (KEMP, R.L., C.I., & J.M, 1976), esto no es una hipótesis, ni una teoría, sino una estipulación que se hace a partir de la naturaleza del perfil sedimentario. Como ya se mencionó, no se cuantifican concentraciones de Pb similares entre los datos del perfil sedimentario Ver grafica 2, por cual el valor de Bn en Ecuación 1, no se puede tomar de este perfil. Debido también a la falta de fechado con Pb-210.

En El Salvador, la presencia de arsénico y metales pesados tales como cadmio han sido detectados en fertilizantes (Ayo-Bali, 2019). Como concluye todos los fertilizantes tradicionales ensayados contienen Pb y Cd (Martí, Burba, & Cavagnaro, 2002) Según AYO-BALI, ABIODUN E., M.S., August 2019 (Ayo-Bali, 2019) concluye que no hay relación entre la concentración de metales en el fertilizante y la concentración de metales en fases ambientales obtenidas del sitio de estudio Barra de Santiago (Ayo-Bali, 2019). Hacen faltan estudios que correlacionen la contaminación por metales y el uso de fertilizantes, ya que esta correlación no se investigó a profundidad en la investigación realizada por (Ayo-Bali, 2019)

4.5.3 Validación del Hierro

La recuperación R (%) de Hierro, es la esperada 80-120% (Eurolab, Morillas, & colaboradores., 2016), lo cual queda comprobado con $R (%) = 100.84 \%$, otro factor a tomar en cuenta es el uso de ácido fluorhídrico (HF), el cual permitió una buena extracción del hierro según (Loring & Rantala, 1992).

La precisión se encuentra expresada como DSR (%) (SMPR, 2019)= 4.68%; este valor es mejor que en el Pb por tratarse de concentraciones mayores.

El coeficiente de correlación $r_{validación}=0.99$ que al igual que Pb, está por debajo de la recomendación del Cookbook, debido a la ausencia de una bola de impacto en el equipo, lo que también afectó el $R_{validación}=0.98$.

Como ya se menciona en validación de Pb.. La curva de calibración definida de a partir de 10-60 g·Fe/L (2.5-15 g·Fe/kg), basada en la abundancia porcentual del peso total del suelo (JUÁREZ, CERDÁN, & SÁNCHEZ, 2007).

4.5.4 Análisis de Hierro en BS02

Los resultados obtenidos de la cuantificación de Hierro, aunque no son constantes, la variabilidad corresponde a un "ruido" (altos y bajos) natural del entorno. Motivo por el cual, los valores no necesariamente serán iguales; pero se encontrarán muy cerca entre sí.

El hierro es una de los elementos refractarios en material sedimentario, la actividad humana tiene casi nula influencia, muestra adecuada correlación con el tamaño de partículas, y es un metal abundante en la corteza terrestre (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012). Representa el 5.1 % del peso total del suelo. (JUÁREZ, CERDÁN, & SÁNCHEZ, 2007) y muestra una relación constante con otros elementos que conforman el sedimento, por esta razón es ideal para hacer la normalización, (Lizano, Alfaro, & Salazar Matarrita, 2012) las concentraciones encontradas en el perfil oscilan el 1% y por eso se consideran valores normales.

Al comparar la muestra BS02 a nivel superficial, es de 10.32g·Fe/kg y el valor obtenido por (Ayo-Bali, 2019) para Fe es de 21.438 g·Fe/kg (Valor superficial El cajete) y el valor obtenido por (LAINEZ MOLINA, 2019) para Fe en El Cajetillo 13.8 g·Fe/Kg.

El dato obtenido en la presente investigación es bajo en comparación con los obtenidos por las otras investigaciones, se hizo la comparación en El Cajetillo por la cercanía geográfica, como ya se mencionó anteriormente.

Según Pautas provinciales de calidad de sedimentos para metales considera tres posibles niveles de contaminación para plomo; 1) Sin nivel de efecto 2) Nivel de efecto más bajo 2% *Pb* y 3) Nivel de efecto severo 4% *Pb* (Persaud, Jaagumagi, Branch, Hayton, & Branch, 1993). Según estas pautas el plomo en Barra de Santiago estaría a una concentración Sin *nivel de efecto*

4.5.5 Relación FE/PB en BS02

Se observa que, los datos obtenidos de Pb y Fe, no hay correlación entre las concentraciones ($R^2 = 0.007$), y esto lleva a concluir que es muy probable que exista una contaminación por plomo

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIÓN

Con los datos obtenidos y la discusión realizada para esta investigación podemos concluir lo siguiente:

Se alcanzo el objetivo de desarrollar las metodologías para la determinación de los metales plomo y hierro, en perfiles sedimentos haciendo uso del equipo de absorción atómica.

La metodología para plomo y para hierro se validaron con los siguientes parámetros:

- Para Plomo: rango analítico (18-113 mg·Pb/Kg), linealidad ($y = 0.0043x + 0.0068$), límite de cuantificación (0.066 mg·Pb/Kg), recuperación (90.67476 %), precisión (10.59 %) y sesgo (-3.69mg·Pb/kg).
- Para Hierro: rango analítico (2.5- 15 g·Fe/Kg), linealidad ($y = 0.009x + 0.003$), límite de cuantificación (0.038 g·Fe/Kg), recuperación (100.84 %), precisión (4.69 %) y sesgo (-19.77g·Fe/kg).
- Las concentraciones para Pb que se obtuvieron del análisis de las 20 muestras en las que se dividió el perfil BS02, se encuentran debajo del valor del PEL (17.5 mg·Pb/kg) por lo que es poco probable que representen un peligro para las especies del lugar y la vida humana (no tóxico)
- Las concentraciones de Fe obtenidas para el análisis de las 20 muestras en las que se dividió el perfil BS02, oscilan en el 1%; el cual, es menor al valor de Fe en la corteza terrestre (5.1%) por lo que se puede concluir que dichos valores son de origen natural.
- Al haber realizado la normalización para Plomo con Hierro y al comparar los valores obtenidos de ambos metales, y observar no existe correlación entre ambos metales, podemos concluir que muy probablemente existe una contaminación de plomo de carácter antropogénico.

