

Validación de un método analítico con ácidos de menor pureza, y matrices de hierro, para la evaluación de metales pesados (Cd, Pb, Cr y As) en fertilizantes

Fabricio Elizondo Hidalgo¹  & Esteban Pérez López¹ 

1. Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente, Recinto de Grecia. 20305 Grecia, Costa Rica; fa330416@hotmail.com, esteban.perezlopez@ucr.ac.cr

Recibido 8-X-2021 • Corregido 17-I-2022 • Aceptado 01-II-2022

DOI: <https://doi.org/10.22458/urj.v14i1.3485>

ABSTRACT. “Validation of an analytical method with modified acid purity and iron matrices to measure heavy metals (Cd, Pb, Cr and As) in fertilizers”. **Introduction:** The frequent use of fertilizers in the Costa Rican agricultural sector causes environmental pollution; and heavy metals are among the main pollutants because of their high toxicity, strengthening the need for affordable and reliable local methods to assess pollution levels. **Objective:** To validate an adaptation of a method that uses modified acid purity and iron matrices to measure heavy metals (Cd, Pb, Cr and As) in fertilizers. **Method:** We tested four duplicate analyzes of a sample of known concentration with reactive grade acids and ultra-pure acids. For the iron interference test, we used eight replicates. We also did tests for bias, precision, detection limits, quantification limit, specificity, recovery, false positives and false negatives. **Results:** The new method proved satisfactory and its efficiency held by analytical performance parameters. **Conclusions:** The method is resistant to changes in acid purity, and tolerates matrices with iron concentrations under 5% m/m.

Keywords: Heavy metals, fertilizer, agrochemicals, validation, ICP.

RESUMEN. Introducción: El uso frecuente de fertilizantes en el sector agrícola costarricense provoca contaminación ambiental; y los metales pesados se encuentran entre los principales contaminantes debido a su alta toxicidad, lo que fortalece la necesidad de métodos locales asequibles y confiables para evaluar los niveles de contaminación. **Objetivo:** Validar una adaptación de un método que utiliza pureza de ácido modificada y matrices de hierro para medir metales pesados (Cd, Pb, Cr y As) en fertilizantes. **Método:** Probamos cuatro análisis por duplicado de una muestra de concentración conocida con ácidos de grado reactivo y ácidos ultrapuros. Para la prueba de interferencia de hierro, usamos ocho repeticiones. También hicimos pruebas de sesgo, precisión, límites de detección, límite de cuantificación, especificidad, recuperación, falsos positivos y falsos negativos. **Resultados:** El nuevo método demostró ser satisfactorio y su eficacia se confirmó con los parámetros de rendimiento analítico. **Conclusiones:** El método es resistente a cambios en la pureza del ácido y tolera matrices con concentraciones de hierro menores al 5% m/m.

Palabras clave: Metales pesados, fertilizante, agroquímicos, validación, ICP.

El ecosistema costarricense se caracteriza por sus dotes climáticos y geográficos para el cultivo, y las características de los suelos de distintas zonas del país conllevan al sector agrícola a utilizar con frecuencia fertilizantes para la producción de biomasa, ante lo cual el uso de material contaminado con agroquímicos supone un riesgo para la humanidad en general, en vista de que, el país exporta cada año una gran cantidad de productos agrícolas. Como evidencia de lo anterior, cabe mencionar que, solamente durante el periodo 2017-2018 el sector agrícola aportó un 25,79% del valor total exportado por el país (Mora, 2019).

Por otra parte, es importante destacar que, en los últimos años debido a la creciente población y por ende la demanda de biomasa se ha recurrido al uso excesivo de fertilizantes, a estos se les presta gran atención debido a que contienen como impurezas metales pesados tóxicos, que entran en la cadena alimentaria humana, de manera que la aplicación de fertilizantes inorgánicos se empezó a considerar como una de las rutas potenciales de dicha entrada (Modaihsh et al., 2004).

Las altas concentraciones de metales pesados en fertilizantes o agroquímicos repercuten en los humanos principalmente mediante fuentes de agua contaminadas o por procesos de transporte mediante la cadena trófica, esto genera que los humanos reciban estas sustancias y al no poder ser asimiladas por el organismo se genere una bioacumulación, este proceso no indica que las concentraciones de los metales pesados sean mayores al límite, sin embargo el aumento constante puede incidir en el desarrollo de efectos adversos sobre la salud, como: cáncer, afectaciones del sistema nervioso, anemia y demás (Molina et al., 2010; Vergara, 2019).

Para la cuantificación de los metales pesados, es común el uso de la técnica instrumental de espectroscopía ICP-OES, la cual consta de una antorcha donde se produce el plasma, que se describe como un gas parcialmente ionizado con alta temperatura (>7500°C) y energía capaz de atomizar, ionizar y excitar la mayoría de los elementos conocidos; el plasma actúa como una reserva de energía proporcionada por el campo del generador de radiofrecuencia, esta energía es transferida hacia el analito llevándolo a un estado excitado que al volver a su estado basal emite radiación que es cuantificada por el policromador (Lagos, 2016).

