

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS
ESCUELA DE QUIMICA



“VALIDACIÓN DE MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO EN
RÍOS DE LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR POR
ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE”

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

Br. CELIA CORINA JIMÉNEZ LARÍN

PARA OTORGAR EL GRADO DE:
LICENCIATURA EN CIENCIAS QUIMICAS

ASESORES:

Dr. NESTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO Y
MSc. ROSARIO AMANDA RIVAS DE ZEPEDA

CIUDAD UNIVERSITARIA, MARZO DEL 2004

AUTORIDADES VIGENTES.

RECTORA

Dra. MARIA ISABEL RODRIGUEZ.

**DECANO EN FUNCIONES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
MATEMATICAS**

MSc. FRANCISCO ANTONIO CHICAS BATRES

DIRECTOR ESCUELA DE QUIMICA

MSc. ROSARIO AMANDA RIVAS DE ZEPEDA

ADMINISTRADOR ACADEMICO

Lic. RODOLFO FERNANDO MENJIVAR

AGRADECIMIENTOS

Este es el final de un largo camino recorrido, ha sido un proceso de transiciones fáciles y difíciles, pero con la ayuda de Dios todas han sido superadas. Inician otros caminos que me permitirán conocer nuevos horizontes y tal vez, quizá, cambiar mi vida.

Este es el espacio, donde se me permite agradecer a todas aquellas personas que me han brindado su cariño y apoyo durante el desarrollo de mi vida y que me han permitido formar parte de la vida de ellas. Han sido y son muchas, las que de alguna manera quiero darles las gracias a través de mi trabajo de graduación, como lo son:

A MIS COMPAÑEROS DE CLASES, que juntos pasamos largas horas en las aulas, pasillos y jardines de la Universidad; estudiando y platicando de un sin fin de cosas y de lo que haríamos en el futuro. Muchas gracias por brindarme su amistad y ayuda.

A MIS PROFESORES, por todas las enseñanzas y experiencias vividas y contadas por ellos, en las cuales nos hacían ver que teníamos un futuro por delante y que solo con el esfuerzo y ganas de progresar podríamos superarnos.

A MIS ASESORES, por dedicar desinteresadamente parte de su tiempo y experiencia a mi trabajo de graduación, valiosa ayuda y colaboración incondicional.

A MIS SUPERIORES Y COMPAÑEROS DE TRABAJO, que me permitieron adquirir experiencia, brindándome tiempo en horas laborales para seguir adelante y finalizar este trabajo.

A MIS HERMANAS, HERMANO, SOBRINAS, SOBRINOS Y PAPÁ, por tener paciencia conmigo, por brindarme la oportunidad de poder cambiar y por enseñarme que las cosas buenas y malas de la vida nos ayudan a crecer y madurar como personas.

A UNA PERSONA MUY ESPECIAL, que Dios me permitió conocer durante los casi tres años de mi trabajo de graduación y que ha llegado a ser el amor de mi vida.

Y EN ESPECIAL A MI MAMÁ: **MIRIAM DE JIMENEZ**, POR SER TODO PARA MI, MI APOYO INCONDICIONAL, MI SOPORTE EN LOS TIEMPOS DIFICILES Y POR BRINDARME SU AMOR Y TIEMPO EN TODO MOMENTO.

Agradezco a TODOS, todo lo que he aprendido con ellos y de ellos, durante este tiempo.

CONTENIDOS

PARTE 1: MARCO TEÓRICO.....	1
A. RESUMEN.....	2
B. INTRODUCCIÓN.....	3
C. OBJETIVOS.....	7
1. GENERALES.....	7
2. ESPECIFICOS.....	7
D. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8
1. MERCURIO.....	8
2. USOS DEL MERCURIO.....	8
3. EFECTOS TÓXICOS POR CONTAMINACIÓN.....	9
4. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN	10
E. VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	11
1. RANGO LINEAL.....	11
2. PRECISIÓN.....	12
2.1 REPETIBILIDAD.....	12
2.2 REPRODUCIBILIDAD.....	13
2.3 ROBUSTEZ.....	13
3. EXACTITUD.....	13
4. LÍMITE DE DETECCIÓN.....	13
5. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.....	15
PARTE 2. EXPERIMENTAL.....	16
A. DETERMINACIÓN DE MERCURIO.....	17
1. DISCUSIÓN GENERAL.....	17
2. EQUIPOS.....	17

3.	CRISTALERÍA.....	17
4.	REACTIVOS.....	18
5.	PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	19
6.	PROCEDIMIENTO.....	19
6.1	PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	19
6.2	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.....	20
7.	TOMA DE LA MUESTRA.....	21
B.	PLANOS DE LA ZONA DE MUESTREO.....	23
PARTE 3:	RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	25
A.	ESPECTRO DE ABSORCIÓN.....	26
B.	CURVA DE CALIBRACIÓN.....	27
C.	LINEALIDAD.....	29
D.	LÍMITE DE DETECCIÓN.....	30
E.	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.....	31
F.	PORCENTAJE DE RECOBRO (ERROR).....	32
PARTE 4:	CONCLUSIONES.....	33
PARTE 5:	RECOMENDACIONES.....	35
PARTE 6:	BIBLIOGRAFÍA.....	37

CONTENIDO DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

TABLA No. 1: ZONAS DE MUESTREO.....	21
TABLA No. 2: DATOS UTILIZADOS PARA OBTENER LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	28
TABLA No. 3: DATOS OBTENIDOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	29
TABLA No. 4: DATOS UTILIZADOS PARA OBTENER LA GRÁFICA DE LINEALIDAD DEL MÉTODO.....	29
TABLA No. 5: VALOR DEL LÍMITE DE DETECCIÓN OBTENIDO A PARTIR DE LAS ABSORBANCIAS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	31
TABLA No. 6: VALOR DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.....	31
TABLA No. 7: PORCENTAJE DE RECOBRO UTILIZANDO EL MÉTODO DE LA DITIZONA.....	32

FIGURAS

FIGURA No. 1: UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN PLAN DE LA LAGUNA Y BLVD. SANTA ELENA	23
FIGURA No. 2: UBICACIÓN DEL PUNTO DE MUESTREO EN LA ZONA RESIDENCIAL	23
FIGURA No. 3: UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN: SAN JACINTO, BLVD. DE EL EJÉRCITO NACIONAL Y SOBRE LA ANTIGUA CALLE A SOYAPANGO.....	24
FIGURA No. 4: ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL COMPLEJO MERCURIO-DITIZONA.....	27
FIGURA No. 5: CURVA DE CALIBRACIÓN ESTANDARD.....	28
FIGURA No. 6: CURVA DE LINEALIDAD DEL MÉTODO.....	30

PARTE 1

MARCO TEÓRICO

A. RESUMEN

La contaminación de los ríos ocurre principalmente por vertidos domésticos e industriales sin tratamiento y el escurrimiento de materiales de productos químicos de las calles y tierras agrícolas, ya que, los desechos domésticos, agrícolas e industriales contribuyen a la reducción del oxígeno disuelto en el agua.