5.2 RECOMENDACIONES

- Considerar el uso de una bola de impacto, en buen estado, en el nebulizador, debido a que la sensibilidad se ve afectada drásticamente al no tener presente dicho componente.
- Analizar y contrastar la cuantificación de plomo desarrollada en esta investigación, con horno de grafito, debido a la baja sensibilidad presentada en modo flama.
- Considerar utilizar otros metales de contraste como aluminio siempre y cuando se tenga disponible óxido nitroso de alta pureza. Además, se debe considerar, que este gas se consume rápidamente.
- Probar hacer digestiones con una cantidad mayor de sedimento para el análisis de plomo (por ejemplo, 6 gramos). Considerar que entre más sedimento se digiere será más difícil filtrarlo.
- Probar otras técnicas de digestión que reduzcan los tiempos de extracción y que sean altamente eficientes, como la digestión con microondas.
- Hacer más lecturas de núcleos en otros puntos de la zona o en otras áreas naturales protegidas del país para comparar valores.
- Tomar núcleos de mayor profundidad con la intención de identificar posibles valores de fondo o “background” que puedan ser utilizados en la estimación del nivel de contaminación de la zona.
- Considerar el uso de otras técnicas de tratamiento de la muestra, como liofilización, si se desea hacer un análisis simultáneo del núcleo con otros parámetros (adicionales a los utilizados en el presente trabajo) sensibles a temperaturas de secado mayores a 45 °C como mercurio y compuestos orgánicos.
- Realizar análisis de fechado del núcleo para correlacionar los valores de concentración con una determinada época.
- Utilizar lámparas de la marca del fabricante para reducir el calentamiento excesivo y reducir interferencias ópticas en la absorbancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galindo Riaño, M. D., & Garcia Vargas, M. (2010). *BIODISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS EN DOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS DE LA COSTA SURATLÁNTICA ANDALUZA AFECTADOS POR CONTAMINACIÓN DIFUSA*. Universidad de Cádiz.
- C. Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O. E., Díaz, M., & González, E. E. (2016). *CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS: IMPLICACIONES EN SALUD, AMBIENTE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA*. Colombia.
- Barraza, E. J., Pérez Mena, J. M., Chinpagua García, L. E., & Fuentes, W. (2013). *Ficha Informativa de los Humedales Ramsar(FIR)*. san salvador.
- Departamento de Salud Pública, M. A. (2017). *Reciclaje de baterías de plomo-ácido usadas*. Suiza.
- Rayner-Canham, G. (2000). *Química inorgánica descriptiva, 2da edición*. Mexico: PEARSON EDUCACION.
- Landaverde Martinez, S. M., & Rivas Rivas, O. A. (2019). *CUANTIFICACION DE METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DE MANGLAR EN ZONAS DE REPRODUCCION DE Anadara tuberculosa (CONCHA PELUDA) EN BAHIA DE JIQUILISCO USULUTAN EL SALVADOR*. San Salvador.
- Eurachem, Guardado Pérez, J., & Mercader Trejo, F. (Noviembre de 2005). *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados segunda edición*. Obtenido de EURACHEM: <http://www.eurachem.org>
- JCGM / WG 1. (2008). *Evaluación de datos de medición*. Madrid: NIPO EDICION DIGITAL.
- Miller, N., & Miller, J. (2002). *ESTADISTICA Y QUIMIOMETRIA PARA QUIMICA ANALITICA*. Madrid: PEARSON EDUCACION. S.A.

- KEMP, A., R.L., T., C.I., D., & J.M, J. (1976). *Cultural impact on the geochemistry of sediments in lake Erie*. Ontario.
- JUÁREZ, M., CERDÁN, M., & SÁNCHEZ, A. (2007). *Hierro en el sistema suelo-planta*. Alicante.
- MARN. (20 de febrero de 2020). *Ministerio de medio ambiente* . Obtenido de Ministerio de medio ambiente : <https://marn.gob.sv/barra-de-santiago-impulsa-la-proteccion-y-conservacion-de-los-recursos-costero-marinos/>
- Lizano, O. G., Alfaro, E. J., & Salazar Matarrita, A. (2012). *Un método para evaluar el enriquecimiento de metales en sedimentos marinos en Costa Rica* . San Jose.
- Ramsar. (2013). *Ficha informativa de los humedales Ramsar*. San Salvador.
- Hernández-Cruz, C. (2021). *Determinación del nivel de Radiactividad para Cesio-137 (137Cs) en perfiles sedimentarios extraídos en la zona costera de El Salvador*. San Salvador: Trabajo de graduación. Universidad de El Salvador. En proceso de publicación.
- Soria Salgado, S. T. (7 de noviembre de 2013). *Calameo*. Obtenido de Libro de Elementos Químicos: <https://es.calameo.com/read/0029004445343f64656dc>
- Martí, L., Burba, J. N., & Cavagnaro, M. (2002). *Metales pesados en fertilizantes fosfatados, nitrogenados y mixtos*. Argentina.
- Doménech, X. (1993). *Química Ambiental, el impacto ambiental de los residuos* . Madrid, España: Fareso, S.A.
- Persaud, D., Jaagumagi, R., Branch, S. D., Hayton, A., & Branch, E. M. (1993). *GUIDELINES FOR THE PROTECTION AND MANAGEMENT OF AQUATIC SEDIMENT QUALITY IN ONTARIO*. Ontario.
- NOAA. (2019). *SQuiRTs*. Estados Unidos.
- Skoog, D. A. (2008). *Principios de analisis intrumental sexta edicion*. . Mexico: Cengage Learning Editores, S.A. de S.V.