Las ventajas de utilizar una técnica instrumental como ICP OES, son claras debido a que presenta un mayor rendimiento de muestra y simplicidad. Aunque existen interferencias causadas por la matriz del fertilizante mineral, principalmente por la presencia de hierro, ya que este tiene un alto potencial interferente debido a su amplio espectro de emisión (Webb et al., 2014).

En el Laboratorio de Control de Calidad de Agroquímicos del Servicio Fitosanitario del Estado (LCC-SFE) es esencial preservar los ecosistemas, y los metales pesados representan un riesgo para el ambiente, los humanos y los animales, ya que estos reducen el funcionamiento de enzimas antioxidantes ocasionando un alto estrés oxidativo celular, por esto se clasifican como neurotóxicos, además de generar cáncer y una amplia lista de padecimientos (Nava-Ruiz & Méndez-Armenta, 2011), en las plantas producen fitotoxicidad que se presenta como: una reducción del crecimiento en las raíces, la clorosis y necrosis en hojas, síntomas típicos de senescencia y abscisión, ambientalmente representan un riesgo para todos los seres vivos provocando desequilibrios en los ecosistemas (Barceló & Poschenrieder, 1992).

Debido a esto, es esencial que un ente encargado de velar por la salud del medio ambiente y los seres humanos como lo es el LCC-SFE, cuente con métodos competentes que le permitan cuantificar y fiscalizar las impurezas presentes en fertilizantes.

En esta investigación se tuvo como objetivo la modificación y validación de un método oficial para el análisis de metales pesados (Cd, Pb, Cr y As) en fertilizantes, buscando facilitar al Laboratorio (LCC-SFE), un método para determinar los metales pesados que se requieren según el RTCR 485:2016; la modificación más relevante consistió en variar la pureza de los ácidos que conforman el medio de digestión y disolución de las muestras, además del uso de matrices contaminadas con hierro (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

En primera instancia, para la prueba de ácidos determinamos las concentraciones de metales pesados presentes en el ácido grado reactivo (Merck, 2019), utilizando curvas elaboradas con una disolución de HNO₃ ultra puro (Merck, 2019) en agua al 5% y evaluando si es capaz de generar un sesgo positivo en los metales pesados analizados en muestras. Se realizaron cuatro análisis por duplicado de una muestra de concentración conocida con ácidos grado reactivo y se repitió el procedimiento con ácidos ultra puros.

Seguidamente, para la prueba de interferencia del hierro (Fe), elaboramos un blanco reactivo con 3mL de HCl y 9mL de HNO₃ ultra puro en 100mL de agua y agregamos la cantidad suficiente de hierro, para obtener un concentración final de este al 5% m/m, y evaluamos si es capaz

de generar un sesgo positivo en los metales pesados analizados en las distintas muestras, comparando ocho réplicas de este con ocho réplicas del blanco reactivo, todo esto debido a que no se podía remover el Fe de la muestra, por lo tanto evaluamos el efecto del hierro con el fin de descartar un afectación significativa en las longitudes establecidas para el As 193,696, Pb 220,353, Cd 214,439 y 226,502.

Con respecto a la validación del método, debido a que el LCC-SFE no tiene un rango de concentración de trabajo definido para las impurezas en fertilizantes, estas oscilan entre 10 y 1000mg/kg por esta razón realizamos las pruebas en distintos niveles, según se detallan en la tabla 1.

TABLA 1

Perfiles de concentración establecidos para la validación

Nivel	Concentración de muestra enriquecida (mg/kg)
Inferior	$0,00 \leq 10,00$
Medio	$10,00 \leq 100,00$
Superior	$100,00 \leq 1000,00$

Nota: en la tabla anterior se detalla la concentración final para cada uno de los niveles establecidos para la validación.

Asimismo, realizamos pruebas de sesgo, precisión, límites de detección, límite de cuantificación, especificidad, recuperación, falso positivo y falso negativo; todas estas las evaluamos en los diferentes niveles detallados en la tabla 1 y según lo establecido en la guía para la validación de métodos del Ente Costarricense de Acreditación (ECA), con el fin de establecer los parámetros de desempeño y sus criterios de aceptación. La Linealidad, la evaluamos mediante tres curvas de calibración en los distintos niveles detallados en la tabla 1, para cada analito por separado y en coctel, mediante una regresión lineal, comparando la intensidad (variable dependiente) versus concentración (variable independiente) buscamos que la relación lineal sea $\geq 0,9999$; para la robustez se utilizó la prueba de Youden y Steiner con las variables que se muestran en la tabla 2, y el resto de la validación la evaluamos según los criterios establecidos en la tabla 3.