También influye la contaminación por disposición de aceites de motor, químicos de limpieza domésticos, productos agrícolas y otros que son lavados por la lluvia. Debido a la contaminación proveniente de aguas servidas de casas particulares municipales e industriales, de desechos sólidos, de sedimentación y de actividades agrícolas, la mayoría de los ríos del país poseen muy poca utilidad.

La contaminación por metales pesados puede ser de dos tipos: Natural y Antropogénica.

La natural puede ser por las causas siguientes:

- Cadmio, cobalto, cobre, plomo, mercurio, níquel, plata y uranio, todos estos elementos son potencialmente tóxicos y pueden dañar a los seres vivos en concentraciones tan pequeñas como 1 mg/L.
- Erupciones volcánicas, o por fuentes de aguas termales.

Y la Antropogénica por:

- Vertederos de minas y las industrias metalúrgicas.

El mercurio es uno de los metales pesados más contaminantes que existen, es muy común encontrarlo en cantidades moderadas en zonas de desagüe de las aguas vertidas por industrias que utilizan este metal en sus procesos de producción. Dichas aguas son por lo general vertidas en ríos de las zonas donde estén ubicadas dichas industrias y estas son llevadas hacia otros ríos o al mar donde el radio de contaminación se va extendiendo.

B. INTRODUCCIÓN

La superficie de El Salvador es drenada por ríos que desembocan en el Océano Pacífico, con un total de disponibilidad hídrica de 950 m/seg; en la época lluviosa y de 180 m/seg. en la época seca.⁽¹⁾ La cuenca más importante es la del Río Lempa que atraviesa el 49% del territorio nacional y se comparte con las repúblicas de Honduras y Guatemala. Le siguen en importancia las cuencas del Río Grande de San Miguel con un 11%, el Río Paz, que se comparte con Guatemala y la del Goascorán, que se comparte con Honduras.

Para caracterizar el grado de dependencia que tiene el país de los recursos hídricos, basta considerar la base poblacional demandante y su dinámica. Esto hace de interés el estudio de la contaminación de nuestras aguas.

Las fuentes más importantes de contaminación del agua son, entre otras, los desechos domésticos, industriales y agrícolas, los cuales, sin tratamiento previo, son descargados a los ríos y arroyos directamente.⁽¹⁾ A pesar que la construcción y operación de plantas de tratamiento parecen costosas, el costo de las enfermedades y del daño a los recursos pesqueros, también es alto.⁽²⁾

Los desechos industriales contribuyen a la reducción del oxígeno disuelto en el agua y son una fuente de tóxicos, de los cuales no existe en el país ninguna información sobre tipos, niveles de toxicidad y efectos sobre la población. Sin embargo, otra fuente crítica es la contaminación por deposición de aceites de motor, químicos de limpieza domésticos, productos agrícolas y otros que son arrastrados por la lluvia. En muchos casos no sólo es afectada el agua superficial, sino también el agua subterránea que llega a ser contaminada por diferentes sustancias químicas.⁽¹⁾

Los niveles de contaminación de los diferentes mantos de agua en El Salvador no están bien documentados lo que se debe, principalmente, al poco control sobre las aguas servidas de casas particulares, municipales e industriales, desechos sólidos y a la actividad agrícola; por lo tanto, la mayoría de los ríos del país son inservibles para muchos usos.⁽³⁾ Un ejemplo lo constituye el río Acelhuate, en San Salvador, que recibe

aguas residuales sin tratar y que posteriormente es utilizada para el riego de cultivos de legumbres consumidas localmente.⁽⁴⁾

La contaminación ambiental se ha convertido en uno de los grandes problemas que se presentan actualmente, producido en gran medida por los desechos sólidos y líquidos de las industrias y personas los cuales son vertidos en ríos, lagos, mares; contaminándolos y por consiguiente dañando la flora y fauna existente en ellos, siendo un problema común en el ámbito mundial. Los países industrializados son los que más han contaminando por muchos años estos ecosistemas y al darse cuenta de los daños producidos, están implementando proyectos para tratar de revertir el problema; mientras que, los países en vías de desarrollo son los más afectados porque no tienen aún controles adecuados sobre los procesos que se llevan a cabo en sus industrias y por consiguiente sobre los desechos que descargan. Recientemente algunos países latinoamericanos, incluyendo el nuestro, han elaborado leyes sobre la protección del medio ambiente y realizan diagnósticos ambientales para determinar el grado de daño producido y así implementar programas que minimicen el problema.

La contaminación por metales pesados puede ser de origen natural o antropogénico. La de origen natural se debe a que algunos elementos químicos, como el cadmio, cromo, cobalto, cobre, plomo, mercurio, níquel, plata y uranio, se encuentran difundidos en pequeñas cantidades en la mayoría de ecosistemas; todos estos elementos son potencialmente tóxicos y pueden dañar a los seres vivos en concentraciones tan pequeñas como de 1 mg/L.⁽⁵⁾ Además de ser elementos que se encuentran en la composición normal de las rocas y minerales, pueden ser especialmente abundantes como resultado de erupciones volcánicas, o por fuentes de aguas termales. Algunos compuestos de estos metales pueden sufrir acumulación en la cadena trófica, lo que origina que a pesar de encontrarse en dosis muy bajas en el ambiente, pueden llegar a encontrarse en plantas o animales hasta llegar a provocar daños en la salud.⁽⁵⁾

La contaminación debida a la actividad antropogénica también ocasiona un fuerte impacto sobre el medio ambiente; por ejemplo, en el caso de la agricultura, se han utilizado en el control de plagas forestales, pesticidas inorgánicos altamente tóxicos como arseniatos de plomo y calcio, sulfato de cobre y otros. Aunque actualmente estos

plaguicidas no son utilizados, existen lugares con concentraciones altas de estos productos debido a su persistencia en el ambiente; algo similar sucedió con el uso de compuestos alquilvercuriales para recubrir semillas, que desde 1960 están prohibidos⁽⁵⁾.

Los vertederos de minas y las industrias metalúrgicas son otra fuente muy importante de contaminación con metales.⁽⁵⁾ En los vertederos se suele producir lixiviación cuando el agua lluvia disuelve y arrastra las sustancias tóxicas y las transporta por los ríos, contaminando incluso las aguas subterráneas.⁽⁵⁾

El tema principal del presente trabajo será la contaminación por mercurio, el cual es uno de los metales pesados más comunes. Este metal, considerado relativamente abundante en la naturaleza, es un líquido de color plateado que se extrae de las minas. Es utilizado en la fabricación de equipamiento eléctrico, lo que incluyen baterías, celdas de mercurio en detectores de humo y lámparas e interruptores de mercurio, en la producción de cloro y soda cáustica, termómetros, barómetros. Su utilización en pinturas, pesticidas, conservadores de semillas y cosméticos se ha restringido en algunos países, aunque todavía existen muchas compañías que lo utilizan. Otro uso muy controvertido es en las amalgamas dentales.