- Pérez -Mora, W. (2020). *Evaluación del índice de geoacumulación de algunos metales pesados en suelos de cultivo de hortalizas en la ribera del río Bogotá* . Bogotá.
- SMPR, A. (2019). *Apendice F*. Estados Unidos.
- FAO, & Pauly, D. (1983). *Métodos simples para la evaluación de recursos pesqueros tropicales*. Italia.
- EuroLab, E., Morillas, P., & colaboradores., &. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*.
- Rivers, T., & Sorto, M. (2003). *Aplicación de la estadística al análisis químico*. San Salvador.
- Burton Jr, G. A. (2002). *Sediment quality criteria in use around the world*. Michigan.
- Loring, D., & Rantala, R. (1992). *Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter*. Amsterdam.
- Michell, J., & Scott, Z. (1998). *monitoring of Oysters and sediments in Avajutla, El Salvador* . Estados Unidos .
- EPA. (2007). *Flame Atomic Absorption spectrophotometry*. Estados Unidos .
- Ritter, C. J., Cothorn, C. R., & Zamierowski, E. E. (1978). *Fate of Trace Elements in Sewage Sludge-Amended Soils*. Ohio State University.
- LANDAVERDE MARTINEZ, S. M., & RIVAS RIVAS, O. A. (2019) . *CUANTIFICACION DE METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DE MANGLAR EN ZONAS DE REPRODUCCION DE Anadara tuberculosa (CONCHA PELUDA) EN BAHIA DE JIQUILISCO USULUTAN EL SALVADOR* . SAN SALVADOR.
- Campbell, M. J., Azemard, S., & Oh, J. (2008). *World -Wide Intercomparison Exercise On The Determination Of Trace Elements In IAEA-158 Marine Sediment* . Monaco.
- New York State Department of Environmental Conservation Division of Fish, W. a. (2014). *Screening and Assessment of Contaminated Sediment* . Nueva York.

- Ayo-Bali, A. E. (2019). *Geochemical Analysis of the Environmental Phases of La Barra de Santiago Estuary, El Salvador*. Ohaio.
- LAINIZ MOLINA, C. E. (2019). *DETERMINACION DE METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DE MANGLAR DEL HABITAT DE Anadara tuberculosa (CONCHA PELUDA) EN BARRA DE SANTIAGO DEPARTAMENTO AHUACHAPAN EL SALVADOR*. SAN SALVADOR.
- González López, K. E., & Rodríguez Arriola, K. R. (2022). *CUANTIFICACIÓN DE PLOMO Y HIERRO EN PERFILES SEDIMENTARIOS EN ESTERO BARRA DE SANTIAGO APLICANDO LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA*. San Salvador.
- IAEA. (2012). *RADIOCRONOLOGÍA DE SEDIMENTOS COSTEROS UTILIZANDO ^{210}Pb : MODELOS, VALIDACIÓN Y APLICACIONES*. Viena.

ANEXOS

ANEXO I: Procedimiento estándar operativo de la metodología validada para análisis cuantitativo de plomo.

“Digestión ácida de plomo en muestras en perfiles verticales de sedimentos, para su cuantificación, por la técnica de espectrometría de absorción atómica modo flama”

A. Alcance y aplicación.

- Este método es aplicable a sedimento estuarino, para especies solubles en ácido clorhídrico, como el analito plomo en todas sus especies presentes.
- El método está definido para un rango analítico comprendido entre 18-113 mg·Pb·Kg⁻¹.

B. Resumen del método.

La técnica es generalmente limitada a metales en solución o disueltos a través de alguna forma de procesamiento de la muestra. Tratamiento preliminar es siempre necesario debido a la complejidad y variabilidad de la matriz de las muestras. El proceso experimental consistió en 3 partes: molienda y tamizado, digestión de las muestras y análisis de las muestras por espectrometría de absorción atómica en modo flama.

C. Aparatos y materiales.

- Agitadores de vidrio.
- Balones volumétricos de 25 mL y 50 mL.
- Beakers de 25 mL, 50 mL, 100 mL, y 250 mL.
- Crisoles de porcelana de 30 mL
- Embudo de vidrio.
- Espátula de plástico.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Guantes.
- Micropipeta de 5.0 mL.
- Pala plástica.
- Papel filtro Whatman # 42.
- Papel toalla.

- Pipetas Pasteur.
- Pizeta plástica.
- Probetas de 25 mL y 50 mL.
- Puntas para Micropipetas.
- Soporte de metal para filtrar.
- Filtros de Nylon WHATMAN GD/X 0.45 μm
- Jeringas.
- Tubos plásticos de 50 mL FALCÓN.
- Balanza analítica, PR SERIES ANALYTICAL, OHAUS
- Hotplate, FISHERSCIENTIFIC, modelo 11102100H
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Analytik Jena 700p
- Autosampler Analytik Jena (AS-F)
- Súper lámpara de cátodo hueco Pb.
- Horno mufla. THERMOLYNE MARCA THERMO SCIENTIFIC, código: F48055
- Cámara de extracción de vapores, LABCONCO.
- Desecador, VAKUUMFEST.
- Agitador.
- Centrifugadora.

D. Reactivos.

- Sedimento estuarino IAEA-158.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Agua destilada.
- Solución Estándar de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de plomo, AccuStandard.
- Solución de KCl 0.3% en HNO_3 1%
- Suministros de gas de acetileno, aire comprimido y argón.

