

Evaluación de la eficiencia de extracción de Cd en suelos franco-arenosos mediante los métodos de digestión asistido con microondas, ultrasonido y digestión húmeda por agua regia: para su determinación por espectrometría de absorción atómica

Lizeth Lorena Muñoz Villarreal
Químico

Universidad de Córdoba
Facultad de Ciencias Básicas
Departamento de Química
Maestría en Ciencias Químicas
Montería Córdoba
Colombia
2023

Evaluación de la eficiencia de extracción de Cd en suelos franco-arenosos mediante los métodos de digestión asistido con microondas, ultrasonido y digestión húmeda por agua regia: para su determinación por espectrometría de absorción atómica

Trabajo de grado final para obtener el título de Magíster en Ciencias Químicas

Lizeth Lorena Muñoz Villarreal

Químico

DIRECTOR

M.Sc Edineldo Lans Ceballos

Universidad de Córdoba

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Química

Maestría en Ciencias Químicas

Montería Córdoba

Colombia

2023

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Montería 2023

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por cada una sus bendiciones y por sostenerme en todo este proceso.
- A la Universidad de Córdoba por permitirme hacer parte de su comunidad en el área de posgrado, contribuyendo a mi formación integral fomentando el crecimiento de mis competencias científico-tecnológicas en el área de ciencias químicas
- A mi familia por apoyarme en todo este proceso.
- A los profesores Edineldo Lans Ceballos y Gilmar Santafé Patiño, por acompañarme y apoyarme en este proceso.
- A los profesionales Arnaldo Trujillo, Paola Nisperuza, y Diego Londoño por su apoyo y acompañamiento.
- A los profesores de la maestría en Ciencias Química, por haber contribuido en mi crecimiento profesional y personal

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	10
2. INTRODUCCIÓN	11
3.OBJETIVOS	14
3.1. Objetivo General	14
3.1.1. Objetivos Específicos	14
4. MARCO TEÓRICO	15
4.1. Espectroscopia de absorción atómica	15
Figura 1. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica de llama (Harvey, 2009)	15
Figura 2. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica en horno de Grafito.....	16
Figura 3. Elementos susceptibles de determinarse por EEA Llama y Horno de Grafito.	17
4.1.1. Ventajas y desventajas	17
4.2. Método de extracción de metales a nivel traza	18
4.2.1. Extracción de elementos traza solubles en agua regia	18
4.2.2. Extracción en fase sólida	18
4.2.3. Extracción por ultrasonido	20
5. METODOLOGÍA	23
5.1. Muestreo y recolección de muestra.	23
Figura 4. Punto de muestreo para muestras de suelos.	23
5.2. Pretratamiento de muestra	23
5.3. Análisis de extracción para Cd	23
5.3.1. Extracción con agua regia según NTC 3888: 1996	23
5.3.2. Extracción por microondas	24
5.3.3. Extracción asistida con ultrasonido.	25
5.4. Determinación de cadmio.	25
5.5. Control de calidad analítica.	26
5.6. Tratamiento estadístico de los datos	26
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	27
6.1. Extracción por microondas para muestras de suelo	27
Figura 5. Extracción de Cd con EDTA 0.1 M	29
Figura 6. Extracción de Cd con EDTA 0.25 M	30

Figura 7. Extracción de Cd con EDTA 0.3 M	31
6.1.1. Influencia de la concentración de EDTA en la extracción del metal	32
6.1.2. Influencia del tiempo de extracción	33
6.1.3. Influencia de la velocidad de agitación en la extracción del metal	34
6.1.4. Interacción del microondas con la muestra estudio	35
6.2. Extracción en muestras de suelos por agua regia	35
Figura 9. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 2.5 mg/L de Cd	36
Figura 10. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 1.25 mg/L de Cd	36
6.2.1. Interacción del agua regia con la muestra estudio	37
6.3. Extracción de cadmio en muestras de suelos por ultrasonido	38
Figura 11. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 1.2 mg/L de Cd	39
Figura 12. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,6 mg/L de Cd	39
Figura 13. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,2 mg/L de Cd	40
6.3.1. Influencia del ácido y volumen de ácido en la concentración del metal	40
6.3.2. Influencia tiempo en el ultrasonido con la concentración del metal	41
6.3.3. interacción del ultrasonido con la muestra de estudio	42
6.4. Comparación estadística y metodológica de los métodos de digestión con microondas, digestión asistida con ultrasonido y agua regia para la determinación de Cd en muestras de suelos.	43
Figura 14. Gráfico de cajas y vigores (boxplot) de las diferentes combinaciones de tratamientos utilizados para la extracción de Cd.....	43
7. CONCLUSIONES	46
8. BIBLIOGRAFIA	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica de llama (Harvey, 2009).....	15
Figura 2. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica en horno de Grafito.	16
Figura 3. Elementos susceptibles de determinarse por EEA Llama y Horno de Grafito. 17	
Figura 4. Punto de muestreo para muestras de suelos.....	23
Figura 5. Extracción de Cd con EDTA 0.1 M	29
Figura 6. Extracción de Cd con EDTA 0.25 M.....	30
Figura 7. Extracción de Cd con EDTA 0.3 M.....	31
Figura 9. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 2.5 mg/L de Cd.....	36
Figura 10. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 1.25 mg/L de Cd.....	36
Figura 11. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 1.2 mg/L de Cd.....	39
Figura 12. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,6 mg/L de Cd.....	39
Figura 13. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,2 mg/L de Cd.....	40
Figura 14. Gráfico de cajas y vigores (boxplot) de las diferentes combinaciones de tratamientos utilizados para la extracción de Cd	43

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Normas para la extracción de metales pesados (Cd y otros).....	12
Tabla 2. Etapas del método SPE para extracción de metales.	19
Tabla 3. Característica destacada del procedimiento preconcentración SPE para cadmio y plomo en conjunto con FAAS desde 2003.	19
Tabla 4. Comparación entre sistema abierto y cerrado.	21
Tabla 5. Extracción de Cd en muestras de suelos sin enriquecimiento por método asistido por microondas.	27
Tabla 6. Análisis ANOVA para método microondas.....	31
Tabla 7. Comparación de medias para tiempo de agitación	33
Tabla 8. Comparación de medias para velocidad de agitación.....	34
Tabla 9. Análisis de varianza para extracción de Cd por agua regia	36
Tabla 10. Análisis de varianza para extracción de Cd por ultrasonido.....	40
Tabla 11. Comparación de medias para el tiempo en la extracción de Cd asistida por ultrasonido.....	41

Abreviaciones

Cd: Cadmio

AAS: Espectrometría de absorción atómica.

FAAS: Espectrometría de absorción atómica de llama.

ICP-MS: Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente.

GF-AAS: Espectrometría de Absorción Atómica con Vaporización Electrotérmica.

SPE: Extracción en fase sólida.

1. RESUMEN

Actualmente el método más utilizado para la extracción de metales pesados en muestras de suelos es la digestión por agua regia, es así como en este trabajo se estudiaron tres metodologías para la determinación de Cd en muestras de suelos, tales como: extracción utilizando: agua regia, digestión asistida por ultrasonido y microondas. Para el procedimiento con ultrasonido se utilizaron los extractantes HCl 37% y HNO₃ 65% mientras que para la metodología con microondas se utilizó EDTA. Se observó que las tres metodologías originaban buen comportamiento de respuesta con porcentajes de recuperación para el Cd en promedio de 100% para el caso de la extracción con agua regia, 98% por la metodología con ultrasonido y 72% para la digestión asistida con microondas, sin embargo, estadísticamente se observó que el método de digestión asistido con ultrasonido fue el que presentó menor coeficiente de variación con p valor de 0.658, por lo que se establece que de los tres métodos estudiados, el método de extracción asistido con ultrasonido es el más óptimo.

ABSTRACT

Currently the most widely used method for the extraction of heavy metals is digestion by aqua regia, this is how in this work three methodologies for the determination of Cd in soil samples were studied, such as: extraction using aqua regia, ultrasound-assisted extraction using 37% HCl and 65% HNO₃ as extracting agents and microwave-assisted extraction using EDTA as extracting agent. It was observed that the three methodologies originated good response behavior with average recovery percentages for Cd of 100% for the case of extraction with aqua regia, 98% for the case of ultrasound-assisted extraction, and 72% for the case of of the microwave-assisted extraction, however, statistically it was observed that the ultrasound-assisted digestion method presented the lowest coefficient of variation with a p value of 0.658, so it is established that of the three methods studied, the extraction method assisted with ultrasound is the most optimal.

2. INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelos agrícolas con Cd es un problema grave y generalizado porque este elemento es tóxico y muy móvil. El Cd está clasificado como carcinógeno del Grupo 1, por el Programa Nacional de Toxicología, y la exposición prolongada a la contaminación por este metal puede causar una variedad de problemas de salud, como la enfermedad de Itai-Itai (Hernández et al., 2019)

Existe una gran preocupación en el sector agrícola por la presencia de metales pesados en alimentos, producto de la exposición entre el cultivo y el suelo. Así, por ejemplo, una problemática actual es la contaminación de suelos por cadmio, debido a que el cadmio por lo general es absorbido del suelo por las raíces de las plantas, movilizándose y concentrándose en distintos renglones agrícolas, entrando así en la cadena trófica (Hernández et al., 2019).

La determinación directa de metales y metaloides en muestras de suelos por espectrometría de absorción atómica (AAS) es difícil debido a los bajos niveles de iones metálicos y por interferencias debido a influencias de los principales componentes de la matriz. A pesar de la selectividad y sensibilidad de las técnicas analíticas como la espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS), existe una necesidad crucial de preconcentración de oligoelementos antes de su análisis debido a sus bajas concentraciones en numerosas muestras. En varios casos, ha sido necesario utilizar un método de preconcentración antes del análisis (Behbahani et al., 2021)

Actualmente existen diversos métodos analíticos para la determinación de Cd en muestras de suelos, pese que la gran mayoría de los laboratorios de ensayos cuentan con equipos de absorción atómica, ya que estos son simples, rápidos, confiables y de bajo costo. A pesar de ello, este método adolece de problemas de falta de sensibilidad cuando se compara con otros métodos de análisis cuantitativos como Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS), espectrometría de emisión atómica (ICP-AES) y Espectrometría de Absorción Atómica con Vaporización Electrotérmica (GF-AAS) ampliamente aceptadas y costosas para los análisis de metales pesados en muestras de suelo, así, el método FAAS resulta ser más accesible y a la vez complejo, cuando se analizan muestras complejas, por lo cual es necesario un pretratamiento en éstas que permita extraer el elemento y así poder ser analizado,

Es así, que resultan cuestionamientos en la validez de los resultados debido a la extracción del metal. Una dificultad del análisis de Cd es el efecto de las interferencias causadas por el hierro y aluminio por espectrofotometría de absorción atómica por llama con algunos agentes niveladores de señal. Se ha investigado la

naturaleza y el grado de interferencia del hierro y el aluminio en la determinación de cadmio por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Santisteban Rojas, 2021).