El mercurio inorgánico descargado por las industrias es convertido en metilmercurio, por las bacterias presentes en el agua ya sea dulce o salada y en los sedimentos.⁽⁶⁾ El metilmercurio es rápidamente absorbido por los peces y almacenado en sus músculos. A lo largo de la cadena alimenticia, el metilmercurio va aumentando su concentración hasta llegar a los humanos. De los compuestos del mercurio, el metilmercurio es con diferencia el más tóxico. Por esta razón se hace necesario e importante realizar una investigación sobre este contaminante, que es uno de los más peligrosos que afecta la cadena alimenticia.

En el presente trabajo, para llevar a cabo la determinación del mercurio en muestras de agua de ríos de la zona metropolitana de San Salvador, se comenzó con la ubicación de aquellas zonas que estén próximas a las industrias donde se fabrican productos que contengan mercurio o que en el proceso de producción se utilice el mercurio, debido a la posibilidad de que viertan aguas con contenido de mercurio; luego

se seleccionan los ríos que serán muestreados y se determinan los puntos de muestreo donde se llevará a cabo la toma de muestra.

Las muestra obtenidas son tratadas adecuadamente para su traslado, almacenamiento en el laboratorio y posterior análisis.

La determinación de la concentración de mercurio en las muestras, se realiza mediante espectrofotometría visible.

C. OBJETIVOS

1. Objetivo General:

Determinar el grado de contaminación por mercurio, de las aguas de algunos ríos de la zona metropolitana de San Salvador, mediante su cuantificación utilizando espectrofotometría visible.

2. Objetivos Específicos:

- a) Optimizar el método espectrofotométrico de la ditizona para la determinación de mercurio, estudiando aquellos parámetros que más influyen en su determinación.⁽⁷⁾
- b) Validar el método de determinación mediante el estudio de los siguientes parámetros: precisión, exactitud, intervalo lineal, límite de detección y límite de cuantificación.
- c) Realizar muestreos en aquellas zonas del área metropolitana de San Salvador donde se ubiquen industrias que utilizan mercurio en sus procesos de producción
- d) Aplicar la metodología validada a la determinación de mercurio en las muestras de los ríos previamente colectadas.

D. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1. MERCURIO

En la actualidad se sabe que uno de los sitios de acumulación de mercurio en el cuerpo humano es el cerebro y sus efectos van desde daños en las funciones sensoriales y visuales, hasta defectos en las transmisiones sinápticas (forma en la que el sistema nervioso manda sus señales) y debilidad muscular.⁽³⁾

El estudio de los metales pesados no es algo nuevo sino que ha sido objeto de investigación desde épocas ancestrales. En el año 370 A.C.⁽³⁾ Hipócrates describió por primera vez cólicos abdominales en hombres que extraían metales de las minas. La intoxicación por ingestión de mercurio y arsénico se describió en 387 y 372 a.c. por Theophrastus y Erbos⁽³⁾ respectivamente; sin embargo, no se conocen con exactitud todos los mecanismos de acción que conllevan a los metales pesados a tener efectos tóxicos.⁽³⁾

El mercurio es uno de los contaminantes más peligrosos, por su capacidad de biomagnificación; es decir, sus efectos se acumulan y se transmiten de unas especies biológicas a otras.

Las principales fuentes de contaminación son: la *natural*, debida a los desprendimientos o el desgaste de la corteza terrestre y la causada por el hombre, también llamada *antropogénica*, siendo ésta la más común.⁽³⁾

2. USOS DEL MERCURIO

El mercurio se utiliza en la industria para la manufactura de equipo eléctrico y científico (baterías, lámparas, termómetros, barómetros y otros). Su uso en pesticidas, conservadores de semillas, pinturas y cosméticos se han restringido en algunos países, pero todavía existen muchas compañías que lo utilizan.

Otro uso muy controvertido son las amalgamas dentales, ya que estas desprenden vapores tóxicos que afectan principalmente a los dentistas y técnicos dentales.⁽³⁾

3. EFECTOS TÓXICOS POR CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

La forma de intoxicación por mercurio más frecuente en las personas que no se encuentran dentro de los grupos de riesgo ocupacional expuestos, es la ingestión de pescado, debido a que el medio acuático es uno de los más contaminados, ya que las fábricas lo desechan, depositándose en el sedimento donde las plantas marinas lo absorben. Los organismos herbívoros que se alimentan de ellas a la vez que se contaminan lo pasan a los peces de la zona y otros animales de las cadenas alimenticias acuáticas, como aves y mamíferos marinos. Este fenómeno que se mencionó anteriormente se conoce como *biomagnificación* y se debe a que el mercurio que absorben los organismos vivos, ya sean plantas, peces u hombres, no se elimina sino que se va acumulando.

El mercurio se presenta en tres formas: **Mercurio inorgánico (Hg^{2+})** que se encuentra como óxido de mercurio; el **Mercurio elemental (Hg^0)** y el **Mercurio orgánico o metil-mercurio**.

El mercurio inorgánico (Hg^{2+}) se acumula de manera primordial en el riñón, el sistema nervioso central e hígado. El mercurio elemental (Hg^0) es muy poco absorbido y el metil-mercurio, es la forma más tóxica para los seres vivos debido a su gran capacidad para atravesar membranas celulares, así como las barreras hematoencefálicas y placentaria.⁽³⁾

Al inhalar mercurio vapor, como resultado de una *exposición suave* lo primero que se daña es:

- El sistema nervioso
- Se producen pérdidas de la memoria
- Temblores
- Inestabilidad emocional
- Insomnio
- Pérdida de apetito

Como resultado de una *exposición moderada*:

- Desordenes mentales y disturbios motores más significativos

En casos *más severos*:

- Disminución de la visión y audición
- Desórdenes de lenguaje
- Movimientos temblorosos y pasos inestables

Los casos más serios muestran desorden mental y seguido por la muerte.

4. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE MERCURIO

Existen varios métodos para la determinación de mercurio en aguas, entre los cuales podemos mencionar:

- a) Método por Absorción Atómica sin llama, para el Mercurio disuelto y suspendido, con límite de detección de 0.2-10 µg de Hg/L; para aguas potables, aguas de superficies, aguas salinas, agua de enjuagues e industriales. ⁽¹⁵⁾
- b) Detección de Mercurio por Cromatografía de intercambio por Ion selectivo.
- c) El método 245.1 (EPA 1979), el cual indica que el análisis de mercurio en agua y aguas residuales puede realizarse por técnicas de vapor frío, manual o automatizado. El cual consigue límites de detección de 0.2 µg de Hg/L y desviaciones estándar a niveles de 0.35 con recuperaciones entre 87% y 89%.⁽¹⁷⁾ Este método también se enumera como Standard Method 303F, ASTM D3223-80 y USGS I-3464-84. [51 FR 23696 (6/30/86)]. ⁽¹⁶⁾
- d) Método 3500-Hg. APHA, AWWA, WEF. “Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater” (Métodos Estándares para la Examinación del Agua y Agua de desecho) ⁽⁷⁾

E. VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS

Para la obtención de un proceso de medida químico, con calidad, en la actualidad es imprescindible la adecuada utilización de un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas, estas pueden ser aplicadas a los datos experimentales que se obtienen en el laboratorio y generan resultados confiables que permiten conocer y asegurar la calidad de la técnica.