E. Colecta de muestra, preservación y manejo.

El tratamiento del perfil de sedimento se hace mediante secado a 60° , por 48 horas hasta obtener peso constante. Alternativamente, es posible secar las muestras de sedimento por liofilización; pues, este método no interfiere con el análisis de ningún contaminante y el sedimento liofilizado es de mejor manipulación en el laboratorio. Es recomendable,

mantener la temperatura por debajo de los 45°C para reducir la pérdida de mercurio y otros compuestos orgánicos (cuando sea requerido analizarlos simultáneamente).

F. Procedimiento.

Elaboración de la curva de calibración:

Preparar una solución de 20 mg·Pb/L (tomar 2 mL del estándar de 1000 mg·Pb/L y aforar a 100mL, con el solvente) y a partir de esta, hacer la curva de calibración, y diluir con el solvente que es la solución de KCl 0.3% en HNO₃ 1%. La curva se hace:

Concentración (mg·Pb/L)	Tomar de la solución de 20 mg·Pb/L (mL)
1.4	3.5
2.8	7
4.2	10.5
5.6	14
7.0	17.5
8.4	21
9.0	22.5

Luego aforar a 50 mL todas las soluciones para obtener las respectivas concentraciones.

La digestión seca de las muestras se realizó como se describe a continuación:

1. Colocar los crisoles de porcelana limpios, secos e identificados en el horno mufla a 500 °C por 1 hora.
2. Sacar los crisoles del horno mufla, colocar en un desecador y enfriar durante 30 minutos.
3. Pesar los crisoles de porcelana vacíos y anotar su peso.

4. Pesar 4.0 ± 0.01 g de muestra (sedimento) seca y triturada directamente en los crisoles de porcelana previamente tarados e identificados, utilizando una balanza.
5. Colocar en el horno mufla, a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cuatro horas.
6. Retirar los crisoles del horno mufla, colocar en un desecador durante 30 minutos y enfriar.
7. Pesar los crisoles con las muestras calcinadas y anotar el peso (la diferencia de peso con el crisol vacío son las cenizas).
8. Colocar un crisol vacío rotulado como blanco, el cual sigue todos los pasos anteriormente descritos.

Solubilización de las cenizas con HCl concentrado para preparar la solución muestra para la cuantificación del elemento plomo.

- c) Solubilizar las cenizas contenidas en cada crisol de porcelana con 2.0 mL de agua destilada
- d) Luego, agregar 5.0 mL de ácido clorhídrico concentrado.
- e) Agitar cuidadosamente para disolver las sales.
- f) Calentar lentamente en un Hotplate a una temperatura de $60 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos, hasta que no se observen vapores (temperatura de la muestra en el interior del crisol).
- g) Enfriar a temperatura ambiente y centrifugar el contenido del crisol a 3000 RPM por 10 min.
- h) filtrar la solución en dos capas de papel Whatman poro #42.
- i) Pasar la solución obtenida por filtros WHATMAN GD/X $0.45\text{ }\mu\text{m}$
- j) Recibir el filtrado en balones volumétricos de 50.0 mL, previamente identificados.
- k) Aforar los balones volumétricos con agua bidestilada y homogenizar.
- l) Agregar a las muestras 0.05 mL de solución estándar de 1000 mg-Pb/L
- m) Pasar la solución a un tubo de plástico FALCÓN de 50.0 mL limpio, seco e identificado; almacenar en refrigeración.
- n) Cargar los parámetros del método en el equipo

- o) Elaborar la curva de calibración con las soluciones estándar en el equipo de AAS modo flama
- p) Analizar las muestras en el equipo de AAS modo flama

NOTA: Con la finalidad de evitar contaminación cruzada, se identificó un crisol como “blanco” y dicho crisol se trabajó sin el analito de la misma manera que los crisoles que contenían las muestras.

G. Parámetros sugeridos del método, modo flama

A continuación, se presentan los parámetros a tomar en consideración en la configuración de método para la cuantificación de plomo total por espectrometría de absorción atómica, modo flama. Es de tomar en consideración que dichos parámetros son una guía y pueden variar de acuerdo con el equipo utilizado y condiciones propias del laboratorio de análisis.

Configuración óptica y de lámpara

Elemento (Element)	Pb
Longitud de onda – Wavelength (nm)	235.3
Modo óptico (Optic. Mode)	Haz simple
Lámpara (Lamp)	S-HCL
Corriente (Current) [mA]	3.5
Impulso (Boost) [mA]	4
Ancho de rendija (Slit) [nm]	0.2
Tiempo de medición (Meas Time) [s]	7.0
PTM [V]-tubo fotomultiplicador/detector (Photomultiplier tube)	503

Corrección de fondo

Línea (Line)	Pb283
Background	No Background
Modo de lectura (Int. Mode)	Por pico (Heigh)

Parámetros de flama

Type (tipo)	C2H2/aire
Tipo de quemador (Burnertype)	100 mm
C2H2/aire [L/h]	70
Altura de quemador (Burnerheigh) [mm]	4

Transporte de muestras

Autosampler	Si
Interruptor de inyección (injectionswitch)	Si
Lavar (wash)	Después de la muestra
Tiempo de retardo (Delay time) [s]	35
Tiempo de carga (load time) [s]	4
Tiempo de lavado (Wash time) [s]	20
Tiempo de inyección (Injection time) [s]	4.5
Ciclos del mezclador (Mixing cup cycles)	1

H. Cálculos.

- Se prepara una curva de calibración. Y se obtiene la ecuación correspondiente.

$$y = a + bx$$

- A partir de dicha ecuación, se obtiene los valores en el orden siguiente:
 1. Concentración de la extracción (*CEMB*), a partir de la ecuación pendiente intercepto.