Es así, como la extracción del analito se convierte en una etapa fundamental y decisiva para obtener resultados confiables. Actualmente existen diversos métodos de extracción para metales pesados en muestras de suelos que han sido estudiados para mejorar el método analítico por absorción atómica como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1 Normas para la extracción de metales pesados (Cd y otros).

Metodología o Norma de referencia	Descripción
ISO 11466	Calidad del suelo - Extracción de oligoelementos solubles en agua regia
EPA 3050	Digestión ácida de sedimentos, fangos y suelos.
EPA 3052	Digestión en microondas utilizando una mezcla de HF y HCl.
NEN 6465	Tratamiento de muestras de fango, aguas con fango y partículas atmosféricas para la determinación de elementos por espectrometría de absorción atómica tras digestión con ácido sulfúrico y ácido clorhídrico.

Fuente: (César & Zamora, 2019)

En la literatura se encuentran disponibles varios métodos analíticos avanzados para la determinación de metales traza con suficiente sensibilidad.

El análisis de elementos en niveles de trazas es una tarea analítica difícil, principalmente debido a la complejidad de la matriz y la baja concentración de estos elementos, que requiere técnicas instrumentales sensibles y, a menudo, un paso de preconcentración. A este respecto, se han propuesto diversos métodos para la determinación de la cantidad de trazas de elementos, como la coprecipitación, la extracción líquido-líquido, la extracción del punto de enturbiamiento, extracción en fase sólida y microextracción líquido-líquido dispersivo, para la separación y preconcentración de Cd de diferentes matrices. Sin embargo, estos métodos a menudo requieren grandes cantidades de disolventes orgánicos, que en su mayoría son dañinos y contaminan el medio ambiente debido a su alta presión de vapor (Santisteban Rojas, 2021).

Actualmente los estudios se han enfocado en el análisis de distintos métodos de extracción que permitan la optimización de tiempo y recursos. La importancia de los métodos de extracción se basa directamente en la velocidad y el tiempo necesarios para lograr el objetivo del análisis. Así mismo, los métodos para el aislamiento y extracción de elementos de interés se basan principalmente en varios parámetros importantes, incluido el tipo de procedimiento de extracción, solvente, muestra, así como el tiempo y la eficiencia del proceso seleccionado (Mahmoud et al., 2016).

Actualmente, los métodos más utilizados para la extracción de metales pesados son la digestión ácida por vía húmeda y seca. La vía húmeda, consiste en utilizar ácidos, bases y agentes oxidantes, para asegurar la total destrucción de la materia orgánica y la vía seca, se fundamenta en procesos de calcinación en muflas, seguida de tratamiento con estas mismas sustancias. No obstante, estos métodos requieren de un tiempo considerable de análisis y volúmenes elevados de ácidos, lo que contribuye a impactar negativamente al medio ambiente con emisiones de vapores y residuos tóxicos, por otra parte, se pueden presentar problemas de disolución incompleta, precipitación de analitos insolubles, contaminación de la muestra y pérdida de elementos volátiles (Guzman Pinto, 2019).

Cada uno de estos métodos tiene sus propias ventajas y desventajas, Sin embargo, los procedimientos que se presentan en este trabajo tienen el objetivo de encontrar condiciones óptimas para extraer cadmio. Los métodos expuestos en este trabajo son: Extracción mediante digestión húmeda por agua regia, extracción ácida asistida por ultrasonido y extracción asistida por microondas. Así, la extracción asistida por microondas está siendo muy estudiada y se basa en calentar la muestra con energía de microondas durante un período corto de tiempo para transferir los analitos de interés de su solución al solvente de extracción, esta permite la reducción de la cantidad de solvente y, por lo tanto, disminuye la cantidad de materiales peligrosos de desecho.

Así mismo, la extracción por agua regia tiene diversos estudios encaminados a establecer un rendimiento de recuperación de esta extracción con respecto a las cantidades totales de metal. Se cree que la extracción con agua regia conduce a la máxima cantidad de ácido soluble de metales con recuperaciones del 89 al 110 % para algunos metales en suelos y sedimentos (Dendievel et al., 2022).

De igual forma, el método de extracción asistida por ultrasonido es un método de extracción sólido-líquido de uso común para extraer los metales pesados disponibles mediante la alteración de la matriz de la muestra y ayudar a que los analitos escapen de la matriz. Este método es ampliamente utilizado en especiación elemental en suelos e investigación de alimentos (Liu et al., 2020).

Para realizar la determinación de Cd por Absorción Atómica de Llama, es necesario tener el analito en solución, y libre de posibles interferentes, tales como materia orgánica, o particulado. Para lograr estas condiciones, y con el objeto de reducir la interferencia por materia orgánica y liberar los metales de la matriz manteniéndolos en solución, es necesario el tratamiento previo de las muestras, y se debe realizar el procedimiento de preparación, digestión y preservación (Chavarrea Macas & Aguaisa Tamay, 2021).

3.OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Evaluar la eficiencia de extracción de Cd en suelos mediante los métodos de digestión asistido con microondas, digestión asistida con ultrasonido y agua regia para su determinación por espectrometría de absorción atómica.

3.1.1. Objetivos Específicos

- ✓ Analizar el comportamiento metodológico extractivo mediante análisis de varianza para cuantificar cadmio en muestras de suelos mediante los métodos de extracción con agua regia, digestión asistida con microondas y digestión asistida con ultrasonido.
- ✓ Determinar las condiciones metodológicas que permitan optimizar las metodologías analíticas para extraer Cd en muestras de suelos.
- ✓ Comparar la variabilidad extractiva entre los métodos de extracción con agua regia, digestión asistida microondas y digestión asistida con ultrasonido mediante análisis Kruskal Wallis

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Espectroscopia de absorción atómica

La espectroscopia de absorción atómica (AAS por sus siglas en inglés Atomic Absorption Spectroscopy), es un método extremadamente sensible, y específica debido a que las líneas de absorción atómica son considerablemente estrechas (de 0,002 a 0,005 nm) y las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento (Araujo-Abad et al., 2020).

Los componentes básicos de un espectrómetro de Absorción Atómica de Llama y de Horno de Grafito son: fuente de energía radiante que emita en la longitud de onda del elemento de interés, sistema de atomización que suministre la energía calorífica necesaria para la disociación del analito y la formación de átomos libres, monocromador para aislar las radiaciones a la longitud de onda medida, y detector acoplado con un sistema de registro de los datos obtenidos. La diferencia principal entre ambos métodos se encuentra en la fase de atomización de la muestra.

En el caso de Absorción Atómica de Llama (Fig. 1) este proceso se realiza en una llama, que utiliza como combustible la mezcla de los gases óxido de nitrógeno/acetileno o de aire/acetileno en función de la temperatura necesaria.

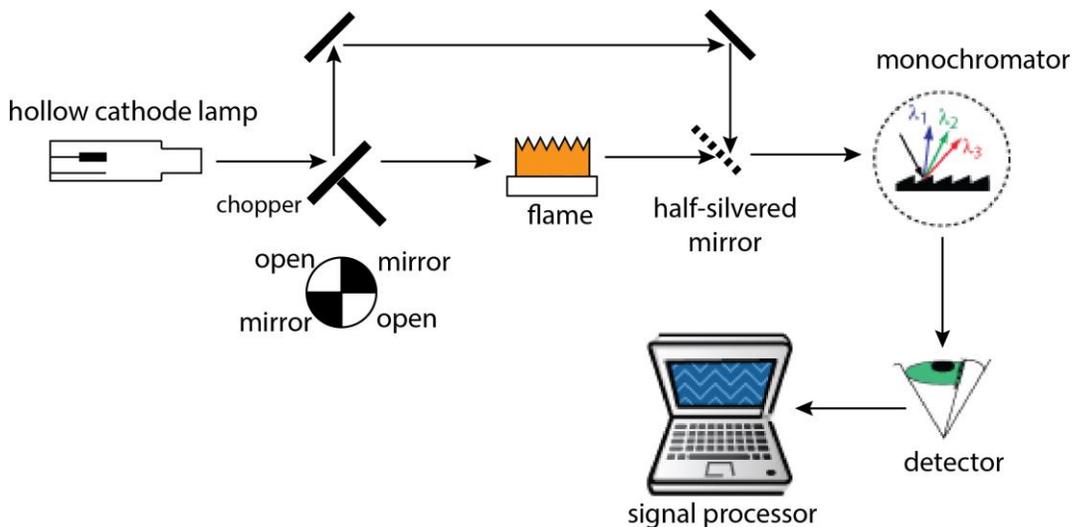


Figura 1. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica de llama (Harvey, 2009)

En la técnica de Absorción Atómica en Horno de Grafito la atomización se produce en un horno que consiste en un tubo de grafito y el calentamiento se produce por una corriente eléctrica (Fig. 2) (Martínez Guijarro, 2020).

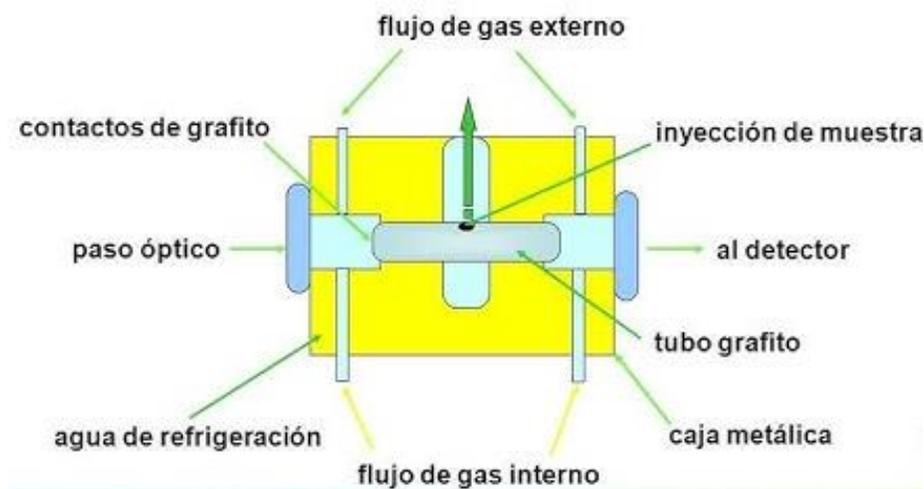


Figura 2. Esquema simplificado del funcionamiento de un sistema de absorción atómica en horno de Grafito.

