

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de Arsénico y Mercurio en agua de consumo del cantón Rumiñahui por
Espectrofotometría de Absorción Atómica

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Químicas,
especialidad Química Analítica

MIGUEL ANGEL CASTELO GRANIZO

Quito, 2015

CERTIFICADO DE FINALIZACIÓN DE LA DISERTACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, especialidad Química Analítica, del candidato Miguel Ángel Castelo Granizo, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha:

Firma del Director de la Disertación

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a toda mi familia, especialmente a mis padres Ángel y Zoila, que siempre han hecho hasta lo imposible por darme todo lo necesario para poder superarme y triunfar.

A mis abuelitos Calo y Lolita que siempre han estado pendientes de mi desde el día en que nací.

A mi esposa Paola, por ser mi inspiración y compañía.

A todos los que tienen sueños y jamás se rinden hasta volverlos una realidad.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todas sus bendiciones y por haber hecho posible que siempre consiga las cosas que anhelo.

A mi madre, luchadora incansable que medió la vida y me supo guiar siempre por el camino del éxito.

A mi padre por haberme enseñado a nunca bajar los brazos y pelear por cumplir mis ideales a pesar de todas las adversidades.

A mi esposa Paola, por estar siempre a mi lado, por todo su amor, apoyo y comprensión.

A mi tía Lucrecia por haber sido en los últimos años mi segunda madre.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en especial a los maestros de la Escuela de Química, por haberme transmitido todos los conocimientos y haberme dado todas las herramientas para desempeñarme profesionalmente de manera exitosa.

Al Doctor Ramiro Gallegos, por su infinita paciencia y por su gran ayuda brindada durante el desarrollo del presente proyecto.

Al Municipio del Cantón Rumiñahui, en especial al Ing. José Pérez, por la apertura y apoyo prestado para la realización del presente proyecto.

*“Escribir no es cuestión de ganar
dinero o hacerse famoso.
Es enriquecer las vidas de las
personas que te leen y al mismo
tiempo enriquecer la tuya.
Es levantarse, recuperarse
y superarse. Es ser feliz.”*

STEPHEN KING

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	14
ABSTRACT.....	16
CAPÍTULO I. Introducción.....	17
Objetivos de la Disertación.....	20
1.1 El Agua.....	21
1.1.1 El agua y su importancia en el planeta y en la vida.....	21
1.1.2 Estructura y propiedades.....	22
1.1.3 Abundancia y ciclo del agua.....	24
1.1.4 Usos del agua.....	26
1.1.5 Agua subterránea.....	27
1.2 El Arsénico.....	30
1.2.1 Origen y abundancia.....	30
1.2.2 Propiedades.....	31
1.2.3 Usos del arsénico. Fuente antropogénica de contaminación.....	33
1.2.4 Toxicidad.....	34
1.2.5 Niveles de exposición y niveles máximos permitidos.....	36
1.2.6 Forma de contaminación de aguas subterráneas con arsénico.....	37
1.2.7 Antecedentes de contaminación en Ecuador.....	39
1.3 El Mercurio.....	42

1.3.1 Origen y abundancia.....	42
1.3.2 Propiedades.....	43
1.3.3 Usos del mercurio. Fuente antropogénica de contaminación.....	45
1.3.4 Toxicidad.....	47
1.3.5 Niveles de exposición y niveles máximos permitidos.....	49
1.3.6 Formas de contaminación de aguas subterráneas con mercurio.....	50
1.3.7 Antecedentes de contaminación en Ecuador.....	52
1.4 Espectrofotometría de Absorción Atómica.....	54
1.4.1 Instrumentación.....	54
1.4.1.1 Fuentes de radiación.....	54
1.4.1.2 Atomización de la muestra.....	56
1.4.2 Métodos de cuantificación.....	57
1.4.3 Interferencias analíticas.....	58
1.5 Validación de Métodos Analíticos.....	60
1.5.1 Parámetros de validación.....	60
1.5.1.1 Especificidad o Selectividad.....	60
1.5.1.2 Linealidad.....	61
1.5.1.3 Sensibilidad.....	62
1.5.1.5 Límite de detección.....	62
1.5.1.5 Límite de cuantificación.....	63
1.5.1.6 Exactitud.....	63
1.5.1.7 Precisión.....	65

CAPÍTULO II. Materiales y Métodos.....	67
2.1 Equipos, materiales y reactivos.....	67
2.2 Validación del método para determinación de arsénico.....	69
2.3 Validación del método para determinación de mercurio.....	73
2.4 Muestreo de tanques de almacenamiento.....	77
2.5 Lectura de muestras y preparación de fortificaciones.....	78
CAPÍTULO III. Resultados y Discusión.....	80
3.1 Validación del método analítico para arsénico.....	80
3.2 Validación del método analítico para mercurio.....	96
3.3 Lectura de arsénico en muestras.....	111
3.4 Lectura de mercurio en muestras.....	113
CAPÍTULO IV. Conclusiones y Recomendaciones.....	115
6.1 Conclusiones.....	115
6.2 Recomendaciones.....	117
CAPITULO V. Bibliografía.....	119
ANEXOS.....	123

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Principales propiedades del agua.....	24
Tabla 1.2 Concentración de arsénico en el medio ambiente.....	31
Tabla 1.3 Principales propiedades del arsénico.....	32
Tabla 1.4 Compuestos de mercurio más comunes en la corteza terrestre.....	43
Tabla 1.5 Principales propiedades del mercurio.....	45
Tabla 1.6 Diagnóstico de la contaminación por mercurio.....	52
Tabla 2.1 Condiciones operacionales para arsénico.....	73
Tabla 2.2 Condiciones operacionales para mercurio.....	76
Tabla 2.3 Agrupamiento de tanques de almacenamiento para el muestreo.....	77
Tabla 2.4 Cronograma de muestreo.....	78
Tabla 3.1 Datos de la curva de calibración para verificar el rango lineal (As).....	81
Tabla 3.2 Datos del primer día de validación (As).....	82
Tabla 3.3 Datos del segundo día de validación (As).....	83
Tabla 3.4 Datos del tercer día de validación (As).....	84
Tabla 3.5 Datos del cuarto día de validación (As).....	85
Tabla 3.6 Datos del quinto día de validación (As).....	86
Tabla 3.7 Lecturas de blancos (As).....	89
Tabla 3.8 Valores obtenidos en la prueba F.....	91
Tabla 3.9 Datos para la repetibilidad (As).....	91
Tabla 3.10 Datos para la reproducibilidad entre días (As).....	92
Tabla 3.11 Resumen de la exactitud del método (As).....	92
Tabla 3.12 Valores del intervalo de confianza de la curva de calibración (As).....	93
Tabla 3.13 Resumen de los datos obtenidos en la validación (As).....	95

Tabla 3.14	Datos para determinar el rango lineal (Hg).....	96
Tabla 3.15	Datos del primer día de validación (Hg).....	98
Tabla 3.16	Datos del segundo día de validación (Hg).....	99
Tabla 3.17	Datos del tercer día de validación (Hg).....	100
Tabla 3.18	Datos del cuarto día de validación (Hg).....	101
Tabla 3.19	Datos del quinto día de validación (Hg).....	102
Tabla 3.20	Lecturas de blancos (Hg).....	104
Tabla 3.21	Valores obtenidos en la prueba F	106
Tabla 3.22	Datos para la repetibilidad de cada día (Hg).....	106
Tabla 3.23	Datos para la reproducibilidad entre días (Hg).....	107
Tabla 3.24	Resumen de la exactitud del método (Hg).....	107
Tabla 3.25	Valores del intervalo de confianza de la curva de calibración (Hg).....	108
Tabla 3.26	Resumen de los datos obtenidos en la validación (Hg).....	110
Tabla 3.27	Curvas de calibración semanales para lectura de As en muestras.....	111
Tabla 3.28	Resultados de As en las muestras de agua en $\mu\text{g/L}$	112
Tabla 3.29	Curvas de calibración semanales para lectura de Hg en muestras.....	113
Tabla 3.30	Resultados de Hg en las muestras de agua en $\mu\text{g/L}$	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Estructura química del agua.....	23
Figura 1.2 Ciclo hidrológico del agua.....	26
Figura 1.3 Porcentaje de uso del agua a nivel mundial.....	27
Figura 1.4 Concentración de Arsénico en el agua de la laguna de Papallacta.....	40
Figura 1.5 Concentración de Arsénico en sedimentos de la laguna de Papallacta.....	40
Figura 1.6 Esquema de una lámpara de cátodo hueco.....	55
Figura 1.7 Lámpara de descarga sin electrodos.....	55
Figura 2.1 Sistema de generación de hidruros MHS 15.....	72
Figura 3.1 Rango Lineal para el Arsénico.....	81
Figura 3.2 Curva de calibración del día 1 (As).....	82
Figura 3.3 Curva de calibración del día 2 (As).....	83
Figura 3.4 Curva de calibración del día 3 (As).....	84
Figura 3.5 Curva de calibración del día 4 (As).....	85
Figura 3.6 Curva de calibración del día 5 (As).....	86
Figura 3.7 Regresión lineal global validación Arsénico.....	87
Figura 3.8 Intervalo de Confianza Arsénico.....	94
Figura 3.9 Rango lineal para el Mercurio.....	97
Figura 3.10 Curva de calibración del día 1 (Hg).....	98
Figura 3.11 Curva de calibración del día 2 (Hg).....	99
Figura 3.12 Curva de calibración del día 3 (Hg).....	100
Figura 3.13 Curva de calibración del día 4 (Hg).....	101
Figura 3.14 Curva de calibración del día 5 (Hg).....	102
Figura 3.15 Regresión lineal global validación mercurio.....	103

Figura 3.16 Intervalo de Confianza Mercurio.....	109
Figura 3.17 Curva global de calibración de As de las 8 semanas de análisis.....	111
Figura 3.18 Curva global de calibración de Hg de las 8 semanas de análisis.....	113

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Solicitud al Municipio de Rumiñahui para realizar el proyecto.....	123
Anexo 2. Autorización del Municipio de Rumiñahui a la toma de muestras.....	124
Anexo 3. Certificado de análisis Arsénico.....	125
Anexo 4. Certificado de análisis Mercurio.....	126
Anexo 5. Reporte de calibración micropipeta 10 – 100 μ L.....	127
Anexo 6. Reporte de calibración micropipeta 100 – 1000 μ L.....	128
Anexo 7. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 108:2011 Agua Potable Requisitos.....	129
Anexo 8. Datos obtenidos en el análisis de As en las muestras durante 8 semanas.....	130
Anexo 9. Tablas semanales de fortificación de muestras con arsénico.....	132
Anexo 10. Datos obtenidos en el análisis de Hg en las muestras durante 8 semanas.....	136
Anexo 11. Tablas semanales de fortificación de muestras con mercurio.....	138

RESUMEN

El presente proyecto consistió en determinar la cantidad de arsénico y mercurio presente en el agua de consumo distribuida a la población del cantón Rumiñahui. Para ello la técnica instrumental escogida fue espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros. Para la preparación de los estándares y demás soluciones necesarias, se trabajó con el proceso indicado en el catálogo del sistema generador de hidruros MHS 15 del equipo Perkin Elmer AAnalyst 400 complementado con el Standard Methods.

Previo a la cuantificación de arsénico y mercurio en las muestras de agua, se procedió a la validación de los métodos, preparando curvas de calibración con 5 concentraciones diferentes más un blanco en un tiempo establecido de 5 días. Posteriormente se realizó el análisis de los resultados obtenidos, estableciéndose que el método para determinación de arsénico se validó en un rango de 2,5 a 20 $\mu\text{g/L}$ obteniéndose un límite de detección de 0,39 $\mu\text{g/L}$ y un límite de cuantificación de 1,19 $\mu\text{g/L}$. Para el mercurio el límite de detección que se calculó es 0,14 $\mu\text{g/L}$ y el de cuantificación 0,42 $\mu\text{g/L}$ y el método se validó para un rango de 1 a 10 $\mu\text{g/L}$.

El muestreo del agua se realizó por ocho semanas en todos y cada uno de los 16 tanques de almacenamiento que están distribuidos a lo largo de todo el cantón Rumiñahui y las lecturas tanto de arsénico como de mercurio fueron realizadas también de manera semanal.

Además se realizó la lectura de muestras fortificadas con el objeto de determinar el porcentaje de recuperación el cual se encuentra dentro del rango de 95 a 105% tanto para el arsénico como para el mercurio. No se registraron niveles de arsénico o mercurio

superiores al límite de detección en ninguna muestra, por lo que como resultado final del estudio se establece que las muestras de agua de consumo del cantón Rumiñahui poseen un nivel menor a 1,19 $\mu\text{g As/L}$ y menor a 0,42 $\mu\text{g Hg/L}$

Palabras claves: Agua subterránea, Absorción Atómica, Arsénico, Mercurio, Validación, Cantón Rumiñahui.

ABSTRACT

This project was developed to determine arsenic and mercury amount that occurs in drinking water that is distributed along Rumiñahui town. Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry was the selected instrumental technique in order to achieve the main objective. The MHS 15 Hydride Generation Method corresponding to the Perkin Elmer AAnalyst 400 equipment was followed to prepare all necessary standards and solutions.

Before quantifying arsenic and mercury in water samples, it was necessary to perform the analytical method validation by preparing calibration curves. Five different concentrations were prepared and read during five days. After that, statistical analysis of results was performed. Arsenic method was validated between 2.5 and 20 $\mu\text{g/L}$ concentrations. The calculated limit of detection was 0.39 $\mu\text{g/L}$ and the limit of quantitation was 1.19 $\mu\text{g/L}$. Mercury analysis method was validated between 1 and 10 $\mu\text{g/L}$. The calculated limit of detection was 0.14 $\mu\text{g/L}$ and the limit of quantitation was 0.42 $\mu\text{g/L}$.

Sampling was developed in all 16 storage tanks which are distributed along Rumiñahui town for eight weeks, and measurements were made weekly. Moreover, fortified samples measurements were carried out in order to establish percent recovery. The results were between 95 and 105% for both arsenic and mercury. Samples did not have arsenic or mercury amounts above detection limits. As a result, the final project report showed that drinking water samples had less than 1.19 $\mu\text{g As/L}$ and less than 0.42 $\mu\text{g Hg/L}$ levels.

Keywords: Groundwater, Atomic Absorption, Arsenic, Mercury, Validation, Rumiñahui town.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental por metales pesados es una problemática mundial. La actividad humana ha generado la liberación de toneladas de contaminantes en el planeta a través de los años y, en varias ocasiones se han presentado muertes de personas como consecuencia de la contaminación severa de aguas y suelos. En particular, el arsénico y mercurio son dos elementos sumamente tóxicos, los cuales se hallan dispersados en el planeta, debido a la presencia de depósitos naturales de minerales asociados a los dos elementos o debido a la actividad volcánica, pero también a causa del mal manejo de desechos y la actividad industrial imprudente, que hace que sus concentraciones aumenten de manera indiscriminada en el ambiente y que muchas veces tiene como consecuencia la intoxicación severa de poblaciones cercanas.

El recurso más importante para toda forma de vida, el agua, es el que mayor susceptibilidad presenta a la contaminación con arsénico y mercurio. Los ríos y lagos de ciertas partes del mundo, sobre todo en países industrializados, presentan antecedentes de contaminación. Las aguas subterráneas no son una excepción y también son una fuente de estos dos contaminantes, de los cuales muchas veces no se conoce su existencia [11].

En países como China, Taiwán, Estados Unidos, Argentina, Chile y México existen acuíferos que son utilizados por la población como fuente de agua consumible y que están contaminados con arsénico. El mercurio también ha causado estragos, como por ejemplo en la población de Minamata en Japón, en donde miles de personas han muerto debido a la

ingestión de pescado contaminado con mercurio el mismo que es absorbido del agua [12, 13].

El Ecuador no ha estado exento de este tipo de problemática ambiental y hace algunos años en los poblados de Guayllabamba y Tumbaco se registró un nivel elevado de arsénico en agua potable, como también en la laguna de Papallacta. En el primer caso los pobladores consumieron normalmente el agua por un tiempo indefinido, sin conocer que estaban ingiriendo un elemento altamente tóxico que pudo afectar su salud, por lo que se conformó un comité que busca remediar la situación y tener una fuente de agua confiable [18]. En el caso del mercurio, también se han realizado estudios en varios lugares del país donde la actividad minera es elevada, concretamente Portovelo, Zaruma, Ponce Enríquez, donde también los resultados muestran altas concentraciones de mercurio en agua de ríos y sedimentos, por lo que la población también se encuentra expuesta [28].

Considerando que en el cantón Rumiñahui, perteneciente a la provincia de Pichincha, se extrae agua subterránea para distribuirla a toda la población y en vista de los antecedentes antes detallados, nace la idea del presente proyecto, teniendo como principal meta el análisis de arsénico y mercurio por el método de espectrofotometría de absorción atómica, en los 16 tanques de almacenamiento que están distribuidos a lo largo de todo el cantón y que abastecen del líquido vital a aproximadamente 50 000 habitantes.

La presente monografía consta de cinco capítulos. En el primero se encuentra la revisión bibliográfica de los temas involucrados en el proyecto como son: el agua, su importancia, propiedades, usos y contaminación. El arsénico y mercurio, sus fuentes, propiedades y toda la problemática ambiental que ocasionan. La espectrofotometría de absorción atómica

como técnica analítica utilizada y por último todos los parámetros que se deben tomar en cuenta para validar un método analítico. En el capítulo dos se detalla la información de los materiales y métodos utilizados a lo largo del desarrollo del proyecto. En el tercero se indican todos los datos y resultados obtenidos luego de la validación del método y el análisis de las muestras de agua, así como también la discusión de los mismos. En el cuarto capítulo se detallan las conclusiones del proyecto y las recomendaciones. El capítulo cinco describe la bibliografía utilizada para la realización del proyecto y, finalmente se encuentran los anexos.

OBJETIVOS DE LA DISERTACIÓN

OBJETIVO GENERAL

- Determinar arsénico y mercurio en el agua de consumo que se distribuye al Cantón Rumiñahui, utilizando la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica con generación de hidruros para el arsénico y de vapor frío para el mercurio.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Validar el método de determinación de mercurio en un rango de 1 a 10 $\mu\text{g/L}$ y de arsénico en un rango de 2,5 a 25 $\mu\text{g/L}$, obteniendo curvas de calibración que sean lineales, con un coeficiente de determinación (r^2) mayor que 0,995 para ambos métodos. Calcular los límites de detección y de cuantificación de los de los métodos validados y evaluar su exactitud y precisión. Obtener un porcentaje de recuperación del arsénico y mercurio que esté dentro del rango de 95 a 105%.
- Cuantificar la concentración o determinar la ausencia de arsénico y mercurio en las muestras de agua de los 16 tanques de almacenamiento que posee el Cantón Rumiñahui.
- Verificar la calidad del agua de consumo comparando los valores de arsénico y mercurio presentes con los límites estipulados en las normas vigentes.

1.1 EL AGUA

1.1.1 EL AGUA Y SU IMPORTANCIA EN EL PLANETA Y EN LA VIDA

El agua es uno de los compuestos químicos y el recurso renovable más trascendental para toda forma de vida conocida sobre la Tierra. Constituye aproximadamente el 72% de la superficie terrestre y es la única sustancia que se presenta en el planeta en los tres estados: sólido, líquido y gaseoso. Toda materia viviente incluye en su composición un alto porcentaje de agua y necesita proveerse siempre de una cantidad importante de este líquido para poder subsistir. El ser humano, por ejemplo, tiene en su organismo entre un 60 y 70% de agua, una planta puede tener hasta un 90%, bacterias como la *Escherichia coli* 70% y una medusa entre 94 y 98% [1].

El agua tiene muchas propiedades que son vitales para la proliferación de la vida. Dentro del organismo humano, es esencial para los procesos metabólicos. Casi todas las funciones de nutrición y excreción se basan en el agua, ya que muchos solutos del cuerpo son solubles en ella. Dentro de las principales funciones que cumple el agua en el cuerpo humano están [2]:

- Ayuda a eliminar los productos del metabolismo como por ejemplo el exceso de electrolitos (sodio y potasio) y la urea.
- Regula la temperatura del cuerpo a través de la sudoración.
- Ayuda a la digestión.
- Humecta la piel y mantiene su textura.
- Lleva oxígeno y nutrientes a las células.

- Lubrica y amortigua las articulaciones.
- Humedece las mucosas de la boca y pulmones.

El agua también es fundamental para la realización de la fotosíntesis ya que actúa como fuente de oxígeno en la foto descomposición atmosférica y además transporta nutrientes dentro de las plantas [2].

Además de cumplir funciones de vital importancia dentro de los seres vivos, el agua también aporta para que en nuestro planeta ocurran fenómenos que nos mantienen vivos. Así, por ejemplo, regula la temperatura de la Tierra, permite transferir calor en los procesos industriales, determina la fertilidad agrícola y ha dado origen a los asentamientos humanos, las ciudades y los puertos [3].

1.1.2 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

El agua es un líquido incoloro, inodoro e insípido compuesto de dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno unidos por enlaces covalentes. Es una molécula fuertemente dipolar debido a que está cargada positivamente del lado del hidrógeno y negativamente del lado del oxígeno. Debido a esta característica, el agua tiene poder de rodear un catión con la parte negativa de su molécula y rodear a un anión con la parte positiva. De esta manera, neutraliza las fuerzas de atracción y disuelve el ión. Por esta razón, al agua se la conoce como el solvente universal. Además, los dos átomos de hidrógeno están localizados del mismo lado del átomo de oxígeno, separados por 105° entre sí, como se puede observar en la figura 1.1 [4].

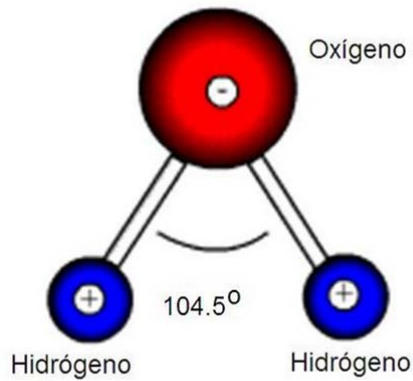


Figura 1.1 Estructura química del agua [5]

Al ser el oxígeno un átomo fuertemente electronegativo, atrae a los electrones del hidrógeno de las moléculas de agua vecinas y forma lo que se conoce como puente de hidrógeno. Esta atracción dipolo-dipolo entre moléculas de agua es muy fuerte por lo cual en estado líquido presenta una tensión superficial alta lo cual le permite ascender por las paredes de un capilar [4].

El agua es una de las sustancias con mayor calor específico, por tanto su capacidad calórica es muy grande, es decir que se requiere mucho calor para elevar su temperatura y se desprende mucho calor cuando baja su temperatura. La tabla 1.1 muestra las principales propiedades del agua con sus respectivos valores [5].

Tabla 1.1 Principales propiedades del agua [5]

Propiedad	Valor
Color	Ninguno
Olor	Ninguno
Sabor	Ninguno
Masa molecular	18 g
Punto de fusión (1 atm)	0°C
Punto de ebullición (1 atm)	100°C
Calor específico	4,184 J/g °C
Calor de fusión (0°C)	79,9 kcal/kg
Calor de evaporación (100°C)	539 kcal/kg
Conductividad térmica (20°C)	0,00141 cal/s·cm·K
Conductividad eléctrica (20°C)	59,8 /cm
Densidad del hielo (0°C)	0,9168 kg/L
Densidad líquido (4°C)	1 kg/L

1.1.3 ABUNDANCIA Y CICLO DEL AGUA

Del total de agua del planeta, solo el 0,7% es apto para el consumo humano. El 97,6% es salada y está agrupada en los mares y tan solo el 2,4% es dulce. El 77,9% del total de agua dulce está congelada en los glaciares y casquetes polares, una cantidad muy pequeña, 0,01% está localizada en los ríos y lagos fácilmente accesibles y el 21,4% es agua subterránea [1].

A pesar de que es poca la cantidad de agua aprovechable, actualmente todavía es suficiente para las actividades humanas. Sin embargo, hay dos problemáticas al respecto de la disponibilidad de agua dulce. Primero, existe una distribución irregular en el planeta y segundo, hay problemas de contaminación que ocasionan que las regiones que tienen suficiente agua, no la puedan consumir por tener baja calidad [1].

En América Latina, por ejemplo, vive el 6% de la población mundial y esta región posee el 26% de agua dulce disponible en la tierra. Se calcula que el promedio de disponibilidad de agua en países como Perú, Chile, Ecuador y Bolivia asciende a 500 m³ por habitante al año. No obstante, la demanda de agua cada vez es mayor debido al crecimiento de las ciudades, pero lamentablemente los ríos de esta región han sufrido degradaciones como consecuencia de las aguas residuales no tratadas, el uso de agroquímicos, la actividad minera y la explotación de petróleo [1].

La cantidad total de agua permanece en constante equilibrio, esto debido a que cumple un ciclo ininterrumpido. El agua del mar se evapora y pasa a formar parte de la humedad atmosférica. A temperaturas bajas el agua en estado gaseoso se condensa en forma de pequeñas gotitas que constituyen las nubes. Estas gotitas se aglomeran y precipitan hacia la superficie. Una parte queda en los ríos, mares y lagos y otra parte se infiltra a través de los estratos permeables del suelo y se almacena en forma subterránea, la cual retorna a los océanos, completándose de esta manera el ciclo del agua, mismo que se puede observar con más detalle en la figura 1.2 [3].



Figura 1.2 Ciclo hidrológico del agua [7]

1.1.4 USOS DEL AGUA

El agua en el mundo es utilizada ampliamente para diferentes actividades, mismas que están detalladas en la figura 1.3. Debido a que la agricultura es la principal fuente de alimentos, el consumo de agua en esta actividad es alto. Se estima que alrededor del 77% de agua es utilizada en el cultivo de alimentos. Para el abastecimiento público es destinado el 14%, para la industria el 5% y un 4% para las hidroeléctricas [1].

De todas estas actividades, la más importante y la que más concierne a los gobiernos en general es el consumo humano, puesto que para ello el agua debe cumplir con ciertos requisitos y estándares de calidad los cuales garantizan que el agua no presenta riesgo alguno para la población [1].