$$x = [\text{CEMB}]$$

$$[\text{CEMB}] = \frac{y - b}{a}$$

2. Luego se corrige la concentración, con el valor de *Recuperación Relativa Porcentual R (%)*, y se obtiene la *Concentración corregida por Recuperación (CCR)*.

$$CCR \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{CEMB \left[\frac{mg}{L} \right] * 100\%}{R(\%)}$$

3. Después se resta la Adición de Estándar, para obtener la el valor de *Concentración Menos la Adición de estándar (CAD)*; Adición de Estándar= (0.05)/(0.01005)

$$CAD = CCR - \frac{0.05}{0.01005} \frac{mg \cdot Pb}{L}$$

4. Luego el valor de la *Concentración Final (CF)* viene dado por la siguiente formula

$$CF = \frac{CAD (mg)}{L} * \frac{0.05 [L]}{PMKg [Kg]}$$

Donde:

PMKg [Kg]= peso de la muestra en kilogramos

I. Control de calidad (Criterios de aprobación o rechazo).

- Se elabora una curva de calibración cada vez que sea ejecutada esta metodología. Se considerará aceptable un coeficiente de determinación, $R_{validación} \geq 0.95$. La curva de calibración tiene que tener por lo menos seis estándares más la muestra de blanco de método.
- Realizar la evaluación de las muestras por quintuplicado. Evaluar datos anómalos con prueba de Grubbs.
- Verificar la curva de calibración utilizando una solución de control (39.6 mg·Pb/Kg, que se prepara a partir del material de referencia certificado IAEA-158); blanco de método que será analizado junto con las muestras, estándares y blanco de reactivo. Se calculará la recuperación relativa porcentual R (%) y se considerará un valor aceptable si la solución de control posee un valor entre 80 a 120%.

J. Parámetros de desempeño del método (Resultados de validación interna, para método de análisis cuantitativo)

Parámetro de Validación	Valor obtenido
Rango analítico	18-113 mg·Pb/Kg
Linealidad	$y = 0.0043x + 0.0068$
Limite de Cuantificación	0.066mg/Kg
Recuperación R(%)	90.67%
Precisión DSR %	10.59%
Sesgo "b"	-3.69mg/kg

K. Referencias bibliográficas.

- Ritter, C. J., Cothorn, C. R., & Zamierowski, E. E. (1978). *Fate of Trace Elements in Sewage Sludge-Amended Soils*. Ohio State University.
- González López, K. E., & Rodríguez Arriola, K. R. (2022). *CUANTIFICACIÓN DE PLOMO Y HIERRO EN PERFILES SEDIMENTARIOS EN ESTERO BARRA DE SANTIAGO APLICANDO LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA*. San Salvador.
- IAEA. (2012). *RADIOCRONOLOGÍA DE SEDIMENTOS COSTEROS UTILIZANDO 210Pb: MODELOS, VALIDACIÓN Y APLICACIONES*. Viena.

ANEXO II: Procedimiento estándar operativo de la metodología validada para análisis cuantitativo de hierro.

“Digestión ácida de hierro en muestras en perfiles verticales de sedimentos, para su cuantificación por la técnica de espectrometría de absorción atómica modo flama”

A. Alcance y aplicación.

- Este método es aplicable a sedimento estuarino, para metales, que en virtud de las propiedades físicas y químicas de sus componentes en el sedimento, requieren extracción con agua regia, ácido fluorhídrico y calor, como el analito hierro en todas sus especies presentes.
- El método está definido para un rango analítico comprendido entre 2.5-15 g·Fe/Kg.

B. Resumen del método.

Realización de una digestión completa en sedimentos estuarinos, basada en la adición de ácidos al sedimento y llevándolos por cierta temperatura, por una cantidad de tiempo. El proceso experimental consistió en 3 partes: moliendo y tamizando, digestión de las muestras y análisis de las muestras.

C. Aparatos y materiales.

- Agitadores de vidrio.
- Balones volumétricos de 25.0 mL y 50.0 mL.
- Beakers de 25 mL, 50 mL, 100 mL, y 250 mL.
- Bomba de teflón.
- Embudo de vidrio.
- Espátula de plástico.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Guantes.
- Micro pipeta de 5.0 mL.
- Papel filtro Whatman # 42.
- Pipetas Pasteur.
- Pipeta plástica.

- Probetas de 25 mL y 50 mL.
- Puntas para Micropipetas.
- Soporte de metal para filtrar.
- Tubos plásticos de 50 mL FALCON.
- Balanza analítica, PR SERIES ANALYTICAL, OHAUS.
- Hotplate, FISHER SCIENTIFIC, modelo 11102100H.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Analytik Jena 700P.
- Autosampler Analytik Jena (AS-F)
- Cámara de extracción de vapores, LABCONCO.
- filtros de Nylon WHATMAN GD/X 0.45 μm
- Mezclador 37600 Vortex Thermolyne MaxiMix II
- Mezclador Vortex VELP F202A0173

D. Reactivos.

- Sedimento estuarino IAEA-158
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado
- Acido fluorhídrico concentrado
- Acido bórico
- Agua destilada
- Solución Estándar de 1000 mg/L de Hierro, MERCK.
- Solución de KCl 0.3% en HNO₃ 1%; Esta solución es el Blanco de Método.
- Suministros de gas de acetileno, aire comprimido y argón.

E. Colecta de muestra, preservación y manejo.

El tratamiento del perfil de sedimento se hace a 60°, por 48 horas hasta obtener peso constante. Alternativamente, es posible secar las muestras de sedimento por liofilización; pues, este método no interfiere con el análisis de ningún contaminante y el sedimento liofilizado es de mejor manipulación en el laboratorio. Es recomendable, mantener la temperatura por debajo de los 45°C para reducir la pérdida de mercurio y otros compuestos orgánicos (cuando sea requerido analizarlos simultáneamente).