TABLA 2

Descripción de variables para robustez

Letra	Definición	Letra	Definición
A	Utilizar ácidos grado reactivo	a	Utilizar ácidos de ultra pureza
B	Utilizar el mismo medio de disolución en patrones y muestras	b	Utilizar diferente medio de disolución en patrones y muestras
C	Preparar estándares justo antes de analizarlos en el ICP	c	Preparar estándares días antes de analizarlos en el ICP
D	Utilizar la purga del policromador	d	Utilizar el policromador sin purgar
E	Lavar los balones previamente con HNO ₃ [10% v/v]	e	No lavar los balones previamente con HNO ₃ [10% v/v]
F	Analizar muestras de fertilizantes con Fe	f	Analizar muestras de fertilizantes libres de Fe
G	Utilizar una curva multielemental	g	Preparar una curva para cada elemento

En la tabla 3, se detallan los criterios de aceptación para todas las pruebas realizadas durante la validación del método.

TABLA 3

Parámetros a evaluar y criterios de aceptación en la validación del método

Prueba	Parámetro a evaluar	Cantidad mínima de análisis	Criterio de aceptación
Linealidad	Ámbito de trabajo	24	$R \geq 0,995$
Precisión	Repetibilidad (coeficiente de variación)	21	$\leq 7,3\%$ si la concentración en la muestra es \leq a 10mg/kg
			$\leq 5,3\%$ si la concentración en la muestra es \leq a 100mg/kg y $>$ a 10mg/kg
Veracidad	Recuperación	21	$\leq 3,7\%$ si la concentración en la muestra es \leq a 1000mg/kg y $>$ a 100mg/kg
			$\leq 2,7\%$ si la concentración en la muestra es $>$ a 1000mg/kg
			80-110% si la concentración en la muestra es \leq a 10mg/kg
Límite de cuantificación	Concentración	7	90-107% si la concentración en la muestra es \leq a 100mg/kg y $>$ a 10mg/kg
			Máximo 0,10mg/L en curva de calibración y 10mg/kg en muestra
Incertidumbre	Coeficiente de variación	21	95-105% si la concentración en la muestra es \leq a 1000mg/kg y $>$ a 100mg/kg
			Menor a 11,25% en el nivel inferior de la curva
Robustez	Determinar posibles interferencias	16	97-103% si la concentración en la muestra es $>$ a 1000mg/kg
			Menor a 8 % en el nivel medio de la curva
			Menor a 5,6 % en el nivel superior de la curva
			-

En cuanto al tratamiento de las muestras, estas las digerimos en un medio ácido en vaso cerrado por microondas según el procedimiento descrito en el método oficial AOAC 2017.02, con la variante que utilizamos ácido nítrico grado reactivo en sustitución al ácido nítrico grado metales traza. Realizamos la digestión de las muestras por duplicado con la diferencia que unas contenían ácido nítrico grado metales traza y otras con ácido nítrico grado reactivo. Se pesaron $0,5000 \pm 0,0050$ g de muestra.

Preparamos dos blancos reactivo con los ácidos utilizados en la digestión, uno con ácido nítrico grado metales traza y otro con ácido nítrico grado reactivo. Además, realizamos el enriquecimiento de muestras blancas (sin analito) a un nivel de 0,1mg/kg del metal pesado en la solución a leer en el equipo.

En la cuantificación de las muestras, realizamos el análisis siguiendo los parámetros establecidos en el método oficial AOAC 2017.02, utilizando un equipo de la marca Agilent, modelo 5110 SVDV ICP-OES SVDV previamente calibrado con las soluciones estándar. Medimos una disolución de control cada 10 muestras con el fin de monitorear la deriva instrumental.

RESULTADOS

En la tabla 4 se presentan las hipótesis planteadas y criterios de decisión para la prueba de pureza de los ácidos empleados, así como los datos obtenidos para la prueba de influencia de la pureza del ácido nítrico en la cuantificación de metales pesados y se establece que el valor p (0,479) $> \alpha$ (0,05).

TABLA 4

Resultados de influencia de la pureza del ácido nítrico en la cuantificación de metales pesados

Hipótesis	Criterio de decisión
$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$	Valor $p \leq \alpha$: El cambio en la pureza del ácido (HNO_3) afecta significativamente la media de la concentración de los analitos (Rechazar H_0)
$H_1: \mu_i \neq \mu_j$ para algún $i \neq j$	Valor $p > \alpha$: El cambio en la pureza del ácido (HNO_3) no afecta significativamente la media de la concentración de los analitos (No puede rechazar H_0)
Valor p 0,479	Valor α 0,05

Por su parte, en la tabla 5 se presentan las hipótesis planteadas y criterios de decisión para la prueba de interferencia del hierro, obteniendo que el valor p (0,280) $> \alpha$ (0,05).