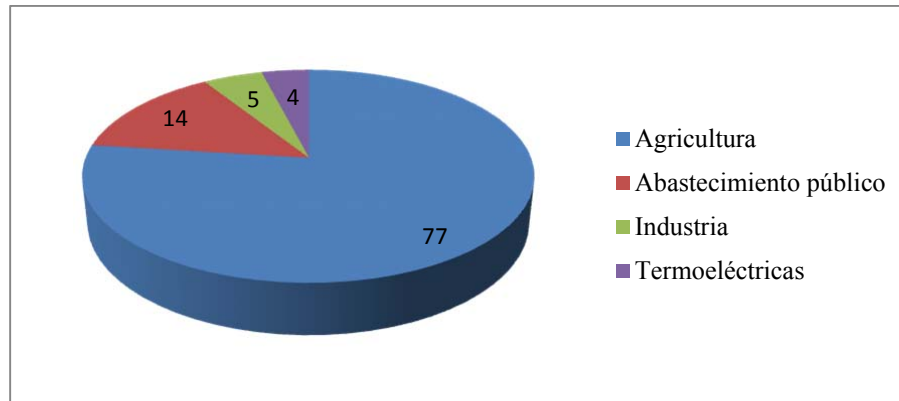


Figura 1.3 Porcentaje de uso del agua a nivel mundial [1]

1.1.5 AGUA SUBTERRÁNEA

Como parte del ciclo hidrológico, el agua proveniente de las precipitaciones se infiltra en el suelo y va ocupando poros, grietas o hendiduras. El espacio bajo tierra en el cual los poros y cavidades están llenos de agua se lo llama la zona de saturación y toda el agua contenida allí se llama agua subterránea. Las zonas que contienen una cantidad considerable de agua bajo tierra se llaman acuíferos. La cantidad de agua subterránea existente en el mundo es 20 veces mayor que la cantidad de agua superficial, por lo que constituye una fuente muy importante [3].

Agua subterránea puede hallarse en cualquier lugar, a pocos metros por debajo de la superficie o a cientos de metros, dependiendo de la permeabilidad que presente el suelo que atraviesa. Esta agua fluye lentamente y con el paso del tiempo puede regresar a la superficie a través de los manantiales, desembocar en ríos u océanos, o puede ser extraída mediante la construcción de pozos. En ocasiones también se pueden formar ríos subterráneos [3].

El agua subterránea cumple una función importante en el medio ambiente, pues en épocas poco lluviosas alimenta a los ríos, lagos y humedales. Además es una buena opción como fuente de abastecimiento de agua en muchos países. Ecuador no es la excepción, las aguas subterráneas constituyen un recurso significativo en el país, puesto que existen zonas ricas en calidad y cantidad como por ejemplo, Babahoyo, Golfo de Guayaquil y algunos valles interandinos como los de Quito, Cayambe y Machachi [9, 11].

En general, las aguas subterráneas presentan las siguientes características [11]:

- Están presentes en todas las áreas, incluso en las que hay escasez de agua superficial.
- La calidad es usualmente buena y no requiere mayor tratamiento para hacerla apta para el consumo humano.
- Están disponibles todo el tiempo, incluso en épocas de ausencia de lluvias.
- Están libres de color, bacterias y material en suspensión gracias al proceso de infiltración.

CONTAMINACIÓN DEL AGUA SUBTERRÁNEA: la contaminación de un acuífero puede darse de manera natural o como resultado de la actividad del hombre. El agua subterránea puede contener cantidades variables de materia disuelta proveniente de los estratos a través de los cuales atraviesa. Existen elementos que pueden encontrarse de manera natural en suelo y rocas como por ejemplo, manganeso, cloruros, arsénico, fluoruros y sulfatos, los cuales pueden disolverse en el agua.

La mayor fuente de contaminación de aguas subterráneas es antropogénica y se da por el mal manejo principalmente de productos químicos y desechos contaminantes. Todas estas

sustancias pueden penetrar el suelo y alcanzar un acuífero. Entre las mayores causas de contaminación de agua subterránea se pueden mencionar las siguientes [11]:

- Construcción oleoductos y tanques subterráneos de almacenamiento de hidrocarburos.
- Pozos sépticos mal contruidos.
- Rellenos sanitarios sin una capa apropiada que impida la filtración de contaminantes al suelo.
- Uso de fertilizantes y pesticidas en actividades agrícolas.
- Derrames de petróleo.
- Procesos inapropiados en minería.
- Construcción de pozos inapropiados para extraer agua subterránea.
- Descarga de efluentes provenientes de industrias.

Como efecto de estas actividades el agua subterránea puede sufrir severas alteraciones, convirtiéndose en agua no segura para el consumo humano especialmente. Dependiendo del tipo de contaminante, se necesitaría un proceso complicado de descontaminación del agua o podría descartarse definitivamente el acuífero como fuente de agua para el consumo humano. Además, debido a que el agua subterránea fluye lentamente, las sustancias contaminantes pueden permanecer largos períodos de tiempo dentro del acuífero sin ser detectadas y posteriormente el tratamiento del agua podría ser más costoso [11].

1.2 EL ARSÉNICO

1.2.1 ORIGEN Y ABUNDANCIA

La existencia del arsénico se remonta a la formación del sistema solar. Su síntesis se dio en estrellas rojas gigantes y supernovas y posteriormente condensó en estrellas y planetas. Ha sido detectado en las atmósferas de Júpiter y Saturno así como también en meteoritos y rocas lunares [12].

En nuestro planeta está presente de manera natural en todas partes del medio ambiente, en sus formas inorgánica y orgánica. Se encuentra ampliamente distribuido geológicamente, formando parte de alrededor de 250 diferentes minerales, los cuales incluyen arseniatos (60%), sulfuros y sulfosales (20%) y una cantidad menor de arseniuros, óxidos y silicatos. Su abundancia promedio en la corteza terrestre es de 2 ppm, en suelos es de 5 a 13 ppm y en agua subterránea es menor a 0,1 ppm aproximadamente [12].

La tabla 1.2 muestra los valores de concentración de arsénico en el medio ambiente.

Tabla 1.2 Concentración de arsénico en el medio ambiente [13]

Medio	Concentración
Aire	1,5 – 53 ng/m ³
Lluvia	0,46 µg/L
Ríos	0,20 – 264 µg/L
Lagos	0,38 – 1000 µg/L
Agua subterránea (pozos)	1,0 – 1000 µg/L
Agua marina	0,15 – 6 µg/L
Suelo	0,1 – 1000 mg/kg
Sedimentos de ríos	5,0 – 4000 mg/kg
Sedimentos de lagos	2,0 – 300 mg/kg
Rocas ígneas	0,3 – 113 mg/g
Rocas metamórficas	0,0 – 143 mg/kg
Rocas sedimentarias	0,1 – 490 mg/kg

1.2.2 PROPIEDADES

El arsénico forma parte de los denominados metaloides o semimetales, ya que posee propiedades intermedias entre metales y no metales. Es el tercer elemento del grupo VA (15) de la tabla periódica, y su símbolo es As. En su forma natural puede presentarse en tres estados alotrópicos: negro, amarillo y gris, siendo este último el más estable. Es soluble en agua [13]. En la tabla 1.3 se puede observar detalladamente las principales propiedades del arsénico.

Tabla 1.3 Principales propiedades del arsénico [12]

Propiedad	Valor
Símbolo Químico	As
Número Atómico	33
Peso Atómico	74,922
Punto de Fusión	614°C
Punto de Ebullición	817°C
Densidad	5,72 g/cm ³
Estados de Oxidación	±3, 5
Electronegatividad	2,18
Radio Covalente	1,19 Å
Radio Atómico	1,39 Å
Configuración Electrónica	[Ar] 4s ² 3d ¹⁰ 4p ³
Grupo, período y bloque	15, 4, p
Electrones por nivel	2, 8, 18, 5

La forma predominante de arsénico entre pH 3 y pH 7 es $\text{H}_2\text{AsO}_4^{-2}$, entre pH 7 y pH 11 es HAsO_4^{-2} y bajo condiciones reductoras es HAsO_2 acuoso o H_3AsO_3 . El arsénico acuoso en forma de arsenito, arseniato y compuestos órgano arsenicales, puede ser resultado de disolución mineral, descargas industriales o utilización de pesticidas. La forma química del arsénico depende de la fuente. Así, el arsénico inorgánico viene de los minerales, descargas industriales y pesticidas y el arsénico orgánico viene de la acción biológica sobre arsénico inorgánico [10].

1.2.3 USOS DEL ARSÉNICO. FUENTE ANTROPOGÉNICA DE CONTAMINACIÓN

El arsénico ha sido utilizado por el ser humano por siglos, tal es así que existen indicios de que en el siglo VIII, alquimistas árabes y persas al notar que los compuestos arsenicales como el oropimente (As_2S_3) y la arsenolita (As_2O_3) eran venenosos, los usaban como escabicidas y pesticidas. Incluso llegaron a utilizarlo en dosis muy bajas, como cura para enfermedades pulmonares, dolor de garganta, asma y tos [12].

Con el paso del tiempo, el ser humano encontró múltiples aplicaciones y usos de los compuestos arsenicales, entre los cuales podemos citar los siguientes [12]:

- Aditivos en pesticidas, insecticidas, herbicidas y fertilizantes.
- Proceso de elaboración de pigmentos, pinturas, colorantes, vidrio, papel, y adhesivos.
- Agentes para aleaciones.
- Fabricación de transistores, láseres y semiconductores.
- Preservantes para madera.
- Fabricación de municiones y armamento pesado.
- Aditivos en la industria del cuero.
- Como componente de los fluidos utilizados para embalsamar.

Todas estas actividades generaron que se liberen enormes cantidades de arsénico al medio ambiente, debido al mal manejo de los desechos generados en las industrias. Una vez que la toxicidad y peligrosidad de los compuestos arsenicales fue comprobada, muchas

agencias reguladoras, personal médico y ambientalistas, tomaron conciencia de la importancia de controlar el uso del arsénico y de monitorear las posibles fuentes de contaminación a fin de evitar problemas mayores [12].

A finales del siglo XIX, la USEPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) y la Organización Mundial de la Salud (WHO) se mostraron preocupadas por el posible impacto del arsénico liberado en la salud de los seres humanos y en el medio ambiente. Tal es así que agencias regulatorias en algunos países han considerado el gran riesgo del uso de este elemento y han restringido su uso. A pesar de esto la contaminación generada con el paso de los años ya está ampliamente extendida [12, 14].

1.2.4 TOXICIDAD

El arsénico es una de las 10 sustancias químicas que la Organización Mundial de la Salud considera más preocupantes para la salud pública. Desde 1980, ha sido clasificado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) y por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) como carcinógeno para los humanos, después de varios estudios los cuales demostraron que el arsénico genera un alto riesgo de que se desarrolle cáncer en algunos sitios del organismo, particularmente en la piel, pulmones y vejiga. Además, estudios en las poblaciones de Taiwán y China mostraron una estrecha relación entre la ingesta de arsénico y varias enfermedades como la diabetes mellitus, hipertensión, anemia, desórdenes hepáticos, mortalidad infantil, así como efectos mutagénicos y teratogénicos [15].

En la mayoría de casos la ingesta de arsénico se dio a través de agua contaminada, por ejemplo en Taiwán, China, Vietnam, Chile, Argentina, México, Bangladesh, Estados Unidos, sitios en los cuales aproximadamente existen 1'200 000 personas que están siendo afectadas por el consumo de agua con arsénico. Como resultado de los estudios realizados, se estableció que en los lugares cercanos a zonas industrializadas pertenecientes a los países antes mencionados, existe una alta exposición al arsénico y un alto índice de cáncer a la vejiga, especialmente en hombres. Este tipo de cáncer es el séptimo más común en el mundo, reportándose alrededor de 250 000 casos y 115 000 decesos por esta causa cada año, como consecuencia de la acción carcinógena del arsénico. Además la exposición a 0,05 mg As/L puede causar 31 casos de cáncer de piel por cada 1000 habitantes [15].

De todos los compuestos arsenicales, la arsina (AsH_3) es la forma más tóxica, seguido de los arsenitos (As III), arseniatos (As V) y los compuestos orgánicos que poseen arsénico en su estructura. La agudeza de la toxicidad depende de la velocidad con la que el organismo humano es capaz de eliminar el compuesto. La toxicidad del arsénico trivalente es 10 veces mayor que la del pentavalente y su dosis letal para el ser humano varía entre 1 – 4 mg As III/kg de masa corporal. El arsénico elemental no es absorbido casi en su totalidad y es eliminado sin que se generen cambios. Entre el 80 y 90 % del arsénico inorgánico es fácilmente absorbido por el intestino, luego pasa al torrente sanguíneo, se une a la hemoglobina después de 24 horas y llega directamente al hígado, músculos, riñones, bazo, páncreas y piel. Allí permanece entre 2 y 40 días antes de ser eliminado del organismo a través de la orina. El arsénico orgánico es rápidamente eliminado cerca de su totalidad por los riñones. Cuando la ingesta es mayor a la excreción, el arsénico se acumula en el pelo y las uñas. Una dosis muy elevada puede comprometer el sistema nervioso central, ocasionar estado de coma y posteriormente la muerte [15].

El arsénico dentro del organismo actúa de diferentes maneras dependiendo de su estado de oxidación. El arsénico trivalente inhibe la actividad de muchas enzimas, debido a su alta afinidad con los grupos tioles de las proteínas. El comportamiento del arsénico pentavalente es similar al de los fosfatos, por lo cual las enzimas pueden aceptar los arseniatos e incorporarlos como si fuesen adenosín tri fosfato (ATP), lo cual produce que se desactive la síntesis de esta molécula [14, 16].

Los primeros síntomas de una intoxicación aguda y prolongada con arsénico incluyen dolor abdominal, vómito, diarrea, dolor muscular, debilidad, lagrimeo. Posteriormente se presenta entumecimiento y hormigueo de las extremidades, calambres, erupciones en la piel, hiperqueratosis (engrosamiento de la piel), deterioro de las funciones sensitivas, hiperpigmentación, enfermedades cardiovasculares como la enfermedad del pie negro (inflamación de los vasos sanguíneos que causa gangrena) y problemas renales [15].

1.2.5 NIVELES DE EXPOSICIÓN Y NIVELES MÁXIMOS PERMISIBLES

AIRE: se han realizado mediciones de arsénico en áreas rurales, encontrándose rangos de 0,02 a 4 ng/m³, en áreas urbanas de 3 a 200 ng/m³ y en áreas aledañas a industrias se han encontrado niveles superiores a 1000 ng/m³ [14].

AGUA: en aguas naturales el rango va de 1 a 2 µg/L, sin embargo en áreas bajo la influencia de actividad volcánica, en las cuales el recurso natural de arsénico es mayor, el valor es superior a 12 mg/L. Zonas cercanas a industrias agroquímicas y minas reportan un valor entre 500 µg y 25 mg/L. En sedimentos de lagos contaminados el nivel puede llegar a 3000 mg/kg [14].

ALIMENTOS: los mariscos y el pescado son la principal fuente de arsénico, obteniéndose valores de 0,4 a 118 mg/kg. En el caso de carnes y aves de corral el nivel oscila los 0,44 mg/kg [14].

Varias organizaciones a nivel mundial han planteado límites máximos de concentración de arsénico con el objeto de preservar la salud de la población y la integridad del medio ambiente. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), plantea un rango de 72 a 140 µg/L en lagos, ríos y océanos para preservar la vida acuática. La Organización de las Naciones Unidas para Alimentos y Agricultura establece un límite de 100 µg/L para aguas de irrigación. En lo que respecta a aguas de consumo, la USEPA establece un nivel máximo de 0,05 mg/L, la OMS 0,01 mg/L al igual que la Comunidad Europea [14]. En el Ecuador existe la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Recurso Agua año 2010, la cual establece un límite de 0,05 mg/L para aguas de uso humano y uso doméstico y 0,035 mg/L para aguas subterráneas. También está vigente la Norma INEN 1 108:2011, cuarta revisión, que establece un valor máximo de 0,01 mg/L para el agua potable.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la ingesta máxima permitida de arsénico para una adulto es de 16,7 a 129 µg/kg de masa corporal y de 1,26 a 15,5 µg/kg para niños [10, 14].

1.2.6 FORMAS DE CONTAMINACIÓN DEL AGUA SUBTERRÁNEA CON ARSÉNICO

La contaminación de agua de pozos con arsénico es una de las más serias amenazas a la salud humana y el medio ambiente a nivel mundial, existiendo cerca de 150 millones de personas expuestas. De acuerdo a estudios realizados, particularmente en Latinoamérica en países como Argentina, México, Chile, Perú, Ecuador, Bolivia, Brasil, Costa Rica, El Salvador y Guatemala, existen 4 millones de personas que dependen de agua subterránea la cual está contaminada con más de 50 $\mu\text{g As/L}$ [16].

Aunque la contaminación se puede dar de manera natural y antropogénica, los niveles elevados de arsénico en aguas subterráneas se deben principalmente a la existencia de depósitos naturales. Acuíferos que estén cercanos a zonas con alta actividad volcánica, pueden acarrear altos niveles de arsénico, ya que el agua al tener contacto con las rocas ígneas arrastra la mayor parte de minerales contenidos en ellas. Además, los depósitos de arsenopirita (FeAsS) también constituyen una fuente importante de este elemento, ya que con el paso del tiempo ocurren transformaciones químicas y biológicas que contribuyen a la liberación natural de arsénico en el agua subterránea. Otra fuente común son las aguas geotermales o geotérmicas, las cuales pueden liberar directamente arsénico en acuíferos [16].

Dentro de las fuentes antropogénicas de contaminación de agua subterránea, las más relevantes son: el inadecuado manejo y desecho de productos que contienen arsénico, como por ejemplo, relaves originarios de la actividad minera, el excesivo uso de pesticidas a base de arsénico y fertilizantes fosforados así como también preservantes de la madera, el drenaje de agua en minas y la descarga de gases que son producto de la fundición y el uso de agua contaminada para el riego de terrenos. Todas estas actividades humanas pueden alterar las condiciones geológicas en los lugares en donde se las realiza, haciendo que se

liberen cantidades considerables de este elemento al agua subterránea, ya que con el paso del tiempo, se produce percolación del agua a través de los distintos estratos del suelo y todos los contaminantes que son desechados en la superficie, llegan a contaminar acuíferos localizados debajo [12, 13].

El arsénico que es liberado en la superficie es mayoritariamente inorgánico, el cual es fácilmente absorbido por el suelo y dependiendo de las características predominantes, como por ejemplo el pH, oxígeno disuelto, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, condiciones óxido-reductoras, el As (III) o As (V) se lixivia y llegan al agua subterránea [16].

1.2.7 ANTECEDENTES DE CONTAMINACIÓN EN ECUADOR

Debido a que el Ecuador se encuentra localizado en el cinturón de fuego del Pacífico, el arsénico que está presente en aguas, suelos y sedimentos es de origen volcánico. Aguas geotérmicas de las provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua, muestran niveles de 113 a 844 $\mu\text{g As/L}$. Las aguas superficiales y los sedimentos también están contaminados, tal es así que el río El Ángel de la provincia del Carchi presenta un nivel de 64 a 113 $\mu\text{g As/L}$. El río Tambo, principal afluente de la laguna de Papallacta, presenta contaminación con arsénico en aproximadamente 12,7 km de recorrido, esto debido a que tiene aportes de varias fuentes geotermales. Los niveles encontrados en el agua de la laguna de Papallacta oscilan entre 220 y 359 $\mu\text{g As/L}$, como se ilustra en la figura 1.4, mientras que en los sedimentos de las orillas varían entre 60 y 613 mg As/kg , como se ilustra en la figura 1.5 [17].



Figura 1.4 Concentración de Arsénico en el agua de la Laguna de Papallacta [17]

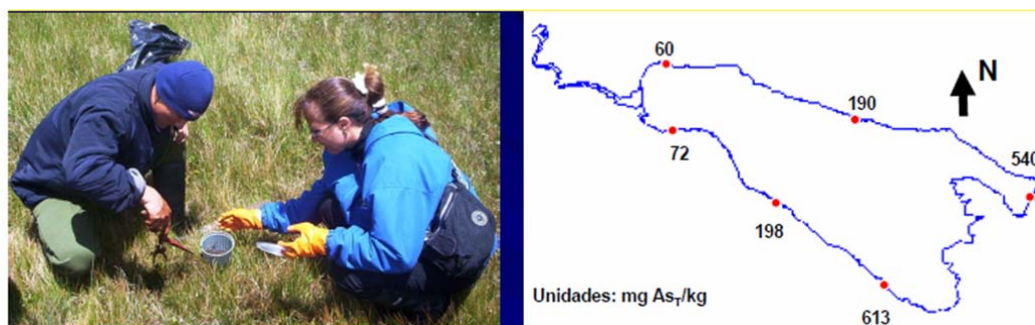


Figura 1.5 Concentración de Arsénico en sedimentos de la Laguna de Papallacta [17]

En el año 2004, se presentó el caso más grave de contaminación con arsénico de aguas de consumo en Ecuador, en las poblaciones de Guayllabamba y Tumbaco, cuando se demostró mediante estudios que los límites de arsénico en el agua potable sobrepasaba el valor de 0,01 mg/L establecido en la Norma INEN. Luego de una denuncia presentada a la Empresa Metropolitana de Alcantarillado y Agua Potable de Quito (EMAAP-Q), la misma inició un estudio y realizó la toma de un total de 116 muestras en ambos sectores tanto de los tanques de distribución como de la red de distribución pública domiciliaria, de las cuales 39 muestras (33,6 %) no cumplieron con el límite especificado en la norma luego de ser analizadas. De todas las muestras que estuvieron por encima del límite, en el sector de

Tumbaco se reportaron datos de hasta 10 veces el valor máximo establecido, mientras que en Guayllabamba se reportaron valores que triplicaban el límite [18].

Posteriormente se conformó el Comité pro Agua sin Arsénico, el cual recolectó muestras de cabello de 66 pobladores de la zona afectada de edades comprendidas entre 2 y 85 años, mismas que fueron enviadas a los Estados Unidos para su análisis, obteniéndose como resultado que el 58 % de las mismas estaban por sobre el margen de referencia de 0,08 μg As/g de cabello [18].

1.3 EL MERCURIO

1.3.1 ORIGEN Y ABUNDANCIA

El símbolo del mercurio (Hg) proviene de la palabra griega *hydrargyros*, que significa agua plateada. Los antiguos romanos lo llamaban *argentum vivum*, que significa plata viva. Fue descrito por primera vez como elemento por el químico francés Antoine Laurent Lavoisier [19].

Es un elemento que existe naturalmente en el medio ambiente. Proviene principalmente de la desgasificación de la corteza terrestre a través de emisiones volcánicas, las cuales alcanzan valores entre 25 000 y 125 000 toneladas por año, así como también de la evaporación de los océanos. También ingresa al ambiente por la descomposición natural de rocas que están expuestas al aire o agua, siendo su principal fuente el mineral cinabrio (HgS). Ocupa el puesto 67 en cantidad entre los elementos de la corteza terrestre, siendo su abundancia promedio 0,09 mg/kg. En suelos la cantidad oscila entre 30 y 160 mg/kg, en agua superficial es 0,07 µg/L y en aguas subterráneas va de 0,5 a 1,0 µg/L [19].

Se encuentra en la naturaleza en diferentes formas, ya sea como metal, vapor, combinado con otros elementos como cloro, oxígeno y azufre, formando sales inorgánicas o compuestos orgánicos, siendo el más común de ellos el metilmercurio. Las sales inorgánicas de mercurio II son mucho más comunes que las de mercurio I. Las especies acuosas más comunes son Hg^{+2} , $\text{Hg}(\text{OH})_2$, Hg^0 y complejos estables con ligandos orgánicos [10]. La tabla 1.4 muestra los compuestos de mercurio más comunes en la naturaleza.

Tabla 1.4 Compuestos de mercurio más comunes en la corteza terrestre [19]

Fórmula	Nombre
HgCl	Cloruro de mercurio (I)
HgCl ₂	Cloruro de mercurio (II)
HgO	Óxido de mercurio (II)
HgS	Sulfuro de mercurio (II) (cinabrio)
Hg(NO ₃) ₂	Nitrato de mercurio (II)
HgSO ₄	Sulfato de mercurio (II)
Hg(ClO ₄) ₂	Perclorato de mercurio (II)
Hg(CNO) ₂	Cianato de mercurio (II) (fulminato)
Hg(OH) ₂	Hidróxido de mercurio (II)

1.3.2 PROPIEDADES

El mercurio es el tercer elemento del grupo IIB (12) de la tabla periódica, pertenece al grupo de los llamados metales de transición. Como característica de estos elementos está el tener el orbital d lleno o parcialmente lleno de electrones. En su forma elemental es un líquido de aspecto plateado el cual se mantiene estable a temperatura ambiente, es volátil y soluble únicamente en soluciones oxidantes [20].

Puede combinarse con otros metales como por ejemplo oro, plata, platino, uranio, cobre, plomo, sodio y potasio para formar amalgamas. Tanto el metal puro como sus compuestos son tóxicos [20].

El mercurio líquido tiene una tensión superficial 6 veces mayor a la del agua, motivo por el cual no puede mojar ninguna superficie con la cual entra en contacto. No se oxida en contacto con aire seco, pero después de una larga exposición al aire húmedo, se cubre con una película delgada de óxido. Es resistente a los álcalis y no se disuelve en ácido clorhídrico o en ácido sulfúrico diluido, pero sí en ácidos oxidantes como el ácido nítrico, ácido sulfúrico concentrado y agua regia (3 partes de HCl y una de HNO₃) [20].

Al formar compuestos, el mercurio puede presentarse en los estados de oxidación +1 y +2, presentando en la mayoría de veces enlaces covalentes. Algunas sales de mercurio como por ejemplo el nitrato de mercurio (II), Hg(NO₃)₂ y el perclorato de mercurio (II) Hg(ClO₄)₂ son solubles en agua, por lo que generalmente pueden estar disociadas y al entrar en contacto con ácidos fuertes reaccionan y se produce hidrólisis [20].

Algunas otras sales como el cloruro de mercurio (II), HgCl₂ también se disuelven en agua pero permanecen poco disociadas. También se pueden formar compuestos organometálicos, en los que el mercurio está directamente enlazado a uno o dos átomos de carbono o nitrógeno, en los cuales los enlaces C-Hg o Hg-NH son muy estables y no se rompen en presencia de agua, álcalis o ácidos débiles [10, 20].

La tabla 1.5 muestra de forma más detallada las principales propiedades del mercurio.