F. Procedimiento.

Elaboración de la curva de calibración:

Preparar una solución de 100 mg·Fe/L (tomar 25 mL del estándar de 1000 mg·Pb/L y aforar a 250 mL, con el solvente) y a partir de esta, hacer la curva de calibración, y diluir con el solvente que es la solución de KCl 0.3% en HNO₃ 1%. La curva se hace:

Concentración (mg·Fe/L)	Tomar de la solución de 20 mg·Fe/L (mL)
10	5
20	10
30	15
40	20
50	25
60	30

Luego aforar a 50 mL todas las soluciones para obtener las respectivas concentraciones.

La calcinación húmeda de las muestras se realizó para el elemento Hierro.

1. Pesar 0.2000 ± 0.01 g de muestra (sedimento estuarino) seca y triturada directamente en las bombas de teflón
2. Agregar 1 mL de agua regia (3:1, HNO₃ y HCl), y 3 mL de ácido fluorhídrico (HF)
3. Colocar en un Hotplate por 20 horas a 200 °C (temperatura en pantalla de Hotplate).
4. enfriar durante 30 minutos.

Solubilización de la muestra con ácido bórico, para preparar la solución muestra, para la cuantificación del elemento Hierro.

1. pasar la digestión a un balón de 50 ml.
2. Agregar 2.8 gr de ácido bórico y aforar a 50 mL con agua bidestilada NOTA: El ácido bórico se disolvió en 20 mL de agua destilada, se calentó a baño maría y se agitó en vortex hasta su solubilización total.
3. Pasar la solución a un tubo de plástico FALCÓN de 50.0 mL limpio, seco e identificado; almacenar en refrigeración. Dejar reposar 7-14 días.
4. Pasar la solución a filtros WHATMAN GD/X 0.45 μm
5. Analizar la solución en equipo de AAS modo flama

G. Parámetros del método, modo flama

Configuración óptica y de lámpara

Elemento (Element)	Fe
Longitud de onda – Wavelength (nm)	248.5
Modo óptico (Optic. Mode)	Haz simple
Lámpara (Lamp)	HCL
Corriente (Current) [mA]	6
Ancho de rendija (Slit) [nm]	0.2
Tiempo de medición (Meas Time) [s]	6.0
PTM [V]	430

Corrección de fondo

Línea (Line)	Fe248
Background	D2 Background
Modo de lectura (Int. Mode)	Por pico (Heigh)
D2 Corriente (D2 current)	26.30

Parámetros de flama

Type (tipo)	C2H2/aire
Tipo de quemador (Burnertype)	50 mm
C2H2/aire [L/h]	70
Altura de quemador (Burnerheigh) [mm]	5

Transporte de muestras

Autosampler	Si
Interruptor de inyección (injectionswitch)	Si
Lavar (wash)	Después de la muestra
Tiempo de retardo (Delay time) [s]	35
Tiempo de carga (load time) [s]	3
Tiempo de lavado (Wash time) [s]	20
Tiempo de inyección (Injection time) [s]	3.5
Ciclos del mezclador (Mixing cup cycles)	1

H. Cálculos.

- Se prepara una curva de calibración. Y se obtiene la ecuación correspondiente.

$$y = ax + b$$

- A partir de dicha ecuación, se obtiene los valores en el orden siguiente:
 1. *Concentración de la extracción (CEMB)*, a partir de la ecuación pendiente intercepto.

$$x = [\text{CEMB}]$$

$$[\text{CEMB}] = \frac{y - b}{a}$$

2. Luego se corrige la concentración, con el valor de *Recuperación Relativa Porcentual R (%)* y se obtiene la Concentración corregida por *Recuperación (CCR)*

$$CCR \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{CEMB \left[\frac{mg}{L} \right] * 100\%}{90.67476 \%}$$

3. Luego el valor de la *Concentración Final (CF)* viene dado por la siguiente formula

$$CF \text{ [g/Kg]} = \frac{CCR[mg]}{1L} * \frac{0.05 [L]}{PMg [g] * \frac{1[Kg]}{1000 [g]}} * \frac{1 [g]}{1000 [mg]} * 2$$

Donde:

PMKg [Kg] = peso de la muestra en kilogramos

Se multiplica por 2, por que las muestras se diluyeron a la mitad.

I. Control de calidad (Criterios de aprobación o rechazo).

- Se elabora una curva de calibración cada vez que sea ejecutada esta metodología. Se considerará aceptable un coeficiente de determinación, $R_{\text{Validación}} \geq 0.95$. La curva de calibración tiene que tener por lo menos seis estándares más la muestra de blanco de método.
- La diferencia de masa permisible en el proceso de digestión con bomba de teflón es de 1% de peso total (bomba de teflón mas reactivos)
- Realizar la evaluación de las muestras por quintuplicado. Evaluar datos anómalos con prueba de Grubbs.
- Verificar la curva de calibración utilizando una solución de control; (26.44 g/Kg, que se prepara a partir del material de referencia certificado IAEA-158) blanco de método; Que será analizada junto con las muestras, estándares y blanco de reactivo. Se calculará la recuperación relativa porcentual y se considerará un valor aceptable si la solución de control posee un valor entre 80 a 120%.

J. Parámetros de desempeño del método (Resultados de validación interna, para método de análisis cuantitativo)

Rango analítico	2.5- 15g·Fe/Kg
Linealidad	$y = 0.009x + 0.003$
Limite de Cuantificación (LoQ)	0.039 g·Fe/Kg
Recuperación R (%)	100.84 %
Precisión(DSR %)	4.69 %
Sesgo (b)	-19.77g/kg

Referencias bibliográficas.