La validación de un método analítico puede definirse como un paso crítico cuyo propósito es asegurar su calidad o validez. El objetivo de la validación no es comparar un método con otro ya existente (método de referencia), sino conocer mejor sus características.⁽¹⁹⁾

La validación comprende un estudio científico de los criterios de confiabilidad de esta técnica. Estos pueden ser:

1. **Rango lineal:** Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido.⁽¹⁰⁾ Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en la medición del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionado con la aplicación del método.

El estudio de la linealidad viene a ser un estudio de regresión. El método de la regresión consiste en estudiar la relación y su representación mediante un modelo matemático cuando uno de los valores no es aleatorio y el técnico puede fijarlo a voluntad.

Permite verificar que la relación entre las cantidades introducidas en el sistema de medición y la respuesta instrumental es una recta que debe pasar por el origen.

Los valores experimentales se registran en una gráfica. Permiten trazar una línea recta de regresión que puede ser la recta de calibración, si la relación concentración respuesta es una recta.

La ecuación de la recta es del tipo $y = ax + b$ y se puede calcular a partir de las ecuaciones siguientes:⁽¹⁰⁾

$$a = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{N}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N}} \quad \text{y} \quad b = y - ax = \frac{\sum y}{N} - a \frac{\sum x}{N}$$

Donde:

a= pendiente de la recta

x= concentración

y= respuesta

N= números de muestras

b= ordenada al origen

2. Precisión: Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra homogénea son semejantes entre sí⁽¹¹⁾

Se utilizan términos especiales para designar cada tipo de evaluación de la precisión en función de:

- La distribución de las mediciones del tiempo
- Del técnico
- De las condiciones de operación

De esta manera, en función de la secuencia de las mediciones, se distingue la repetibilidad, la reproducibilidad y la robustez. Como se detallan a continuación:

2.1 Repetibilidad: Refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante

una misma sesión de trabajo o en un período corto.⁽¹¹⁾ El parámetro estadístico que caracteriza a este estudio es la desviación estándar⁽¹³⁾ o preferiblemente el coeficiente de variación (desviación estándar relativa).⁽¹²⁾ Este parámetro permite evaluar la incertidumbre en la estimación de la media, es decir, el error aleatorio que se corresponde con la dispersión de los datos alrededor de la media.

2.2 Reproducibilidad: Es la medida de la precisión de los resultados de ensayos realizados sobre la misma muestra homogénea, pero ejecutados por diferentes analistas o en días diferentes⁽¹¹⁾ durante un período largo, y se expresa con los mismos parámetros matemáticos que la repetibilidad.

2.3 Robustez (tolerancia): Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos mediante la ejecución del método sobre una misma muestra variando algunas condiciones operacionales como por ejemplo: diferentes laboratorios, reactivos, analistas, equipos, temperaturas de ensayo y otros.⁽¹⁰⁾

3. **Exactitud:** Indica la capacidad del método analítico para obtener resultados los más próximos posibles al valor verdadero.^{(10) y (11)} A diferencia de la precisión, que refleja el error aleatorio, la exactitud refleja el error sistemático o la tendencia a él.⁽¹⁴⁾ Cuando existen interferencias en el método por falta de selectividad (desviación por exceso en los resultados) o cuando se trata de métodos analíticos muy laboriosos, con varias etapas como extracciones, purificaciones y otros.

4. **Límite de detección**⁽¹⁸⁾: Es la concentración más baja del parámetro al ser medido, que formalmente puede detectar el proceso analítico. Es comúnmente expresado como concentración del analito. Los procedimientos de determinación posibles son:

- 3 veces la dispersión, expresada como desviación estándar, a partir de mediciones repetidas de blanco (válido solamente para procedimientos con blanco) o de soluciones del analito en agua pura.
- 2.5 a 5 veces la relación señal/ruido del instrumento de medida a utilizar.

Para los propósitos operativos el Límite de detección (LD) deberá ser determinado multiplicando por el apropiado valor estadístico de t (generalmente para un nivel de confianza de 99%) por la desviación estándar obtenida de un mínimo de 7 lecturas, donde el t estadístico es obtenido de referencias estándares o de la tabla que sigue:

No. De muestras	Estadístico t
3	6.96
4	4.54
5	3.75
6	3.36
7	3.14
8	3.00
9	2.90
10	2.82

Para determinar la desviación estándar (S) para cada analito se emplea:

$$S = \frac{\sqrt{(X_i - \bar{X})^2}}{n-1}$$

Donde:

S: la desviación estándar

Xi: la medida de i de la variable X

\bar{X} : el valor promedio de X

n: es el número de análisis

Para determinar el LD se emplea:

$$LD = t_{(n-1, \alpha, .99)} (S)$$

Donde:

$t_{(n-1, \alpha, .99)}$: es el t estadístico apropiado para el número de muestras usadas para determinar (S) al nivel del 99%

S: Desviación estándar

5. Límite de cuantificación: El límite de determinación o cuantificación (LQ), es la concentración de analito en la que se comete un error aleatorio relativo igual a un valor prefijado. Según el consenso más ampliamente aceptado, el valor de dicho error se establece en el 10%⁽²⁴⁾. El límite de cuantificación es entre 3 y 10 veces el límite de detección (LD= 3 σ)

La expresión matemática para el límite de cuantificación es.

$$LQ = 10\sigma$$

Donde:

σ : Desviación estándar

PARTE 2

EXPERIMENTAL

A. DETERMINACIÓN DE MERCURIO POR EL MÉTODO DE LA DITIZONA MÉTODO 3500-Hg. ⁽⁷⁾

1. *Discusión General:*

- a) **Principio:** Los iones mercurio reaccionan con la Ditizona disuelta en cloroformo, formando un complejo color naranja. Las variaciones de tonalidades del color desarrollado son medidas en un espectrofotómetro a 492 nm y las concentraciones desconocidas son calculadas utilizando una curva de calibración o el método de adición estándar.
- b) **Interferencias:** cobre, oro, paladio, plata y platino divalente reaccionan con la ditizona en solución ácida. El complejo mercurio-ditizona debe ser medido rápidamente porque es fotosensible.
- c) **Concentración mínima detectable:** 1 µg de Hg/10mL, que corresponden a 2 µg de Hg/L cuando se utilizan 500 mL de muestra. Las mejores precisiones se consiguen cuando se excede el límite anteriormente especificado.