Nota: Adaptado de "Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica (EAA)" por Martínez Guijarro, M. (2020).

Por EAA es posible determinar más de 60 elementos, tanto en Llama como en Horno de Grafito, hay que tener en cuenta la temperatura en el proceso de atomización. Las temperaturas que se alcanzan en el proceso de atomización son relativamente bajas, tanto en Absorción Atómica de Llama como con Horno de Grafito (en Llama, utilizando como combustible óxido nitroso/acetileno se alcanzan unos 3000°C siendo más baja la temperatura con la Llama de aire/acetileno). En la Figura 3 se puede ver qué elementos pueden determinarse solo mediante EAA de llama (en amarillo) y EEA de Horno de Grafito y Llama (en color naranja) (Martínez Guijarro, 2020).

H	Flame Only																He				
Li	Be															B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	Flame & Furnace														Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn				
Fr	Ra	Ac																			
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu					
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr					

Figura 3. Elementos susceptibles de determinarse por EEA Llama y Horno de Grafito.
 Nota: Adaptado de “Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica (EAA)” por Martínez Guijarro, M. (2020).

4.1.1. Ventajas y desventajas

Ventajas.

- Puede analizar hasta 82 elementos de forma directa.
- Excelente sensibilidad (ppb) – Absorción atómica con horno de grafito.
- Tiene una precisión del orden del 1% del coeficiente de variación. La preparación de la muestra suele ser sencilla.
- Tiene relativamente pocas interferencias.
- Su manejo es sencillo.
- El precio es razonable

Desventajas.

- Sólo pueden analizarse las muestras cuando están en disolución.
- Tienen diferentes tipos de interferencias.
- Solo pueden analizar elementos de uno en uno.
- No se pueden analizar todos los elementos del Sistema Periódico.
- Por ser una técnica de absorción, sus curvas de calibrado sólo son lineales en un corto rango de concentración.
- problemas de falta de selectividad y sensibilidad.

(Almeida Zambrano & Macías Moreira, 2020)

4.2. Método de extracción de metales a nivel traza

La extracción de metales consiste en separar los metales mediante un solvente adecuado que los solubilice. La cantidad extraída presenta la concentración en el equilibrio obtenido en el contacto de las fases involucradas. Este proceso de extracción se ha utilizado en un rango amplio de aplicaciones que incluyen: sistemas acuáticos y suelos. En muchos suelos, algunos metales se extraen parcialmente con solventes, tales como agua o soluciones de sales, mientras que otros pueden resistir la extracción con soluciones químicas agresivas, como ácidos concentrados o agentes quelantes poderosos.

La extracción puede ser selectiva o para la determinación simultánea de varios elementos. Los resultados analíticos se afectan por las modalidades operativas, tales como: relación suelo/solución, tiempo de extracción, tipo de suelo, tamaño de partículas, elemento, temperatura, iluminación, equipo de agitación, recipiente y propiedades químicas de la solución extractante (Cuyubamba Meza, 2021)

Los métodos analíticos usuales para la evaluación de metales pesados están basados en el empleo de técnicas de espectroscopía atómica. No obstante, determinan concentraciones totales y no distinguen entre fracciones químicas; además, pueden presentar interferencias de matriz, por lo que requieren como paso previo etapas de preconcentración que demoran los análisis y pueden incrementar la contaminación de la muestra por excesiva manipulación (Sánchez Sarango, 2022). Para lo cual existen varios métodos de extracción de metales pesados como se observa a continuación.

4.2.1. Extracción de elementos traza solubles en agua regia

Este método de extracción está validado por la Norma Técnica Colombiana y es el más utilizado en los laboratorios de ensayos químicos. Este método aplica a muestras de suelo que contengan menos de un 20% m/m de Carbono Orgánico, según lo establecido en la ISO 11464 (Pretratamiento de las muestras de suelo para análisis fisicoquímicos) e ISO 10694 (Determinación del carbono orgánico y total después de la combustión seca), los materiales que contienen mayor porcentaje requieren concentración de ácido nítrico adicional. Esta técnica se basa en una digestión ácida de la muestra, para lo cual se requiere ácido clorhídrico (HCl) 2 M, ácido nítrico (HNO₃) 15,8 M y ácido nítrico (HNO₃) 0,5 M. El agua regia que se utiliza para la extracción en este método no disuelve totalmente la mayoría de los componentes del suelo y materiales similares. La eficiencia de la extracción para elementos particulares difiere de un elemento a otro y también puede ser diferente para el mismo elemento en diferentes matrices (Salazar Oliva, 2019)

4.2.2. Extracción en fase sólida

SPE (Extracción Fase Sólida) es una técnica que permite concentrar y separar un analito, catiónico o aniónico de una matriz compleja, mediante una fase sólida

estacionaria. Como resultado, se elimina la matriz interferente, no retenida y, el analito se puede analizar con la mejor sensibilidad posible, mediante la técnica analítica adecuada, evitando el riesgo de las interferencias de matriz. Un método SPE consta generalmente de cuatro etapas como se observa en la Tabla 3 (SCP, 2019).

Tabla 2. Etapas del método SPE para extracción de metales.

Etapa	Descripción	Actividad
Etapa 1	Acondicionamiento.	Preparación del adsorbente para procesar la muestra
Etapa 2	Retención.	Filtrar los analitos deseados o los componentes no deseados
Etapa 3	Aclarado.	Arrastre por lavado de cualquier elemento no deseado que haya sido retenido simultáneamente.
Etapa 4	Elución.	Desorción selectiva y recogida del analito de interés.

Fuente: SCP, 2019

La extracción en fase sólida se utiliza como una etapa de preparación de la muestra para eliminar componentes indeseados que se quedarán absorbidos en el sólido, o bien como una etapa de preconcentración de los componentes de interés en la fase sólida. Así, los analitos de interés estarán absorbidos en la fase sólida y pueden desorber selectivamente mediante el lavado con un disolvente apropiado, esta técnica se emplea cuando los componentes de interés están presentes en bajas concentraciones o se necesita separar más de un componente. Mediante esta técnica se consigue también el enriquecimiento de trazas de compuestos presentes a un nivel extremadamente bajo y la concentración de muestras diluidas (García-Sánchez et al., 2022).

La extracción en fase sólida (SPE) ha pasado a primer plano en vista de las diversas ventajas que ofrece. La tabla 4 enumera las características destacadas de varios procedimientos de coprecipitación y SPE desarrollados para cadmio y plomo en conjunto con FAAS desde 2003 (Muñoz Sandoval, 2022).

Tabla 3. Característica destacada del procedimiento preconcentración SPE para cadmio y plomo en conjunto con FAAS desde 2003.

Ion del metal	Reactivo de preconcentración	Material en fase sólida	pH	Rango de calibración ($\mu\text{g/ml}$)	Límite de detección ($\mu\text{g/ml}$)	Factor de enriquecimiento
Cd	Diazoamino-benceno (DAAB)	Poly Cd (11) DAAB-V Presin	-	0.093–30	0.093	200
Pb	Ácido aminopolicarboxílico	Celulosa	2,5–5,5		0.5	200

Pb	Ácido tioglicólico	Celulosa	> 5.0			
Pb	Quioline-8-ol	Chromosorb-103	5.0– 8.0	20-100		200
Pb	Ácido ftálico	Amberlite XAD-16	5.0– 8.0		5.8	850
Pb	Azul cresilo brillante	Diaion HP-2MG	8.0		3.7	50
Cd y Pb	Ácido bathocuprio-indisplhonic	Chromosorb-108	8.0- 10.0	0.5-10	0.6	80
Cd y Pb	1- (2-piridilazo) -2-naftol	Chromosorb-106	8.0– 9.0		0.19, 0.32	100
Cd y Pb	5,7-dibromo-quinolina-8-ol	Benzofenona	6.0– 8.0	0.01–50, 2.5–200	0.1, 2.0	200

Fuente: (Muñoz Sandoval, 2022)

4.2.3. Extracción por ultrasonido

La extracción por ultrasonido se logra cuando se acoplan ondas de ultrasonido de alta potencia y baja frecuencia en una mezcla de material botánico en un disolvente. Las ondas ultrasónicas de alta potencia se acoplan mediante un procesador ultrasónico de tipo sonda en el lodo. Las ondas ultrasónicas de alta energía viajan a través del líquido creando ciclos alternos de alta y baja presión, lo que da lugar al fenómeno de cavitación acústica (Karimova, 2020).

La cavitación acústica o ultrasónica conduce localmente a temperaturas extremas, presiones, tasas de calentamiento/enfriamiento, diferenciales de presión y altas fuerzas de cizallamiento en el medio. Cuando las burbujas de cavitación implosionan en la superficie de los sólidos (como partículas, células vegetales, tejidos, etc.), los microchorros y la colisión interparticlar generan efectos como la descamación de la superficie, la erosión, la descomposición de las partículas, la sonoporación (la perforación de las paredes y membranas celulares) y la disrupción celular. Además, la implosión de las burbujas de cavitación en medios líquidos crea macro-turbulencias y micro-mezclas (Meneses Escobar, 2019a)

La irradiación ultrasónica representa una forma eficaz de mejorar los procesos de transferencia de masa, ya que la sonicación da lugar a la cavitación y sus mecanismos conexos, como el micromovimiento por chorros de líquido, la compresión y descompresión en el material con la consiguiente perturbación de las paredes celulares, así como altas tasas de calentamiento y enfriamiento (Karimova, 2020).

4.2.3.1. Ultrasonido cómo método de extracción de metales trazas

La técnica de ultrasonido se ha trabajado con la extracción líquido-líquido (LLE) para la determinación de metales pesados como el Cd. Así lo describe la investigación hecha por (Khan et al., 2020), en la cual se desarrolló un nuevo enfoque para la

preconcentración de cadmio (Cd) y níquel (Ni) en extracto de saliva artificial de productos de tabaco seco (marrón y negro) utilizando microextracción líquido-líquido dispersivo asistido por ultrasonidos basado en líquido iónico controlado a temperatura (TIL- UDLL μ E) seguido de espectrometría de absorción atómica electrotérmica (ETAAS).