- Loring, D., & Rantala, R. (1992). *Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter*. Amsterdam.
- González López, K. E., & Rodríguez Arriola, K. R. (2022). *CUANTIFICACIÓN DE PLOMO Y HIERRO EN PERFILES SEDIMENTARIOS EN ESTERO BARRA DE SANTIAGO APLICANDO LA ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA*. San Salvador.
- IAEA. (2012). *RADIOCRONOLOGÍA DE SEDIMENTOS COSTEROS UTILIZANDO 210Pb: MODELOS, VALIDACIÓN Y APLICACIONES*. Viena.

ANEXO III: Resultados crudos obtenidos de las lecturas de la curva de calibración para validación de metodología de plomo en el analytikjenaZEEnit 700p (el procedimiento de la elaboración de las soluciones estándar se detalla en el anexo A)

	abs 1	abs 2	abs 3	abs 4	abs 5	abs 6	abs 7	abs 8	abs 9	abs 10
Cal-zero1	0.00868	0.0091	0.00644	0.00832	0.00863	0.0092	0.00889	0.00616	0.00646	0.00813
blanco	0.00866	0.00935	0.00599	0.00428	0.01073	0.00497	0.00871	0.01017	0.00883	0.00925
STD 1.4	0.01339	0.00933	0.01012	0.01437	0.01364	0.01248	0.01464	0.01124	0.01372	0.01052
STD 2.8	0.01996	0.01898	0.0183	0.01943	0.016	0.02034	0.01942	0.01786	0.01696	0.01731
STD 4.2	0.02668	0.02807	0.02233	0.02301	0.0226	0.02145	0.02415	0.02193	0.02295	0.02427
STD 5.6	0.02785	0.02959	0.02633	0.03215	0.02844	0.03096	0.03068	0.03053	0.03072	0.02779
STD 7	0.03406	0.03497	0.03786	0.03953	0.03832	0.03962	0.03711	0.03613	0.0391	0.04292
STD 8.4	0.04153	0.04695	0.04029	0.04436	0.03913	0.04554	0.03781	0.04542	0.04496	0.04608
CRM 1	0.01848	0.01777	0.01943	0.01814	0.02086	0.02126	0.01807	0.01744	0.01936	0.01979
blanco	0.00581	0.00656	0.00581	0.01003	0.00654	0.00604	0.00647	0.00747	0.00626	0.00589

Resultados crudos obtenidos de las lecturas de la curva de calibración el día de las lecturas de las muestras del perfil estudiado para el metal Plomo para la verificación del funcionamiento del equipo.

	BLANCO	STD 1.4	STD 2.8	STD 4.2	STD 5.6	STD 7	STD 8.4
ABS 1	0.00841	0.01322	0.02316	0.03102	0.0373	0.04405	0.05038
ABS 2	0.00768	0.01326	0.02417	0.03099	0.03908	0.04744	0.05242
ABS 3	0.00657	0.01728	0.02299	0.03369	0.03579	0.0457	0.05694
ABS 4	0.0092	0.01459	0.02513	0.03017	0.03452	0.04395	0.05316
ABS 5	0.00969	0.01324	0.02279	0.02983	0.03906	0.04901	0.05178

Resultados crudos obtenidos de las lecturas de las muestras del perfil estudiado para el metal plomo en el analytik jena ZEE nit 700p (la digestión que se le realizó a cada una de las muestras se detalla en el anexo A).

Nombre	abs 1	abs 2	abs 3	abs 4	abs 5
CRM 1	0.0192	0.02195	0.02065	0.02224	0.02193
BLANCO	0.00867	0.00983	0.00742	0.00589	0.0079
BS02-M1	0.03369	0.03673	0.03695	0.03607	0.03771
BS02-M2	0.0354	0.03609	0.03218	0.03343	0.03518
BS02-M3	0.03617	0.03489	0.03774	0.03643	0.03261
BS02-M4	0.0371	0.03369	0.03721	0.03287	0.03867
BS02-M5	0.03392	0.03769	0.03793	0.03665	0.03662
BLANCO	0.00784	0.00821	0.00739	0.0081	0.00784
BS02-M6	0.03345	0.03401	0.03557	0.03862	0.03864
BS02-M7	0.03977	0.03511	0.03608	0.03472	0.03571
BS02-M8	0.03102	0.03649	0.03537	0.04079	0.03374
BS02-M9	0.03234	0.03524	0.03213	0.03604	0.03695
BS02-M10	0.03638	0.03661	0.03676	0.0369	0.03547
CRM 1	0.0225	0.0194	0.01826	0.02057	0.02105
CRM 2	0.02067	0.02137	0.02354	0.02091	0.02085
BLANCO 2	0.00685	0.00718	0.0078	0.00669	0.00889
BS02-M11	0.03014	0.03275	0.03606	0.03072	0.03207
BS02-M12	0.03584	0.03555	0.03603	0.03277	0.03592
BS02-M13	0.03463	0.0345	0.03329	0.03239	0.03644
BS02-M14	0.03537	0.03478	0.03535	0.03226	0.03357
BS02-M15	0.03199	0.03486	0.03278	0.03381	0.03222
BLANCO 2	0.00845	0.00664	0.0091	0.00739	0.00678
BS02-M16	0.03578	0.03462	0.03489	0.03478	0.03472

BS02-M17	0.03481	0.03349	0.03698	0.03584	0.03564
BS02-M18	0.03332	0.03278	0.03339	0.03079	0.03526
BS02-M19	0.035	0.04144	0.03662	0.03557	0.03458
BS02-M20	0.03398	0.03835	0.03199	0.03485	0.03351
BLANCO 2	0.00689	0.00686	0.00678	0.00607	0.00572
CRM 2	0.0205	0.02161	0.02079	0.02575	0.01975