TABLA 5

Resultados para determinar el efecto del hierro sobre la cuantificación de metales pesados

Hipótesis	Criterio de decisión
$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$	Valor $p \leq \alpha$: La presencia de hierro en concentraciones $\leq 5\%$ m/m, afecta significativamente la media de la concentración de los analitos (Rechazar H_0)
$H_1: \mu_i \neq \mu_j$ para algún $i \neq j$	Valor $p > \alpha$: La presencia de hierro en concentraciones $\leq 5\%$ m/m, no afecta significativamente la media de la concentración de los analitos (No puede rechazar H_0)
Valor p 0,280	Valor α 0,05

Seguidamente, en la figura 1 se muestran las curvas de calibración obtenidas y superpuestas para los analitos: arsénico, cadmio, plomo y cromo; en las mismas se presentan las ecuaciones de la recta y los coeficientes de determinación respectivos, sobresaliendo que, los coeficientes de determinación presentaron valores superiores a 0,999 en todos los casos.

También, en la tabla 6 se presentan los criterios de decisión para la prueba de valores atípicos en la linealidad, obteniendo valores de p experimental mayores a α para cada analito, por lo cual se cumple que no existen valores significativamente atípicos, y se contempla un comportamiento en los datos uniforme para todos los metales contemplados.

En la tabla 7 se presentan los valores aceptables y obtenidos para la prueba de precisión, específicamente en la prueba de repetibilidad, obteniendo resultados que aseguran la uniformidad en las lecturas realizadas en cada caso.

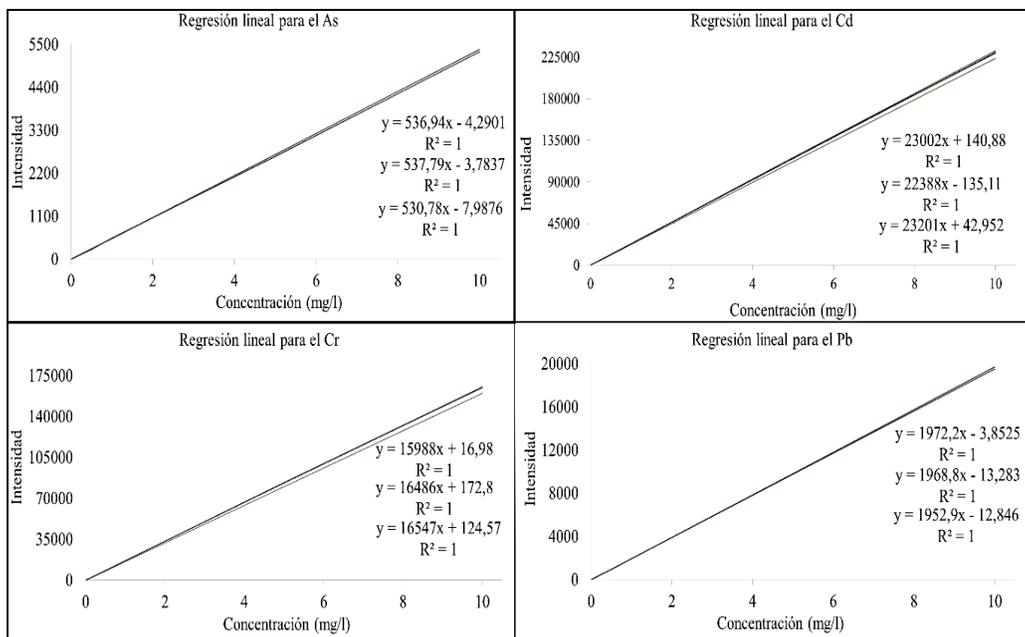


Fig. 1. Gráficas de regresión lineal para los diferentes analitos

TABLA 6

Resultados obtenidos en el test de la Q de Dixon para las curvas de calibración del As, Cd, Cr y Pb comprendidos en el rango de concentración 0,10mg/l-10,00mg/l

Analito	Valor p experimental	Valor α	Criterio de decisión
As	1,00	0,001	Valor $p > \alpha$: No existen valores significativamente atípicos, se contempla un comportamiento en los datos uniforme.
Cd	1,00		
Cr	1,00		Valor $p \leq \alpha$: Existen valores significativamente atípicos, existen problemas en la uniformidad de los datos.
Pb	0,17		

TABLA 7

Evaluación de la precisión del método

Nivel	Analito	n	Desviación estándar (mg/kg)	Promedio (mg/kg)	CV (%) calculado	CV (%) Máximo aceptable	Estado
Inferior	As	8	0,29	18,93	1,5	7,3	Cumple
	Cd		0,47	12,53	3,7		
	Cr		0,60	11,99	5,0		
	Pb		0,30	4,42	6,8		
Medio	As	8	1,81	104,23	1,7	5,3	Cumple
	Cd		4,27	84,85	5,0		
	Cr		0,48	127,97	0,4		
	Pb		1,48	94,19	1,6		
Superior	As	8	5,79	931,75	0,6	3,7	Cumple
	Cd		6,44	763,67	0,8		
	Cr		2,06	984,88	0,2		
	Pb		4,97	852,42	0,6		

En la tabla 8, se presentan los valores para la prueba de exactitud, donde se detalla la deriva permisible para cada elemento en sus distintos niveles, ubicándose lo obtenido dentro del parámetro de lo aceptable según se evidencia en cada caso.