Esto se sustenta debido a que la extracción de emulsificación asistida por ultrasonido líquido-líquido y asistida por ultrasonido se ha utilizado con éxito como alternativa al LLE, que puede alcanzar el equilibrio de extracción en poco tiempo. Sin embargo, los disolventes orgánicos tienden a volatilizarse bajo la radiación ultrasónica. Como resultado, proporcionando las ventajas del líquido iónico, la microextracción basada en líquido iónico asistida por ultrasonido se desarrolló como un método de extracción simple, rápido, económico, sensible y eficiente (Khan et al., 2020).

Estudios previos demostraron que el ultrasonido, como método de extracción asistida, podría liberar de manera eficiente los metales pesados de los lodos y los catalizadores usados y acortar el tiempo de extracción (Kou et al., 2020)

Tipos de digestión

La digestión o mineralización de las muestras pueden realizarse por vía húmeda o digestión ácida, vía seca y en algunos casos mediante extracción por ultrasonido. El método vía seca consiste en incinerar la muestra en el horno-mufla convencional a menos de 600 °C. Altas temperaturas a veces permiten la contaminación o pérdida del analito y por lo tanto ha tendido a subestimar o sobrestimar. El método de digestión húmeda incluye descomposición por ácidos solos o mezclados, llevado a cabo en vasos de teflón sobre bloques de aluminio o en placas respectivamente calientes o clásicamente en vasos de precipitado sobre plancha de calentamiento.(ELICEO, 2022). Algunas ventajas y desventajas de la digestión se observan en la Tabla 4.

Tabla 4. Comparación entre sistema abierto y cerrado.

Digestión en sistema abierto	Digestión en sistema cerrado
Temperatura máxima limitada por el punto de ebullición de la solución. Hasta 140°C.	Máxima temperatura dependiendo del equipo de 260 – 300 °C.
Mayor riesgo de contaminación, incluyendo elementos mayores como Na, K, Ca, Mg.	No hay riesgo de contaminación, los blancos de reactivos presentan menos impurezas.
Digestión frecuentemente incompleta.	Digestión completa.
Pérdida de elementos volátiles (Hg, Pb).	No hay pérdida de elementos volátiles.
Tiempo de digestión de hasta 24 h.	De 20 a 60 minutos dependiendo del equipo y del tipo de muestra.
	Menor cantidad de muestra lo cual puede no ser representativo cuando el cadmio está en

	concentraciones bajas, dependiendo de las condiciones en las que se realiza el análisis.
--	--

Fuente: (Guía para la determinación de Cd, 2020)

Digestión seca.

La ceniza en la química analítica se define como el calentamiento para dejar solo cenizas no combustibles, que son analizadas para determinar su composición elemental. La ceniza en seco se obtiene colocando la muestra en un recipiente inerte y abierto donde se destruye la fracción orgánica (calcinación) a altas temperaturas (450-500°C), utilizando un horno mufla. Luego de obtener la ceniza se procede a añadir ácido (HNO₃ y HCl), calentar, evaporar a seco y después filtrar para finalmente diluir antes de proceder a la lectura de la muestra. Este método es recomendado porque se utiliza menos cantidad de reactivos, hay menos riesgo al manipular y porque no se requieren de equipamiento complejos, sin embargo, también hay desventajas como pérdidas debido a la volatilización o debido a que parte de la muestra se quede adherida a los crisoles, contaminación por crisoles o por el horno, dificultad para disolver ciertos tipos de óxidos (Xie & Kirk, 2020).

Digestión húmeda.

La digestión húmeda se realiza a partir de la muestra debidamente molida a la cual se le añaden una serie de reactivos cuyo objetivo es, destruir la materia orgánica. Para lo cual se utilizan distintos ácidos en diferentes volúmenes y proporciones, calentados a diferentes temperaturas por un cierto tiempo y en algún caso evaporados a seco. Algunos autores señalan que el nivel de elementos traza en matrices como frutas y vegetales analizados por el método de cenizas son ligeramente más altos (Cd: 0,09 ± 0,04 µg/g AAS) que cuando se efectúa una digestión húmeda ácida (Cd: 0,08 ± 0,04 µg/g AAS) pero que en general no hay diferencia significativa entre ambos (Shokunbi et al., 2023)

5. METODOLOGÍA

5.1. Muestreo y recolección de muestra.

Las muestras de suelo se tomaron en el municipio de Chigorodó - Antioquia, para lo cual se realizó un recorrido de muestreo aleatorio simple en donde se tomaron seis submuestras para obtener una muestra compuesta representativa.

Las muestras se tomaron a 20 cm de profundidad desde la orilla de zona de goteo (debido a que en esta zona se las raíces absorben mayor porcentaje de nutrientes (Morales et al., 2021) como se observa en la figura 4). Para realizar la recolección, se empacó aproximadamente 1 kg de muestra en bolsas plásticas.



Figura 4. Punto de muestreo para muestras de suelos.

5.2. Pretratamiento de muestra

Se tomaron las muestras de suelo y se secaron en un horno a 40°C, luego se sometieron a trituración y se pasaron por un tamiz de 2 mm de apertura como lo indica el método (NTC – ISO 11464, 2022).

5.3. Análisis de extracción para Cd

5.3.1. Extracción con agua regia según NTC 3888: 1996

Se pesaron 3 gramos de suelo y se enriquecieron a 5, 2.5 y 1.25 mg/L de Cd (mediante la adición de 5 mL de estándar) para lo cual las muestras se pesaron y se llevaron a tubos de ensayos individualmente, seguidamente se adicionó 1mL de solución de estándar de cadmio, posteriormente se agitó la mezcla en un agitador para tubos de ensayo por 1 minuto, seguidamente la muestra fue llevada hasta sequedad en horno a 108°C por 24 horas. Una vez las muestras estén secas se les adicionó 21 mL de HCl concentrado seguido por 7 ml de HNO₃ 15.8 M gota a gota, para reducir la formación de espuma y 1 mL de agua ultrapura. Luego éstas se traspasan a un condensador y se deja en reposo por 16 h, 18 h y 20 h (definido mediante diseño completamente al azar) con el objetivo de definir la variación entre el tiempo de digestión y capacidad para extracción de Cd.

Terminado el tiempo de reposo, se aumentó la temperatura de la mezcla de reacción lentamente hasta que se alcanzó y mantuvo en condiciones de reflujo por 2 h, garantizando que la zona de condensación es menos que 1/3 de la altura del condensador y luego se dejó enfriar.

Se dejó el recipiente de reacción en reposo de forma que la mayor parte de cualquier residuo insoluble se asiente fuera de la solución. Se decantó cuidadosamente el sobrenadante relativamente libre de sedimento, en un papel filtrante, recogiendo el filtrado en un matraz volumétrico de 100 ml.

Se dejó pasar el filtrado inicial a través del papel filtrante, se lavaron los residuos insolubles que hayan quedado en éste, con un mínimo de ácido nítrico. Se recogió este filtrado con el primero, el filtrado se llevó a un balón de 100 mL. (como las muestras están por encima de la curva de calibrado se hicieron diluciones 5 en 50).

El extracto así preparado estuvo listo para la determinación del metal.

5.3.2. Extracción por microondas

Se utilizó un horno microondas doméstico, modelo K-MW07N, voltaje 120 V, frecuencia nominal 60 Hz, potencia de entrada 1050 W, potencia de salida 700 W, frecuencia del microondas 2450 MHz.

Las muestras de suelos se pretrataron y se enriquecieron tomando 1 mL de estándar 0.6 mg/L Cd (siguiendo el método de enriquecimiento expuesto en el numeral 5.3.1), luego se tamizaron a un tamiz de 2 mm, posteriormente se pesaron (1,00 g) y se agregó 25 ml de EDTA a concentración 0.1, 0.25 y 0.3 M por último se llevaron a 50 mL.

Las pruebas de extracción se realizaron en vaso de precipitados, usando un agitador de extremo a extremo a una velocidad de 100, 180 y 250 rpm a temperatura ambiente (25 ° C) durante 30 minutos, 1 y 2 h (siguiendo diseño completamente al azar) Las suspensiones se filtraron.

Todas las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados se presentaron como promedios de los extractos por triplicado. Como procedimiento experimental típico, la mezcla de 1,00 g de muestra y el volumen de Na₂ EDTA se trató mediante irradiación con microondas en un horno microondas durante un tiempo preestablecido 5 minutos (Kouzbour et al., 2019).

5.3.3. Extracción asistida con ultrasonido.

Los procesos de digestión y extracción se llevaron a cabo en un baño de ultrasonido ELMA, modelo Elmasonic Easy 60 H, potencia de 650W, voltaje 115-150 V, frecuencia de 50/60 Hz. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado.

Se pesaron cantidades aproximadas de 0.50 g de suelo enriquecidas tomando 1 mL de estándar a 0.2, 0.6 y 1.2 mg/L de Cd (siguiendo el método de enriquecimiento expuesto en el numeral 5.3.1). Así, cada tubo de ensayo, se adicionaron 1.00; 3.00 y 5.00ml de HNO₃ y HCl de forma individual, para finalmente ser llevado a extracción por ultrasonido a 15, 30 y 60 min, luego se filtraron las soluciones con papel filtro de celulosa de 0.45 µm de diámetro de poro, y se aforaron hasta 50 mL en matraces.

Para observar de manera uniforme el comportamiento del metal en cada una de las pruebas, se realizó la normalización de los resultados, con base al máximo valor de recuperación (Guzman Pinto, 2019)

5.4. Determinación de cadmio.

Se utilizó un equipo de absorción atómica marca Agilent Technology G8431A, bajo las siguientes condiciones instrumentales:

Corriente de lámpara: 4 mA; longitud de onda: 228.8 nm; paso de la luz: 0.5 nm

flama utilizada: aire/acetileno; flujo de aire: 10 L/min; flujo de acetileno: 2 L/min

Se aspiró el conjunto de soluciones de calibración en orden ascendente y como elemento cero, la solución de calibración blanco, después de un tiempo mayor de 10 s, se leyó la absorbancia de cada estándar al menos dos veces, si los valores quedan dentro de un intervalo aceptado se promedia. Esto siguiendo parámetros de calidad en cuanto a la verificación de la línea base y la curva de calibración. Al analizar un blanco entre las lecturas de las muestras se comprueba la estabilidad de la línea base, al analizar una solución patrón de uno de los puntos de la curva se asegura que el instrumento mantiene en forma aceptable su calibración.