Tabla 1.5 Principales propiedades del mercurio [20]

Propiedad	Valor
Símbolo Químico	Hg
Número Atómico	80
Peso Atómico	200,59
Punto de Fusión	-38,4°C
Punto de Ebullición	357°C
Densidad	16,6 g/cm ³
Estados de Oxidación	+1, 2
Electronegatividad	1,9
Radio Covalente	1,49 Å
Radio Atómico	1,57 Å
Configuración Electrónica	[Xe] 6s ² 4f ¹⁴ 5d ¹⁰
Grupo, período y bloque	12, 6, d
Electrones por nivel	2, 8, 18, 5

1.3.3 USOS DEL MERCURIO. FUENTE ANTROPOGÉNICA DE CONTAMINACIÓN.

Los inicios del uso del mercurio se remontan a eras muy antiguas. Desde el siglo IV los egipcios y romanos utilizaban el cinabrio como pigmento para el cuerpo, como agente estético en cosméticos, como parte de preparaciones médicas y en amalgamas. Posteriormente se dio el surgimiento del proceso metalúrgico y la continua investigación acerca de sus propiedades y características, lo cual trajo consigo un incremento en su uso.

Al ser el único metal líquido a temperatura ambiente, posee singulares características que lo hacen idóneo para muchos procesos [21]. Al pasar del tiempo, después de la revolución industrial del siglo XIX, el mercurio ya tenía amplia aplicación en varias técnicas de manufactura y otras actividades, de las cuales se destacan [21]:

- Obtención electrolítica de cloro y sosa cáustica, formando parte del cátodo.
- Como parte de artefactos eléctricos, lámparas, bombillos fluorescentes, rectificadores, interruptores, electrodos, baterías y celdas.
- Fabricación de aparatos de medición como termómetros, manómetros y barómetros.
- Fabricación de pesticidas, insecticidas y fungicidas.
- Amalgamas dentales (combinado con estaño).
- Revestimiento de espejos.
- Pinturas, colorantes y protectores de madera.
- En la minería para la extracción del oro y plata.
- Como fuente de rayos ultravioleta para uso doméstico y purificación de agua.
- Como catalizador en la industria del plástico y papel.
- Como antiséptico en productos farmacéuticos (en forma de sales).
- Reactivos para análisis en laboratorio.

Del total de mercurio presente en la naturaleza, un alto porcentaje proviene de fuentes antropogénicas, ya que al año son liberadas en el ambiente aproximadamente 5 000 toneladas de este elemento. La actividad que más genera emisiones es la minería, especialmente la explotación de yacimientos de oro, que genera el 35% de las emisiones mundiales de mercurio [19, 22].

Existen otras actividades que indirectamente causan emisiones de este elemento, como por ejemplo la obtención de energía a partir de la combustión de carbón, ya que el contenido de mercurio en el carbón se estima que va de 0,038 a 0,32 mg/kg. Esta es la segunda causa de emisión de Hg al ambiente. También el uso de la piedra caliza, en la industria del cemento ocasiona considerables emisiones al ambiente ya que este mineral puede contener pequeñas cantidades de mercurio [21].

En los últimos años la Organización Mundial de la Salud ha restringido el uso del mercurio en actividades que antes eran muy comunes como por ejemplo el uso en odontología como amalgamas para calces de muelas. A pesar de las restricciones, la demanda de mercurio metálico es constante, y países como Kirguistán, España, China y Algeria aún lo producen a gran escala (1 300 toneladas al año entre los 4 países) [21, 22].

1.3.4 TOXICIDAD

La toxicidad del mercurio varía en función de su forma química y por tanto los síntomas y efectos dependerán de qué tipo de compuesto ingresó al organismo. La absorción se puede dar por tres vías: respiratoria (mercurio metálico y orgánico), oral (sales solubles y compuestos orgánicos) y cutánea (óxido de mercurio y metilmercurio). Una exposición prolongada puede causar múltiples efectos como: infarto al miocardio, autismo, fibromialgias (dolor muscular), fatiga crónica, lupus, demencia, mal de Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple, alteraciones neurológicas, metabólicas, hormonales, renales y dermatológicas. Afecta los mecanismos enzimáticos ya que puede unirse al azufre de los grupos sulfhidrilos, lo cual inactiva las enzimas y bloquea el metabolismo y las funciones celulares. También se ha comprobado que el mercurio es carcinógeno, genotóxico (altera el

ADN), mutagénico y teratogénico (puede atravesar la placenta y ocasionar malformación congénita) [23].

EFFECTOS AGUDOS DEL MERCURIO ELEMENTAL: la fase inicial se caracteriza por cuadros parecidos a una gripe, es decir presencia de escalofríos, dolor muscular, fiebre, sequedad de boca y garganta, y dolor de cabeza. Posteriormente se produce edema pulmonar, enfisema, cianosis (coloración azulada de la piel), llegando incluso a presentarse insuficiencia respiratoria crónica, renal y hepatitis tóxica. En la fase final, los síntomas neurológicos se agudizan y puede darse una muerte [23].

EFFECTOS AGUDOS DEL MERCURIO INORGÁNICO: luego de la ingestión se producen síntomas gastrointestinales, como dolor abdominal intenso, dolor de garganta, vómito, erosiones esofágicas, ardor en la boca, coloración gris en la mucosa de la boca. Posteriormente se desarrolla la toxicidad sistémica, que suele persistir por varios días acompañada de toxicidad renal manifestada como necrosis tubular aguda. Esto conlleva a una insuficiencia renal aguda, fatiga, debilidad, palidez, hemorragias gastrointestinales severas que pueden conducir a un shock con colapso cardiovascular e incluso muerte [23].

EFFECTOS AGUDOS DEL MERCURIO ORGÁNICO: de todas las formas de mercurio orgánico, el metilmercurio y etilmercurio son las más tóxicas. El sistema nervioso central es el principal blanco de estos dos componentes, produciéndose trastornos visuales, alteración del equilibrio y la sensibilidad, temblor muscular, hormigueos, dificultad para hablar y deterioro mental. En casos muy graves se produce parálisis, ceguera, sordera y la muerte [23].

El caso más grave de intoxicación se produjo en Japón en los años 50, cerca de la Bahía de Minamata, cuando miles de personas ingirieron pescado contaminado con mercurio. Esto produjo un sinnúmero de muertes, desórdenes en el sistema nervioso central y retraso mental. Además este caso fue la primera referencia de que el mercurio produce enfermedad fetal y neurotoxicidad. Muchas madres que aparentemente no tenían ningún síntoma, dieron a luz niños gravemente enfermos. Hasta finales del año 60, 111 personas fallecieron y se registraron más de 400 casos en Japón de la llamada enfermedad de Minamata y hasta la fecha, se han diagnosticado más de 3 000 casos [23].

1.3.5 NIVELES DE EXPOSICIÓN Y NIVELES MÁXIMOS PERMISIBLES

AIRE: se han realizado mediciones en zonas aledañas a industrias y también en zonas que poseen actividad volcánica alta, encontrándose niveles de mercurio en el rango de 2 a 10 ng/m³ [8].

AGUA: los niveles en agua de lluvia están en el rango de 5 a 100 ng/L. En aguas superficiales y subterráneas, los niveles de mercurio están por debajo de 0,5 µg/L, a menos que existan cerca depósitos naturales del mineral o estén cercanos a zonas en las que hay actividad volcánica constante [8].

ALIMENTOS: los mariscos y el pescado son la principal fuente de mercurio orgánico. La ingesta diaria promedio de mercurio proveniente de los alimentos marinos es aproximadamente de 2 a 20 µg/kg de masa corporal, aumentando en zonas donde existe agua contaminada, como es el caso de Japón [8].

Varias organizaciones a nivel mundial han planteado límites máximos de concentración de mercurio con el objeto de preservar la salud de la población y la integridad del medio ambiente. La USEPA establece un nivel máximo de 0,002 mg/L para agua de consumo, mientras que la OMS establece un máximo de 0,001 mg/L para el agua y 0,001 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en promedio en el aire. En Ecuador la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Recurso Agua del año 2010, establece un límite de 0,001 mg/L para aguas de uso humano, uso doméstico y agrícola; y 0,18 $\mu\text{g}/\text{L}$ para aguas subterráneas. La Norma INEN 1 108:2011, cuarta revisión plantea un valor máximo de 0,006 mg/L para el agua potable [8, 24].

En el año 2004, el comité conjunto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios estableció el valor de 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de masa corporal a la semana como ingesta máxima permisible para los seres humanos. Además se estima una concentración tolerable de 0,2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para exposiciones crónicas por inhalación de vapor de mercurio elemental [8].

1.3.6 FORMAS DE CONTAMINACIÓN DEL AGUA SUBTERRÁNEA CON MERCURIO

Se ha demostrado mediante estudios que una gran cantidad de mercurio presente en la atmósfera contribuye a una mayor contaminación de aguas subterráneas. Esto debido a que como parte del ciclo en el medio ambiente, ocurre la deposición natural en la superficie del mercurio presente en la atmósfera. Por ende, la cantidad de mercurio particulado y volátil que se deposite en los suelos dependerá del grado de contaminación que exista en el ambiente. Por ejemplo, en zonas industriales o con actividad volcánica constante, la

cantidad de mercurio aumenta, al igual que si los pozos de agua están localizados cerca de depósitos geológicos de este elemento [21].

El mercurio depositado de la atmósfera es fuertemente retenido por aguas superficiales y suelos. Se estima que al menos el 90% del total proveniente de la atmósfera es capturado en la superficie. El mercurio depositado puede ligarse al carbono orgánico disuelto y volverse móvil, reducirse a mercurio elemental luego de procesos bióticos y abióticos, ser absorbido o filtrarse y llegar a aguas subterráneas. En zonas donde existe mayor cantidad de precipitaciones y humedad, la filtración se dará de forma más rápida [21, 25].

Existen además ciertas situaciones que aumentan el riesgo de contaminación de aguas subterráneas, como las siguientes [22]:

- Eliminación de vertederos sin protección de suelo y aguas subterráneas, es decir sin el uso de membranas de protección y sistema de purificación de aguas de lixiviación.
- Liberaciones difusas de productos de desechos no recolectados como pilas, baterías, termómetros, interruptores de mercurio, etc.
- Liberaciones locales procedentes de la industria, especialmente minera, materiales in-situ y mal almacenamiento de desechos.
- Esparcimiento de lodos de depuración, utilizados como fertilizantes y que contienen metales en estado de trazas, en tierras agrícolas.
- Uso de residuos sólidos procedentes de la incineración de desechos y la combustión de carbón en obras de construcción (escorias, cenizas residuales y cenizas volantes).

- Deposición de todo el mercurio emitido por las actividades anteriormente citadas, en la atmósfera.

1.3.7 ANTECEDENTES DE CONTAMINACIÓN EN ECUADOR

Sudamérica es una de las regiones en las que prolifera la minería artesanal o también llamada de pequeña escala para extraer oro. A parte de ello, este tipo de minería se realiza en ocasiones de manera ilegal, como en el caso de Brasil, Bolivia, Colombia y Ecuador, siendo este último el cuarto país latinoamericano que emite más mercurio en el mundo [26]. Sin duda es un dato alarmante, ya que al año se dispersa 50 toneladas de este elemento solo debido a la minería artesanal y en zonas como Nambija, Zaruma, Portovelo, Ponce Enríquez y en el norte de Esmeraldas. En todas estas zonas mineras, los sedimentos generados por la explotación y todos los químicos utilizados en el proceso son arrastrados cientos de kilómetros a través de los ríos cercanos, como es el caso del río Amarillo en Portovelo. Los desechos terminan depositados en manglares y también llegan al océano Pacífico [27].

En un estudio realizado en agua y sedimentos de las zonas mineras más activas del Ecuador, se obtuvieron resultados que demuestran que existe una alta contaminación como consecuencia del uso del mercurio, como se muestra en la tabla 1.6 [28].

Tabla 1.6 Diagnóstico de la contaminación por mercurio [28]

Lugar de estudio	Agua de río Rango en µg Hg/L	Sedimentos Rango en µg Hg/kg
Nambija	0,1 - 29,8	0,5 - 256,9
Ponce Enríquez	1,9 - 47,8	3,2 - 440,8
Portovelo-Zaruma	0,003 - 1812,5	1,2 - 398,2

Los ríos objetos de estudio fueron: Guanache en Ponce Enríquez, Amarillo, Caleras y Pindo en Zaruma, y en Nambija el río que lleva el mismo nombre. De los resultados obtenidos se puede constatar que existen valores muy elevados de mercurio tanto en ríos como en sedimentos, lo cual demuestra la influencia de la actividad minera sobre la contaminación del medio ambiente en el Ecuador [28].

Con el paso del tiempo se han realizado campañas gubernamentales y de grupos ambientalistas con el objetivo de reducir el uso de mercurio, tal es así que en el mes de enero del 2013, el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente realizó un acuerdo del que participaron 140 países, incluido Ecuador, con el objetivo de establecer lineamientos respecto al control para reducir gradualmente el uso, emisiones y liberaciones de compuestos de mercurio utilizados en varios productos, procesos y sectores. A largo plazo se espera que a nivel internacional se tome las medidas necesarias para prevenir y combatir los impactos del mercurio y sus compuestos, tanto en la salud como en el medio ambiente [29].

1.4 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Es un método sensible y específico para la determinación cuantitativa de más de 60 metales o metaloides. Se basa en la cantidad de radiación absorbida por átomos en estado libre, para que ello ocurra se necesita que la longitud de onda (λ) del haz de luz incidente, coincida con la frecuencia de resonancia del elemento que se está analizando y que los átomos del analito estén en estado libre. Esta técnica analítica tiene un campo de aplicación muy amplio: alimentos (determinación de contaminantes como Pb, As, Cu, Hg, Cd), contaminación de aguas, geología, minas, residuos en suelos, industria farmacéutica, industria petrolera (determinación de metales pesados: V, Cr), metalurgia (aleaciones), medicina (análisis de Pb, Na, K, Ca en la sangre), arqueología, galvanostegia, cementos (mezclas complejas), cerámica, pinturas [30, 31].

1.4.1 INSTRUMENTACIÓN.

En general el diseño de un espectrofotómetro de absorción atómica consiste en una fuente de radiación, un atomizador, un selector de longitud de onda llamado monocromador, un detector y un procesador de la señal para su lectura [30].

1.4.1.1 FUENTES DE RADIACIÓN.

LÁMPARA DE CÁTODO HUECO: es la más común para absorción atómica, consiste en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico hecho a base del metal cuyo espectro se desea obtener, los cuales están cerrados herméticamente en un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una presión de 1 a 5 torr. Al aplicarse un potencial de 300 V se ioniza el gas

de llenado, estos iones chocan con el cátodo y originan iones gaseosos del metal y producen una nube en la cual están átomos metálicos excitados, los cuales al regresar a su estado normal emiten radiación de una cierta longitud de onda [30].

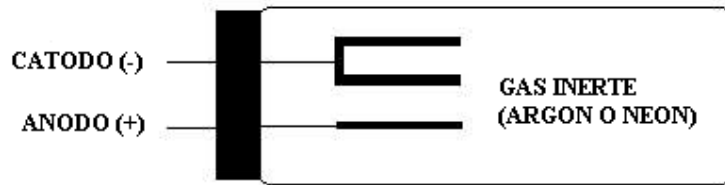


Figura 1.6 Esquema de una lámpara de cátodo hueco [32]

LÁMPARA DE DESCARGA SIN ELECTRODOS: producen intensidades radiantes que son dos órdenes de magnitud superiores a las lámparas de cátodo hueco. Constan de un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene a una pequeña cantidad del metal puro y un gas inerte como el argón. No contiene electrodos, para su activación se usa un campo intenso de radiofrecuencia o radiación de microondas. De esta manera el argón se ioniza, se produce la aceleración de estos iones por medio de la radiofrecuencia, hasta que adquieren la suficiente energía para excitar a los átomos del metal [30].

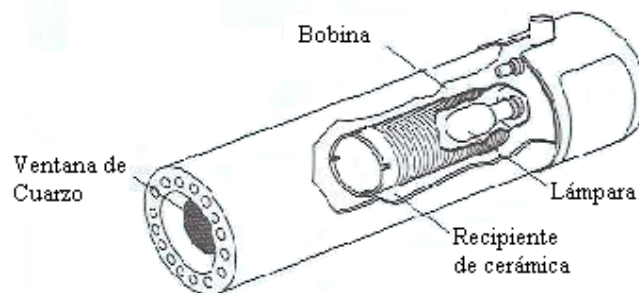
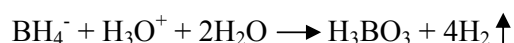


Figura 1.7 Lámpara de descarga sin electrodos [32]

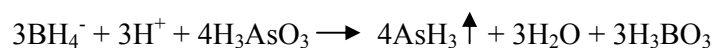
1.4.1.2 ATOMIZACIÓN DE LA MUESTRA

ATOMIZACIÓN POR LLAMA: el aerosol de muestra se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores que impiden que pasen las gotas de dilución que no sean muy finas. Se quema en un mechero provisto de una ranura que produce una llama de 5 a 10 cm. de longitud. Los mecheros de flujo laminar producen llamas estables y esto tiende a aumentar la sensibilidad y reproducibilidad [30].

GENERACIÓN DE HIDRUROS: se aplica a muestras que contienen arsénico, antimonio, selenio, bismuto. También el mercurio puede ser llevado a su forma elemental a través de esta técnica. Una de las ventajas de este método es que mejora los límites de detección de estos elementos hasta 100 veces respecto al método tradicional, en el cual la solución que contiene los iones que van a ser analizados, se atomiza directamente en la llama. Los hidruros volátiles se generan rápidamente adicionando una solución de borohidruro de sodio a una cantidad pequeña de la muestra acidificada. La reacción del borohidruro de sodio en medio ácido es la siguiente [31]:



Posteriormente, el hidrógeno proveniente de la reacción anterior forma el hidruro volátil, con el elemento que se desea analizar. En este caso se forma la arsina (AsH_3) con la siguiente reacción [31]:



El hidruro volátil es arrastrado a la cámara de atomización por un gas inerte, generalmente argón, hacia un tubo de cuarzo, el cual es calentado para descomponer el hidruro en átomos de analito. En el caso del mercurio, al combinarse la muestra en solución con el borohidruro de sodio, se genera directamente mercurio en estado elemental, por lo que no es necesario el uso de llama. La concentración se determina por absorción o emisión de energía [31, 32].

1.4.2 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN.

CURVAS DE CALIBRACIÓN: se realizan cuando la composición de la muestra es similar a la composición del estándar. Se construyen curvas de calibración de absorbancia en función de la concentración, expresada en mg/L. Para esto se necesita material de referencia certificado, el cual tenga detallado su composición y el valor exacto de cada elemento presente o estándares certificados del analito de interés [30].

LEY DE LAMBERT-BEER: establece que la concentración de una solución es directamente proporcional a la cantidad de radiación absorbida por la misma. La ecuación que corresponde a esta ley es [31]:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (1.1)$$

En donde, **A** es la absorbancia, ϵ es la absorptividad molar, una propiedad característica de cada sustancia correspondiente a la cantidad de radiación que absorbe a una longitud de onda determinada, por unidad de concentración (expresada en L/mol·cm), **b** es la longitud del camino óptico y **c** es la concentración de la sustancia [31].

En base a esto, al calcular la ecuación de la recta resultante de la dispersión de los distintos puntos obtenidos al realizar la curva de calibración, podemos realizar extrapolaciones para calcular concentraciones del analito en muestras desconocidas. La ecuación que se obtiene tiene la forma [31]:

$$y = bx + a \quad (1.2)$$

La concentración x se puede calcular despejando de la ecuación, ya que el valor de la absorbancia leída en el equipo corresponde al valor de y ; b es el valor de la pendiente y a el valor del intercepto [31].

MÉTODO DE ADICIÓN DE ESTÁNDAR: consiste en preparar varias alícuotas de muestra, que sean del mismo tamaño y añadir diferentes volúmenes de estándar, luego de ello cada disolución se afora a un volumen fijo. Se realizan lecturas en la muestra original y en las alícuotas de muestra con adición de estándar y con los datos obtenidos se realiza la curva de calibración. La concentración (y) se puede determinar por medio de la pendiente b y de la intersección a [31].

1.4.3 INTERFERENCIAS ANALÍTICAS.

En teoría no deberían existir debido a que cada elemento tiene su propio espectro de emisión, pero en algunas ocasiones se presentan ciertos inconvenientes con algunos componentes. Para el caso del análisis de arsénico y el mercurio, las potenciales interferencias que podrían presentarse son: presencia de materia orgánica en las muestras, valor alto de turbidez (medida indirecta de sólidos suspendidos), presencia de cationes de elementos de transición como Ni, Co, Cu, Ag, Au y otras especies como Fe y Cd. Estos

cationes podrían provocar que el hidruro generado se descomponga, que se formen sales insolubles con el analito o que el agente reductor, en este caso el borohidruro de sodio sea consumido por la especie interferente [30].

INTERFERENCIAS POR ABSORCIÓN MOLECULAR: Existen especies moleculares que pueden absorber a la misma longitud de onda que absorben los átomos de la muestra que se está analizando [30].

INTERFERENCIAS QUÍMICAS: se presentan cuando en la matriz existen aniones que pueden formar sales difíciles de disociar a la temperatura de operación [30].

INTERFERENCIAS POR IONIZACIÓN: se producen cuando hay demasiada temperatura, lo que sucede es que el átomo del elemento que se está analizando pierde fácilmente 1 o más de sus electrones exteriores, lo cual causa un error en la lectura del analito. Por lo general se da en metales alcalinos, alcalinotérreos, lantánidos y algunos más que tienen bajo potencial de ionización [30].

INTERFERENCIAS DE MATRIZ: se da cuando la composición de la matriz estándar es diferente a la de la matriz muestra, se puede corregir mediante el método de adición de estándar, variando la composición de la muestra o del estándar o también utilizando un método de extracción con un solvente orgánico para eliminar las impurezas presentes [30].

1.5 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Toda medición analítica es realizada con el objeto de obtener datos que sean consistentes, confiables y exactos, lo cual se logra si se utiliza un método analítico validado, por tanto la validación es un paso importante para asegurar que los resultados entregados por un método, sean confiables. Lo que busca es determinar con fundamentos estadísticos que el método utilizado es adecuado para los fines previstos. Toda validación se debe efectuar de manera metódica, ordenada, trazable y confiable. Se debe validar un método nuevo siempre antes de su uso rutinario en el laboratorio, cuando es transferido de un laboratorio a otro y siempre que las condiciones originales o parámetros de un método validado hayan sido cambiadas, por ejemplo cuando se usa un instrumento con diferentes características o muestras con diferente matriz, es decir cuando existen variaciones significativas [33, 34].

1.5.1 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Los estudios de validación de un método analítico cuantitativo, normalmente determinan los siguientes parámetros, los cuales muestran el desempeño del método [35]:

1.5.1.1 ESPECIFICIDAD O SELECTIVIDAD

Es el grado en que un método puede leer y cuantificar un analito en presencia de interferencias que podrían estar en la matriz de interés. Hace referencia al grado en el cual el método arroja una señal que corresponde únicamente al compuesto de interés. Esta prueba puede diseñarse de acuerdo al método, normalmente se realiza la lectura del blanco,

muestras fortificadas o estándares de concentración conocida para luego comparar los valores de respuesta obtenidos, en el caso de espectrofotometría las absorbancias [35].

1.5.1.2 LINEALIDAD

Es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, de dar una respuesta o resultados instrumentales que sean proporcionales a la cantidad del analito presente en la muestra. Para determinarla se realiza un gráfico llamado curva de calibración, en el cual se tiene el valor de respuesta versus la concentración, se obtiene la ecuación de la recta que es [36]:

$$y = bx + a \quad (1.3)$$

Luego de ello se realiza la regresión lineal y se evalúa los parámetros como son la pendiente (b) y el coeficiente de correlación (r). Este coeficiente indica el grado de relación entre la variable concentración (x) y la variable respuesta (y) y se calcula con la fórmula [36, 37]:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (1.4)$$

Si el valor de r elevado al cuadrado (coeficiente de determinación) es cercano a 1, significa que existe correlación con una probabilidad elevada. El valor recomendable de r^2 para una curva de calibración debe ser mayor o igual a 0,995, aunque para el caso de trazas se admite un valor mayor o igual a 0,990 [37].

Para calcular los límites de confianza para la pendiente (b) y el intercepto (a), tenemos las ecuaciones [37]:

$$b \pm t_{\text{tab}} \cdot S_b; \text{ donde } S_b = \frac{b}{t_{\text{cal}}} \quad (1.5)$$

$$a \pm t_{\text{tab}} \cdot S_a; \text{ donde } S_a = \frac{a}{t_{\text{cal}}} \quad (1.6)$$

1.5.1.3 SENSIBILIDAD

Es el cociente entre el cambio en la respuesta de un sistema de medición y el cambio correspondiente en el valor de la cantidad que es objeto de medición. En la regresión lineal, la sensibilidad corresponde a la pendiente (b) de la ecuación $y = bx+a$ que se obtiene en la curva de calibración y debe permitir una adecuada discriminación de los valores de concentración. Un método es más sensible cuando pequeñas variaciones de concentración determinan una gran variación de la respuesta y permite evaluar la capacidad de respuesta instrumental del método frente a determinada cantidad de analito [33].

1.5.1.4 LÍMITE DE DETECCIÓN

Es la menor cantidad de analito presente en una muestra que puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado como un valor exacto. Es el punto en el cual el valor de una medida es mayor a la incertidumbre asociada a la misma, es decir la concentración que proporciona una señal en el instrumento que difiere significativamente a la señal del blanco. Numéricamente es el resultado de 3,3 veces la desviación estándar correspondiente a las diez lecturas (s) dividido para la pendiente de la recta obtenida [33].

$$LD = \frac{3,3s}{b} \quad (1.7)$$

1.5.1.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Es la menor cantidad de analito presente en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud y precisión apropiadas. Se calcula realizando la lectura de diez blancos, dividiendo el valor de diez veces la desviación estándar obtenida (s) para la pendiente de la recta [33].

$$LC = \frac{10s}{b} \quad (1.8)$$

1.5.1.6 EXACTITUD

Es el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia, el nivel de proximidad o cercanía entre los resultados y los valores referenciales. La validación de un método trata de investigar la exactitud de los resultados, evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre los resultados. No es una magnitud y no se expresa numéricamente, aunque se la asocia al error. Mientras menor sea el error, se dice que la medición es más exacta. También se asocia al porcentaje de recuperación del método [33].

PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN: permite ver el rendimiento de un método analítico en lo que respecta al proceso de extracción del analito y la cantidad del mismo que está presente en la muestra. Está relacionada intrínsecamente a las características de la matriz y para su determinación se puede usar muestras certificadas o se puede añadir cantidades

conocidas de analito a las muestras que se están analizando (fortificación). Para el cálculo se relaciona el valor medido y el valor real en la ecuación [35]:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{valor}_{\text{medido}}}{\text{valor}_{\text{real}}} \times 100 \quad (1.9)$$

ERROR DE MEDICIÓN: es la diferencia entre el valor medio de una magnitud y el valor de referencia. Cuando en mediciones repetidas permanece constante o varía de manera predecible hablamos de un error sistemático, mientras que cuando varía de manera impredecible es un error aleatorio. Se puede cuantificar el error mediante el cálculo de la incertidumbre de la medición [35].

INCERTIDUMBRE: es un parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores, que razonablemente pueden ser atribuidos a la magnitud que es objeto de medición. Describe de manera cuantitativa la variación que ocasiona el analito presente en una muestra. Para el cálculo se tiene las fórmulas [34]:

$$U = k \times RSD \times \text{valor}_{\text{de}_{\text{medida}}} \quad (1.10)$$

$$RSD = \frac{s}{x} \quad (1.11)$$

Donde k es el factor de cobertura, s la desviación estándar típica y x la media de los datos obtenidos [34].

1.5.1.7 PRECISIÓN

Es la proximidad entre los valores obtenidos en mediciones repetidas de una misma muestra o de muestras similares. Se expresa numéricamente mediante medidas de dispersión tales como la desviación estándar, la varianza o el coeficiente de variación. Para evaluar la precisión, se debe evaluar la repetibilidad y la reproducibilidad del método [33].

REPETIBILIDAD: es la precisión bajo condiciones en las cuales los resultados de un análisis se obtienen con el mismo método, en el mismo laboratorio, con el mismo operador, utilizando el mismo equipamiento, dentro de intervalos cortos de tiempo [33].

REPRODUCIBILIDAD: es la precisión bajo condiciones donde los resultados de loa análisis se obtienen con el mismo método, en las mismas muestras pero en diferentes laboratorios, con distintos analistas o en diferentes días [33].

Tanto para la repetibilidad como para la reproducibilidad, los valores a calcular son la desviación estándar típica (s) y el coeficiente de variación (CV), teniendo las ecuaciones [33]:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X)^2}{n - 1}} \quad (1.12)$$

$$CV = \frac{s}{x} \times 100 \quad (1.13)$$

ROBUSTEZ: es la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por pequeñas variaciones, las mismas que se hacen deliberadamente a los parámetros del

método. Da un indicio de la fiabilidad del procedimiento y el objetivo principal que persigue este ensayo es optimizar el método analítico y describir cuales son las condiciones analíticas propicias para obtener resultados confiables [38].

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Todo lo necesario para la realización del presente proyecto y que fue utilizado durante el tiempo que duró la investigación es enlistado a continuación.

2.1.1 EQUIPOS

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer AAnalyst 400 equipado con tanques de acetileno y argón y compresor de aire.
- Sistema generador de hidruros Perkin Elmer MHS 15
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Unidad de purificación de agua Millipore
- Cabina de extracción Labconco

2.1.2 MATERIALES

- Matraces aforados de 100, 250, 500 y 1 000 mL
- 30 matraces aforados de 10 mL
- Vasos de precipitación de 25, 100 y 250 mL
- Probetas graduadas de 50 y 100 mL

- Pipetas graduadas de 1, 2 y 5 mL
- Micropipeta graduada con escala de 10 a 100 μL calibrada
- Micropipeta graduada con escala de 100 a 1 000 μL calibrada
- Espátula metálica
- Botellas de vidrio ámbar de 1 000 mL
- Frasco gotero de vidrio ámbar
- Gel refrigerante sustituto de hielo

El frasco de reacción del sistema MHS 15 y todo el material de vidrio fue previamente lavado con agua desmineralizada obtenida de la unidad de purificación Millipore, luego sumergido en ácido nítrico al 15% por 24 horas y posteriormente enjuagado con agua desmineralizada, antes de su uso en la preparación de estándares y soluciones.

2.1.3 REACTIVOS

- Ácido clorhídrico 1,5% (v/v)
- Ácido nítrico (c) y 1,5% (v/v)
- Borohidruro de sodio 3% (w/v)
- Hidróxido de sodio 1% (w/v)
- Permanganato de potasio 5% (w/v)
- Yoduro de potasio 3%
- Ácido ascórbico
- Agua desmineralizada
- Estándar de referencia de arsénico 1 000 mg/L
- Estándar de referencia de mercurio 1 000 mg/L

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico, libres de trazas de metales pesados. Los ácidos nítrico y clorhídrico utilizados fueron con específicos para el análisis de trazas de metales.

2.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO

Los parámetros a evaluarse durante el proceso de validación fueron: linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e intervalo de confianza. El método que se utilizó fue el descrito en el manual del equipo Perkin Elmer AAnalyst 400, en la parte correspondiente al sistema de generación de hidruros MHS 15-As. Las soluciones y los volúmenes utilizados para las lecturas en el equipo se prepararon de acuerdo a lo descrito por el fabricante del equipo. Se complementó también con el método 3114 B, Arsénico y Selenio por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generación de Hidruros del Standard Methods [10].

2.2.1 PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Para validar el método de determinación de arsénico se utilizaron 5 concentraciones distintas, 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 $\mu\text{g/L}$ más un blanco. Cada solución se preparó por quintuplicado a partir de una solución stock de 1 000 $\mu\text{g/L}$. El proceso se repitió durante 5 días. La preparación de estándares y demás soluciones se realizó de acuerdo al procedimiento descrito a continuación:

- Blanco: tomar 15 mL de HCl (c) y llevar a un balón aforado de 1 000 mL. Aforar con agua desmineralizada. Esta solución sirve como blanco y como diluyente para

la solución madre de arsénico y los diferentes estándares. A su vez sirve para determinar el límite de detección y cuantificación.

- Para la solución madre (solución stock): tomar 100 μL del estándar de referencia de arsénico (1 000 mg/L) y llevar a un balón de 100 mL. Aforar con HCl 1,5 %. Concentración final 1 mg/L o 1 000 $\mu\text{g/L}$.
- Solución de hidróxido de sodio 1 %: pesar 10 g de NaOH y colocar en un matraz aforado de 1 000 mL. Disolver y aforar con agua desmineralizada.
- Solución de borohidruro de sodio 3%: pesar 3 g de NaBH_4 y colocar en un matraz aforado de 100 mL. Disolver y aforar con hidróxido de sodio 1%.
- Solución de yoduro de potasio: pesar 3 g de KI y 5 g de ácido ascórbico y colocar en un matraz aforado de 100 mL. Disolver y aforar con agua desmineralizada.

Las soluciones tanto de borohidruro de sodio como de yoduro de potasio deben estar frescas, por lo cual se prepararon diariamente justo antes de realizar la lectura de estándares y muestras en el equipo. Los estándares fueron preparados de acuerdo al procedimiento descrito a continuación:

- Estándar 2,5 $\mu\text{g/L}$: tomar 25 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL.
- Estándar 5,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 50 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL.
- Estándar 10,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 100 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL.
- Estándar 15,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 150 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL.
- Estándar 20,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 200 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL.

Luego de tener las alícuotas para las diferentes concentraciones, se añadió HCl 1,5 % hasta completar las tres cuartas partes del matraz y se agitó. Se añadió 1 mL de la solución reductora de KI y se aforó todos los matraces con HCl 1,5%. Una vez aforadas las muestras se dejaron en reposo por 60 minutos antes de proceder con las lecturas, para que la pre-reducción se realice de manera apropiada.

- Muestras: se colocó en un matraz aforado de 10 mL la muestra junto con 1 mL de KI 3% y se esperó por una hora antes de leer en el equipo.

2.2.2 OPERACIÓN DEL EQUIPO Y LECTURA DE ESTÁNDARES Y MUESTRAS

- Abrir las llaves de paso de los tanques de argón y acetileno y encender el compresor de aire.
- Colocar la lámpara de descarga para arsénico, antes de encender el equipo.
- Encender el equipo y la lámpara y esperar 30 minutos hasta su estabilización.
- Escoger en el software el método MHS 15 para generación de hidruros y abrir la carpeta del método para arsénico.
- Ingresar los valores de las concentraciones que se van a utilizar para realizar la curva de calibración y el número de repeticiones para cada uno.
- Alinear el haz de radiación proveniente de la lámpara con el tubo de cuarzo atomizador del sistema de generación de hidruros, de tal manera que se obtengan lecturas de la máxima absorbancia.
- Esperar a que la lámpara alcance su energía máxima.
- Encender la llama y esperar 10 minutos hasta su completa estabilización.

- Colocar la solución del borohidruro de sodio 3% en la botella del agente reductor del sistema MHS 15.
- Colocar en el frasco de reacción del sistema generador de hidruros 10 mL de agua desmineralizada y realizar una lectura. Repetir este proceso por triplicado con el objetivo de arrastrar residuos, si es que los hubiera, del tubo atomizador.
- Encerar el valor de la absorbancia.
- Escoger en el software la opción lectura del blanco, colocar en el frasco de reacción 10 mL de HCl 1,5% y proceder a su lectura. Se debe dar clic a las opciones estándares o blanco al mismo tiempo que se presiona la válvula del reductor del sistema MHS 15. Dicha válvula debe mantenerse oprimida por 12 segundos para asegurar la completa formación del hidruro gaseoso.



Figura 2.1 Fotografía tomada del sistema de generación de hidruros MHS 15

- Escoger la opción estándares y proceder a la lectura de los mismos. Luego de cada lectura el software automáticamente da un aviso de que el sistema está listo para colocar la siguiente solución en el frasco de reacción y proceder a su lectura.

- Al finalizar la lectura de los estándares, el sistema muestra la curva de calibración con su ecuación y el coeficiente de correlación. Desde ese momento el sistema está listo para realizar la lectura de las muestras, mismas que se hicieron por triplicado.

Tabla 2.1 Condiciones operacionales para arsénico

Solución reductora	Borohidruro de sodio 3% (NaBH ₄)
Solución pre-reductora	Yoduro de potasio 3% (KI)
Gas de arrastre	Argón (100 mL/min)
Flama	Aire-Acetileno (2,5 – 1 bar)
Fuente de radiación	Lámpara de descarga sin electrodos As
Energía de la lámpara	115
Longitud de onda (Å)	193,7 nm
Slit	0,7 nm
Volumen para la medición	10 mL
Tiempo de purga post reacción	40 s

La tabla 2.1 muestra las condiciones óptimas bajo las que se trabajó en el equipo para analizar arsénico.

2.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE MERCURIO

Los parámetros a evaluar durante el proceso de validación fueron: linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y el intervalo de confianza. Al igual que para la validación anterior, el método que se siguió fue el descrito en el manual del

sistema MHS 15-Hg. Se complementó también con el método 3112 B, Espectrofotometría de Absorción Atómica de Vapor Frío del Standard Methods [10].

2.3.1 PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

- Blanco: tomar 15 mL de HNO_3 (c) y llevar a un balón aforado de 1 000 mL. Aforar con agua desmineralizada. Esta solución sirve como blanco y como diluyente para la solución madre de mercurio y los diferentes estándares.
- Solución madre (solución stock) tomar 100 μL del estándar de referencia de mercurio (1 000 mg/L) y llevar a un balón de 100 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %. Concentración final 1 mg/L o 1 000 $\mu\text{g/L}$.
- Estándar 1,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 10 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %.
- Estándar 2,5 $\mu\text{g/L}$: tomar 50 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %.
- Estándar 5,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 100 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %.
- Estándar 7,5 $\mu\text{g/L}$: tomar 150 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %.
- Estándar 10,0 $\mu\text{g/L}$: tomar 200 μL de la solución madre y llevar a un balón de 10 mL. Aforar con HNO_3 1,5 %.
- Solución de hidróxido de sodio 1 %: pesar 10 g de NaOH y colocar en un matraz aforado de 1 000 mL. Disolver y aforar con agua desmineralizada.
- Solución de borohidruro de sodio 3%: pesar 3 g de NaBH_4 y colocar en un matraz aforado de 100 mL. Disolver y aforar con hidróxido de sodio 1%.

- Solución de permanganato de potasio: pesar 5 g de KMnO_4 y colocar en un matraz aforado de 100 mL. Disolver y aforar con agua desmineralizada.
- Muestras: colocar 10 mL de muestra en el frasco de reacción y añadir una gota de KMnO_4 .

2.3.2 OPERACIÓN DEL EQUIPO Y LECTURA DE ESTÁNDARES Y MUESTRAS

- Abrir la llave de paso del tanque de argón.
- Colocar la lámpara de descarga para mercurio, antes de encender el equipo.
- Encender el equipo y la lámpara y esperar 30 minutos hasta su estabilización.
- Escoger en el software el método MHS 15 para generación de hidruros y abrir la carpeta del método para mercurio.
- Ingresar los valores de las concentraciones que se van a utilizar para realizar la curva de calibración y el número de repeticiones para cada uno.
- Alinear el haz de radiación proveniente de la lámpara con el tubo de cuarzo atomizador del sistema de generación de hidruros, de tal manera que se obtengan lecturas de la máxima absorbancia.
- Esperar a que la lámpara alcance su energía máxima.
- Colocar la solución del borohidruro de sodio 3% en la botella del agente reductor del sistema MHS 15.
- Colocar en el frasco de reacción del sistema generador de hidruros 10 mL de agua desmineralizada, añadir una gota de KMnO_4 5% y realizar una lectura. Repetir este proceso por triplicado con el objetivo de arrastrar residuos, si es que los hubiera, del tubo atomizador.

- Encerar el valor de la absorbancia.
- Escoger en el software la opción lectura del blanco, colocar en el frasco de reacción 10 mL de HNO₃ 1,5%, añadir una gota de KMnO₄ y proceder a su lectura. Se debe dar clic a las opciones estándares o blanco al mismo tiempo que se presiona la válvula del reductor del sistema MHS 15.
- Escoger la opción estándares y proceder a la lectura de los mismos.
- Al finalizar la lectura de los estándares, el sistema muestra la curva de calibración con su ecuación y el coeficiente de correlación. Desde ese momento el sistema está listo para realizar la lectura de las muestras.
- Las muestras recibieron el mismo tratamiento que los estándares previo a su lectura en el equipo. Se realizaron 3 lecturas de cada muestra. La tabla 2.2 muestra las condiciones bajo las cuales se trabajó en el equipo para analizar mercurio.

Tabla 2.2 Condiciones operacionales para mercurio.

Solución reductora	Borohidruro de sodio 3% (NaBH ₄)
Solución estabilizadora	Permanganato de potasio 5% (KMnO ₄)
Gas de arrastre	Argón (100 mL/min)
Flama	No necesaria
Fuente de radiación	Lámpara de descarga sin electrodos Hg
Energía de la lámpara	85
Longitud de onda (λ)	253,6 nm
Slit	0,7 nm
Volumen para la medición	10 mL
Tiempo de purga post reacción	50 s

2.4 MUESTREO DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO

El cantón Rumiñahui posee 16 tanques de almacenamiento de agua, los cuales están distribuidos en todo su territorio. El agua que es extraída de pozos es conducida a los tanques y es almacenada para su inmediata distribución por medio de la red pública. El proyecto consistió en tomar una muestra semanal de cada uno de los 16 tanques, tomándose muestras los días martes y miércoles, por ocho semanas consecutivas contadas a partir del 7 de mayo al 26 de junio del año 2013. Para facilidad se organizaron los tanques en dos grupos tal como se muestra en la tabla 2.3, de acuerdo a la ubicación de los mismos y se prosiguió con el muestreo de acuerdo al cronograma de la tabla 2.4.

Tabla 2.3 Agrupamiento de tanques de almacenamiento para el muestreo

GRUPO 1	GRUPO 2
Albornoz	El Taxo
Mushuñán	Cotogchoa
Orejuela	Patagua
Salgado	La Leticia
Cashapamba	El Milagro
Loreto	Rumiloma
La Colina	Gavilanez
San Fernando	
San Pedro	

Tabla 2.4 Cronograma de muestreo

MES	SEMANA	DIA	TANQUES
Mayo	1	7	Grupo 1
		8	Grupo 2
	2	14	Grupo 2
		15	Grupo 1
	3	21	Grupo 2
		22	Grupo 1
	4	28	Grupo 1
		29	Grupo 2
Junio	5	4	Grupo 1
		5	Grupo 2
	6	11	Grupo 1
		12	Grupo 2
	7	18	Grupo 1
		19	Grupo 2
	8	25	Grupo 1
		26	Grupo 2

Las muestras se tomaron directamente del interior del tanque, extrayendo primeramente el agua en un contenedor grande. Luego se colocó en la botella de vidrio ámbar de 1L y se añadió 1,5 mL de HNO₃ (c) para obtener un pH cercano a 2. Se almacenó junto con gel refrigerante para posteriormente ser transportadas al laboratorio.

2.5 LECTURA DE MUESTRAS, PREPARACIÓN DE FORTIFICACIONES Y TRATAMIENTO DE RESULTADOS

Una vez concluido el muestreo semanal y ya con las muestras de los 16 tanques en el laboratorio, se procedió a preparar una curva de calibración de arsénico siguiendo el procedimiento antes descrito, para posteriormente cuantificar este elemento en el agua. Lo mismo se realizó para cuantificar mercurio. Todas las muestras recibieron el mismo tratamiento que los estándares previo a su lectura por triplicado en el equipo.

Para las fortificaciones se trabajó con las mismas concentraciones que los estándares utilizados para validar el método, cada muestra fortificada se la preparó por triplicado y se procedió a la lectura en el equipo para calcular el porcentaje de recuperación.

De los 16 tanques de almacenamiento, la primera semana se tomaron dos de ellos para preparar las fortificaciones, una con arsénico y otra con mercurio. La siguiente semana se seleccionaron de los 14 tanques restantes otros dos y así sucesivamente hasta que al finalizar la octava semana se hicieron un total de 16 fortificaciones, 8 con arsénico y 8 con mercurio.

Para procesar todos los datos obtenidos luego de la validación, se utilizaron los programas Microsoft Excel y Statgraphics Centurion XV. Este último brinda una mayor facilidad y agilidad para realizar el análisis estadístico de los resultados.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA ARSÉNICO

Previo a los ensayos para validar el método de determinación de arsénico, se estableció como objetivo el lograr una linealidad con un coeficiente de determinación (r^2) mayor o igual a 0,995; el cual para nuestro caso fue aceptable tomando en cuenta que la guía Eurachem de validación de métodos establece que al trabajar con trazas el valor de r^2 debe ser mayor o igual a 0,990. En cuanto al porcentaje de recuperación, se estableció un rango entre 95 y 105% [34].

3.1.1 DETERMINACIÓN DEL RANGO LINEAL

Primero se realizó una curva de calibración con estándares de concentraciones 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 y 20,0 $\mu\text{g As/L}$ más un blanco por triplicado, con el objetivo de verificar si la relación entre absorbancia y concentración es lineal. De acuerdo a los límites establecidos por norma, se esperaba obtener valores de arsénico de máximo 10 $\mu\text{g/L}$ en las muestras de agua, en el caso de que exista, por tanto se tomó como valor máximo 20 $\mu\text{g/L}$ tomando en cuenta la necesidad analítica y también por referencia del Standard Methods [10].

Tabla 3.1 Datos de la curva de calibración para verificar el rango lineal (As)

VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA						
LECTURA	Blanco	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L
1	0,033	0,167	0,318	0,660	0,917	1,156
2	0,030	0,162	0,293	0,616	0,901	1,171
3	0,032	0,169	0,291	0,641	0,910	1,145
MEDIA	0,032	0,166	0,301	0,639	0,909	1,157

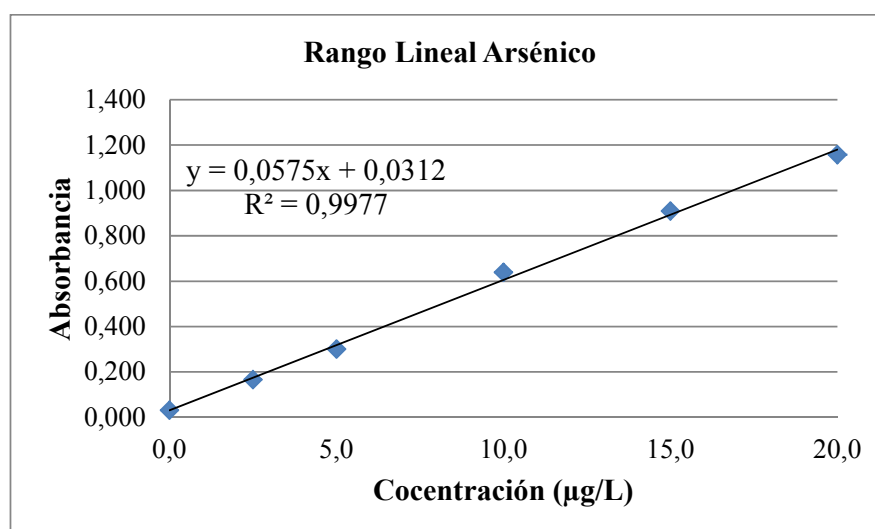


Figura 3.1 Rango Lineal para el Arsénico

Con los datos registrados en la tabla 3.1 se realizó la regresión lineal. Se pudo constatar que existe una relación directamente proporcional entre absorbancia y concentración en el rango de 0 a 20 µg/L de As. El valor de r^2 de 0,9977, registrado en la figura 3.1, confirmó que existe linealidad, por lo tanto se seleccionó para la validación del método el rango antes mencionado.

3.1.2 PRIMER DIA DE VALIDACIÓN

Para la validación se prepararon 5 estándares de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 y 20,0 µg/L más el blanco por quintuplicado y se realizó la lectura en el equipo. Este procedimiento se repitió por 5 días.

Tabla 3.2 Datos del primer día de validación (As)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L
1	0,036	0,156	0,318	0,606	0,904	1,168
2	0,035	0,164	0,303	0,616	0,925	1,156
3	0,037	0,157	0,287	0,641	0,913	1,167
4	0,032	0,162	0,291	0,640	0,909	1,161
5	0,033	0,160	0,302	0,605	0,910	1,165
MEDIA	0,035	0,160	0,300	0,622	0,912	1,163
s	0,002	0,003	0,012	0,018	0,008	0,005

En los datos de la tabla 3.2 se observa que existe una mayor dispersión en las lecturas de los estándares de 5 y 10 µg/L, esto porque su desviación estándar es mayor a la del resto.

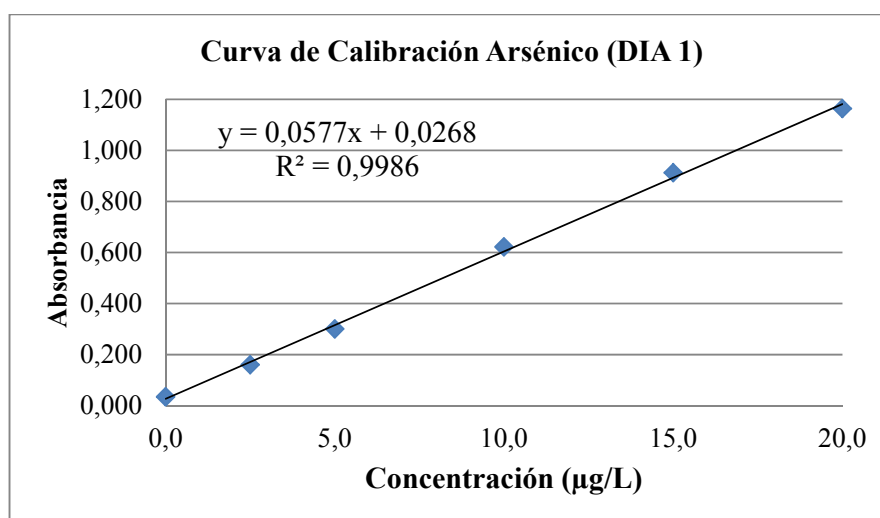


Figura 3.2 Curva de calibración As del día 1

Se observa en la figura 3.2 que el coeficiente de determinación (r^2) es 0,9986, lo cual indica que existe linealidad entre los valores obtenidos y que el valor cumple con el planteamiento de tener un r^2 mayor a 0,995.

3.1.3 SEGUNDO DIA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.3 Datos del segundo día de validación (As)

VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA						
LECTURA	BLANCO	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L
1	0,033	0,160	0,312	0,644	0,912	1,160
2	0,031	0,159	0,333	0,600	0,867	1,163
3	0,040	0,155	0,346	0,578	0,855	1,161
4	0,032	0,158	0,322	0,592	0,886	1,153
5	0,036	0,158	0,317	0,582	0,898	1,166
MEDIA	0,034	0,158	0,326	0,599	0,884	1,161
s	0,004	0,002	0,014	0,026	0,023	0,005

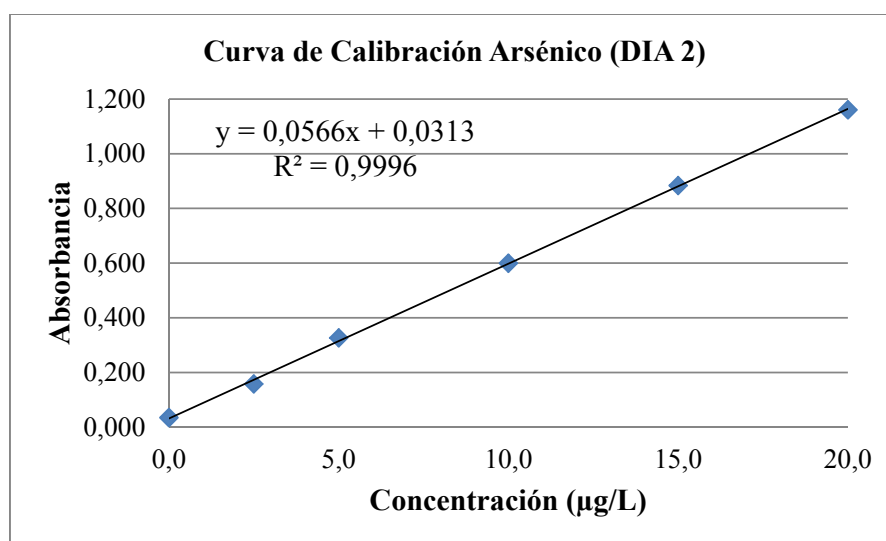


Figura 3.3 Curva de calibración As del día 2

Examinando los datos de la tabla 3.3, se observa que la dispersión es mayor en la parte media del rango, es decir entre 10 y 15 $\mu\text{g/L}$, pero en este día el coeficiente de determinación (r^2) es mejor, 0,9996, tal como se puede observar en la figura 3.3.