TABLA 8

Resultados para la determinación de la exactitud del método

Nivel	Analito	Concentración de referencia (mg/kg)	Concentración encontrada (mg/kg)	Deriva tolerable (mg/kg)	Estado de la exactitud
Inferior	As	19,84	19,73	±0,77	Aceptada
	Cd	16,1	15,94	±1,06	
	Cr	19,88	20,68	±0,67	
	Pb	21,13	20,08	±1,12	
Medio	As	199,12	196,97	±4,21	Aceptada
	Cd	197,56	194,79	±3,56	
	Cr	199,52	201,78	±5,09	
	Pb	198,97	195,19	±3,86	
Superior	As	997,72	1011,54	±37,51	Aceptada
	Cd	997,82	999,57	±31,29	
	Cr	988,23	960,99	±39,50	
	Pb	998,12	974,5	±34,26	

En la tabla 9, se presentan los porcentajes de recuperación y los intervalos de aceptación para los mismos en la prueba de veracidad, obteniendo recuperaciones dentro de los porcentajes esperados para cada analito en cada nivel de concentración evaluado.

TABLA 9

Evaluación de la veracidad mediante la recuperación de As, Cd, Cr y Pb en sus diferentes niveles

Nivel	Analito	Concentración teórica del analito (mg/kg)	Concentración obtenida en el análisis (mg/kg)	Recuperación calculada (%)	Intervalo de aceptación para la recuperación (%)	Estado
Inferior	As	19,84	19,73	99	80-110	Cumple
	Cd	16,1	15,94	99		
	Cr	19,88	20,68	104		
	Pb	21,13	20,08	95		
Medio	As	199,12	196,97	99	90-107	Cumple
	Cd	197,56	194,79	99		
	Cr	199,52	201,78	101		
	Pb	198,97	195,19	98		
Superior	As	997,72	1011,54	101	97-103	Cumple
	Cd	997,82	999,57	100		
	Cr	988,23	960,99	97		
	Pb	998,12	974,5	98		

En la tabla 10 se evidencia una síntesis de los datos para los límites de detección y cuantificación en mg/kg obtenidos para cada metal evaluado.

TABLA 10

Valores encontrados para el límite de cuantificación y detección del As, Cd, Cr y Pb

Analito	Límite de detección (mg/kg)	Límite de cuantificación (mg/kg)
As	0,0239	$5,02 \times 10^{-2}$
Cd	0,0097	$1,14 \times 10^{-2}$
Cr	0,0930	$1,29 \times 10^{-1}$
Pb	0,0133	$2,84 \times 10^{-2}$

Por su parte, la tabla 11 incluye los resultados la selectividad del método para cada analito implicado.

Tabla 11

Resultados obtenidos para la selectividad del método para los analitos As, Cd, Cr y Pb en el medio de disolución empleado

Analito	$K_{A,I}$ Blanco reactivo	$K_{A,I}$ Blanco matriz	Estado
As	0,0035	-0,0099	Cumple
Cd	-0,0019	0,0054	
Cr	0,0040	-0,0142	
Pb	0,0085	0,0069	

En la tabla 12, se expresan los valores de la prueba de robustez calculados para las diferentes combinaciones de factores evaluados, en contraste con los valores máximos permisibles para el efecto del factor en los diferentes analitos.

TABLA 12

Resultados experimentales de la prueba de Youden y Steiner para la robustez de los diferentes elementos analizados

Factor	Valor calculado para el efecto en As	Valor máximo permisible para el efecto del factor en As	Valor calculado para el efecto en Cd	Valor máximo permisible para el efecto del factor en Cd	Valor calculado para el efecto en Cr	Valor máximo permisible para el efecto del factor en Cr	Valor calculado para el efecto en Pb	Valor máximo permisible para el efecto del factor en Pb
A,a	-1,59		2,88		-2,59		-0,75	
B,b	4,45		3,62		0,29		-0,68	
C,c	3,95		1,05		-1,25		-0,68	
D,d	1,04	6,15	-0,32	5,02	0,19	3,37	-0,47	2,15
E,e	-1,44		2,18		1,18		0,1	
F,f	1,51		0,3		1,69		-0,07	
G,g	-1,97		2,04		1,24		2,02	

En la tabla 13, se muestran las estimaciones para la incertidumbre expandida, multiplicando la incertidumbre combinada por un factor $k=2$ para un 95% de confianza.