Se aspiró la solución de ensayo blanco y la muestra separadamente en la llama y se midió la absorbancia del elemento. Se hicieron al menos dos lecturas de las soluciones y si los dos valores entraron en un intervalo aceptado, se promedian. Después de cada medición se aspiró el agua y se reajustó el cero. Si la concentración del elemento de la muestra supera el intervalo de calibración, se diluyen la solución de ensayo con la solución blanco (Norma Técnica Colombiana 3934, 2003).

5.5. Control de calidad analítica.

El control de calidad requerido para cada análisis demanda del desarrollo de las siguientes variables, según corresponda: blanco de reactivo (Bk - también denominado blanco del método), matriz fortificada por el laboratorio (también denominada muestra adicionada o enriquecida), duplicado de muestra (DUP - código), estándar interno (STD - X). La demostración de la capacidad continua, estándar de control de laboratorio o blanco fortificado en laboratorio, se utiliza para asegurar que las técnicas se mantendrán bajo control mientras se analizan las muestras y separa el rendimiento del laboratorio del rendimiento del método en la matriz de la muestra específica.

A los métodos se le hará robustez, con el objetivo de definir bajo qué condición específica el método de extracción presenta mejor comportamiento.

Para garantizar que la curva de calibrado del Cd no cambia con el tiempo, cada lote que supere las 12 muestras se leerá un estándar y se verificará que no esté fuera del rango establecido. Igualmente se chequeará la pendiente y el intercepto de la recta (Perelonia et al., 2021).

5.6. Tratamiento estadístico de los datos

Para el tratamiento de los datos se utilizó un Diseño experimental completamente al Azar (DCA) mediante programa R-Projet, versión 4.2.3, se utilizaron el paquete de librería agricolae. Esta estructura de diseño supone que el material o área experimental es completamente homogénea, es decir, las condiciones de todas las unidades experimentales son igualmente controladas. En este tipo de diseño los tratamientos t se asignan a las unidades UE experimentales en forma completamente aleatoria.

Análisis de varianza

El análisis de varianza (ANOVA) es una técnica estadística muy poderosa para el estudio del efecto de uno o más factores sobre la media de una variable. El ANOVA se utiliza para comparar las medias de dos o más grupos y determinar si hay una diferencia significativa entre ellas, para lo cual se comprueban en primera instancia supuestos de normalidad y homocedasticidad para luego realizar pruebas paramétricas y/o no paramétricas y así para identificar las diferencias entre tratamientos se realiza un análisis Post Hoc, con la prueba t-Student.

Para la comparación de medias se utilizó el método de diferencias mínima significativa (DMS) con análisis estadístico mediante el modelo Diseño Completamente al azar con arreglo factorial $3 \times 3 \times 3$.

Prueba de Hipótesis

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_t = \mu \text{ vs } H_1: \mu_i \neq \mu_j \text{ para algún } i \neq j$$

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1. Extracción por microondas para muestras de suelo

Las muestras de suelos se pretrataron y se enriquecieron a 0.6 mg/L Cd, luego se tamizaron a un tamiz de 2 mm, posteriormente se pesaron y se agregó 25 ml de EDTA a concentración 0.1, 0.25 y 0.3 M por último se llevaron a 50 mL (siguiendo lo indicado en el numeral 5.3.2). Estas se sometieron a agitación, de igual forma se realizó un procedimiento previo a las muestras sin agregar estándar con el fin de establecer si éstas estaban libres de Cd como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Extracción de Cd en muestras de suelos sin enriquecimiento por método asistido por microondas.

CONCENTRACIÓN EDTA	Agitación en RPM	TIEMPO AGITACIÓN	TIEMPO EN HORNO	CONCENTRACIÓN LEÍDA EN ESPECTROFOTÓMETRO (mg/L)
0,10 M	100	1.0 H	5,0 Min	0.0008
	180	1.0 H		0.0007
	250	1.0 H		0.0007
0,25 M	100	1.0 H		0.001
	180	1.0 H		0.0012
	250	1.0 H		0.0011
0,30 M	100	1.0 H		0.0014
	180	1.0 H		0.0013
	250	1.0 H		0.007

Análisis de extracción de Cd en muestras de suelos enriquecidas a 0,6 mg/L mediante extracción asistida por microondas.

Extracción de Cd con EDTA 0.1M

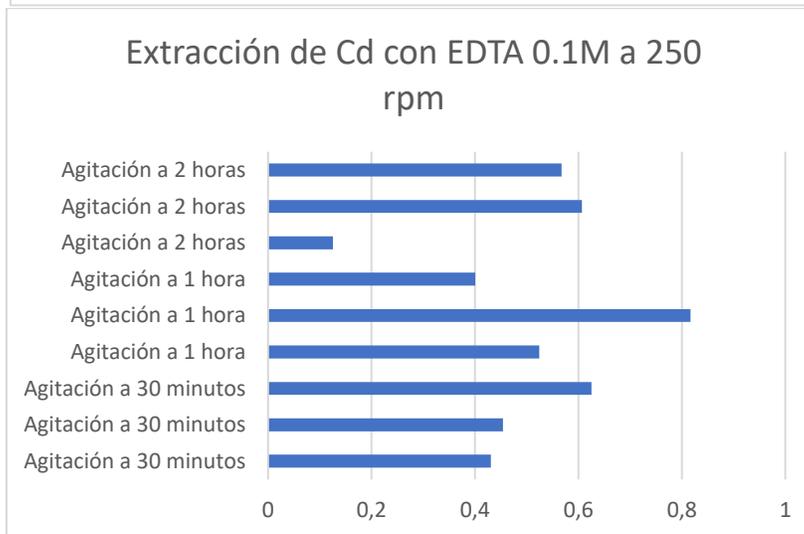
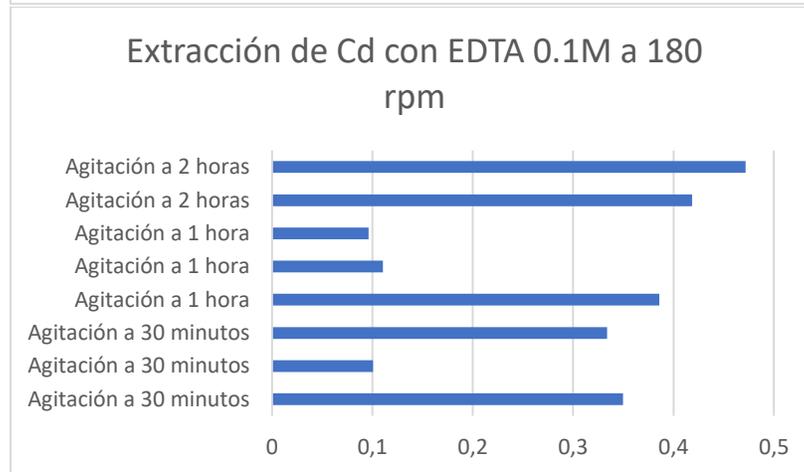
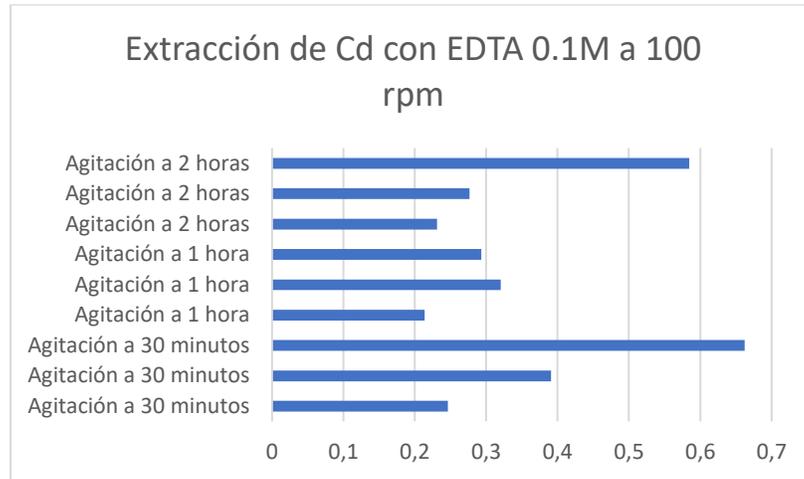
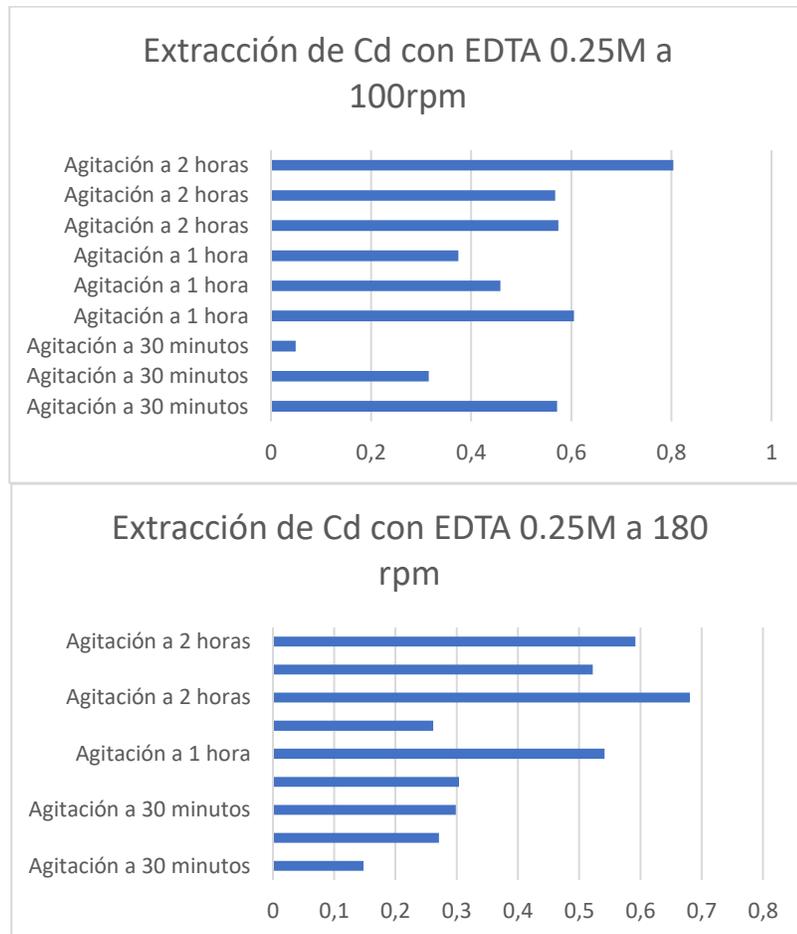


Figura 5. Extracción de Cd con EDTA 0.1 M

En la figura 5 se observa a simple vista que los valores presentan disparidad entre sí bajo las tres condiciones metodológicas ya que no se acercan al valor de referencia que en este caso es 0.6. No obstante, la figura 6 al igual que la figura 5 presenta el mismo comportamiento, sin embargo, los valores se armonizan más entre sí.