3.1.4 TERCER DIA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.4 Datos del tercer día de validación (As)

VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA						
LECTURA	BLANCO	St 2,5 $\mu\text{g/L}$	St 5 $\mu\text{g/L}$	St 10 $\mu\text{g/L}$	St 15 $\mu\text{g/L}$	St 20 $\mu\text{g/L}$
1	0,032	0,160	0,314	0,652	0,941	1,158
2	0,035	0,154	0,322	0,599	0,861	1,155
3	0,033	0,162	0,302	0,639	0,885	1,153
4	0,041	0,165	0,312	0,566	0,880	1,157
5	0,034	0,161	0,304	0,587	0,881	1,150
MEDIA	0,035	0,160	0,311	0,609	0,890	1,155
s	0,004	0,004	0,008	0,036	0,030	0,003

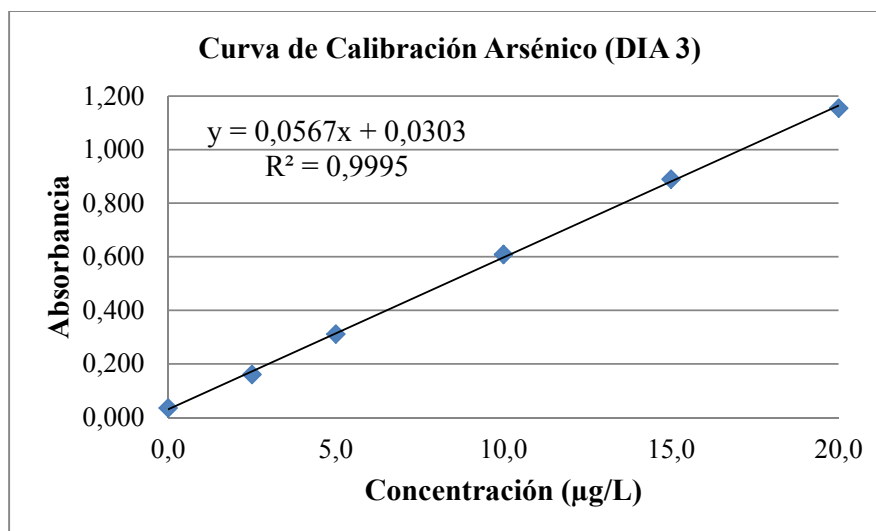


Figura 3.4 Curva de calibración As del día 3

Los datos del tercer día de validación, descritos en la tabla 3.4, muestran una mayor dispersión de datos obtenidos en las lecturas de los estándares de 10 y 15 µg/L. En la figura 3.4 se observa el coeficiente de determinación (r^2) igual a 0,9995.

3.1.5 CUARTO DIA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.5 Datos del cuarto día de validación (As)

VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA						
LECTURA	BLANCO	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L
1	0,039	0,166	0,385	0,622	0,921	1,166
2	0,042	0,160	0,296	0,632	0,910	1,167
3	0,030	0,162	0,313	0,605	0,923	1,153
4	0,033	0,158	0,299	0,653	0,905	1,156
5	0,027	0,166	0,316	0,647	0,907	1,149
MEDIA	0,034	0,162	0,322	0,632	0,913	1,158
s	0,006	0,004	0,036	0,019	0,008	0,008

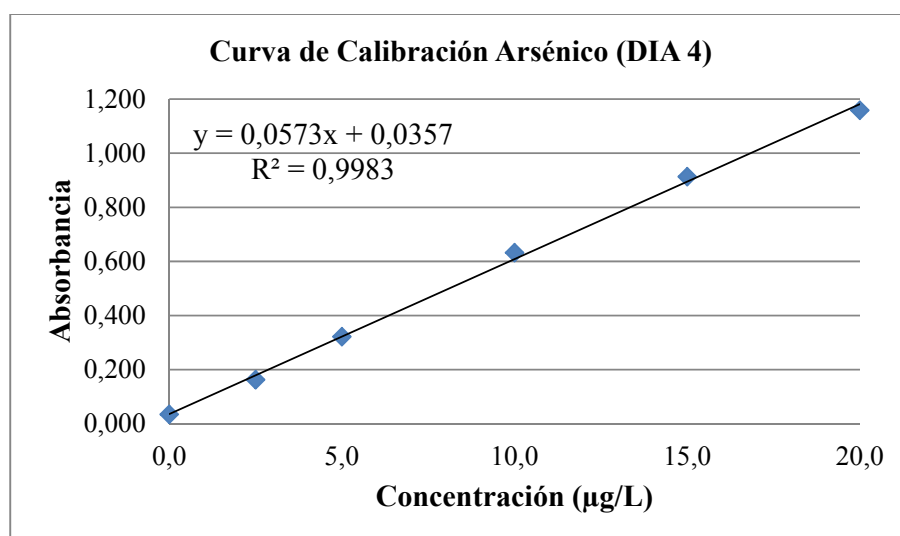


Figura 3.5 Curva de calibración As del día 4

Los datos de la tabla 3.5 muestran mayor dispersión en los datos de absorbancia de los estándares de 5 y 10 µg/L. En la figura 3.5 se observa un r^2 de 0,998.

3.1.6 QUINTO DIA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.6 Datos del quinto día de validación (As)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L
1	0,040	0,159	0,376	0,632	0,926	1,163
2	0,030	0,157	0,370	0,643	0,919	1,152
3	0,039	0,161	0,285	0,621	0,872	1,167
4	0,035	0,160	0,308	0,653	0,929	1,159
5	0,048	0,159	0,290	0,625	0,925	1,162
MEDIA	0,038	0,159	0,326	0,635	0,914	1,161
s	0,007	0,001	0,044	0,013	0,024	0,006

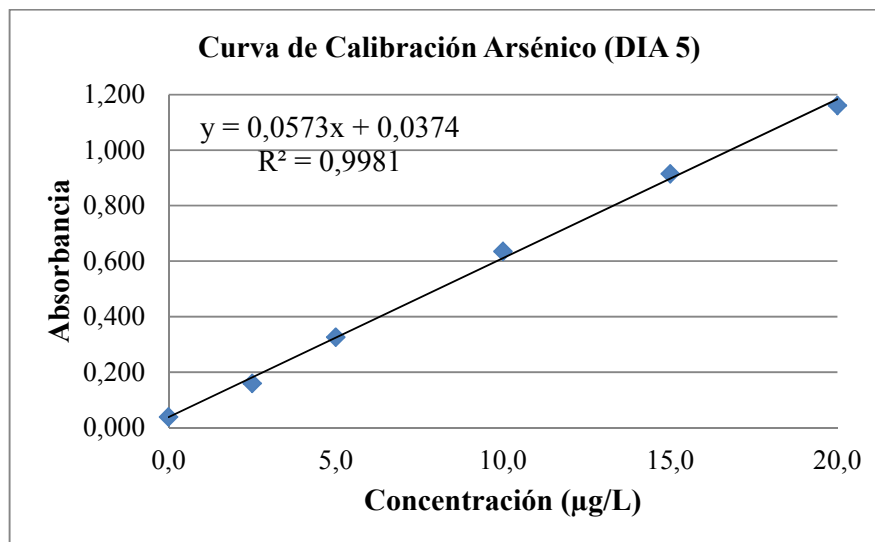


Figura 3.6 Curva de calibración As del día 5

Los valores de la tabla 3.6 muestran una mayor dispersión en los valores de los estándares de 5 y 15 µg/L. En figura 3.6 se observa un r^2 de 0.9981 para el último día de validación.

Durante los 5 días de validación se mantuvo la mayor dispersión para las lecturas intermedias correspondientes a 5, 10 y 15. Para el estándar de mayor concentración, el de 20 µg/L, se obtuvo una desviación estándar baja durante todos los días. A pesar de ello se pudo constatar que todas las curvas realizadas presentan un coeficiente de determinación superior al valor de 0,995 que originalmente se planteó como valor mínimo a ser obtenido.

3.1.7 LINEALIDAD DEL METODO E INTERVALOS DE CONFIANZA

Para calcular la linealidad primero se realizó la regresión lineal de todos los datos obtenidos durante los 5 días de validación.

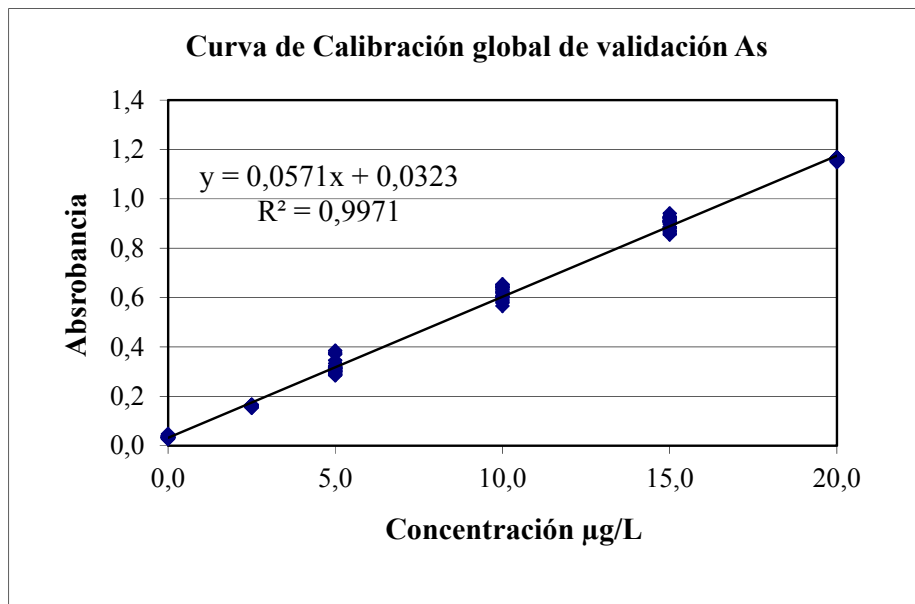


Figura 3.7 Regresión lineal global de validación de arsénico

La figura 3.7 corresponde a la curva de calibración global obtenida de la regresión lineal de todos los valores obtenidos en los 5 días de validación. De esta figura derivan los siguientes valores:

Ecuación: $y = 0,0571x + 0,0323$

$r^2 = 0,9971$

Pendiente (b) = 0,0571

Intercepto (a) = 0,0323

Intervalo de confianza de la pendiente (b) = $0,0560 < b < 0,0580$

Intervalo de confianza del intercepto(a) = $0,0240 < a < 0,0410$

Sensibilidad: corresponde a la valor de la pendiente, 0,00571

Los intervalos de confianza se los calculó con ecuaciones 1.5 y 1.6, donde $t_{tab} = 1,976$ para 123 (n-2) grados de libertad y 95% de confiabilidad.

Los valores de S_a (intercepto) y S_b (pendiente) se los calcula con las ecuaciones 1.5 y 1.6:

$$S_a = \frac{a}{t_{cal}}$$

$$S_b = \frac{b}{t_{cal}}$$

Los valores de t_{cal} , obtenidos con el programa Statgraphics fueron: 7,384 para el intercepto y 172,904 para la pendiente.

A pesar de existir una dispersión mayor en la región de la curva comprendida entre 5 y 15 $\mu\text{g/L}$, la regresión lineal arroja datos satisfactorios. Además al realizar la prueba F se determinó que no existen diferencias significativas entre las varianzas de las determinaciones entre días y dentro del día para cada nivel de concentración, por lo cual se pueden utilizar tanto los datos como la ecuación de la recta obtenida, para el cálculo de los demás parámetros de validación.

3.1.8 LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

Para calcular los límites se realizó la lectura de 10 blancos de HCl 1,5%, obteniéndose los siguientes valores:

Tabla 3.7 Lecturas de blancos (As)

Blanco No.	Absorbancia
1	0,038
2	0,019
3	0,037
4	0,029
5	0,024
6	0,035
7	0,032
8	0,027
9	0,039
10	0,025
MEDIA	0,031
s	0,007

Con los datos de la tabla 3.7 más el valor de la pendiente de la recta descrito en el ítem 3.1.7, se procedió a calcular el límite de detección (LD) y el de cuantificación (LC) con las ecuaciones 1.7 y 1.8, con las cuales se obtuvieron los valores de 0,39 $\mu\text{g/L}$ para el límite de detección y 1,19 $\mu\text{g/L}$ para el límite de cuantificación.

Para el cálculo de incertidumbre expandida (U), se utilizó la ecuación 1.10, misma que es descrita en del método de estimación y expresión de la incertidumbre de la medición del Comité Nórdico de Análisis de Alimentos [33].

El RSD se obtuvo con la ecuación 1.11. El factor de cobertura utilizado (k) fue 2. Aplicando la ecuación antes descrita se obtuvo que $U = 0,0053 \mu\text{g/L}$ para el límite de detección y $U = 0,0161 \mu\text{g/L}$ para el límite de cuantificación.

Los valores obtenidos para los límites de detección y cuantificación satisfacen plenamente la necesidad analítica que se planteó inicialmente, puesto que se esperaba no encontrar arsénico en el agua de los tanques de almacenamiento, pero en el caso de existir se podría cuantificar con certeza concentraciones a partir de $1,20 \mu\text{g/L}$, lo cual representa aproximadamente el 11% del máximo que permite la norma ($10 \mu\text{g/L}$).

3.1.9 PRECISIÓN Y EXACTITUD

Primero se realizó la prueba F de todos los valores obtenidos, se determinó que no existen diferencias significativas entre las varianzas de las determinaciones entre días y dentro del día por cada nivel de concentración, datos que se muestran en la tabla 3.8. Por lo tanto, se determinó que se pueden utilizar todos los datos para el cálculo de los demás parámetros de validación, comparándolos entre sí.

El valor de F_{cal} se lo obtiene dividiendo los valores de la suma de diferencia de cuadrados de grupos de las curvas realizadas en un mismo día para la suma de diferencia de cuadrados entre días.

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W} \quad (3.1)$$

Tabla 3.8 Valores obtenidos en la prueba F

NIVEL µg/L	F_{cal}	F_{tab}	EVALUACIÓN DEL CRITERIO
0,0	0,675	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
2,5	1,439	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
5,0	0,859	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
10,0	2,011	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
15,0	2,539	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
20,0	1,771	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales

REPETIBILIDAD: para determinar la precisión, expresada como repetibilidad se tomó en cuenta la desviación estándar (calculada con la ecuación 1.12) de las 5 repeticiones, que se realizaron para cada nivel de concentración de las curvas de calibración, obteniéndose:

Tabla 3.9 Datos para la repetibilidad (As)

Concentración (µg/L)	Sr	CVr (%)
2,5	0,003	2,09
5,0	0,012	4,03
10,0	0,018	2,86
15,0	0,008	0,86
20,0	0,005	0,42

Los datos de Sr descritos en la tabla 3.9 corresponden a la desviación estándar de las 5 lecturas en unidades de absorbancia de cada nivel de concentración. El coeficiente de variación (CVr) se obtiene con la ecuación 1.13. Se observa que para 2,5 µg/L el CVr es menor que para 5 y 10 µg/L.

REPRODUCIBILIDAD: para el cálculo de la reproducibilidad entre días, se tomó en cuenta la desviación estándar de las 25 repeticiones en total que se realizaron en 5 días diferentes.

Tabla 3.10 Datos para la reproducibilidad entre días (As)

Concentración (µg/L)	SR	CVR (%)
2,5	0,003	1,96
5,0	0,027	8,43
10,0	0,026	4,18
15,0	0,023	2,57
20,0	0,006	0,51

La tabla 3.10 detalla los datos obtenidos para la reproducibilidad, de los cuales se observa que el estándar más bajo de 2,5 µg/L presenta un menor coeficiente de variación respecto a los estándares de 5, 10 y 15 µg/L.

Esto podría ser consecuencia de baja sensibilidad del método para concentraciones muy pequeñas, lo cual produce que no se detecte las pequeñas variaciones de concentración y no se obtengan datos tan dispersos.

EXACTITUD: se calculó en función del porcentaje de recuperación de las 8 curvas de fortificación que se prepararon durante las 8 semanas de análisis, obteniéndose:

Tabla 3.11 Resumen de la exactitud del método (As)

µg/L	% DE RECUPERACIÓN POR SEMANA								x	s	RSD	U (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8				
2,5	99,2	98,1	98,5	99,5	99,7	99,5	98,6	99,2	99,0	0,587	0,006	0,030
5,0	99,7	101,8	100,6	100,2	100,1	101,4	100,1	102,5	100,8	0,972	0,010	0,096
10,0	101,8	101,0	102,0	100,4	102,1	101,7	102,8	101,5	101,7	0,733	0,007	0,144
15,0	99,8	100,3	100,1	99,7	100,5	101,2	99,8	100,4	100,2	0,492	0,005	0,147
25,0	101,5	101,1	102,0	103,1	101,9	101,3	102,7	102,9	102,0	0,754	0,007	0,370

La tabla 3.11 muestra un resumen de los porcentajes de recuperación (calculado con la ecuación 1.9) obtenidos en las 8 semanas de análisis. Para el cálculo de la incertidumbre

expandida, se trabajó con la ecuación 1.10, descrita por el Comité nórdico de análisis de alimentos, en donde el factor de cobertura (k) es igual a 2 [33].

La desviación estándar relativa (RSD), se obtuvo al dividir la desviación estándar típica (s) para la media (x) de los datos obtenidos en las 8 semanas de análisis (ecuación 1.11). De los datos obtenidos en las muestras fortificadas, los cuales se muestran en la tabla 7.10, se pudo constatar que a pesar que existe una tendencia a mayor dispersión en las concentraciones intermedias de 5, 10 y 15 $\mu\text{g/L}$ (figura 3.7), los valores obtenidos de recuperación son satisfactorios y cumplieron con los valores propuestos de 95 a 105%, por lo que se demostró que tanto el método instrumental como el tratamiento de las muestras son idóneos para el análisis de arsénico en agua. Las tablas con todos los datos obtenidos en las fortificaciones se pueden ver en el anexo 9.

3.1.10 INTERVALO DE CONFIANZA DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Con todos los datos obtenidos durante los 5 días de validación se obtuvieron, en el programa Statgraphics, los siguientes valores para el intervalo de confianza:

Tabla 3.12 Valores del intervalo de confianza de la curva de calibración (As)

Conc. ($\mu\text{g/L}$)	Valores de Absorbancia		Valores de Concentración ($\mu\text{g/L}$)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
2,5	0,121	0,240	1,6	3,6
5	0,269	0,364	4,2	5,8
10	0,556	0,650	9,2	10,8
15	0,842	0,937	14,2	15,8
20	1,128	1,223	19,2	20,9

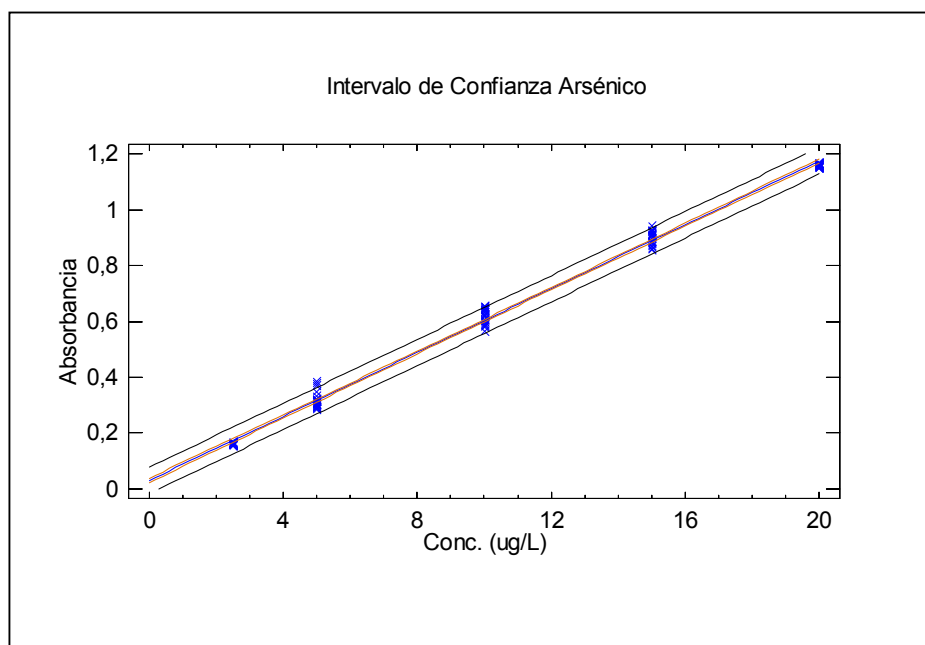


Figura 3.8 Intervalo de Confianza Arsénico

Dicho intervalo, mostrado numéricamente en la tabla 3.12 y gráficamente en la figura 3.8, sirve como referencia y marca una pauta para los futuros análisis que se realicen utilizando este método. Los valores que se obtengan a futuro deberán estar localizados en cualquier parte del intervalo de confianza para que puedan ser considerados fiables.

3.1.11 RESUMEN DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

La tabla 3.13 muestra un resumen de los resultados obtenidos en la validación del método para la determinación de arsénico en agua.

Tabla 3.13 Resumen de los datos obtenidos en la validación (As)

Método	Espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros					
Analito	Arsénico					
Unidades	µg/L					
Matriz	Agua					
LINEALIDAD						
Pendiente (b)	0,0571					
Intercepto (a)	0,0323					
Intervalo de Confianza (b)	0,0560 < b < 0,0580					
Intervalo de Confianza (a)	0,0240 < a < 0,0410					
R²	0,9971					
LIMITES						
	Concentración	U				
Límite de detección (LD)	0,39 µg/L	0,0053 µg/L				
Límite de cuantificación (LC)	1,19 µg/L	0,0161 µg/L				
PRECISION Y EXACTITUD						
Concentración (µg/L)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud	
	Sr	CVr (%)	SR	CVR (%)	% Recuperación	U (%)
2,5	0,003	2,09	0,003	1,96	99,0	0,030
5	0,012	4,03	0,027	8,43	100,8	0,096
10	0,018	2,86	0,026	4,18	101,7	0,144
15	0,008	0,86	0,023	2,57	100,2	0,147
20	0,005	0,42	0,006	0,51	102,0	0,370
INTERVALO DE CONFIANZA						
Concentración (µg/L)	Absorbancia		Concentración (µg/L)			
	MIN	MAX	MIN	MAX		
2,5	0,121	0,24	1,6	3,6		
5	0,269	0,364	4,2	5,8		
10	0,556	0,65	9,2	10,8		
15	0,842	0,937	14,2	15,8		
20	1,128	1,223	19,2	20,8		

3.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA MERCURIO

De igual forma que para el arsénico, previo a la preparación de las curvas de calibración se estableció como objetivo de validación del método para determinación de mercurio lograr una linealidad con un r^2 que sea mayor o igual a 0,995 y obtener un porcentaje de recuperación del método entre 95 y 105%.

3.2.1 DETERMINACIÓN DEL RANGO LINEAL

Primero se realizó una curva de calibración con estándares de 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 25,0 y 50,0 $\mu\text{g/L}$ más un blanco por triplicado, con el objeto de determinar hasta que concentración la relación entre absorbancia y concentración es directamente proporcional.

Tabla 3.14 Datos para determinar el rango lineal (Hg)

VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA							
Lectura	Blanco	1,0 $\mu\text{g/L}$	2,5 $\mu\text{g/L}$	5,0 $\mu\text{g/L}$	10,0 $\mu\text{g/L}$	25,0 $\mu\text{g/L}$	50,0 $\mu\text{g/L}$
1	0,000	0,017	0,025	0,039	0,103	0,264	0,528
2	0,001	0,014	0,025	0,056	0,093	0,303	0,586
3	0,000	0,014	0,026	0,055	0,099	0,252	0,511
MEDIA	0,000	0,015	0,025	0,050	0,098	0,273	0,542

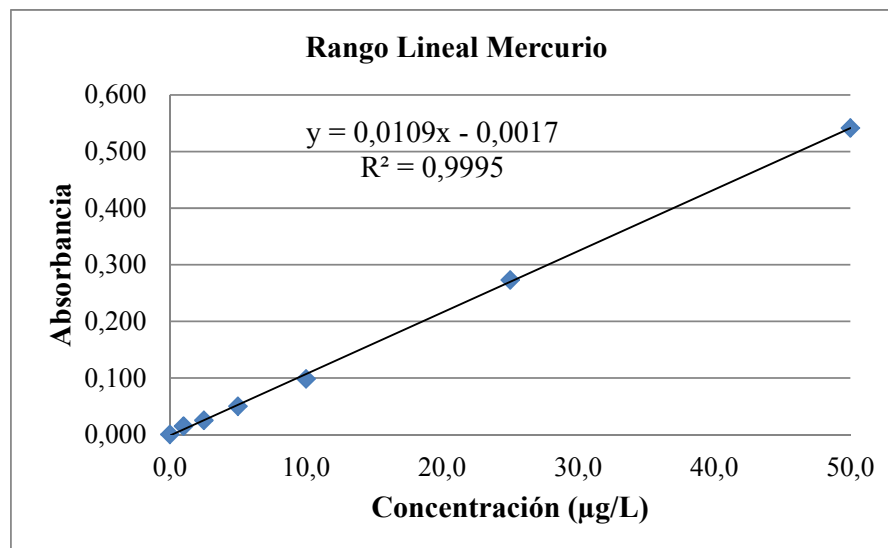


Figura 3.9 Rango lineal para el mercurio

En la tabla 3.14 se detallan los valores de absorbancia obtenidos, con los cuales se realizó la curva de calibración y la regresión lineal, como se muestra en la figura 3.9. Se pudo observar que la relación es lineal hasta 50 µg/L, pero se realizó un ajuste en la curva tomando en cuenta que el valor esperado en el caso de existir mercurio en las muestras de agua debe estar por debajo de 6 µg/L. Por lo tanto, de acuerdo a la necesidad analítica, se realizó la validación con una concentración máxima de 10,0 µg/L y también considerando que el Standard Methods sugiere preparar una curva de calibración para mercurio con concentraciones hasta 5 µg/L.