2. *Equipos:*

- ✓ Espectrofotómetro *Jenway 6105 UV/VIS*.
- ✓ Balanza analítica *SARTORIOUS*
- ✓ Hot Plate con Agitador magnético
- ✓ Estufa

3. *Cristalería:*

- ✓ Embudos de separación de 125 mL
- ✓ Balones volumétricos de 1000 mL
- ✓ Balones volumétricos de 250 mL
- ✓ Balones volumétricos de 500 mL
- ✓ Balones volumétricos de 100 mL

- ✓ Vidrios de reloj
- ✓ Probetas de 100 mL
- ✓ Probetas de 25 mL
- ✓ Pipetas volumétricas de 25 mL
- ✓ Pipetas volumétricas de 1 mL
- ✓ Pipetas volumétricas de 10 mL
- ✓ Pipetas volumétricas de 5 mL
- ✓ Pipetas de mohr de 10 mL
- ✓ Beakers de 100 mL
- ✓ Agitadores de vidrio
- ✓ Termómetro
- ✓ Cubetas para lectura en el espectrofotómetro

4. *Reactivos:*

- ✓ Ditizona o Difeniltiocarbazona ($C_6H_5NHNHCS:NC_6H_5$)
- ✓ Cloruro de Mercurio (II) ($HgCl_2$)
- ✓ Ácido Nítrico (HNO_3)
- ✓ Permanganato de Potasio ($KMnO_4$)
- ✓ Ácido Sulfúrico (H_2SO_4)
- ✓ Persulfato de Sodio ($K_2S_2O_8$)
- ✓ Hidrocloruro de Hidroxilamina ($NH_2OH \cdot HCl$)
- ✓ Bromuro de Potasio (KBr)
- ✓ Fosfato ácido de Sodio ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)
- ✓ Carbonato de Potasio anhidro (K_2CO_3)
- ✓ Sulfato de Sodio (Na_2SO_4)
- ✓ Cloroformo ($CHCl_3$)
- ✓ Agua destilada

5. Preparación de los reactivos:

- ✓ **Solución Stock de mercurio:** Se disuelven 135.3 mg de cloruro de mercurio, (HgCl_2), en aproximadamente 700 mL de agua, se adiciona 1.5 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3), y se lleva a aforo hasta 1000 mL con agua destilada; en esta solución: 1.00 mL = 100 μg Hg
- ✓ **Solución estándar de mercurio:** Se diluye 1.00 mL de solución stock en 100 mL con agua; en este caso: 1.00 mL = 1.00 μg Hg. Se debe preparar inmediatamente antes de usar.
- ✓ **Solución de Permanganato de Potasio:** Se disuelven 5 g de KMnO_4 en 100 mL de agua
- ✓ **Solución de Persulfato de Potasio:** Se disuelven 5 g de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ en 100 mL de agua
- ✓ **Solución de Hidrocloruro de Hidroxilamina:** Se disuelven 50 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 100 mL de agua
- ✓ **Solución de Ditizona:** Se disuelven 6 mg de ditizona en 100 mL de Cloroformo
- ✓ **Ácido Sulfúrico al 0.25N:** Se diluyen 250 mL de $\text{H}_2\text{SO}_4 - 1\text{N}$ a 1 L con agua
- ✓ **Solución de Bromuro de Potasio:** Se disuelven 40 g de KBr en 100 mL de agua
- ✓ **Solución Buffer de Fosfato-Carbonato:** Se disuelven 15 g de Na_2HPO_4 y 3.8 g de K_2CO_3 en 100 mL de agua. Se extrae con porciones de 10 mL de ditizona hasta que la última porción tenga restos de color azul. Luego se lava con Cloroformo para remover los excesos de la ditizona.

6. Procedimiento:

- 6.1 Preparación de la curva de calibración:** Para la elaboración de la curva de calibración se pipetea 0.00 (blanco); 0.04; 0.06; 0.4 y 0.6 mL de mercurio en beakers separados. A cada beaker se le adiciona 25 mL de agua; 1 mL de solución de permanganato de potasio y 2.5 mL de ácido sulfúrico. Se agitan y calientan hasta ebullición. Si es necesario, se les adicionan más solución de permanganato de potasio hasta que el color rosado persista. Después que la ebullición ha cesado, cuidadosamente se les adicionan 1.25 mL de solución de

$K_2S_2O_8$ y se dejan enfriar por 30 minutos. Se les adicionan una o más gotas de solución de $NH_2OH \cdot HCl$ hasta descartar el color rosado. Cuando se enfría cada solución, se transfiere cada una a un embudo de separación de 125 mL. Se les adicionan alrededor de 6.25 mL de solución de ditizona. Cada embudo de separación es agitado vigorosamente y cada capa orgánica es transferida a otro embudo de separación de 125 mL. Se repite esta extracción al menos tres veces, asegurándose que el color en la última capa del complejo mercurio-ditizona sea azul intenso como la solución original. Los extractos del complejo mercurio-ditizona acumulados en los embudos de separación de 125 mL son lavados por agitación con 12.5 mL de solución de ácido sulfúrico 0.25N. Una vez lavados son trasladados a otro embudo de separación de 125 mL y se les adicionan 12.5 mL de solución de ácido sulfúrico 0.25 N y 2.5 mL de solución de bromuro de potasio y se agitan vigorosamente para transferir del complejo mercurio-ditizona de la capa orgánica a la capa acuosa. Se descartan las capas ditizonizadas y se lavan las capas acuosas con pequeños volúmenes de cloroformo y se descartan los lavados. A cada embudo de separación se le adiciona 5 mL de solución buffer de fosfato-carbonato y 2.5 mL de solución estándar de ditizona. Se agitan completamente y después de la separación se transfiere del complejo mercurio-ditizona a beakers. Al final los extractos deberían ser ligeramente de color azul. Los contenidos son deshidratados con sulfato de sodio anhidro. Se toma una alícuota de los extractos del complejo mercurio-ditizona y se colocan en celdas de 1 cm de paso óptico y se leen a una absorbancia de 492 nm.

6.2 Tratamiento de la muestra: Las muestras conteniendo 1.5 mL de ácido nítrico concentrado usualmente no afecta la ditizona, aunque soluciones fuertes de este ácido la oxidarían. Se utilizan 25 mL de la muestra y se prepara un blanco conteniendo todos los reactivos. Cuando sea necesario, se filtra la muestra a través de lana de vidrio dentro del embudo de separación después del paso de la oxidación. Se completa el procedimiento descrito arriba. (7.a)

Las muestras se tomaron en un recipiente plástico, para recolectar la muestra se enjuagó tres veces el recipiente con el agua del río, la cantidad de cada muestra tomada fue de 1 litro.

7.- Toma de las muestras

Como se puede observar en la Tabla No. 1 se detallan: los códigos asignados a cada muestra de acuerdo a la ubicación de los puntos de muestreo; las fechas en que fueron realizados los análisis y para finalizar, los nombres y ubicaciones de los ríos donde se descargan aguas residuales con contenido de mercurio.