Extracción de Cd
con EDTA 0.25M



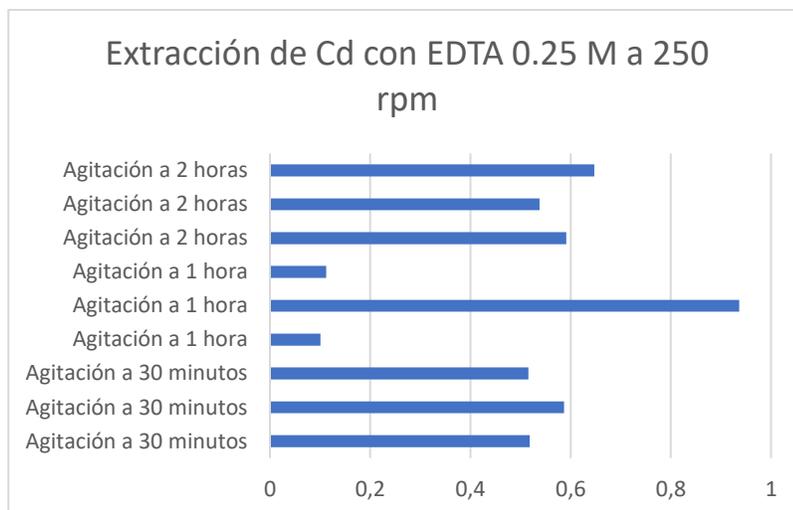
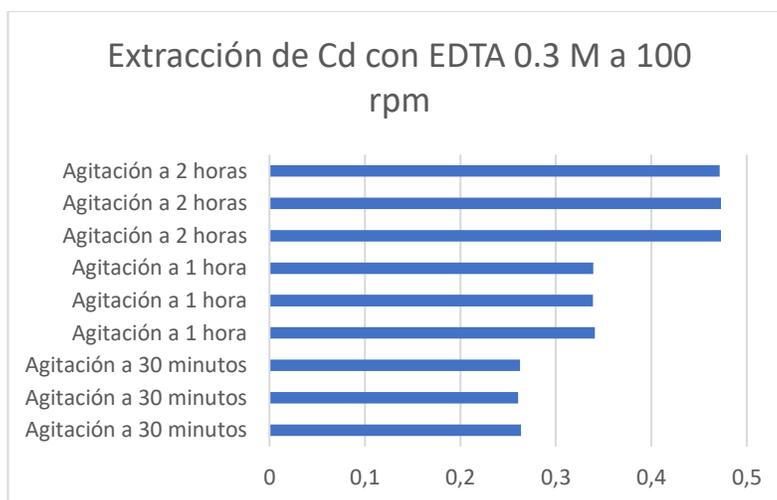


Figura 6. Extracción de Cd con EDTA 0.25 M

Así, en la figura 6 se observa que para la tercera condición experimental (mayor concentración de EDTA y mayor agitación) los valores se acercan más al valor de referencia, es así como en la figura 7 se observa que a diferencia de las figuras 5 y 6 los valores son más simétricos entre sí.

Extracción
de Cd con
EDTA
0.3M



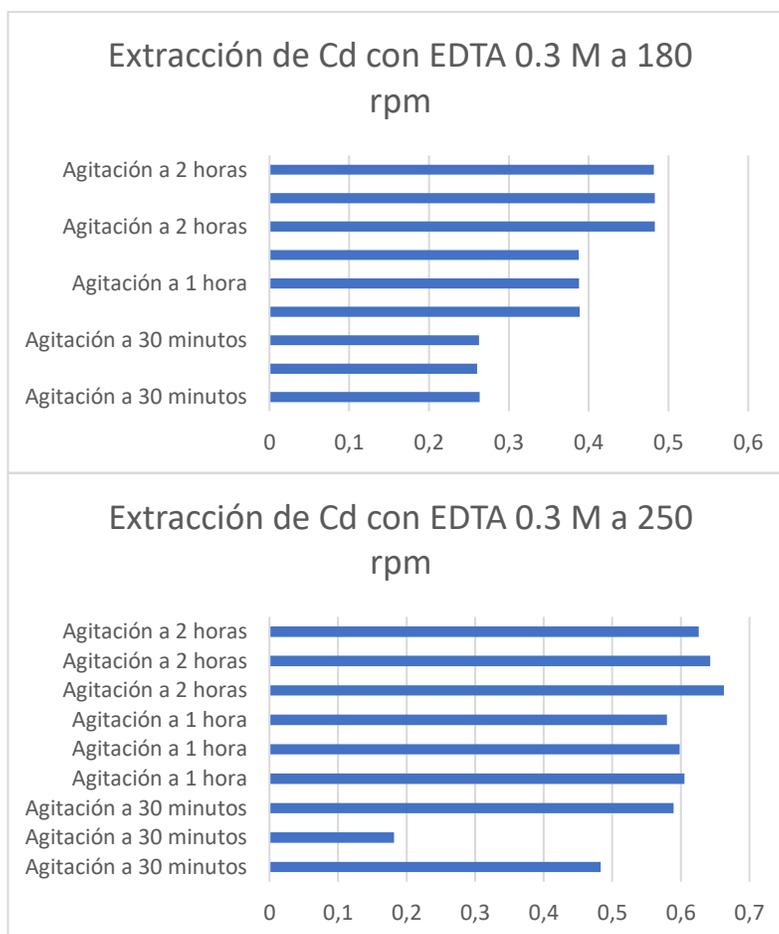


Figura 7. Extracción de Cd con EDTA 0.3 M

Así mismo, se observa que los valores se acercan mas al valor de referencia cuando la concentración de EDTA es 0.3 M y la velocidad de agitación es 250 RPM.

Es así, como teniendo en cuenta los resultados expuestos en las figuras 5 6 y 7 se procede a realizar un análisis de varianza con la finalidad de establecer la variabilidad numérica para cada tratamiento mediante un análisis estadístico utilizando el modelo Diseño Completamente al azar con arreglo factorial 3*3*3 bajo las condiciones de agitación rpm (100, 180, 250), tiempo de agitación (30 min, 1 hora, 2 horas) y concentración de EDTA (0.1, 0.25 y 0.3 M). Se realiza la siguiente tabla ANOVA.

Tabla 6. Análisis ANOVA para método microondas.

F.V	GI	SC	CM	Fc	P-valor	Decisión
Agitación Rpm	2	0.373	0.18652	7.454	0.00138	**
Tiempo	2	0.3865	0.19325	7.723	0.00112	**
EDTA	2	0.0706	0.03532	1.412	0.2526	
Agitación/Tiempo de agitación	4	0.0955	0.02388	0.954	0.44008	

Velocidad de agitación/Concentración de EDTA	4	0.0755	0.1888	0.755	0.5594	
Tiempo de agitación/Concentración de EDTA	4	0.1688	0.04221	1.687	0.16647	
Velocidad de agitación/Tiempo de agitación/Concentración de EDTA	8	0.1991	0.02488	0.994	0.45099	
Residual	54	1.3512	0.02502			

Donde:

F.V: factor de variación

Gl: grados de libertad

SC: suma de cuadrados

CM: media cuadrática

Fc: f calculado

Nivel significancia	Símbolo
0	***
0.001	**
0.01	*
0.05	.
1	

Nota: la tabla de decisión muestra el grado de significancia que tiene cada variable en el modelo, se escribe “***” para un nivel de confianza mayor al 99.99%, “**” para un nivel de confianza de 99.99%, “*” para un nivel de confianza de 99%, “.” para un nivel de confianza de 95% y no se pone nada para un nivel de confianza menor al 90%.

6.1.1. Influencia de la concentración de EDTA en la extracción del metal

El efecto de la concentración del EDTA sobre la tasa de extracción de cadmio se probó utilizando un rango de concentración de 0.1 M, 0.25 M y 0.3 M, observándose que la extracción de cadmio aumentó con el aumento de la concentración de EDTA como se observa en las figuras 5, 6 y 7 donde se evidencia que a medida que aumenta la concentración del extractante los valores son más uniformes entre sí, de igual forma, se observa que los porcentajes de recuperación mejoran y se hacen más estables cuando el EDTA está a 0.3 M.

Sin embargo, teniendo en cuenta el análisis ANOVA se observa que no hay diferencia significativa entre la concentración del EDTA y la extracción del Cd (tabla 6), lo que quiere decir que no hay diferencia entre las medias de los datos, comportándose de manera similar en las tres concentraciones.

Caso similar se observó en la investigación realizada por Benredjem y colaboradores, citado por (Kouzbour et al., 2019) donde evidenciaron el efecto de la concentración de EDTA sobre la tasa de extracción de cadmio, para lo cual utilizaron un rango de concentración de 0,01 a 0,25 M, notándose que la extracción de cadmio aumentó con el aumento de la concentración de EDTA.

Así mismo, una investigación realizada por Isern y colaboradores en donde se analizó al EDTA como extractante de distintos metales (incluyendo el Cd) se observó que éste extrajo el cadmio en un 78%, llegando incluso al 86% (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011). De igual forma Dariush Naghipour y colaboradores realizaron una investigación donde se establecía la capacidad y eficiencia de extracción del EDTA a concentraciones de 0.1, 0.01 y 0.005 M evidenciándose que la eficiencia de extracción de Pb, Cd y Zn con EDTA 0.01 M fue respectivamente 79.7%, 73.78% y 66.3%; mientras que las cantidades correspondientes para estos contaminantes utilizando EDTA 0.005 M fueron 70.2%, 47.98% y 61.11%, respectivamente, notándose que la eficiencia de extracción de metales del suelo contaminado aumenta cuando aumenta la concentración de EDTA (Naghipour et al., 2016).