TABLA 13

Resultados obtenidos para la incertidumbre

Nivel	Analito	Longitud de onda (nm)	Incertidumbre combinada (mg/kg)	Incertidumbre expandida (mg/kg)
Inferior	As	188,980	±0,42	±0,84
		193,696	±0,35	±0,70
	Cd	214,439	±0,53	±1,06
		226,502	±0,53	±1,06
	Cr	267,716	±0,35	±0,70
		276,653	±0,32	±0,64
Pb	220,353	±0,56	±1,12	
Medio	As	188,980	±2,15	±4,30
		193,696	±2,11	±4,22
	Cd	214,439	±1,74	±3,48
		226,502	±1,78	±3,56
	Cr	267,716	±2,64	±5,28
		276,653	±2,55	±5,10
Pb	220,353	±1,93	±3,86	
Superior	As	188,980	±18,66	±37,32
		193,696	±18,75	±37,50
	Cd	214,439	±15,20	±30,40
		226,502	±15,65	±31,30
	Cr	267,716	±19,50	±39,00
		276,653	±19,75	±39,50
Pb	220,353	±17,13	±34,26	

En la tabla 14, se expresa el valor de concentración obtenido para los diferentes metales en una muestra fiscalizada, cuantificada con la metodología validada.

TABLA 14

Resultados obtenidos para el análisis de una muestra fiscalizada

Analito	Concentración de referencia (mg/kg)	Concentración encontrada (mg/kg)	Estado
As	55,00	54,91	Aprobada
Cd	27,70	27,69	Aprobada
Cr	62,18	62,56	Aprobada
Pb	167,00	166,74	Aprobada

DISCUSIÓN

En lo concerniente a los datos para la prueba de influencia de la pureza del ácido nítrico en la cuantificación de metales pesados (Tabla 4), se establece que el cambio en la pureza del ácido (HNO_3) no afecta la concentración de los analitos, con un 95% de confianza según lo establece Gutiérrez & De la Vara (2008). En virtud de ello, es válido afirmar que la pureza de los ácidos no ocasiona ningún tipo de interferencia que deba ser considerada o corregida en el análisis de As, Cd, Cr y Pb mediante la técnica ICP-OES, todo esto pese a que según se evidencia por Merck (2019), existe una diferencia importante en las concentraciones reportadas en los certificados de análisis para ambas calidades de los ácidos.

En el caso de los datos expuestos en la tabla 5, para la prueba empleada con el fin de determinar el efecto del hierro sobre la cuantificación de metales pesados, se determinó que en el

análisis de fertilizantes cuyas matrices presenten contenidos de hierro en concentraciones $\leq 5\text{m/m}$, no tendrán una influencia sobre la concentración de As, Cd, Cr y Pb, con un 95% de confianza según sugiere Dagnino (2014) para la prueba aplicada.

Por su parte, el desarrollo de la prueba de linealidad se resume en la Figura 1, mediante gráficos superpuestos de las curvas de calibración para los diferentes analitos, donde se aprecia un R^2 promedio de 1,00 demostrando que el método es capaz de generar una muy buena relación lineal, es decir que el cambio en la variable dependiente “y” (intensidad) está altamente relacionado al cambio de la variable independiente “x” (concentración). Por lo tanto, las condiciones del método permiten obtener la concentración (x) de muestras, basado en la respuesta (y) brindada por el instrumento (Moosavi & Ghassabian, 2018).

Adicionalmente, según se observa en la tabla 6, se llevó a cabo el test de la Q de Dixon para las curvas de calibración del As, Cd, Cr y Pb, con el fin de detectar valores anómalos en las mismas, descartando la presencia de datos atípicos, y se demuestra que no existe una varianza significativa entre las diferentes curvas de calibración de los analitos, y que el método es lineal en el rango de concentraciones establecido, por lo cual, es confiable utilizar la interpolación para determinar concentraciones desconocidas mediante su intensidad (Komsta, 2006).

También, al concretar el ensayo para determinar la precisión por medio de la repetibilidad, se obtuvo que el coeficiente de variación experimental, que se observa en la tabla 7 para cada analito, es significativamente menor que los coeficientes de variación establecidos, por lo tanto, es correcto afirmar que el método es preciso, por lo tanto, las concentraciones de los analitos tienden a ser repetibles y suelen buscar un mismo valor central. Con esto, el método es capaz de determinar la concentración de los analitos en distintas muestras con una leve dispersión, generando alta confianza entre los datos obtenidos de distintas muestras (Belouafa et al., 2017).

Asimismo, para la prueba empleada en la determinación de la exactitud, se utilizó el sesgo encontrado entre el promedio de las concentraciones experimentales comparado con el promedio de las concentraciones teóricas, estas se detallan en la tabla 8. Al aplicar el análisis estadístico se determinó el límite inferior y superior, consiguiendo que todas las medias de las poblaciones se situaran dentro de los límites de control, por lo tanto los valores experimentales se inclinan a ser iguales o altamente similares a los valores teóricos, por lo cual, el método no presenta ningún tipo de sesgo que deba ser corregido, de modo que este se considera exacto al acertar por igual la concentración real para cada analito en sus diferentes niveles (United Nations Office on Drugs and Crime [UNODC], 2009).