Tabla No. 1: Zonas de muestreo

CODIGO	FECHA DE ANÁLISIS	NOMBRE DEL RÍO	UBICACIÓN DEL RIO
1-B04	18-Mayo-2002	Río Acelhuate	Salida Zona Industrial Plan de la Laguna, frente a pasarela de la U. Matías Delgado
1-A04	25-Mayo-2002	Río Acelhuate	Sobre el Blvd. Santa Elena, cerca de la Embajada Americana
1-D04	25-Mayo-2002	Río Acelhuate	Zona residencial: entre la Col. Costa Rica y La Cima
Don Saúl (040602)	6-Julio-2002	Río Acelhuate	Zona de la Colonia La Candelaria, cerca del paso a desnivel que viene del Centro sobre el Blvd. Venezuela
15 de Julio	26-Julio-2002	Río Acelhuate	Zona de la Colonia La Candelaria, cerca del paso a desnivel que viene del Centro sobre el Blvd. Venezuela

Continuación de la **Tabla No. 1**

CODIGO	FECHA DE ANÁLISIS	NOMBRE DEL RÍO	UBICACIÓN DEL RIO
17 de julio	26-Julio-2002	Río Acelhuate	En San Jacinto, sobre el Blvd.. Venezuela
9 de julio	27-Julio-2002	Río Acelhuate	Sobre el Blvd. De El Ejército Nacional, unas cuabras debajo de MOLSA
260702	24-Agosto-2002	Río Acelhuate	Sobre el puente que está sobre la antigua calle a Soyapango (Aguas Calientes)

En las figuras 1; 2 y 3 se pueden observar el detalle de las áreas del muestreo para cada una de las muestras, por razones de confidencialidad se omitieron los nombres de las empresas que descargan estas aguas de desechos.

B. PLANOS (SIN ESCALA) DE LAS ZONAS DE MUESTREO EN EL ÁREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR

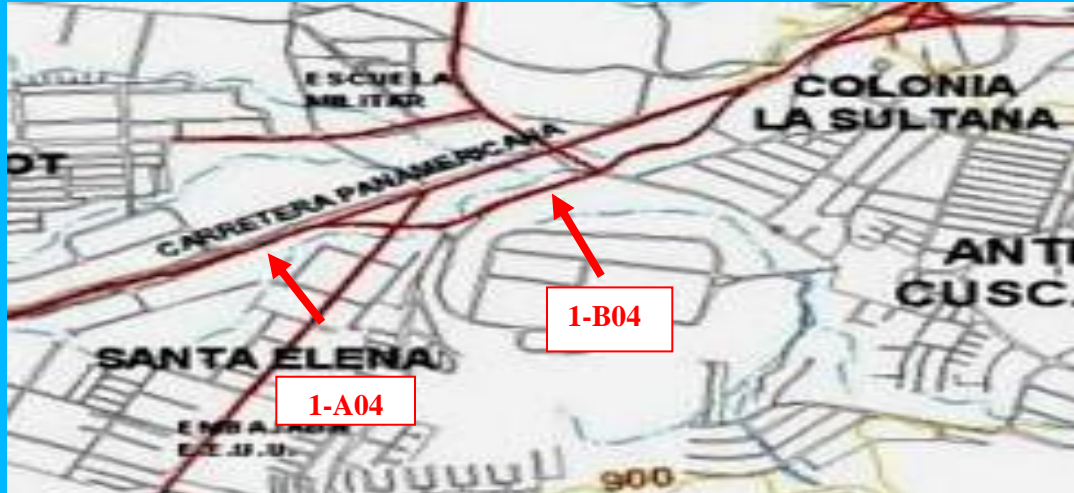


Figura No. 1: Ubicación de los puntos de muestreo en Plan de la Laguna y Blvd. Santa Elena

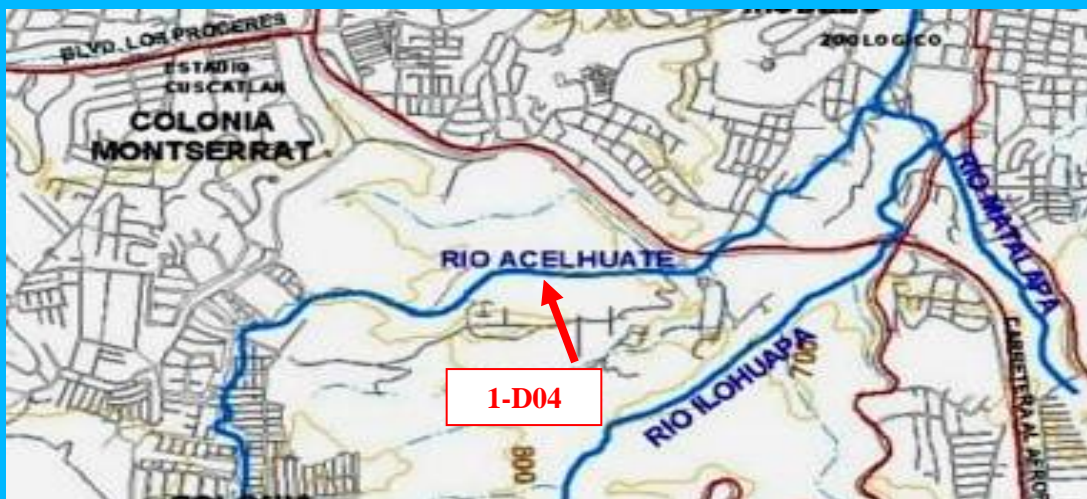


Figura No. 2: Ubicación del punto de muestreo en la zona residencial



Figura No. 3: Ubicación de los puntos de muestreo en San Jacinto, Blvd de El Ejército Nacional y sobre la antigua calle a Soyapango (Aguas Calientes)

PARTE 3

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

En esta sección se detallará la información de las muestras tales como: El espectro de absorción, la curva de calibración, absorbancia de cada muestra, la linealidad, el límite de detección, el límite de cuantificación y el error. Además se analizarán los resultados obtenidos en las curvas de calibración con la aplicación de los diferentes parámetros de validación.

A. ESPECTRO DE ABSORCIÓN

La metodología para la determinación de mercurio utilizando ditizona como complejante y cromóforo, recomienda hacer las lecturas a una longitud de onda de 492 nm. Para asegurarnos que en nuestra condiciones fuera la longitud de onda de máxima absorbancia, se decidió hacer un espectro de absorción del complejo coloreado en las vecindades de los 492 nm. Para la obtención del espectro de absorción se realizó un barrido a diferentes longitudes de onda, comprendidas entre 455 y 520nm con una solución estándar de 0.4 mg/L de Hg^{+2}).

En la Figura 4 puede observarse el gráfico que representa al espectro de absorción obtenido, que presenta un máximo de absorción de radiación cerca de los 492 nm, por lo que se decidió que a partir de este resultado, se trabajaría con esa longitud de onda.