6.1.2. Influencia del tiempo de extracción

Como se observa en el numeral 6.1, tabla 6, la variable tiempo presenta significancia con respecto a la variable respuesta que en este caso es la concentración del metal extraído, indicando que al menos una de las medias de los tratamientos difiere de las otras. Es así, desde el punto de vista estadístico se realizó una comparación de medias para el tiempo de agitación (Tabla 7), para determinar el coeficiente de variación de esta variable.

Tabla 7. Comparación de medias para tiempo de agitación

Tiempo	Media	Sd	N	Grupo	CV%
Agitación a 30 m	0.401	0.205	27	A	51.12%
Agitación a 1 h	0.522	0.142	27	B	27.20%
Agitación a 2 h	0.359	0.166	27	A	46.24%

Teniendo en cuenta la tabla anterior se observa que el mejor tiempo de agitación es a una hora, porque su variación es la más baja, teniendo en cuenta la media mayor con pocas variaciones, sin embargo, la mayor tasa extractiva en los tratamientos se reflejó en 2 horas de agitación.

Lo anterior tiene relación con la investigación realizada por Benredjem e investigadores, citado por (Kouzbour et al., 2019) donde se estableció que la mayor tasa de extracción (96%) fue a las dos horas, después de este tiempo, la extracción fue constante, por lo que para ese trabajo se estableció el tiempo de 2 horas para la extracción.

Un caso similar se observa en una investigación realizada por Kim y colaboradores donde se utilizó el EDTA con distintos agentes reductores para la determinación de As y otros metales, determinando así el efecto del tiempo de extracción entre el EDTA y muestras de suelos, donde éste extrajo aproximadamente el 20 % del As

del suelo en 1 h y continuó extrayendo As durante las siguientes 9 h. El EDTA combinado con 0.01 M de ditionita extrajo aproximadamente el 40 % del As del suelo en 5 min y alcanzó aproximadamente el 60 % de extracción en 2 h. Casi el 100 % del As se extrajo del suelo, el EDTA combinado con 0.1 M de ditionita extrajo aproximadamente el 20 % del As en otra muestra de suelo en 5 min y extrajo gradualmente casi el 90 % del As en 6 h (Kim et al., 2016).

6.1.3. Influencia de la velocidad de agitación en la extracción del metal

Teniendo en cuenta lo indicado en el numeral 6.1, tabla 6. Para este caso se observa que la variable agitación en rpm es significativa, indicando que al menos una de las medias de los tratamientos difiere de las otras, así que se procede a realizar comparaciones de medias (tabla 8).

Tabla 8. Comparación de medias para velocidad de agitación.

Velocidad de agitación	Media	Sd	N	Grupo	CV%
100 RPM	0.399	0.168	27	A	42.11%
180 RPM	0.362	0.152	27	A	41.99%
250 RPM	0.521	0.198	27	B	38.00%

Teniendo en cuenta la tabla anterior se evidencia que entre las condiciones de agitación al 100 rpm y 180 rpm no hay diferencias significativas, sin embargo, estas difieren con la condición de agitación al 250 rpm. Siendo así, se considera la mejor condición de agitación es al 250 rpm, porque su variación es la más baja.

Teniendo en cuenta lo anterior, el método asistido por microondas para la extracción de cadmio en muestras de suelos arroja mejores resultados en agitación por una hora a 250 rpm ya que a estas condiciones se presentaron menores coeficientes de variación y buenos porcentajes de recuperación. A su vez, la concentración apropiada de EDTA sería a 0.1 M ya que si bien desde el punto estadístico no hay diferencias significativas entre las tres concentraciones y desde el análisis el procedimiento con EDTA 0.3 M arrojaba valores más uniformes, lo cierto es que la solución de EDTA a 0.3 M requiere mayor consumo de reactivo, a su vez, el análisis debe hacerse en el menor tiempo posible debido a que el EDTA se empieza a decantar, lo contrario sucede con la solución de EDTA a 0.1M, debido a que a esta concentración se requiere menor consumo de reactivo y la solución permanece mayor tiempo sin que el EDTA se decante.

6.1.4. Interacción del microondas con la muestra estudio

Las energías de microondas interactúan con la materia mediante un fenómeno llamado polarización, que no es más que la separación de cargas dentro de una molécula, es decir las cargas positivas se agrupan más de un lado que de otro. A su vez, solo pueden interactuar con las microondas aquellas sustancias que contengan propiedades dieléctricas, es decir, que no conduzcan corriente eléctrica. Ahora bien en este estudio la matriz que se analiza es el suelo, el cual está constituido por agua y diversos compuestos con cargas, por tanto éste al estar expuesto a la radiación de microondas se producirá una polarización dentro del mismo, dicha polarización interfiere con los compuestos metálicos puesto que éstos poseen carga, sin embargo, los compuestos metálicos no son compuestos dieléctricos ya que éstos tienen la facultad de conducir la corriente eléctrica, es así, que la interacción energética entre el metal y la energía se da por inducción. Así, el metal sufre una redistribución de carga debido a la variación del campo eléctrico, lo cual conlleva a que éste por inducción de carga quede cargado positivamente, lo cual facilita la reacción entre el metal y el agente complejante, el cual al ser hexadentado permite una estabilidad del quelato formado para así poder ser extraído y posteriormente analizado (Vettorel et al., 2019)

6.2. Extracción en muestras de suelos por agua regia

Para esta extracción se realizó el ensayo conforme al procedimiento descrito en el presente documento, de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana (NTC) 3888, versión vigente, para lo cual se variaron las condiciones de la muestra en cuanto a concentración y tiempo de reposo entre la muestra y el agua regia, como se observa en la tabla 11.

Se realizaron extracciones a muestras de suelos sin enriquecimiento de Cd las cuales no dieron respuesta en el equipo, concluyendo que estaban libres del metal.

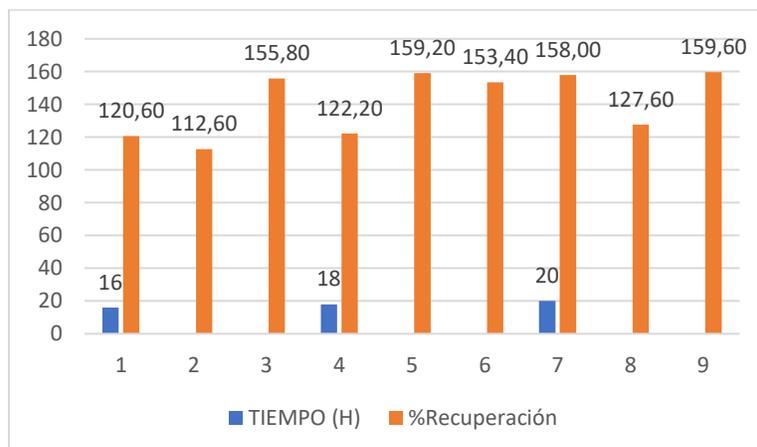


Figura 8. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 5 mg/L de Cd

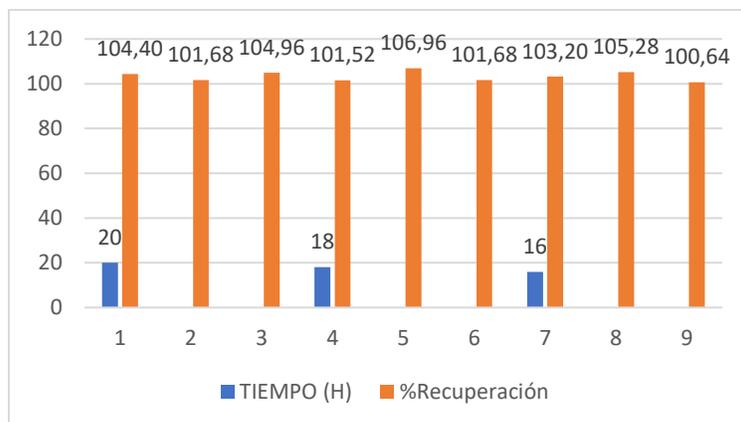


Figura 9. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 2.5 mg/L de Cd

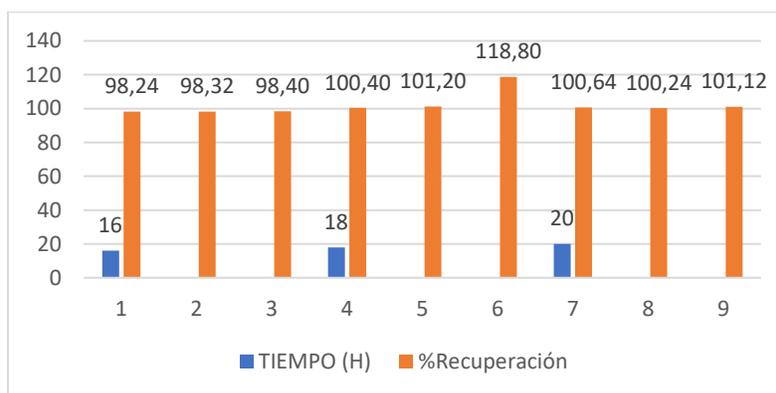


Figura 10. Extracción de Cd con agua regia para muestras enriquecidas a 1.25 mg/L de Cd

Teniendo en cuenta las figuras 8, 9 y 10 se observa que para los tres tratamientos el método obtuvo porcentajes de recuperación mayor al 98%. Así, realizando un análisis de varianza (tabla 9) donde se observa la relación tiempo/extracción de Cd, lográndose identificar que no existe diferencia significativa entre la extracción del metal a 16, 18 y 20 horas.

Tabla 9. Análisis de varianza para extracción de Cd por agua regia

F.V	gl	SC	CM	Fc	P-valor	Decisión
Tiempo	2	0.58	0.29	0,831	0.452	
concentración: tiempo	4	0.93	0.23	0,661	0.627	
Residual	18	6.3	0.35			

Donde:

F.V: factor de variación

Gl: grados de libertad

SC: suma de cuadrados

CM: media cuadrática

Fc: f calculado

Nivel significancia	Símbolo
0	***
0.001	**
0.01	*
0.05	.
1	

En tabla anterior se observa que no hay variaciones significativas del tiempo respecto a la respuesta del método que en este caso es la concentración de Cd extraída.