3.2.2 PRIMER DÍA DE VALIDACIÓN

Para validar el método se prepararon por quintuplicado 5 estándares de concentraciones 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 y 10,0 µg/L más un blanco y se procedió a leer en el equipo los valores de absorbancia para cada nivel de concentración. Este proceso se lo repitió por 5 días.

Tabla 3.15 Datos del primer día de validación (Hg)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 1,0 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5,0 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10,0 µg/L
1	0,001	0,015	0,039	0,079	0,117	0,160
2	0,001	0,016	0,041	0,082	0,125	0,160
3	0,002	0,014	0,039	0,081	0,116	0,164
4	0,001	0,014	0,035	0,079	0,118	0,165
5	0,001	0,014	0,039	0,068	0,119	0,168
MEDIA	0,001	0,015	0,039	0,078	0,119	0,163
s	0,001	0,001	0,002	0,006	0,004	0,003

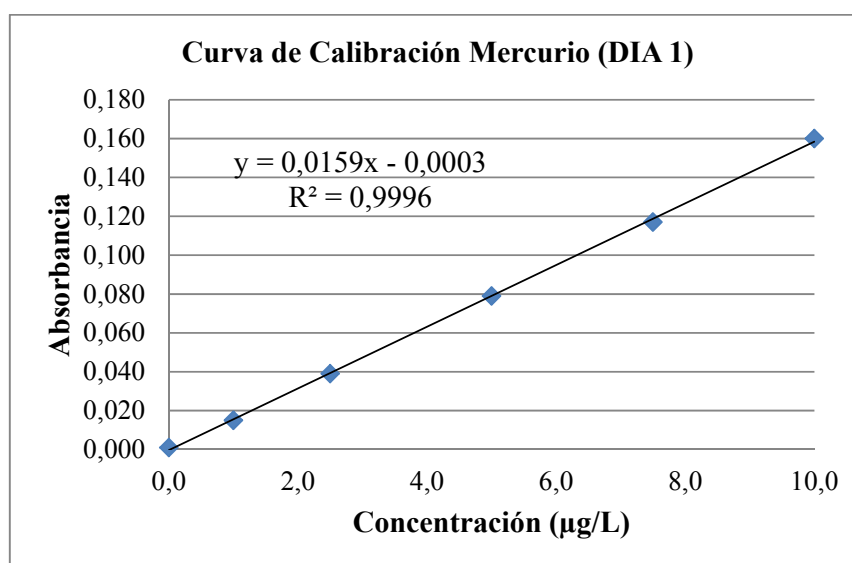


Figura 3.10 Curva de calibración del Hg día 1

Los datos de la tabla 3.15 indican que la dispersión entre las lecturas obtenidas es baja y uniforme. La figura 3.10 muestra la curva de calibración en la cual el r^2 es 0,9996.

3.2.3 SEGUNDO DÍA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.16 Datos del segundo día de validación (Hg)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 1,0 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5,0 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10,0 µg/L
1	0,001	0,016	0,038	0,077	0,117	0,163
2	0,001	0,016	0,042	0,083	0,121	0,158
3	0,002	0,015	0,040	0,081	0,119	0,163
4	0,002	0,016	0,041	0,073	0,120	0,157
5	0,002	0,017	0,037	0,080	0,125	0,160
MEDIA	0,002	0,016	0,040	0,079	0,120	0,160
s	0,001	0,001	0,002	0,004	0,003	0,003

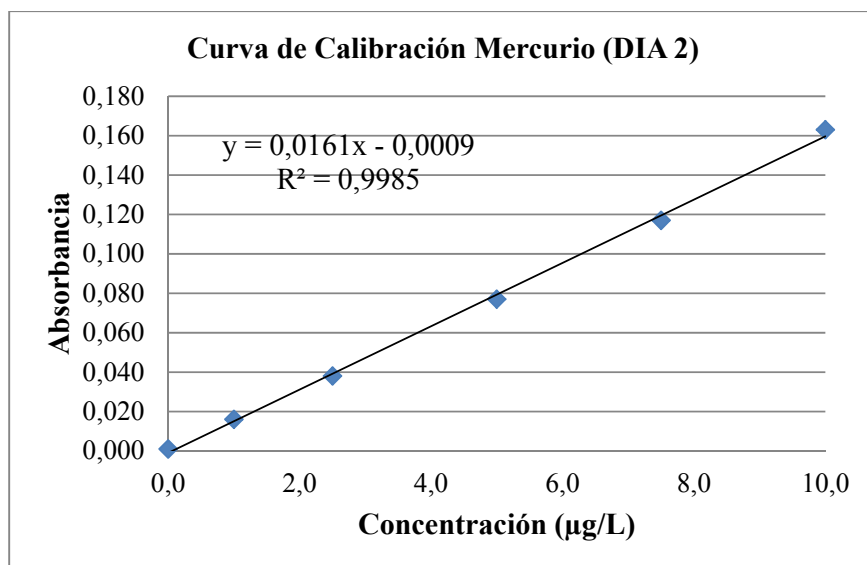


Figura 3.11 Curva de calibración del Hg día 2

Los valores de la tabla 3.16 indican que la desviación estándar es baja y similar entre cada nivel de concentración, mientras que en la figura 3.11 se observa que el r^2 producto de la regresión lineal de los datos es 0,9985.

3.2.4 TERCER DÍA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.17 Datos del tercer día de validación (Hg)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 1,0 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5,0 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10,0 µg/L
1	0,002	0,014	0,037	0,084	0,119	0,161
2	0,001	0,015	0,040	0,077	0,120	0,159
3	0,002	0,016	0,037	0,076	0,121	0,158
4	0,001	0,014	0,042	0,086	0,119	0,162
5	0,002	0,014	0,039	0,082	0,123	0,163
MEDIA	0,002	0,015	0,039	0,081	0,120	0,161
s	0,001	0,001	0,002	0,004	0,002	0,002

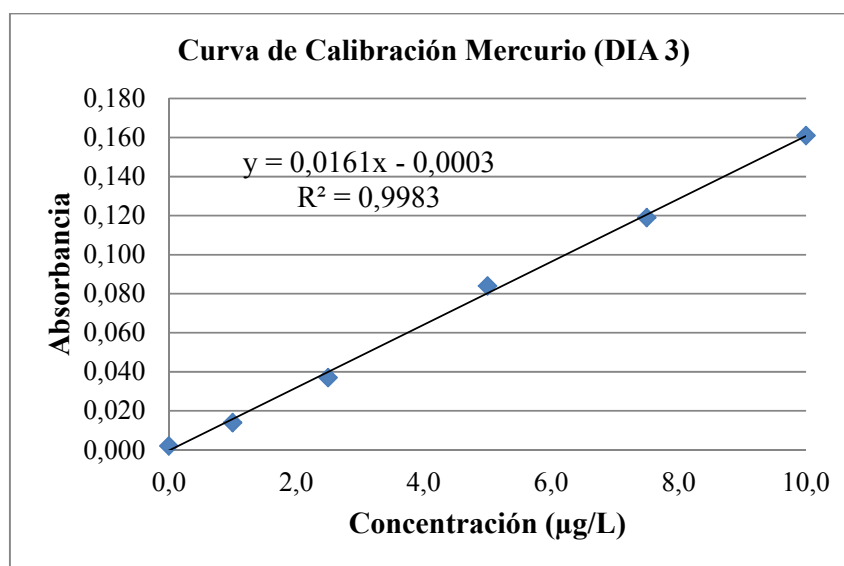


Figura 3.12 Curva de calibración del Hg día 3

Los valores de la tabla 3.17 muestran una baja dispersión. De acuerdo a la figura 3.12, el coeficiente de determinación (r^2) del día 3 es 0,9983.

3.2.5 CUARTO DÍA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.18 Datos del cuarto día de validación (Hg)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 1,0 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5,0 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10,0 µg/L
1	0,002	0,015	0,037	0,079	0,116	0,157
2	0,001	0,015	0,044	0,076	0,117	0,160
3	0,002	0,017	0,039	0,072	0,123	0,157
4	0,003	0,014	0,040	0,075	0,115	0,159
5	0,002	0,016	0,043	0,072	0,121	0,162
MEDIA	0,002	0,015	0,041	0,075	0,118	0,159
s	0,001	0,001	0,003	0,003	0,003	0,002

Se observa en los datos de la tabla 3.18 que la dispersión es mayor en las concentraciones 2,5; 5 y 7,5 µg/L.

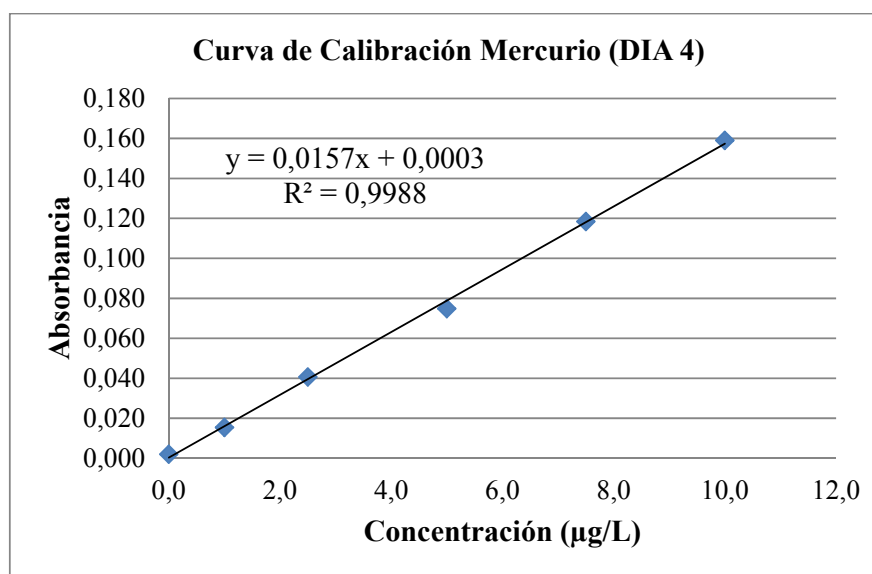


Figura 3.13 Curva de calibración del Hg día 4

La figura 3.13 muestra que la relación es directamente proporcional entre absorbancia y concentración, con un r^2 igual a 0,9988.

3.2.6 QUINTO DÍA DE VALIDACIÓN

Tabla 3.19 Datos del quinto día de validación (Hg)

LECTURA	VALORES EN UNIDADES DE ABSORBANCIA					
	BLANCO	St 1,0 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5,0 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10,0 µg/L
1	0,002	0,015	0,039	0,084	0,120	0,159
2	0,002	0,016	0,040	0,081	0,115	0,163
3	0,002	0,017	0,033	0,078	0,117	0,156
4	0,002	0,016	0,039	0,080	0,115	0,158
5	0,002	0,015	0,039	0,083	0,114	0,164
MEDIA	0,002	0,016	0,038	0,081	0,116	0,160
s	0,000	0,001	0,003	0,002	0,002	0,003

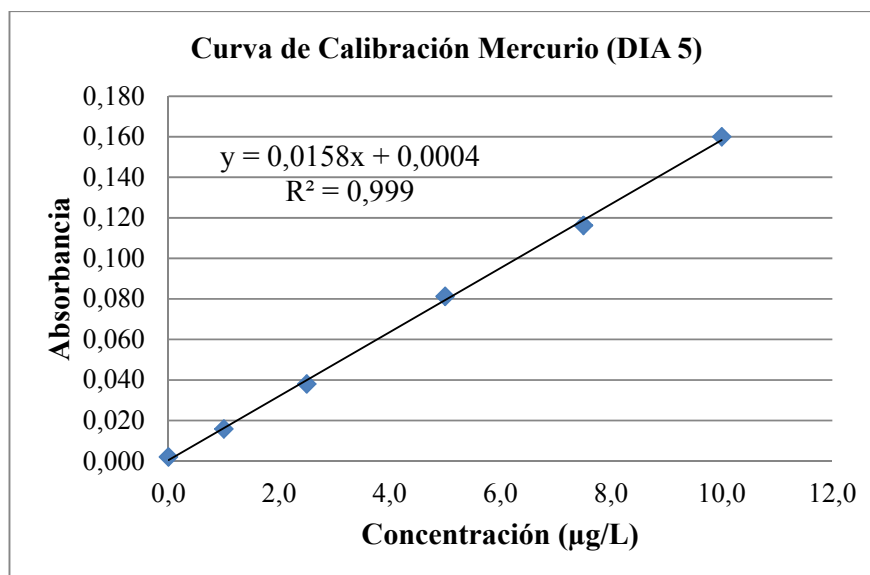


Figura 3.14 Curva de calibración del Hg día 5

La figura 3.14 muestra un r^2 de 0,999 para el quinto día de validación, mientras que en la tabla 3.19 se observa que los valores tienen una dispersión similar.

Luego de obtener los datos para las curvas de calibración durante 5 días, se pudo constatar que la dispersión entre los valores obtenidos es prácticamente uniforme en todos los niveles de concentración. Existe una relación directamente proporcional entre absorbancia y concentración como lo muestran los coeficientes de determinación de las 5 curvas, los cuales son mayores a 0,995.

3.2.7 LINEALIDAD DEL METODO E INTERVALOS DE CONFIANZA

Para calcular los resultados de la linealidad, se realizó la regresión lineal utilizando todos los valores de absorbancia obtenidos para cada nivel de concentración durante los 5 días.

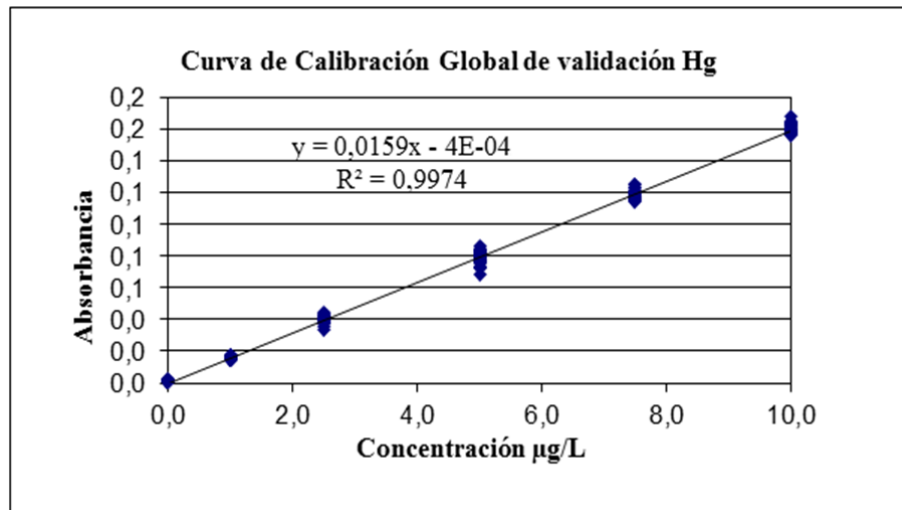


Figura 3.15 Regresión lineal global de validación de mercurio

La figura 3.15 corresponde a la curva de calibración general obtenida con todos los datos de la validación, de la cual se obtienen los siguientes datos:

Ecuación: $y = 0,0159x - 0,0004$

$$r^2 = 0,9974$$

$$\text{Pendiente (b)} = 0,0159$$

$$\text{Intercepto (a)} = -0,0004$$

$$\text{Intervalo de confianza (b)} = 0,0157 < b < 0,0161$$

$$\text{Intervalo de confianza (a)} = -0,0007 < a < -0,0001$$

Sensibilidad: corresponde al valor de la pendiente

Los intervalos de confianza se los obtiene con las ecuaciones 1.5 y 1.6, donde $t_{\text{tab}} = 1,976$ para 123 (n-2) grados de libertad y 95% de confiabilidad. El valor de t_{cal} para el intercepto fue -2,487 y para la pendiente 196,264, valores que se obtuvieron al procesar los datos en el programa Statgraphics.

3.2.8 LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

Para calcular los límites se realizó la lectura de 10 blancos de HNO₃ 1,5%, obteniéndose los siguientes valores:

Tabla 3.20 Lecturas de blancos (Hg)

Blanco No.	Absorbancia
1	0,002
2	0,001
3	0,002
4	0,002
5	0,003
6	0,002
7	0,002
8	0,003
9	0,002
10	0,001
MEDIA	0,002
s	0,001

Con los datos de la tabla 3.20, más el valor de la pendiente descrito en el ítem 3.2.7, se procedió a calcular los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) con las ecuaciones 1.7 y 1.8, obteniéndose un valor de 0,14 $\mu\text{g/L}$ como límite de detección y 0,42 $\mu\text{g/L}$ como límite de cuantificación.

Para el cálculo de la incertidumbre estándar expandida (U), se calculó primero el valor del RSD con la ecuación 1.11 y luego se aplicó la ecuación 1.10, con un factor de cobertura (k) igual a 2, obteniéndose los valores de $U = 0,0002 \mu\text{g/L}$ para el límite de detección y $U = 0,0006 \mu\text{g/L}$ para el límite de cuantificación.

Los límites obtenidos satisfacen la necesidad analítica planteada, ya que si se toma en cuenta el valor máximo de mercurio que podría contener una muestra de agua, que es 6 $\mu\text{g/L}$, con este método se podría cuantificar concentraciones a partir de 0,43 $\mu\text{g/L}$, aproximadamente el 7% del máximo permitido.

3.2.9 PRECISIÓN Y EXACTITUD

Primero se realizó la prueba F de todos los valores obtenidos, se determinó que no existen diferencias significativas entre las varianzas de las determinaciones entre días y dentro del día por cada nivel de concentración, datos que se muestran en la tabla 3.21. Por lo tanto, se constató que se pueden utilizar todos los datos para el cálculo de los demás parámetros de validación, comparándolos entre sí.

EL valor de F_{cal} se lo obtiene dividiendo los valores de la suma de diferencia de cuadrados de grupos de las curvas realizadas en un mismo día para la suma de diferencia de cuadrados entre días (ecuación 3.1).

Tabla 3.21 Valores obtenidos en la prueba F

NIVEL µg/L	F_{cal}	F_{tab}	EVALUACIÓN DEL CRITERIO
0,0	2,154	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
1,0	2,634	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
2,5	0,826	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
5,0	2,146	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
7,5	1,810	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales
10,0	1,714	< 2.866	no hay diferencia significativa entre grupos muestrales

REPETIBILIDAD: Para determinar la precisión, expresada como repetibilidad se tomó en cuenta la desviación estándar (calculada con la ecuación 1.12) de las 5 repeticiones que se realizaron para cada nivel de concentración de las curvas de calibración, obteniéndose:

Tabla 3.22 Datos para la repetibilidad de cada día (Hg)

Concentración (µg/L)	Sr	CVr (%)
1,0	0,001	6,13
2,5	0,002	5,44
5,0	0,004	5,38
7,5	0,003	1,39
10,0	0,003	1,29

Los datos de la tabla 3.22 muestran que a medida que aumenta la concentración, el coeficiente de variación disminuye. Mientras más concentrado es el estándar, mejora la repetibilidad. Los datos Sr corresponden a la desviación estándar típica de las 5 lecturas de unidades de absorbancia de cada nivel de concentración. El coeficiente de variación (CVr)

se obtiene al dividir la desviación estándar (Sr) para la media de las 5 lecturas y multiplicado por 100, para expresarlo en porcentaje.

REPRODUCIBILIDAD: para el cálculo se tomaron en cuenta las 25 repeticiones en total que se realizaron en los 5 días diferentes.

Tabla 3.23 Datos para la reproducibilidad entre días (Hg)

Concentración (µg/L)	SR	CVR (%)
1,0	0,001	6,68
2,5	0,002	6,15
5,0	0,004	5,56
7,5	0,003	2,58
10,0	0,003	1,86

Los valores de la tabla 3.23 confirman que coeficiente de variación decrece a medida que la concentración del estándar aumenta, por lo que a mayor concentración, mejor reproducibilidad.

EXACTITUD: se calculó en función del porcentaje de recuperación de las 8 curvas de fortificación que se prepararon durante las 8 semanas de análisis, obteniéndose:

Tabla 3.24 Resumen de la exactitud del método (Hg)

µg/L	% RECUPERACIÓN POR SEMANA								x	s	RSD	U (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8				
1,0	100,0	98,6	100,0	100,0	100,0	100,0	97,8	97,9	99,3	1,017	0,010	0,021
2,5	101,3	97,4	103,3	100,8	99,2	103,1	100,4	101,7	100,9	1,968	0,020	0,098
5,0	98,7	100,9	100,4	101,7	101,3	100,0	99,6	99,2	100,2	1,044	0,010	0,104
7,5	100,1	100,4	101,1	99,7	100,8	101,6	99,0	100,3	100,4	0,829	0,008	0,124
10,0	100,9	100,1	99,4	99,6	100,4	100,7	100,2	99,8	100,1	0,526	0,005	0,105

La tabla 3.24 muestra un resumen de los porcentajes de recuperación obtenidos en las 8 semanas de análisis. Para este caso se trabajó con la ecuación 1.10 para calcular la incertidumbre, donde el valor de la desviación estándar relativa (RSD) se obtiene con la ecuación 1.11.

El porcentaje de recuperación obtenido cumple con los valores propuestos de 95 a 105% y demuestra que tanto el método instrumental como el pre-tratamiento de las muestras son idóneos para el análisis de mercurio en agua. Los valores detallados de absorbancias obtenidas en las muestras fortificadas se pueden observar en el anexo 11.

3.2.10 INTERVALO DE CONFIANZA DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Con todos los datos obtenidos durante los 5 días de validación se obtuvieron los siguientes valores en Statgraphics para el intervalo de confianza:

Tabla 3.25 Valores del intervalo de confianza de la curva de calibración (Hg)

Conc. µg/L	Valores de Absorbancia		Valores de Concentración (µg/L)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
1,0	0,009	0,021	0,6	1,3
2,5	0,031	0,046	2,0	3,0
5,0	0,073	0,085	4,7	5,5
7,5	0,113	0,126	7,3	8,1
10,0	0,154	0,166	9,9	10,6

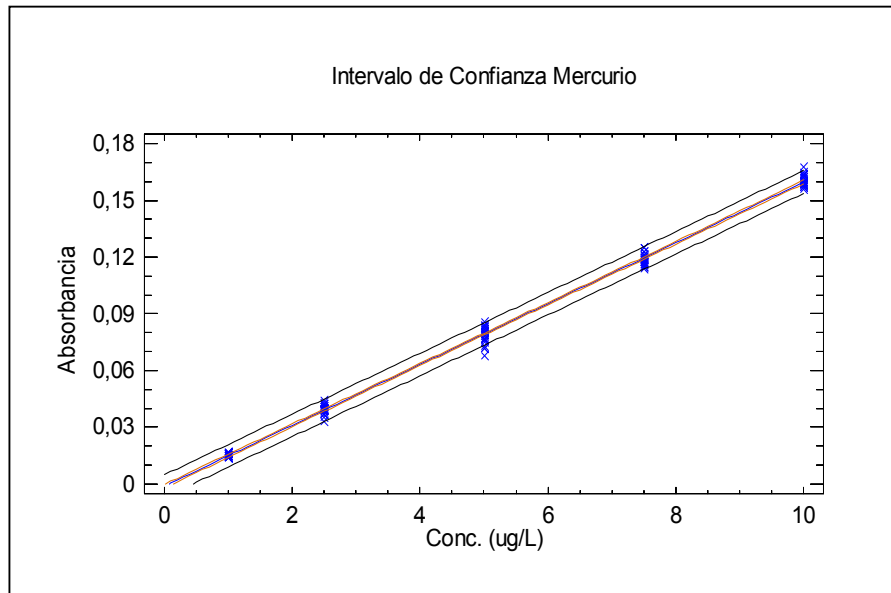


Figura 3.16 Intervalo de Confianza Mercurio

Dicho intervalo, mostrado numéricamente en la tabla 3.25 y gráficamente en la figura 3.16, sirve como referencia y marca una pauta para los futuros análisis que se realicen utilizando este método. Los valores que se obtengan a futuro deberán estar localizados en cualquier parte del intervalo de confianza para que puedan ser considerados confiables.

3.2.11 RESUMEN DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La tabla 3.26 resume los principales resultados obtenidos de la validación del método para determinación de mercurio.