En relación con lo anterior, para la evaluación de la veracidad mediante la recuperación de As, Cd, Cr y Pb, se obtienen los datos de la tabla 9 y se establece que el método es capaz de obtener concentraciones experimentales que no son significativamente distintas a las concentraciones teóricas, por lo tanto, se cumple con los criterios de aceptación y se demuestra que cualquier determinación de As, Cd, Cr y Pb en una matriz de fertilizantes realizada con el método validado es veraz. Este parámetro es de gran importancia ya que los analitos son impurezas de las cuales se desconoce su concentración, por esta razón se debe demostrar la competencia para determinar la concentración de estas de forma eficaz, precisa, exacta y veraz (Magnusson & Örnemark, 2014).

En lo concerniente a los límites de cuantificación y detección del As, Cd, Cr y Pb en el medio de disolución, los datos de la tabla 10 establecen la cantidad mínima de analito en la muestra que puede ser cuantificada por el método y la cantidad mínima de analito que puede ser distinguida de la línea base o del ruido, para el método se logró cumplir la meta de cuantificar una concentración menor a lo establecido en el RTCR 485:2016 donde todas las concentraciones son mayores a 59mg/kg; resultando el método lo suficientemente sensible para fiscalizar los fertilizantes con metales pesados (Shrivastava & Gupta, 2011).

A su vez, para la determinación de la selectividad detallada en la tabla 11, se utilizó el coeficiente de selectividad donde se aprecia que tanto los coeficientes del blanco reactivo como los del blanco matriz se encuentran cercanos al valor crítico (0) indicando que el método es capaz de detectar y cuantificar los analitos libres de interferencias del medio bajo las condiciones evaluadas y despreciando la interferencia generada por la matriz del fertilizante, lo que asegura que no existe disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes (Boqué, 2005; Verbić et al., 2013).

Al aplicar el ensayo de robustez sobre las ocho variables descritas en la tabla 2, se permite modificar las condiciones ideales que tienen mayor incidencia en el resultado final, sustituyendo estas por escenarios no ideales o poco recomendados, con lo obtenido se logra identificar que el método es robusto a las variables antes mencionadas ya que los valores calculados no superan los valores máximos permisibles para el efecto del factor detallados en la tabla 12, por ende dichas variaciones no generan ningún tipo de afectación estadísticamente significativa sobre el valor de la concentración de los diferentes analitos (Karageorgou & Samanidou, 2014).

En lo que respecta a la incertidumbre del método, esta se resume en la tabla 13 y logra cumplir con los criterios establecidos por el laboratorio (4%-8%), para los diferentes niveles, lo que refleja que la elaboración de la curva de calibración, sumado al pesaje, digestión, trasvase y aforo, no agrega una variancia mayor a la establecida.

Por último, en los resultados brindados en la tabla 14 para el análisis de una muestra fiscalizada, se observa el cumplimiento en cuanto a lo obtenido experimentalmente para los metales indagados, con respecto al valor de referencia para el contenido de cada metal; específicamente los datos obtenidos oscilaron entre 99,8% y 100,6% del valor reportado como referencia en cada caso, lo cual permite respaldar la proximidad con el valor real de As, Cd, Cr y Pb.

Adicional a lo anterior, según establece la Norma RTCR 485:2016 para efectos de fiscalización, el límite máximo permitido de los metales pesados incluidos en esta investigación, no deben superar los valores siguientes: arsénico 60mg/Kg, cadmio 80mg/Kg, cromo 500mg/Kg y plomo 200mg/Kg; por lo cual todos los metales están bajo el límite máximo permitido en la muestra analizada, asegurando que no se ocasiona perjuicio posterior a la planta, ni a la salud de las personas.

También, según menciona Rodríguez et al. (2014), los metales pesados como elementos traza no son esenciales para las plantas, y en ciertas dosis pueden afectar su crecimiento y desarrollo. Los resultados de estudios realizados en todo el mundo en cuanto a los elementos traza presentes en fertilizantes son muy variables debido a lo diverso de su origen y procesos que se siguen en su fabricación, por lo que es necesario estudiarlos de manera local y con base a las regulaciones oficiales, con la intención de avanzar hacia una agricultura sostenible.

AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento al SFE-MAG por facilitar la asesoría con el recurso humano de excelente capacidad y alto grado académico, sus instalaciones, los reactivos empleados, los instrumentos de análisis y demás recursos para el desarrollo de este trabajo de investigación.

ÉTICA, CONFLICTO DE INTERESES Y DECLARACIÓN DE FINANCIAMIENTO

Declaramos haber cumplido con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la preparación de este documento; que no hay conflictos de interés de ningún tipo, y que todas las fuentes financieras se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos. Asimismo, estamos de acuerdo con la versión editada final de esta publicación. El respectivo documento legal firmado se encuentra en los archivos de la revista.

La declaración de contribución de cada autor es la siguiente: F.E.H.: Diseño del estudio, recolección y análisis de datos. E.P.L.: Asesoría en todo el proceso investigativo, análisis de datos. Ambos coautores.: preparación y aprobación final del manuscrito.