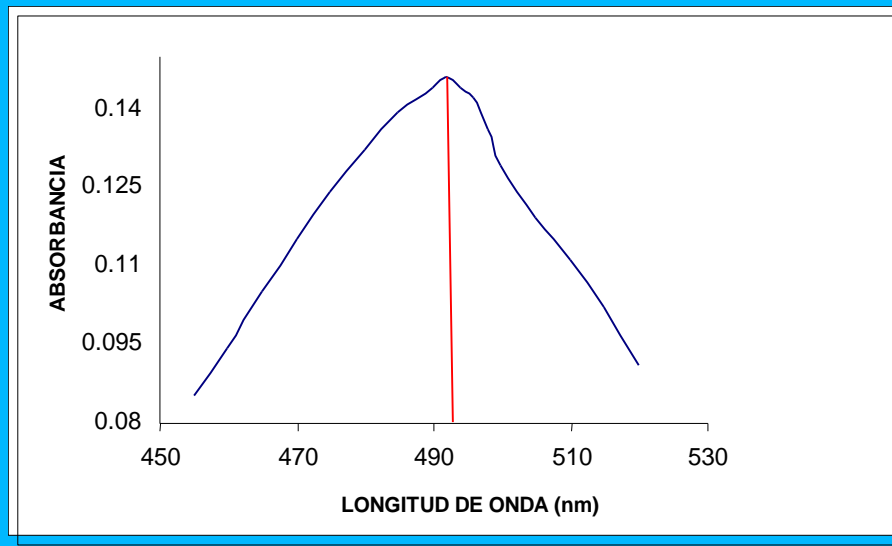


Figura No. 4: Espectro de absorción del complejo mercurio-ditizona

B. CURVA DE CALIBRACIÓN

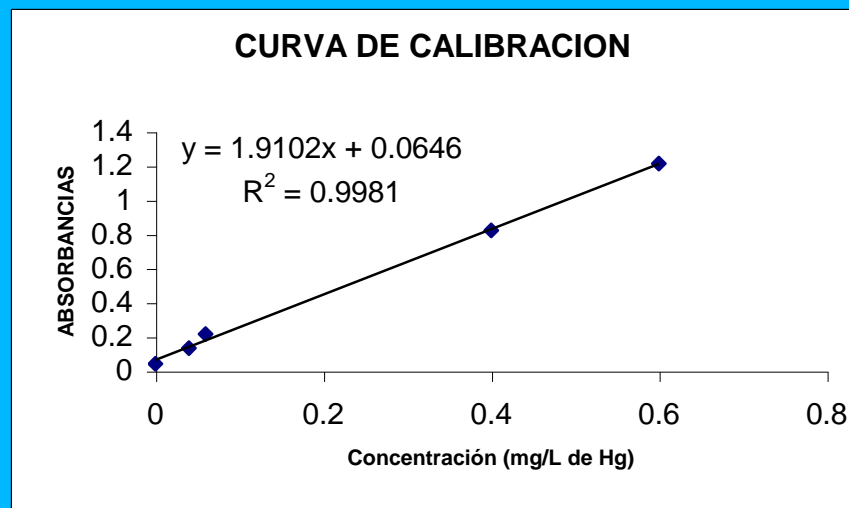
Una vez conocida la longitud de máxima absorción, se estudio si la relación concentración-absorbancia presentaba una tendencia lineal para lo cual se construyeron varias curvas de calibración, se partió de una solución stock de mercurio de 100 mg/L (100 ppm) y haciendo las diluciones convenientes, se preparó una solución estándar con una concentración de 1 mg/L (1 ppm) de mercurio, luego se procede a obtener la curva de calibración con las siguientes concentraciones: 0.0, 0.04, 0.06, 0.4 y 0.6 mg/L.

En la Tabla No. 2, se detallan las absorbancias promedios para cada una de las concentraciones. Cada concentración fue analizada por duplicado, las absorbancias representadas son el valor promedio por cada una de las concentraciones.

Tabla No. 2: Datos utilizados para obtener la curva de calibración

CONCENTRACIONES	ABSORBANCIAS
0.0	0.042
0.04	0.132
0.06	0.216
0.4	0.822
0.6	1.212

En la Figura 5 se presenta una de las curvas de calibración obtenidas con el método, en donde se puede observar el valor del coeficiente de correlación(r), la pendiente (m) y el intercepto (b)

**Figura No. 5: Curva de Calibración estándar**

C. LINEALIDAD

Generalmente se expresa en términos alrededor de la pendiente de regresión lineal, calculada de acuerdo a una relación matemática establecida de los resultados obtenidos en la prueba. La linealidad fue obtenida a partir de dividir la concentración entre las absorbancias obtenidas en la curva de calibración.

Tabla No. 3: Datos obtenidos de las curvas de calibración

Concentraciones	Absorbancia (1)	Absorbancia (2)	Absorbancia (3)	Absorbancia (4)
0.00	0.042	0.044	0.043	-----
0.04	0.132	0.115	0.131	0.125
0.06	0.216	0.195	0.222	0.205
0.40	0.996	1.014	1.05	1.065
0.60	1.443	1.412	1.523	1.552

En la Tabla No. 4, para obtener los datos que utilizaremos para la gráfica es necesario obtener el logaritmo inverso de las concentraciones y dividir cada absorbancia entre su respectiva concentración, luego se obtiene una absorbancia/concentración promedio, como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla No. 4: Datos utilizados para obtener la gráfica de linealidad del método

LOGC	abs.(1) / C	abs.(2) / C	abs.(3) / C	Abs (4) / C	Promedio de Abs/C
-1.39794001	3.3	2.88	3.28	3.13	3.14
-1.22184875	3.6	3.25	3.7	3.42	3.49
-0.39794001	2.49	2.54	2.63	2.66	2.58
-0.22184875	2.41	2.35	2.54	2.59	2.47

En la Tabla No. 4, se obtiene la media del valor medido de la absorbancia dividido por la concentración siendo esta la pendiente con un valor de 2.92; nótese en la Figura No. 6, que cada uno de los valores esta contemplados dentro del criterio establecido del 5 % para determinar si un método es lineal o no.

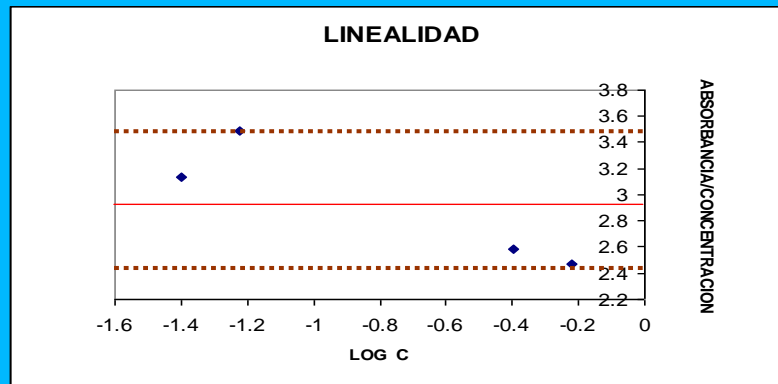


Figura No. 6: Curva de linealidad del método

D. LIMITE DE DETECCION

El cálculo del límite de detección se realizó utilizando ocho réplicas de las absorbancias del punto más bajo de la curva de calibración.

En la Tabla No. 5, se puede observar que para obtener el límite de detección se obtiene la media de las absorbancias con la cual se obtiene la desviación estándar correspondiente a las mediciones de la absorbancia, luego este resultado se multiplica por un valor de t (que es la variable *t de student*) y así obtener el valor del límite de detección.

Como puede observarse en la Tabla No. 5 el valor del límite de detección es: 0.0024 mg/L.