Tabla 3.26 Resumen de los datos obtenidos en la validación (Hg)

Método	Espectrofotometría de absorción atómica, técnica de vapor frío					
Analito	Mercurio					
Unidades	µg/L					
Matriz	Agua					
LINEALIDAD						
Pendiente (b)	0,0159					
Intercepto (a)	-0,0004					
Intervalo de Confianza (b)	0,0157 < b < 0,0161					
Intervalo de Confianza (a)	-0,0007 < a < -0,0001					
R²	0,9975					
LIMITES						
	Concentración	U				
Límite de detección (LD)	0,14 µg/L	0,0002 µg/L				
Límite de cuantificación (LC)	0,42 µg/L	0,0006 µg/L				
PRECISION Y EXACTITUD						
Concentración (µg/L)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud	
	Sr	CVr (%)	SR	CVR (%)	% Recuperación	U (%)
1,0	0,001	4,42	0,001	6,68	99,3	0,021
2,5	0,003	5,24	0,002	6,15	100,9	0,098
5,0	0,004	4,95	0,004	5,56	100,2	0,104
7,5	0,003	2,47	0,003	2,58	100,4	0,124
10,0	0,003	1,73	0,003	1,86	100,1	0,105
INTERVALO DE CONFIANZA						
Concentración (µg/L)	Absorbancia		Concentración (µg/L)			
	MIN	MAX	MIN	MAX		
1,0	0,009	0,021	0,6	1,3		
2,5	0,031	0,046	2,01	3,0		
5,0	0,073	0,085	4,7	5,5		
7,5	0,113	0,126	7,3	8,1		
10,0	0,154	0,166	9,9	10,6		

3.3 LECTURA DE ARSÉNICO EN MUESTRAS

3.3.1 DATOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN SEMANALES

Tabla 3.27 Curvas de calibración semanales para lectura de As en muestras

Semana	Valores en unidades de absorbancia						Regresión lineal		
	Blanco	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 10 µg/L	St 15 µg/L	St 20 µg/L	a	b	r ²
1	0,035	0,161	0,344	0,599	0,873	1,155	0,0387	0,0559	0,999
2	0,034	0,156	0,333	0,589	0,900	1,160	0,0330	0,0560	0,998
3	0,034	0,157	0,323	0,608	0,907	1,163	0,0270	0,0570	0,998
4	0,035	0,158	0,312	0,609	0,897	1,166	0,0310	0,0560	0,999
5	0,032	0,153	0,327	0,587	0,892	1,150	0,0288	0,0565	0,999
6	0,037	0,157	0,317	0,625	0,885	1,157	0,0310	0,0560	0,998
7	0,038	0,155	0,320	0,611	0,902	1,166	0,0310	0,0560	0,998
8	0,036	0,160	0,324	0,629	0,913	1,165	0,0360	0,0570	0,997

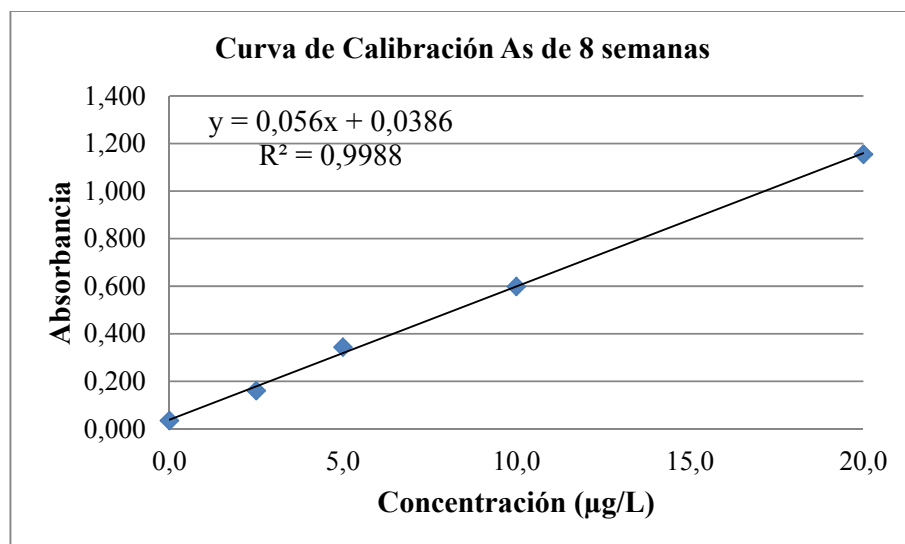


Figura 3.17 Curva de calibración global de As de las 8 semanas de análisis

Todos los valores obtenidos y registrados en la tabla 3.27 se encuentran dentro del intervalo de confianza del método tanto pendiente, intercepto, como los valores de las

absorbancias de los diferentes niveles de concentración. La linealidad se mantuvo durante todo el tiempo de análisis por lo que se demuestra que el método es robusto. La figura 3.17 muestra el r^2 igual a 0,9988, valor que también se mantuvo constante.

3.3.2 RESUMEN DE LAS LECTURAS DE ARSÉNICO

Tabla 3.28 Resultados de As en las muestras de agua en $\mu\text{g/L}$

TANQUES	SEMANA							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Albornoz	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Mushuñán	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Orejuela	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Salgado	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Cashapamba	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Loreto	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
La Colina	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
San Fernando	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
San Pedro	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
El Taxo	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Cotogchoa	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Patagua	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
La Leticia	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
El Milagro	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Rumiloma	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19
Gavilánez	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19	< 1,19

Como se observa en los datos de la tabla 3.28, durante las 8 semanas no se registraron valores de absorbancia que sean cuantificables, por lo cual para las muestras de los 16 tanques de almacenamiento se reporta una concentración de arsénico $<1,19 \mu\text{g/L}$. Los valores detallados de las absorbancias se encuentran en el anexo 8.

3.4 LECTURA DE MERCURIO EN MUESTRAS

3.4.1 DATOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN SEMANALES

Tabla 3.29 Curvas de calibración semanales para lectura de Hg en muestras

Semana	Valores en unidades de absorbancia						Regresión		
	Blanco	St 1 µg/L	St 2,5 µg/L	St 5 µg/L	St 7,5 µg/L	St 10 µg/L	a	b	r ²
1	0,001	0,016	0,037	0,075	0,116	0,158	-0,0001	0,0158	0,998
2	0,002	0,016	0,042	0,084	0,122	0,162	-0,0002	0,0161	0,999
3	0,002	0,017	0,042	0,084	0,122	0,162	-0,0001	0,0160	0,999
4	0,002	0,017	0,041	0,083	0,121	0,163	-0,0005	0,0160	0,999
5	0,002	0,016	0,038	0,085	0,125	0,160	-0,0003	0,0160	0,998
6	0,001	0,017	0,044	0,085	0,125	0,162	-0,0001	0,0159	0,999
7	0,002	0,015	0,040	0,077	0,117	0,160	-0,0004	0,0159	0,998
8	0,002	0,017	0,040	0,080	0,121	0,161	-0,0002	0,0160	0,999

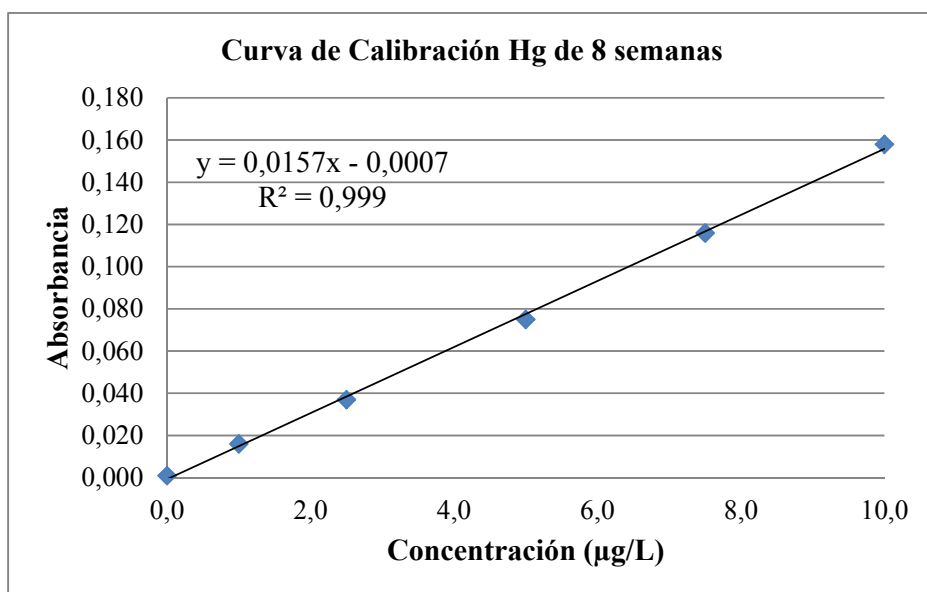


Figura 3.18 Curva de calibración global de Hg de las 8 semanas de análisis

Todos los valores obtenidos y registrados en la tabla 3.29 se encuentran dentro del intervalo de confianza del método tanto pendiente, intercepto, como los valores de las absorbancias de los diferentes niveles de concentración. La figura 3.18 demuestra que la linealidad se conservó durante las 8 semanas de análisis, por lo que se puede decir que el método es robusto. El valor de r^2 también se mantuvo en un nivel aceptable, 0,999.

3.4.2 RESUMEN DE LAS LECTURAS DE MERCURIO

Tabla 3.30 Resultados de Hg en las muestras de agua en $\mu\text{g/L}$

TANQUES	SEMANAS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Albornoz	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Mushuñán	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Orejuela	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Salgado	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Cashapamba	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Loreto	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
La Colina	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
San Fernando	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
San Pedro	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
El Taxo	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Cotogchoa	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Patagua	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
La Leticia	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
El Milagro	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Rumiloma	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42
Gavilánez	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,42

Como se observa en los valores de la tabla 3.30, no existe variación en los resultados obtenidos durante las 8 semanas, ninguna muestra registró señal por encima del blanco, por lo cual para las 16 muestras de agua se reporta un valor de mercurio $<0,42 \mu\text{g/L}$, es decir menor al límite de cuantificación. Los valores detallados de las absorbancias se encuentran en el anexo 10.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

El método para determinación de arsénico está validado en el rango de 1,19 (límite de detección) a 20 $\mu\text{g/L}$, obteniéndose un coeficiente de determinación de 0,9971 el cual cumplió con el planteamiento inicial de obtener un valor superior a 0,995.

En el nivel de concentración de arsénico más bajo, correspondiente a 2,5 $\mu\text{g/L}$, no existe una adecuada sensibilidad, la cual permita que el equipo detecte pequeñas variaciones de concentración, por lo que los coeficientes de variación tanto de repetibilidad, como de reproducibilidad, tienen valores menores que las concentraciones más altas. A pesar de ello la linealidad del método nunca se vio afectada.

El método para determinación de mercurio está validado en el rango de 0,42 (límite de cuantificación) a 10 $\mu\text{g/L}$, con un r^2 de 0,9975, cumpliéndose el planteamiento inicial de obtener un coeficiente de determinación superior a 0,995.

Los porcentajes de recuperación tanto de arsénico como de mercurio cumplieron el objetivo de obtener valores que estén dentro del rango de 95 a 105%.

Ambos métodos son robustos ya al observar todas las curvas de calibración realizadas para la validación durante 5 días y durante 8 semanas para analizar las muestras, todos los

valores obtenidos están dentro de los intervalos de confianza y la linealidad se mantiene durante todo el tiempo de análisis.

La sensibilidad del método para mercurio (0,0159) es aproximadamente 3 veces menor a la sensibilidad que posee el método de análisis de arsénico (0,0571), pero a pesar de esta diferencia, ambos métodos cumplen con los demás parámetros de validación.

Se confirma en este caso que la teoría concuerda con la práctica, ya que el método de absorción atómica adaptado a un generador de hidruros sirvió para detectar trazas de elementos, es decir cantidades en el orden de partes por billón ($\mu\text{g/L}$). Por lo cual se concluye que el método de generación de hidruros aumenta la sensibilidad.

No es necesario validar la especificidad y la selectividad en ninguno de los dos casos, ya que el método de absorción atómica es específico para cada elemento que se analiza. Tampoco es necesario validar la robustez en este caso, debido a que las condiciones utilizadas para el método están detalladas en el manual de referencia del equipo, por tanto, no hay necesidad de hacer variaciones en las condiciones y evaluar resultados.

Ninguna de las muestras de los 16 tanques de almacenamiento de agua presenta valores detectables de arsénico ni mercurio. Durante las 8 semanas de análisis los resultados fueron similares, por lo que se concluye que no existen cantidades de estos dos elementos detectables ni cuantificables por los dos métodos validados.

Con los resultados obtenidos durante el período de análisis, se puede afirmar que el agua de consumo del cantón Rumiñahui cumple con las especificaciones de la Norma Técnica Ecuatoriana 1 108:2011 para arsénico y mercurio.

Este trabajo de investigación cumplió con los objetivos previamente establecidos y establece una pauta para futuros ensayos de arsénico y mercurio en matrices similares a la que fue objeto de estudio.

Este tipo de estudios sirven para vincular el área académica e investigativa con la comunidad, ya que el mismo constituye un aporte para el Municipio del Cantón Rumiñahui y para todos sus habitantes. Los resultados aquí presentados pueden tomarse como referencia para afirmar que el agua para consumo humano que es distribuida a toda la población, cumple con los requisitos de la norma en lo referente a niveles máximos de arsénico y mercurio.

4.2 RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta los antecedentes de contaminación que existen en el Ecuador, es muy importante el monitoreo constante de metales pesados en el agua, sobre todo cuando esta es distribuida a la población para consumo y proviene de fuentes subterráneas.

Es prioritario que las entidades que distribuyen agua a las poblaciones establezcan una rutina de control minucioso de niveles de contaminantes, debido a que los habitantes, especialmente de las zonas rurales más alejadas, no tienen conocimiento de que existen algunos elementos contaminantes en el agua que podrían poner en riesgo su vida.

Los gobiernos seccionales deberían solicitar apoyo técnico a entidades especializadas, para realizar estudios que puedan determinar y garantizar totalmente la calidad del agua que se distribuye a la población.

Antes de utilizar el agua proveniente de un acuífero, es necesario realizar un estudio de la geología del terreno bajo el cual está localizado y posteriormente analizar los elementos que están presentes en ella para evitar intoxicaciones masivas en los poblados que la utilicen.

Antes de proceder con el análisis de arsénico y mercurio, se debe alinear perfectamente la lámpara y el mechero del equipo, de tal manera que no exista dispersión de radiación y se obtengan lecturas de absorbancia correctas.

Se debe verificar que la matriz que va a ser objeto de estudio no posea materia orgánica de tal manera que no interfiera en las lecturas. En el caso de tener materia orgánica, es necesario digerir la muestra previo a su análisis.

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Orozco, Carmen, (2005). *Contaminación Ambiental*, 1ª edición, Thompson, Madrid, España.
- [2] American Water Works Association, (2002). *Calidad y Tratamiento del Agua*, McGraw-Hill, Madrid, España.
- [3] Romero, Alberto, (2009). *Calidad del Agua*, 3ª edición, Escuela Colombiana de Ingeniería, Colombia.
- [4] Corbitt, Robert, (2003). *Manual de Referencia de la Ingeniería Ambiental*, McGraw-Hill, Madrid, España.
- [5] Biblioteca de Investigadores, El agua y la huella hídrica, <https://bibliotecadeinvestigaciones.wordpress.com/ecologia/el-agua-y-la-huella-hidrica/>, julio 2013.
- [6] Environmental Protection Agency. *Water and Health Research*, EPA, <http://www.epa.gov/hg/effects.htm>, 10 de octubre de 2012.
- [7] Pérez, Guillermo, Ciclo hidrológico del Agua, <http://www.ciclohidrologico.com/>, marzo 2013.
- [8] World Health Organization, *Mercury in Drinking water*, http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/mercuryfinal.pdf, octubre 2012.
- [9] Diario La Hora, *Agua Contaminada en Tumbaco y Guayllabamba*, <http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/472644/->

1/Agua_contaminada_en_Tumbaco_y_Guayllabamba.html#.UQdXkB0maKI, Octubre 2012.

[10] Rice, E., Baird, R. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*, 22ª edición, Washington.

[11] US Environmental Protection Agency, (2002). *Groundwater Contamination*, United States of America.

[12] Henke, Kevin, (2009). *Arsenic Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*, 1ª edición, Wiley, Kentucky, United States of America.

[13] Ahuja, Satinder, (2008). *Arsenic Contamination of Groundwater*, 1ª edición, Wiley, New Jersey, United States of America.

[14] World Health Organization, (2011). *Arsenic in Drinking-water*, Ginebra, Suiza

[15] World Health Organization, (2008). *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, Volumen 9, 1ra edición, Elsevier, Nueva York.

[16] Bundschuh, J., Bhattacharya, P. (2009). *Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America*, Volumen I, Taylor & Francis Group, Londres.

[17] Cumbal, Luis, (2007). *Origen del Arsénico en las aguas y sedimentos de la laguna de Papallacta*, Quito, Ecuador.

[18] Empresa Metropolitana de Alcantarillado y Agua Potable de Quito, (2007). *Auditoría ambiental a la calidad del agua de consumo humano de las poblaciones de Guayllabamba y Tumbaco*, Quito, Ecuador.

[19] Instituto Nacional de Ecología, (2007). *Contaminación por mercurio en México*, <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/438/cap2.html>, agosto 2013.

[20] Lenntech, Soluciones para el tratamiento de aguas, (2010). <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/hg.htm#ixzz3Q8XXbvXo>, julio 2014.

- [21] Barringer, J., Szabo, Z. (2013). *Occurrence and Mobility of Mercury in Groundwater*, Estados Unidos de América.
- [22] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, (2002). *Evaluación Mundial sobre Mercurio*, Ginebra, Suiza.
- [23] Ministerio de Salud de la Nación, (2008). *Mercurio: cartilla de información*, Departamento de Salud Ambiental, Buenos Aires, Argentina.
- [24] Presidencia de la República, Norma de calidad ambiental recurso agua, Quito, Ecuador.
- [25] Kowalski, A., Siepak, M., (2006). *Mercury Contamination of Surface and Ground Waters of Poznan, Poland*, Polonia.
- [26] Diario El Universo, *Ecuador en la lista roja de países emisores de mercurio*, <http://www.eluniverso.com/2013/02/10/1/1430/un-toxico-cesa.html>, diciembre 2014.
- [27] El agua en el Ecuador, (2011). *Minería y Contaminación del Agua*, <http://agua-ecuador.blogspot.com/2013/07/mineria-y-contaminacion-del-agua.html>, junio 2014.
- [28] Durán, Juan Carlos, (2008). *Diagnóstico de la contaminación por mercurio en aguas y sedimentos de ríos que reciben efluentes de minería en los sectores Nambija, Ponce Enríquez y Portovelo*, ESPE, Sangolquí, Ecuador.
- [29] Ministerio del Ambiente, (2013). *Acuerdo mundial para reducir emisiones de mercurio*, <http://www.ambiente.gob.ec/ecuador-aplica-fuertes-medidas-ante-emisiones-de-mercurio/>, diciembre 2014.
- [30] Skoog, Douglas, (2007). *Principios de Análisis Instrumental*, sexta edición, Cengage, México.
- [31] Welz, Bernhard, (2005). *Atomic Absorption Spectrometry*, 3ra edición, Wiley-VCH, República Federal de Alemania.
- [32] Perkin Elmer, (2007). *AAAnalyst 400 Hardware Guide*, Connecticut, Estados Unidos.

- [33] Agilent Technologies, (2010). *Validation of Analytical Methods*, Alemania.
- [34] Comité Nórdico de Análisis de Alimentos, (1999). *Estimación y Expresión de la Incertidumbre de la Medición en Análisis Químico*, Finlandia.
- [35] Eurachem, (2011). *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 3^{ra} edición, Reino Unido.
- [36] Instituto de Salud Pública de Chile, (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*, Santiago de Chile.
- [37] Eurachem, (2007). *Guide to Method Validation and Related Topics*, 1ra edición, Reino Unido.
- [38] Centro Español de Metrología, (2012). *Vocabulario Internacional de Metrología (VIM)*, 3ra edición, España.
- [39] Swartz, M., Krull, I. (1997). *Analytical Method Development and Validation*, 1st Edition, Dekker, New York.

ANEXOS

ANEXO 1. Solicitud al Municipio de Rumiñahui para toma de muestras.



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Escuela de Ciencias Químicas

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca

Apartado postal 17-01-2184

Fax: 593 - 2 - 2991709

Tel: 593 - 2 - 299 15 56

Quito - Ecuador

Oficio No. 51-ECQ-13
Quito, febrero 6 de 2013

Señor Ing.
Héctor Jácome M.
ALCALDE DEL CANTON RUMIÑAHUI
Presente.-

De mi consideración.

Por medio de la presente, me permito comunicarle que el señor Miguel Angel Castelo, egresado de la Escuela de Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, se encuentra realizando la disertación de grado titulada: "**Determinación de Arsénico y Mercurio en agua de consumo del cantón Rumiñahui**", bajo la Dirección del Dr. Ramiro Gallegos González.

El señor Castelo requiere, para el desarrollo de su disertación, tomar muestras de los 13 tanques de almacenamiento y distribución de agua del cantón Rumiñahui, por lo que le solicito, de la manera más comedida autorizar la toma dichas muestras.

Agradezco de antemano su generosa atención y aprovecho la oportunidad para expresarle mi sentimiento de consideración y estima

Atentamente,


Dra. Lorena Meneses O., PhD
DIRECTORA



ANEXO 2. Autorización del Municipio de Rumiñahui a la toma de muestras.



AGUA POTABLE
Y ALCANTARILLADO

Dirección:
Montúfar 251 y Espejo
Telf. 2998300
Sangolquí - Ecuador

Sangolquí, 05 de Marzo del 2013
Nº 290 -DAPAC-R

Doctora.
LORENA MENESES O. , PhD
DIRECTORA ESCUELA DE QUIMICA
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

Quito.

De mi consideración:

Pongo en su conocimiento que el GADMUR a través de la Dirección de Agua Potable, Alcantarillado y Comercialización, **AUTORIZA** al Señor Miguel Ángel Castelo, egresado de la Escuela de Química de La Pontificia Universidad Católica del Ecuador, a realizar la toma de muestras de agua potable en los tanques de reserva del Cantón, todo esto bajo los siguientes lineamientos que a continuación se señalan:


- ❖ Como requisito fundamental previo a la realización de los muestreos se deberá entregar las fotocopias a color, de la documentación que acredite su actual matrícula en la Universidad Católica y cedula de identidad.
- ❖ Breve reseña de los objetivos generales y particulares motivo de la investigación a realizarse.
- ❖ Metodología a utilizarse en el proceso de toma de muestras.
- ❖ Cronograma de actividades a cumplirse.
- ❖ Carta de compromiso para la entrega de Memoria Ejecutiva en impreso y archivo digital del Tema de Tesis desarrollado.

Sin más y para los fines pertinentes


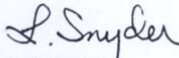
Atentamente


Ing. José Pérez Álvarez
DIRECTOR DAPAC-R


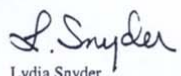


Revisado	Por	Ing. Jorge Vasconez	Jefe Sistema AA.PP	Firma
Elaborado	Por	Ing. Nelson R Pedraza M	Proyectos Agua Potable	Firma 

ANEXO 3. Certificado de análisis del estándar de Arsénico.

125 Market Street New Haven, CT 06513 USA	 AccuStandard[®], Inc.	Tel (203)786-5290 Fax (203)786-5287 Website AccuStandard.com
CERTIFICATE OF ANALYSIS		
AccuTrace[™] Reference Standard		
Item Number: AA03N-1		
Element: Arsenic	Storage Condition: Ambient	Lot: 211065073
Hazards: IRRITANT	Matrix: 2-5% Nitric acid	Date Certified: 6/27/2011
		Expiration: Jun / 2016
		Sample Size: 100 mL
<input checked="" type="checkbox"/> Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation		
<input checked="" type="checkbox"/> Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation		
<u>Actual Lot Analysis</u>		
Arsenic 1000 µg/mL		
The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.		
The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3103a		
RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.		
This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.		
Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.		
We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.		
For use in routine laboratory analysis.		 Lydia Snyder Inorganic QC Supervisor

ANEXO 4. Certificado de Análisis del estándar de Mercurio.

125 Market Street New Haven, CT 06513 USA	 AccuStandard, Inc.	Tel (203)786-5290 Fax (203)786-5287 Website AccuStandard.com
CERTIFICATE OF ANALYSIS		
AccuTrace™ Reference Standard		
Item Number: AA34N-1		
Element: Mercury		Lot: 210095047
Storage Condition: Ambient		Date Certified: 9/22/2010
Hazards: IRRITANT		Expiration: Sep / 2015
Matrix: 2-5% Nitric acid		Sample Size: 100 mL
<input checked="" type="checkbox"/> Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation		
<input checked="" type="checkbox"/> Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation		
<u>Actual Lot Analysis</u>		
Mercury 1000 µg/mL		
The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.		
The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3133		
RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.		
This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.		
Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.		
We certify the accuracy of this standard to be ± 0.5% of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.		
For use in routine laboratory analysis.		 Lydia Snyder Inorganic QC Supervisor
AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001		
		OR-ORG/INC-001 Rev. 7/10

ANEXO 5. Certificado de calibración de la micropipeta de rango 10 – 100 µL.

CALIBRATION REPORT

Report No : 301091	Report Date : 27-Dec-2010
Prod Cat. No : VAP-500	PipetteSerial No.: FL761016
Volume Range : 10-100 µl	Bal Sensitivity : 0.01 mg
Temperature : 25.00 °C	Rel Humidity : 60.00 %
Air Pressure : 1013 hPA	Z Factor : 1.0040 µl/mg

TEST DETAILS

Test Volume	Number of Measurements	Mean Weight	Mean Volume
10.00 µl	10	10.1250 mg	10.1655 µl
50.00 µl	10	49.5720 mg	49.7703 µl
100.00 µl	10	99.6020 mg	100.0004 µl

SUMMARY STATISTICS

Test Volume	SD	Inaccuracy E%			Imprecision CV%		
		Actual	Target	Status	Actual	Target	Status
10.00 µl	0.0499	1.6550	± 3.00	PASS	0.4911	± 1.50	PASS
50.00 µl	0.0516	-0.4594	± 1.00	PASS	0.1036	± 0.50	PASS
100.00 µl	0.1160	0.0004	± 0.80	PASS	0.1160	± 0.15	PASS

STATUS :	PASSED	Calibration Method according to EN ISO 8655-6 Performed by Incharge - Q.C.
-----------------	---------------	---

ANEXO 6. Certificado de calibración de la micropipeta de rango 100 – 1000 µL.

CALIBRATION REPORT

Report No : 362732	Report Date : 19-Sep-2011
Prod Cat. No : VAP-600	PipetteSerial No.: GI379458
Volume Range : 100-1000 µl	Bal Sensitivity : 0.01 mg
Temperature : 25.00 °C	Rel Humidity : 60.00 %
Air Pressure : 1013 hPA	Z Factor : 1.0040 µl/mg

TEST DETAILS

Test Volume	Number of Measurements	Mean Weight	Mean Volume
100.00 µl	10	99.2100 mg	99.6068 µl
500.00 µl	10	494.9690 mg	496.9489 µl
1000.00 µl	10	999.3770 mg	1003.3745 µl

SUMMARY STATISTICS

Test Volume	SD	Inaccuracy E%			Imprecision CV%		
		Actual	Target	Status	Actual	Target	Status
100.00 µl	0.1999	-0.3932	± 2.00	PASS	0.2007	± 0.70	PASS
500.00 µl	0.7392	-0.6102	± 1.00	PASS	0.1488	± 0.40	PASS
1000.00 µl	0.9091	0.3375	± 0.60	PASS	0.0906	± 0.20	PASS

STATUS :	PASSED	Calibration Method according to EN ISO 8655-6 Performed by Incharge - Q.C.
-----------------	---------------	---

ANEXO 7. Norma INEN 1 108:2011 Agua Potable Requisitos.