REFERENCIAS

- AOAC International. (2017). *Simultaneous Determination of Arsenic, Cadmium, Calcium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Magnesium, Manganese, Molybdenum, Nickel, Selenium, and Zinc in Fertilizers*. <https://bit.ly/3DEZbVB>
- Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1992). Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y Planta*, 2(2), 345-361. <https://bit.ly/3q3dLBc>
- Belouafa, S., Habti, F., Benhar, S., Belafkih, B., Tayane, S., Hamdouch, S., Bennamara, A., & Abourriche, A. (2017). Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples. *International Journal of Metrology and Quality Engineering*, 8, 9. <https://doi.org/10.1051/ijmqe/2016030>
- Boqué, R. (2005). La selectividad en análisis químico. *Técnicas de Laboratorio*, 299, 878-881. <https://bit.ly/3HNqz4C>
- Dagnino, J. (2014). Análisis de varianza. *Revista Chilena de Anestesia*, 43(4), 306-310. <https://bit.ly/3zu9MzT>
- Gutiérrez Pulido, H., & De la Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. Editorial McGraw-Hill Internacional.
- Karageorgou, E., & Samanidou, V. (2014). Youden test application in robustness assays during method validation. *Journal of Chromatography A*, 1353, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.050>
- Komsta, L. (2006). Processing data for outliers. *The Newsletter of the R Project*, 6(2), 10-13. <https://bit.ly/3JSXOp6>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG]. (2016). *Norma Rtrc 485:2016 Sustancias Químicas. Fertilizantes Y Enmiendas Para Uso Agrícola. Tolerancias Y Límites Permitidos Para La Concentración De Los Elementos Nutritivos, Metales Pesados E Impurezas*. <https://bit.ly/3HL32kZ>
- Magnusson, B., & Örnemark, U. (2014) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. <https://bit.ly/3t8gN9w>
- Merck. (2019). *Ácido nítrico 65% Suprapur®*. Merck. <https://bit.ly/3tmVtgD>
- Modaihsh, A. S., Al-Swailem, M. S., & Mahjoub, M. O. (2004). Heavy metals content of commercial inorganic fertilizers used in the Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of Agricultural and Marine Sciences [JAMS]*, 9(1), 21-25. <https://journals.squ.edu.om/index.php/jams/article/view/621>
- Molina, N. P., Aguilar, P., & Cordovez, C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, 8(1), 77-88. <https://bit.ly/3yDJXzl>
- Moosavi, S. M., & Ghassabian, S. (2018). Linearity of calibration curves for analytical methods: A review of criteria for assessment of method reliability. In M. Stauffer (Ed.), *Calibration and Validation of Analytical Methods: A Sampling of Current Approaches* (pp. 109-127). IntechOpen. <https://bit.ly/3jzBaHv>
- Mora, S. (2019). *Informe Comercio Exterior del Sector Agropecuario 2017-2018*. <https://bit.ly/2NCMf8T>

- Nava-Ruiz, C., & Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias*, 16(3), 140-147. <https://bit.ly/3wliDnk>
- Lagos, M.R. (2016). *Uso del nebulizador ultrasónico con el espectrómetro de emisión óptica por plasma inducido (ICP OES) para mejorar los límites de detección en la cuantificación de metales en muestras de aguas y aguas residuales*. [Tesis Profesional en Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4867>
- Rodríguez, J.C., Alcalá, J.A., Hernández, A., Rodríguez, H., Ruiz, F.H., García, J.L., & Díaz, P.E. (2014). Elementos traza en fertilizantes y abonos utilizados en agricultura orgánica y convencional. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(4), 695-701. <https://bit.ly/3JOBnI5>
- Shrivastava, A., & Gupta, V. B. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of young scientists*, 2(1), 21-25. <https://bit.ly/3q3aJx0>
- United Nations Office on Drugs and Crime [UNODC]. (2009). *Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens*. <https://bit.ly/3yrXarF>
- Verbić, T., Dorko, Z., & Horvai, G. (2013). Selectivity in analytical chemistry. *Revue Roumaine de Chimie*, 58(7-8), 569-575. <http://revroum.lew.ro/wp-content/uploads/2013/7/Art%2001.pdf>
- Vergara, E. J. (2019). *Contaminación ambiental, bioacumulación y biomagnificación por metales pesados en un sector del Río Alto-Chicamocha*. [Tesis de doctorado, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia]. <https://repositorio.uptc.edu.co/handle/001/3680>
- Webb, S., Bartos, J., Boles, R., Hasty, E., Thuotte, E., & Thiex, N. J. (2014). Simultaneous Determination of Arsenic, Cadmium, Calcium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Magnesium, Manganese, Molybdenum, Nickel, Selenium, and Zinc in Fertilizers by Microwave Acid Digestion and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry Detection: Single-Laboratory Validation of a Modification and Extension of AOAC 2006.03. *Journal of AOAC International*, 97(3), 700–711. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-408>