Tabla No. 5: Valor del Límite de detección obtenido a partir de las absorbancias de las curvas de calibración

Absorbancias del blanco	0.042	0.044	0.042	0.042	0.036	0.045	0.040	0.042
Absorbancia promedio	0.0416							
Desviación promedio	0.0025							
Límite de detección	0.0024 mg/L							

E. LIMITE DE CUANTIFICACION

El cálculo del límite de cuantificación se refiere a la concentración mínima cuantificable a la que tenga una relación de 10 veces la desviación estándar. Este límite puede ser determinado con precisión y exactitud aceptables bajo condiciones experimentales establecidas.

El resultado del Límite de cuantificación se obtiene, a partir de encontrar la absorbancia promedio y obtener su desviación estándar y luego multiplicarla por diez. Como se detalla en la tabla No. 6.

Tabla No. 6: Valor del límite de cuantificación

Absorbancias del blanco	0.042	0.044	0.042	0.042	0.036	0.045	0.040	0.042
Absorbancia promedio	0.0416							
Desviación promedio	0.0025							
Límite de cuantificación	0.025 mg/L							

F. PORCENTAJE DE RECOBRO (ERROR)

El cálculo del PORCENTAJE DE RECOBRO consiste en: encontrar la relación entre la concentración experimental para una muestra a la que se le adiciona una cantidad conocida de mercurio y la concentración real de la adición expresada como porcentaje.

En la siguiente tabla se presentan los resultados de los cálculos efectuados para encontrar el valor del error.

Tabla No. 7: Porcentaje de recobro utilizando el método de la ditizona

Absorbancia	Concentración	Adición	Porcentaje de recobro	Promedio del porcentaje de recobro
0.111	0.024	0.025	97.1626008	97.4243535
0.115	0.026	0.025	105.538687	
0.101	0.019	0.025	76.2223851	
0.113	0.025	0.025	101.350644	
0.109	0.023	0.025	92.9745576	
0.107	0.022	0.025	88.7865145	
0.115	0.026	0.025	105.538687	
0.118	0.027	0.025	111.820752	

PARTE 4

CONCLUSIONES

1. En el espectro de absorción para el complejo mercurio-ditizona, el máximo de absorción obtenido experimentalmente coincide con el recomendado con el método, por lo que las mediciones se hicieron en la zona de mayor sensibilidad del método.
2. La curva de calibración se construye a partir de cantidades conocidas de una sustancia. Dado que se ha trabajado con datos reales, el gráfico que se obtiene no es ideal, pero no implica un problema ya que, dentro de los valores obtenidos es posible trazar la recta más probable que une una serie de puntos.
3. La linealidad del método nos indica que existe una relación directamente proporcional entre la concentración y la absorbancia utilizando como máximo 0.6 mg/L de mercurio. No se utilizaron concentraciones mayores debido a que según estudios preliminares, el mercurio no se encuentra a mayores concentraciones en las aguas de los ríos muestreados.
4. El límite de detección, para un resultado analítico es la cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Esto significa que la concentración mínima que el método puede detectar, es de 0.0024 mg Hg/L cuando utilizamos 25 mL de muestra.
5. Para el análisis cuantitativo del método sólo se emplean valores atribuibles al analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable. El límite de cuantificación del método es de 0.025 mg/L.

PARTE 5

RECOMENDACIONES

1. El reactivo de la Ditizona es muy inestable a temperatura ambiente, por tal razón, es necesario mantener la solución a temperatura controlada aproximadamente a 4°C.
2. La ditizona tiende a reaccionar en presencia de otros metales tales como: cobre, oro, paladio, plata y platino divalente y otros, es recomendable utilizar reactivos libres de metales para evitar interferencias.
3. El agua a utilizar para obtener la curva de calibración, debe ser de preferencia deionizada para evitar que los iones disueltos interfieran con las lecturas.
4. La cristalería a utilizar debe ser solamente para la determinación de Mercurio, para evitar que otros metales que se encuentren presentes, interfieran en las lecturas.
5. Luego de obtenido el complejo ditizona-mercurio, para evitar que sea expuesto por mucho tiempo a la luz solar por ser fotosensible, debe ser leído rápidamente en el espectrofotómetro.
6. Es probable que los bajos niveles de mercurio encontrados en las muestras de los ríos de la zona metropolitana de San Salvador se deban al pH del agua. Por tales motivos es recomendable extender el estudio de la presencia de mercurio a los sedimentos de los mismos ríos.

PARTE 6

BIBLIOGRAFIA

- (1) García, Gilberto, “Contaminación por desechos sólidos en la región metropolitana de San Salvador”, San Salvador, SV: Prisma, 1998
- (2) R. Cuellar Doniz; G. E. Cañas D., J. López ; J. M. Segura, M. Córdova Chávez y Otros, “Análisis y Evaluación de los principales ríos de El Salvador y sus niveles de Contaminación en la actualidad”, Santa Tecla, ITCA, 1994.
- (3) www.laneta.apc.org/emis/novedades/mercurio.htm
- (4) L. F. Requena, B.A. Myton, “Contaminación de las aguas superficiales y subterránea en determinadas cuencas de la región sudoccidental de El Salvador. Water and Sanitation for Health Project, AID.
- (5) www.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/09ProdQui/120MetTox.htm
- (6) www.udec.cl/sqrt/fich/MERCURIO.html
- (7) A.D. Eaton, L.S. Cresceri y A.E. Greenberg, “Standards methods for the examination of water and wastewater”, APHA-AWWA-WEF, 19^a edition (1995). Method 3500-Hg C, page. 3-79
- (8) www.ktf-split.hr/periodni/it/Hg.html
- (9) “Fundamentos de Espectroscopia moderna visible”, Agilent Technologies 2000. Número de Publicación: 5980-1397ES
- (10) www.melma.es
- (11) http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol30_1_96/far09196

- (12) Rampazoo P.; “Standardisation and Validation of Analytical Methods in the Pharmaceutical industry. II Farmaco” 1990; 45:807-15
- (13) British Standard No. BS5497. “Precision of Test Methods”, 1979; pte.1
- (14) Norma Cubana NC: 26-212. “Evaluación de características y validación de métodos de ensayo. Buenas Prácticas de Laboratorio”. Comité estatal de Normalización. La Habana: Ministerio de Salud Pública, Marzo, 1992:16
- (15) Association of Official Analytical Chemists. “Official Methods of Analysis”; 10th ed. and supplements. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1965 New editions through 13th ed. plus supplements, 1982.,p. 14/630 33.095
- (16) Clechet P, Eschaliér G; Anal Chim ACTA 156: 295- (1984)
- (17) USEPA; “Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes”; p.245.1-1 (1983) EPA- 600/4-79-020
- (18) Guía de Validación de Métodos de ensayo,
www.oaa.org.ar/evaluadores/DC-DE-05.pdf
- (19) Dominique Pradeu. “Análisis Químico Farmacéutico de Medicamentos”; 1ra. Edición. Editorial LIMUSA, S.A de C.V.; 1998. México