NTE INEN 1 108

2011-06

3.1.13 *Sistema de distribución.* Comprende las obras y trabajos auxiliares construidos desde la salida de la planta de tratamiento hasta la acometida domiciliaria.

4. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

4.1 Los sistemas de abastecimiento de agua potable se acogerán al Reglamento de buenas prácticas de Manufactura (producción) del Ministerio de Salud Pública.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El agua potable debe cumplir con los requisitos que se establecen a continuación:

PARAMETRO	UNIDAD	Límite máximo permitido
Características físicas		
Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	15
Turbiedad	NTU	5
Olor	---	no objetable
Sabor	---	no objetable
Inorgánicos		
Antimonio, Sb	mg/l	0,02
Arsénico, As	mg/l	0,01
Bario, Ba	mg/l	0,7
Boro, B	mg/l	0,5
Cadmio, Cd	mg/l	0,003
Cianuros, CN ⁻	mg/l	0,07
Cloro libre residual*	mg/l	0,3 a 1,5 ¹⁾
Cobre, Cu	mg/l	2,0
Cromo, Cr (cromo total)	mg/l	0,05
Fluoruros	mg/l	1,5
Manganeso, Mn	mg/l	0,4
Mercurio, Hg	mg/l	0,006
Níquel, Ni	mg/l	0,07
Nitratos, NO ₃	mg/l	50
Nitritos, NO ₂	mg/l	0,2
Plomo, Pb	mg/l	0,01
Radiación total α *	Bq/l	0,1
Radiación total β **	Bq/l	1,0
Selenio, Se	mg/l	0,01

¹⁾ Es el rango en el que debe estar el cloro libre residual luego de un tiempo mínimo de contacto de 30 minutos
 * Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: ²¹⁰Po, ²²⁴Ra, ²²⁶Ra, ²³²Th, ²³⁴U, ²³⁸U, ²³⁹Pu
 ** Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: ⁶⁰Co, ⁸⁹Sr, ⁹⁰Sr, ¹²⁹I, ¹³¹I, ¹³⁴Cs, ¹³⁷Cs, ²¹⁰Pb, ²²⁶Ra

Sustancias orgánicas

	UNIDAD	Límite máximo permitido
§ Hidrocarburos policíclicos aromáticos HAP		
Benzo [a]pireno	mg/l	0,0007
Hidrocarburos:		
Benceno	mg/l	0,01
Tolueno	mg/l	0,7
Xileno	mg/l	0,5
Estireno	mg/l	0,02
1,2dicloroetano	mg/l	0,03
Cloruro de vinilo	mg/l	0,0003
Tricloroetano	mg/l	0,02
Tetracloroetano	mg/l	0,04
Di(2-etilhexil) ftalato	mg/l	0,008
Acrylamida	mg/l	0,0005
Epiclorohidrina	mg/l	0,0004
Hexaclorobutadieno	mg/l	0,0006
1,2Dibromoetano	mg/l	0,0004
1,4- Dioxano	mg/l	0,05
Acido Nitrotriacético	mg/l	0,2

ANEXO 8. Datos obtenidos en el análisis de As en muestras durante 8 semanas

Semanas 1 y 2

TANQUES	Semana 1			Semana 2		
	Abs	Abs - B	µg As/L	Abs	Abs - B	µg As/L
Albornoz	0,040	0,005	< 1,19	0,037	0,003	< 1,19
Mushuñán	0,037	0,002	< 1,19	0,040	0,006	< 1,19
Orejuela	0,038	0,003	< 1,19	0,039	0,005	< 1,19
Salgado	0,039	0,004	< 1,19	0,041	0,007	< 1,19
Cashapamba	0,041	0,006	< 1,19	0,039	0,005	< 1,19
Loreto	0,038	0,003	< 1,19	0,039	0,005	< 1,19
La Colina	0,035	0,000	< 1,19	0,040	0,006	< 1,19
San Fernando	0,041	0,006	< 1,19	0,041	0,007	< 1,19
San Pedro	0,038	0,003	< 1,19	0,041	0,007	< 1,19
El Taxo	0,038	0,003	< 1,19	0,041	0,007	< 1,19
Cotogchoa	0,037	0,002	< 1,19	0,042	0,008	< 1,19
Patagua	0,038	0,003	< 1,19	0,040	0,006	< 1,19
La Leticia	0,032	-0,003	< 1,19	0,036	0,002	< 1,19
El Milagro	0,034	-0,001	< 1,19	0,036	0,002	< 1,19
Rumiloma	0,031	-0,004	< 1,19	0,041	0,007	< 1,19
Gavilánez	0,035	0,000	< 1,19	0,039	0,005	< 1,19

Semanas 3 y 4

TANQUES	Semana 3			Semana 4		
	Abs	Abs - B	µg As/L	Abs	Abs - B	µg As/L
Albornoz	0,039	0,005	< 1,19	0,038	0,003	< 1,19
Mushuñán	0,033	-0,001	< 1,19	0,036	0,001	< 1,19
Orejuela	0,039	0,005	< 1,19	0,043	0,008	< 1,19
Salgado	0,035	0,001	< 1,19	0,039	0,004	< 1,19
Cashapamba	0,037	0,003	< 1,19	0,037	0,002	< 1,19
Loreto	0,036	0,002	< 1,19	0,044	0,009	< 1,19
La Colina	0,034	0,000	< 1,19	0,043	0,008	< 1,19
San Fernando	0,037	0,003	< 1,19	0,040	0,005	< 1,19
San Pedro	0,035	0,001	< 1,19	0,041	0,006	< 1,19
El Taxo	0,040	0,006	< 1,19	0,039	0,004	< 1,19
Cotogchoa	0,034	0,000	< 1,19	0,037	0,002	< 1,19
Patagua	0,037	0,003	< 1,19	0,039	0,004	< 1,19
La Leticia	0,041	0,007	< 1,19	0,042	0,007	< 1,19
El Milagro	0,041	0,007	< 1,19	0,036	0,001	< 1,19
Rumiloma	0,036	0,002	< 1,19	0,043	0,008	< 1,19
Gavilánez	0,037	0,003	< 1,19	0,035	0,000	< 1,19

Semanas 5 y 6

TANQUES	Semana 5			Semana 6		
	Abs	Abs - B	µg As/L	Abs	Abs - B	µg As/L
Albornoz	0,030	-0,002	< 1,19	0,039	0,002	< 1,19
Mushuñán	0,033	0,001	< 1,19	0,038	0,001	< 1,19
Orejuela	0,037	0,005	< 1,19	0,035	-0,002	< 1,19
Salgado	0,037	0,005	< 1,19	0,031	-0,006	< 1,19
Cashapamba	0,034	0,002	< 1,19	0,034	-0,003	< 1,19
Loreto	0,037	0,005	< 1,19	0,038	0,001	< 1,19
La Colina	0,032	0,000	< 1,19	0,040	0,003	< 1,19
San Fernando	0,039	0,007	< 1,19	0,041	0,004	< 1,19
San Pedro	0,037	0,005	< 1,19	0,033	-0,004	< 1,19
El Taxo	0,040	0,008	< 1,19	0,036	-0,001	< 1,19
Cotogchoa	0,038	0,006	< 1,19	0,036	-0,001	< 1,19
Patagua	0,039	0,007	< 1,19	0,033	-0,004	< 1,19
La Leticia	0,035	0,003	< 1,19	0,037	0,000	< 1,19
El Milagro	0,036	0,004	< 1,19	0,039	0,002	< 1,19
Rumiloma	0,037	0,005	< 1,19	0,033	-0,004	< 1,19
Gavilánez	0,034	0,002	< 1,19	0,039	0,002	< 1,19

Semanas 7 y 8

TANQUES	Semana 7			Semana 8		
	Abs	Abs - B	µg As/L	Abs	Abs - B	µg As/L
Albornoz	0,030	-0,008	< 1,19	0,035	-0,001	< 1,19
Mushuñán	0,032	-0,006	< 1,19	0,032	-0,004	< 1,19
Orejuela	0,037	-0,001	< 1,19	0,034	-0,002	< 1,19
Salgado	0,034	-0,004	< 1,19	0,031	-0,005	< 1,19
Cashapamba	0,038	0,000	< 1,19	0,032	-0,004	< 1,19
Loreto	0,034	-0,004	< 1,19	0,032	-0,004	< 1,19
La Colina	0,033	-0,005	< 1,19	0,032	-0,004	< 1,19
San Fernando	0,032	-0,006	< 1,19	0,029	-0,007	< 1,19
San Pedro	0,031	-0,007	< 1,19	0,033	-0,003	< 1,19
El Taxo	0,033	-0,005	< 1,19	0,037	0,001	< 1,19
Cotogchoa	0,031	-0,007	< 1,19	0,036	0,000	< 1,19
Patagua	0,034	-0,004	< 1,19	0,033	-0,003	< 1,19
La Leticia	0,034	-0,004	< 1,19	0,036	0,000	< 1,19
El Milagro	0,031	-0,007	< 1,19	0,037	0,001	< 1,19
Rumiloma	0,035	-0,003	< 1,19	0,034	-0,002	< 1,19
Gavilánez	0,032	-0,006	< 1,19	0,035	-0,001	< 1,19

ANEXO 9. Tablas semanales de fortificación de muestras con arsénico

Fortificación As Tanque ALBORNOZ					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,047	0,012	-0,48	-0,50	-----
	0,044	0,009	-0,53		
	0,046	0,011	-0,50		
2,5	0,210	0,175	2,44	2,48	99,2
	0,213	0,178	2,49		
	0,214	0,179	2,51		
5,0	0,350	0,315	4,94	4,98	99,7
	0,355	0,320	5,03		
	0,352	0,317	4,98		
10,0	0,642	0,607	10,17	10,18	101,8
	0,639	0,604	10,11		
	0,647	0,612	10,26		
15,0	0,911	0,876	14,98	14,97	99,8
	0,913	0,878	15,01		
	0,908	0,873	14,92		
20,0	1,209	1,174	20,31	20,30	101,5
	1,214	1,179	20,40		
	1,202	1,167	20,18		

Fortificación As Tanque EL MILAGRO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (ug/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,037	0,003	-0,54	-0,49	-----
	0,039	0,005	-0,50		
	0,042	0,008	-0,45		
2,5	0,201	0,167	2,39	2,45	98,1
	0,205	0,171	2,46		
	0,207	0,173	2,50		
5,0	0,359	0,325	5,21	5,09	101,8
	0,346	0,312	4,98		
	0,351	0,317	5,07		
10,0	0,625	0,591	9,96	10,10	101,0
	0,639	0,605	10,21		
	0,634	0,600	10,13		
15,0	0,915	0,881	15,14	15,05	100,3
	0,906	0,872	14,98		
	0,908	0,874	15,02		
20,0	1,197	1,163	20,18	20,21	101,1
	1,198	1,164	20,20		
	1,202	1,168	20,27		

Fortificación As Tanque EL TAXO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,046	0,010	-0,30	-0,4	-----
	0,042	0,006	-0,37		
	0,040	0,004	-0,40		
2,5	0,200	0,164	2,40	2,5	98,5
	0,203	0,167	2,46		
	0,207	0,171	2,53		
5,0	0,344	0,308	4,93	5,0	100,6
	0,348	0,312	5,00		
	0,357	0,321	5,16		
10,0	0,646	0,610	10,23	10,2	102,0
	0,642	0,606	10,16		
	0,645	0,609	10,21		
15,0	0,919	0,883	15,02	15,0	100,1
	0,913	0,877	14,91		
	0,925	0,889	15,12		
20,0	1,225	1,189	20,39	20,4	102,0
	1,223	1,187	20,35		
	1,230	1,194	20,47		

Fortificación As Tanque SALGADO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,060	0,023	-0,14	-0,2	-----
	0,057	0,020	-0,20		
	0,059	0,022	-0,16		
2,5	0,206	0,169	2,46	2,5	99,5
	0,207	0,170	2,48		
	0,209	0,172	2,52		
5,0	0,349	0,312	5,02	5,0	100,2
	0,353	0,316	5,09		
	0,344	0,307	4,93		
10,0	0,625	0,588	9,95	10,0	100,4
	0,632	0,595	10,07		
	0,633	0,596	10,09		
15,0	0,904	0,867	14,93	15,0	99,7
	0,906	0,869	14,96		
	0,907	0,870	14,98		
20,0	1,222	1,185	20,61	20,6	103,1
	1,220	1,183	20,57		
	1,225	1,188	20,66		

Fortificación As Tanque SAN FERNANDO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,042	0,010	-0,33	-0,30	-----
	0,047	0,015	-0,24		
	0,041	0,009	-0,35		
2,5	0,204	0,172	2,53	2,49	99,7
	0,199	0,167	2,45		
	0,202	0,170	2,50		
5,0	0,344	0,312	5,01	5,01	100,1
	0,340	0,308	4,94		
	0,347	0,315	5,07		
10,0	0,636	0,604	10,18	10,21	102,1
	0,637	0,605	10,20		
	0,640	0,608	10,25		
15,0	0,916	0,884	15,14	15,08	100,5
	0,913	0,881	15,08		
	0,909	0,877	15,01		
20,0	1,212	1,180	20,38	20,38	101,9
	1,217	1,185	20,46		
	1,208	1,176	20,30		

Fortificación As Tanque LA COLINA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,040	0,001	-0,54	-0,52	-----
	0,042	0,003	-0,50		
	0,039	0,000	-0,55		
2,5	0,211	0,172	2,52	2,49	99,5
	0,209	0,170	2,48		
	0,208	0,169	2,46		
5,0	0,355	0,316	5,09	5,07	101,4
	0,350	0,311	5,00		
	0,357	0,318	5,13		
10,0	0,641	0,602	10,20	10,17	101,7
	0,640	0,601	10,18		
	0,638	0,599	10,14		
15,0	0,917	0,878	15,13	15,18	101,2
	0,923	0,884	15,23		
	0,920	0,881	15,18		
20,0	1,199	1,160	20,16	20,26	101,3
	1,209	1,170	20,34		
	1,205	1,166	20,27		

Fortificación As Tanque MUSHUÑAN					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,033	-0,005	-0,64	-0,65	-----
	0,030	-0,008	-0,70		
	0,034	-0,004	-0,63		
2,5	0,205	0,167	2,43	2,46	98,6
	0,209	0,171	2,50		
	0,207	0,169	2,46		
5,0	0,345	0,307	4,93	5,01	100,1
	0,351	0,313	5,04		
	0,352	0,314	5,05		
10,0	0,655	0,617	10,46	10,28	102,8
	0,634	0,596	10,09		
	0,645	0,607	10,29		
15,0	0,906	0,868	14,95	14,96	99,8
	0,911	0,873	15,04		
	0,904	0,866	14,91		
20,0	1,221	1,183	20,57	20,54	102,7
	1,217	1,179	20,50		
	1,219	1,181	20,54		

Fortificación As Tanque PATAGUA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,034	-0,002	-0,67	-0,7	-----
	0,035	-0,001	-0,65		
	0,030	-0,006	-0,74		
2,5	0,215	0,179	2,51	2,48	99,2
	0,211	0,175	2,44		
	0,214	0,178	2,49		
5,0	0,366	0,330	5,16	5,12	102,5
	0,364	0,328	5,12		
	0,362	0,326	5,09		
10,0	0,649	0,613	10,12	10,15	101,5
	0,653	0,617	10,19		
	0,650	0,614	10,14		
15,0	0,932	0,896	15,09	15,06	100,4
	0,929	0,893	15,04		
	0,930	0,894	15,05		
20,0	1,244	1,208	20,56	20,57	102,9
	1,248	1,212	20,63		
	1,242	1,206	20,53		

ANEXO 10. Datos obtenidos en la lectura de Hg en muestras durante 8 semanas

Semanas 1 y 2

TANQUES	Semana 1			Semana 2		
	Abs	Abs - B	µg Hg/L	Abs	Abs - B	µg Hg/L
Albornoz	0,000	-0,001	< 0,42	-0,002	-0,004	< 0,42
Mushuñán	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Orejuela	-0,001	-0,002	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Salgado	0,001	0,000	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Cashapamba	0,000	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Loreto	-0,001	-0,002	< 0,42	-0,001	-0,003	< 0,42
La Colina	0,001	0,000	< 0,42	-0,002	-0,004	< 0,42
San Fernando	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
San Pedro	0,001	0,000	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
El Taxo	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Cotogchoa	-0,001	-0,002	< 0,42	-0,002	-0,004	< 0,42
Patagua	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
La Leticia	-0,002	-0,003	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
El Milagro	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Rumiloma	-0,001	-0,002	< 0,42	-0,001	-0,003	< 0,42
Gavilánez	0,000	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42

Semanas 3 y 4

TANQUES	Semana 3			Semana 4		
	Abs	Abs - B	µg Hg/L	Abs	Abs - B	µg Hg/L
Albornoz	0,000	-0,002	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Mushuñán	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Orejuela	0,001	-0,001	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Salgado	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Cashapamba	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Loreto	0,000	-0,002	< 0,42	-0,001	-0,003	< 0,42
La Colina	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
San Fernando	0,002	0,000	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
San Pedro	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
El Taxo	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Cotogchoa	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Patagua	0,002	0,000	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
La Leticia	0,002	0,000	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
El Milagro	0,000	-0,002	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Rumiloma	0,002	0,000	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Gavilánez	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42

Semanas 5 y 6

TANQUES	Semana 5			Semana 6		
	Abs	Abs - B	µg Hg/L	Abs	Abs - B	µg Hg/L
Albornoz	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Mushuñán	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Orejuela	-0,001	-0,003	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Salgado	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Cashapamba	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Loreto	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	0,000	< 0,42
La Colina	0,002	0,000	< 0,42	0,001	0,000	< 0,42
San Fernando	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	0,000	< 0,42
San Pedro	0,002	0,000	< 0,42	0,001	0,000	< 0,42
El Taxo	-0,001	-0,003	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Cotogchoa	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Patagua	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	0,000	< 0,42
La Leticia	0,001	-0,001	< 0,42	-0,001	-0,002	< 0,42
El Milagro	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Rumiloma	0,001	-0,001	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42
Gavilánez	0,000	-0,002	< 0,42	0,000	-0,001	< 0,42

Semanas 7 y 8

TANQUES	Semana 7			Semana 8		
	Abs	Abs - B	µg Hg/L	Abs	Abs - B	µg Hg/L
Albornoz	0,001	-0,001	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Mushuñán	0,001	-0,001	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Orejuela	0,000	-0,002	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Salgado	0,000	-0,002	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
Cashapamba	0,002	0,000	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Loreto	0,001	-0,001	< 0,42	0,003	0,001	< 0,42
La Colina	-0,001	-0,003	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
San Fernando	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
San Pedro	0,001	-0,001	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
El Taxo	0,001	-0,001	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Cotogchoa	0,002	0,000	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42
Patagua	0,000	-0,002	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
La Leticia	0,001	-0,001	< 0,42	0,001	-0,001	< 0,42
El Milagro	-0,002	-0,004	< 0,42	0,003	0,001	< 0,42
Rumiloma	0,002	0,000	< 0,42	0,000	-0,002	< 0,42
Gavilánez	0,002	0,000	< 0,42	0,002	0,000	< 0,42

ANEXO 11. Tablas semanales de fortificación de muestras con mercurio

FORTIFICACION Hg Tanque CASHAPAMBA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,001	0,000	0,00	-0,04	-----
	0,000	-0,001	-0,07		
	0,000	-0,001	-0,07		
1,0	0,016	0,015	1,00	1,00	100,0
	0,015	0,014	0,93		
	0,017	0,016	1,07		
2,5	0,038	0,037	2,47	2,53	101,3
	0,039	0,038	2,53		
	0,040	0,039	2,60		
5,0	0,074	0,073	4,87	4,93	98,7
	0,076	0,075	5,00		
	0,075	0,074	4,93		
7,5	0,114	0,113	7,53	7,51	100,1
	0,114	0,113	7,53		
	0,113	0,112	7,47		
10,0	0,155	0,154	10,27	10,09	100,9
	0,150	0,149	9,93		
	0,152	0,151	10,07		

FORTIFICACION Hg Tanque RUMILOMA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	-0,001	-0,003	-0,30	-0,28	-----
	-0,001	-0,003	-0,30		
	0,000	-0,002	-0,24		
1,0	0,019	0,017	0,94	0,99	98,6
	0,020	0,018	1,01		
	0,020	0,018	1,01		
2,5	0,043	0,041	2,43	2,43	97,4
	0,044	0,042	2,50		
	0,042	0,040	2,37		
5,0	0,085	0,083	5,04	5,04	100,9
	0,085	0,083	5,04		
	0,085	0,083	5,04		
7,5	0,123	0,121	7,40	7,53	100,4
	0,127	0,125	7,65		
	0,125	0,123	7,53		
10,0	0,167	0,165	10,14	10,01	100,1
	0,163	0,161	9,89		
	0,165	0,163	10,01		

FORTIFICACION Hg Tanque COTOGCHOA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	x (µg/L)	% recuperación
0,0	0,002	0,000	-0,06	-0,06	-----
	0,002	0,000	-0,06		
	0,002	0,000	-0,06		
1,0	0,018	0,016	0,94	1,00	100,0
	0,019	0,017	1,00		
	0,020	0,018	1,06		
2,5	0,045	0,043	2,63	2,58	103,3
	0,044	0,042	2,56		
	0,044	0,042	2,56		
5,0	0,082	0,080	4,94	5,02	100,4
	0,083	0,081	5,00		
	0,085	0,083	5,13		
7,5	0,121	0,119	7,38	7,58	101,1
	0,129	0,127	7,88		
	0,123	0,121	7,50		
10,0	0,160	0,158	9,81	9,94	99,4
	0,161	0,159	9,88		
	0,165	0,163	10,13		

FORTIFICACION Hg Tanque LORETO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	X (µg/L)	% recuperación
0,0	-0,001	-0,003	-0,19	-0,17	-----
	0,000	-0,002	-0,13		
	-0,001	-0,003	-0,19		
1,0	0,018	0,016	1,00	1,00	100,0
	0,018	0,016	1,00		
	0,018	0,016	1,00		
2,5	0,040	0,038	2,38	2,52	100,8
	0,043	0,041	2,56		
	0,044	0,042	2,63		
5,0	0,085	0,083	5,19	5,08	101,7
	0,082	0,080	5,00		
	0,083	0,081	5,06		
7,5	0,120	0,118	7,38	7,48	99,7
	0,125	0,123	7,69		
	0,120	0,118	7,38		
10,0	0,160	0,158	9,88	9,96	99,6
	0,159	0,157	9,81		
	0,165	0,163	10,19		

FORTIFICACION Hg Tanque OREJUELA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	X (µg/L)	% recuperación
0,0	0,001	-0,001	-0,06	-0,04	-----
	0,002	0,000	0,00		
	0,001	-0,001	-0,06		
1,0	0,016	0,014	0,88	1,00	100,0
	0,019	0,017	1,06		
	0,019	0,017	1,06		
2,5	0,040	0,038	2,38	2,48	99,2
	0,042	0,040	2,50		
	0,043	0,041	2,56		
5,0	0,084	0,082	5,13	5,06	101,3
	0,080	0,078	4,88		
	0,085	0,083	5,19		
7,5	0,120	0,118	7,38	7,56	100,8
	0,123	0,121	7,56		
	0,126	0,124	7,75		
10,0	0,167	0,165	10,31	10,04	100,4
	0,160	0,158	9,88		
	0,161	0,159	9,94		

FORTIFICACION Hg Tanque GAVILANEZ					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	X (µg/L)	% recuperación
0,0	0,003	0,002	0,07	0,02	-----
	0,002	0,001	0,00		
	0,002	0,001	0,00		
1,0	0,018	0,017	1,07	1,00	100,0
	0,016	0,015	0,93		
	0,017	0,016	1,00		
2,5	0,040	0,039	2,53	2,58	103,1
	0,042	0,041	2,67		
	0,040	0,039	2,53		
5,0	0,080	0,079	5,20	5,00	100,0
	0,075	0,074	4,87		
	0,076	0,075	4,93		
7,5	0,117	0,116	7,67	7,62	101,6
	0,117	0,116	7,67		
	0,115	0,114	7,53		
10,0	0,154	0,153	10,13	10,07	100,7
	0,155	0,154	10,20		
	0,150	0,149	9,87		

FORTIFICACION Hg Tanque SAN PEDRO					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	X (µg/L)	% recuperación
0,0	0,001	-0,001	-0,07	-0,04	-----
	0,001	-0,001	-0,07		
	0,002	0,000	0,00		
1,0	0,016	0,014	0,93	0,98	97,8
	0,017	0,015	1,00		
	0,017	0,015	1,00		
2,5	0,038	0,036	2,40	2,51	100,4
	0,040	0,038	2,53		
	0,041	0,039	2,60		
5,0	0,078	0,076	5,07	4,98	99,6
	0,077	0,075	5,00		
	0,075	0,073	4,87		
7,5	0,114	0,112	7,47	7,42	99,0
	0,114	0,112	7,47		
	0,112	0,110	7,33		
10,0	0,156	0,154	10,27	10,02	100,2
	0,150	0,148	9,87		
	0,151	0,149	9,93		

FORTIFICACION Hg Tanque LA LETICIA					
Teórico (µg/L)	Absorbancia	Abs - Blanco	Práctico (µg/L)	X (µg/L)	% recuperación
0,0	0,001	-0,001	-0,13	-0,13	-----
	0,000	-0,002	-0,19		
	0,002	0,000	-0,06		
1,0	0,019	0,017	1,00	0,98	97,9
	0,018	0,016	0,94		
	0,019	0,017	1,00		
2,5	0,044	0,042	2,56	2,54	101,7
	0,042	0,040	2,44		
	0,045	0,043	2,63		
5,0	0,082	0,080	4,94	4,96	99,2
	0,083	0,081	5,00		
	0,082	0,080	4,94		
7,5	0,125	0,123	7,63	7,52	100,3
	0,122	0,120	7,44		
	0,123	0,121	7,50		
10,0	0,162	0,160	9,94	9,98	99,8
	0,166	0,164	10,19		
	0,160	0,158	9,81		

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Miguel Angel Castelo Granizo, C.I. 060333429-3, autor del trabajo de graduación titulado: “Determinación de Arsénico y Mercurio en agua de consumo del cantón Rumiñahui por Espectrofotometría de Absorción Atómica”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS, ESPECIALIDAD QUÍMICA ANALÍTICA** en la facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 20 de marzo del 2015.

Sr. Miguel Angel Castelo

C.I. 060333429-3