ANEXO IV: Resultados crudos obtenidos de las lecturas de la curva de calibración para validación de metodología de Hierro en el analytikjena ZEE nit 700p (el procedimiento de la elaboración de las soluciones estándar se detalla en el anexo B)

	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs 4	Abs 5	Abs 6	Abs 7	Abs 8	Abs 9	Abs 10
Blanco	0.10787	0.02904	0.03507	0.02365	0.03021	0.03036	0.01552	0.02514	0.01428	0.03575
STD 10	0.10926	0.14509	0.16598	0.16222	0.14460	0.14196	0.13845	0.14132	0.15293	0.14387
STD 20	0.10462	0.11322	0.16376	0.22999	0.23868	0.22654	0.22833	0.23968	0.22647	0.24083
STD 30	0.10952	0.30451	0.32091	0.31617	0.33042	0.34523	0.37032	0.37896	0.37067	0.37810
STD 40	0.41448	0.44210	0.45143	0.45983	0.42379	0.41173	0.42199	0.42571	0.46077	0.45564
STD 50	0.46968	0.49813	0.47217	0.47831	0.49559	0.55923	0.52584	0.54823	0.55677	0.49989
STD 60	0.47809	0.60497	0.61144	0.62453	0.62531	0.63155	0.62557	0.60580	0.61739	0.64367
CRM 1	0.28655	0.27833	0.28410	0.28700	0.28648	0.29052	0.32415	0.30371	0.31450	0.31274
CRM 2	0.28082	0.28583	0.29128	0.28208	0.29115	0.29195	0.29457	0.28811	0.31280	0.29754

Resultados crudos obtenidos de las lecturas de la curva de calibración el día de las lecturas de las muestras del perfil estudiado para el metal Hierro para la verificación del funcionamiento del equipo.

	BLANCO	STD 10	STD 20	STD 30	STD 40	STD 50	STD 60
ABS 1	0.01499	0.14434	0.25061	0.36191	0.45492	0.55741	0.66126
ABS 2	0.00747	0.14091	0.26341	0.35924	0.44964	0.53498	0.65299
ABS 3	0.01346	0.13959	0.25186	0.36014	0.45849	0.56108	0.64501

Resultados crudos obtenidos de las lecturas de las muestras del perfil estudiado para el metal plomo en el analytikjena ZEE nit 700p (la digestión que se le realizó a cada una de las muestras se detalla en el anexo A)

Nombre	Abs 1	Abs 2	Abs 3
BLANCO	0.01356	0.01291	0.01170
CRM 1	0.20061	0.20438	0.21017
BS02-M1	0.26400	0.24032	0.24656
BS02-M2	0.26063	0.23214	0.26732
BS02-M3	0.22382	0.23673	0.23861
BS02-M4	0.24894	0.23837	0.23422
BS02-M5	0.19161	0.20094	0.22014
BLANCO	0.01149	0.01535	0.01350
BS02-M6	0.17246	0.19695	0.19290
BS02-M7	0.18676	0.22042	0.19315
BS02-M8	0.18435	0.19316	0.19250
BS02-M9	0.14635	0.17336	0.18316
BS02-M10	0.15604	0.15728	0.15516
BLANCO	0.01058	0.01197	0.01079
CRM 2	0.14878	0.15675	0.17753
BS02-M11	0.15512	0.17206	0.19516
BS02-M12	0.14277	0.16908	0.16669
BS02-M13	0.15591	0.18273	0.22818
BS02-M14	0.20018	0.19411	0.23558
BS02-M15	0.21817	0.23662	0.23472
BLANCO	0.01528	0.01203	0.01243
BS02-M16	0.22247	0.21715	0.22021
BS02-M17	0.19640	0.19804	0.21504
BS02-M18	0.18337	0.21741	0.23949
BS02-M19	0.21304	0.21592	0.18914

BS02-M20	0.17904	0.18603	0.20620
BLANCO	0.01476	0.01052	0.00823
CRM 1	0.14389	0.15453	0.19194

ANEXO V: Mantenimiento del equipo

Hacer cambios de fusibles: cuando un fusible del equipo se encuentra quemado las lecturas que genera son inconstantes y elevadas (se realiza el procedimiento según el manual de mantenimiento de Analytik Jena ZEE nit 700p).

Limpieza del quemador: el quemador se debe limpiar cuando se cambia de elemento analizado y una vez a la semana si se analiza el mismo elemento (se realiza el procedimiento según el manual de mantenimiento de Analytik Jena ZEE nit 700p).

Limpieza de la cámara de mezclas: la cámara debe ser limpiada cada día al final de los análisis para evitar una contaminación cruzada (se realiza el procedimiento según el manual de mantenimiento de Analytik Jena ZEE nit 700p).

Limpieza del sifón: la cámara debe ser limpiada cada día al final de los análisis para evitar contaminación (se realiza el procedimiento según el manual de mantenimiento de Analytik Jena ZEE nit 700p).

Limpieza de las mangueras: cuando las mangueras se taponan porque las partículas de la solución a analizar son muy grandes se recomienda que con una jeringa se introduzca agua a presión por el interior de las mangueras con el fin de quitar la obstrucción.

Limpieza de llama: se recomienda hacer una limpieza de llama después de cada lectura de set de datos (se realiza el procedimiento según el manual de mantenimiento de Analytik Jena ZEE nit 700p).



1. Perno roscado en el quemador
2. Tubo de la cámara de mezclas
3. Juntas de la cámara de mezclas (4 unidades)
4. Anillo de bloqueo para el pulverizador
5. Tornillo de fijación del sifón
6. Conexión del sensor del sifón
7. Manguera de desagüe del sifón
8. Juntas de las mangueras de la cámara de mezclas y el pulverizador
9. Tapón de seguridad
10. Tornillo moleteado en el estribo de sujeción