Es así, como por optimizar el método se considera el tiempo a 16 horas de reposo como el tiempo óptimo definido por la NTC 3888 en donde se indica este tiempo para la extracción, así mismo, la norma europea UNE 77303 en donde también se establece el tiempo de 16 horas para la extracción de metales en muestras de suelos.

Un estudio similar realizó Kou y colaboradores, donde se extrajo metales pesados con ácido cítrico, notándose que los porcentajes de extracción de todos los metales pesados probados aumentaron lentamente y finalmente alcanzaron el equilibrio en 24 h (Kou et al., 2020)

Como se expresa en el procedimiento y en el marco conceptual, el método de agua regia es el actualmente utilizado para la extracción de metales por la mayoría de los laboratorios de ensayo debido a que se encuentra estandarizado por la Norma Técnica Colombiana, así, la digestión húmeda se considera superior en términos de rapidez (aunque sí requiere más atención del operador), bajo nivel de temperatura y menores pérdidas por retención (Meneses Escobar, 2019b).

6.2.1. Interacción del agua regia con la muestra estudio

El agua regia reacciona con el Cd bajo las siguientes reacciones

- Oxidación del HCl por el HNO₃

Reducción hasta ácido nitroso



Oxidación del HCl hasta ión cloruro



Formación de cloruro de nitrosilo



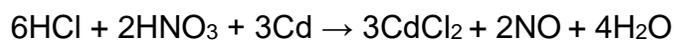
De modo que



En calor el NOCl se descompone



Ecuación de reacción para el agua regia con Cd



6.3. Extracción de cadmio en muestras de suelos por ultrasonido

La extracción de cadmio en muestras de suelos asistida por ultrasonido se realizó teniendo en cuenta el procedimiento descrito en el ítem 5.3.3 de este documento. Obteniendo los siguientes resultados:

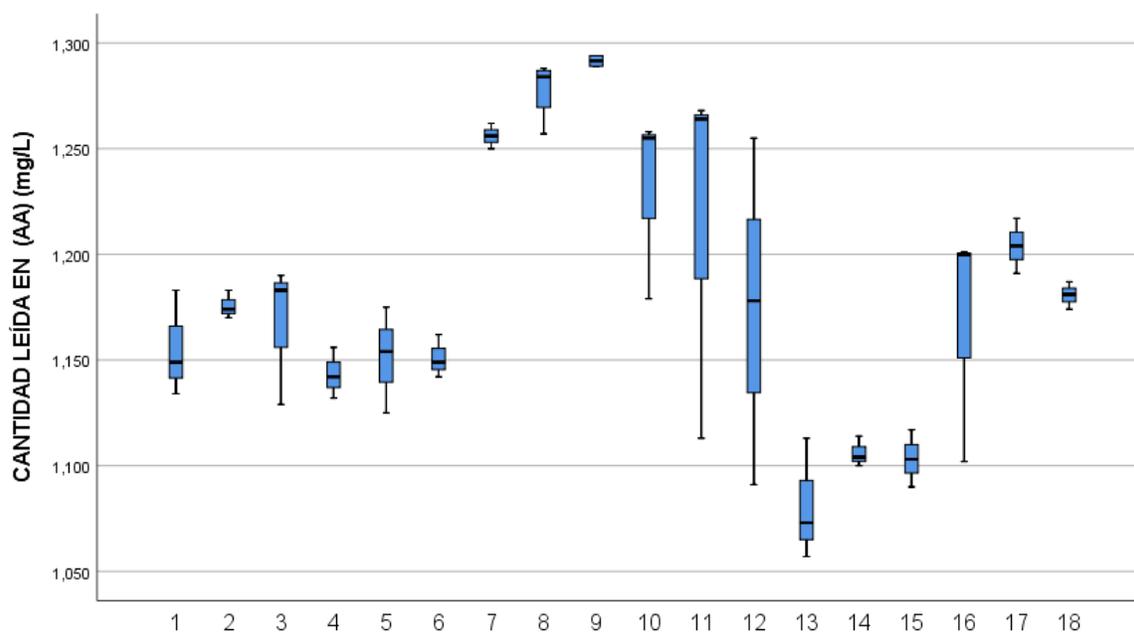


Figura 11. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 1.2 mg/L de Cd

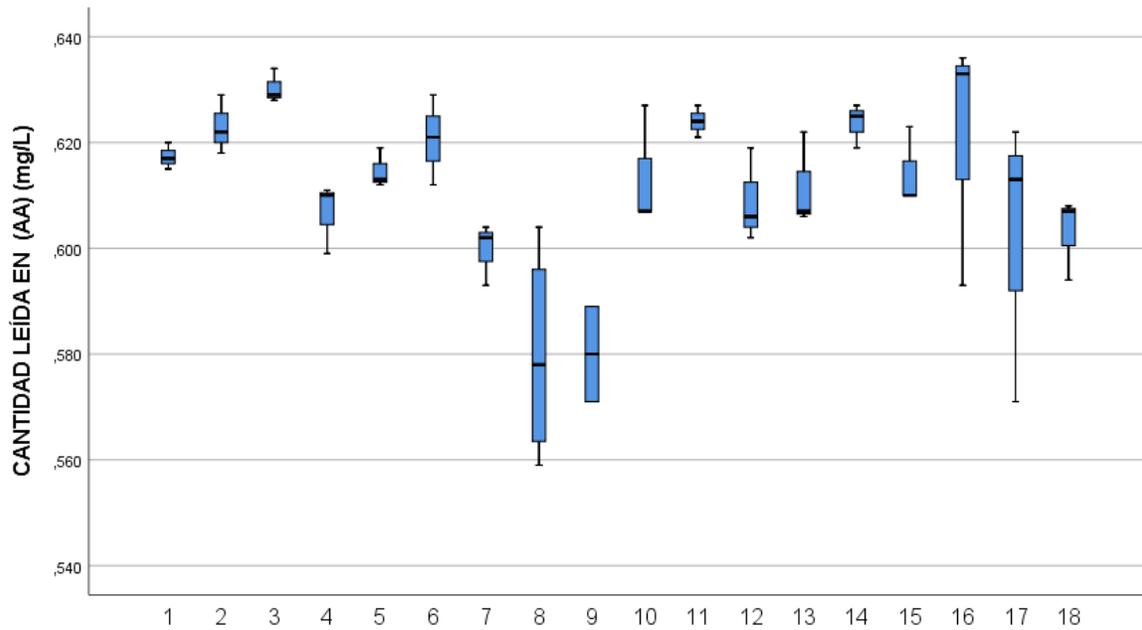


Figura 12. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,6 mg/L de Cd

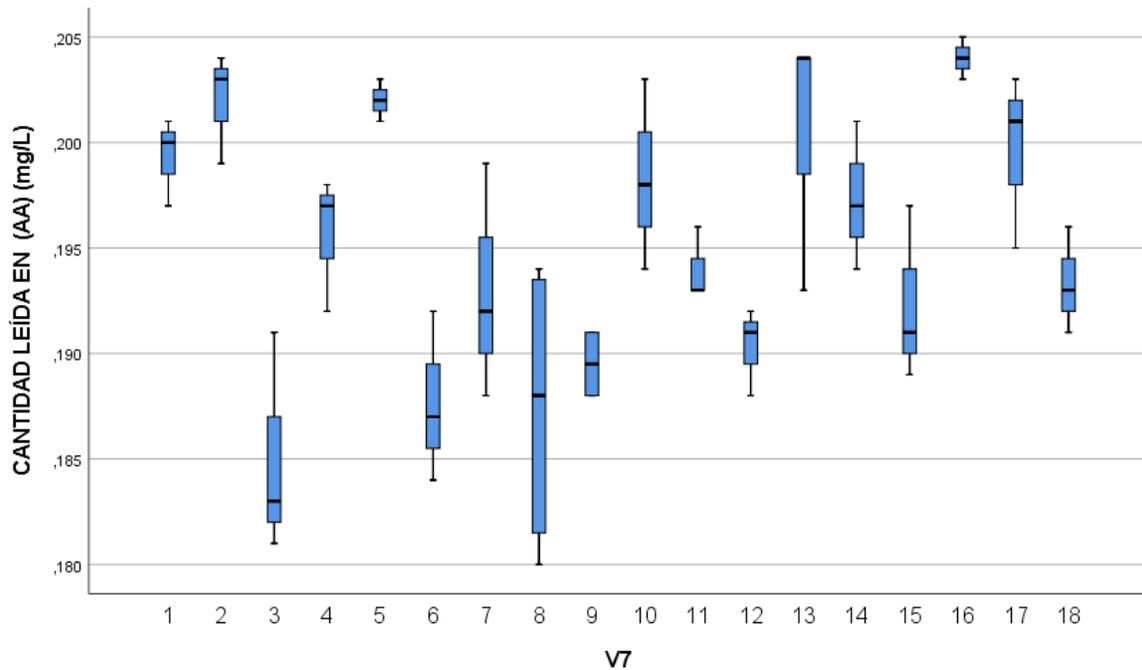


Figura 13. Extracción con ultrasonido para muestras enriquecidas a 0,2 mg/L de Cd

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las figuras 11, 12 y 13 se evidencia que los valores obtenidos por cada tratamiento se sitúan en el intervalo correspondiente a cada concentración, es decir, las muestras enriquecidas a 1,2 mg/L de Cd (figura 11) los resultados se sitúan en un intervalo de 1 a 1.3 mg/L Cd, así mismo para las muestras enriquecidas a 0,6 mg/L de Cd (figura 12) donde se evidencia que los valores se sitúan en el intervalo de 0.560 a 0.640 mg/L Cd. Igual forma para las muestras enriquecidas a 0,2 mg/L Cd (figura 13) donde los valores arrojaron concentraciones entre 0.180 a 2.05 mg/L Cd.

6.3.1. Influencia del ácido y volumen de ácido en la concentración del metal

Cómo se expresó en el procedimiento, se realizaron análisis para establecer el extractante que arroje mejores resultados, es así, que tanto el HNO₃ como el HCl presentan buenos resultados, ya que según el análisis de varianza ANOVA (tabla 10) se observa que el tipo de ácido no tiene significancia, al igual que el volumen de ácido utilizado para realizar las extracciones.

Tabla 10. Análisis de varianza para extracción de Cd por ultrasonido

F.V	GI	SC	CM	Fc	P-valor	Decisión
Acido	1	0.000	0.000	0.553	0.459	
cantidad ácido	2	0.001	0.001	1.085	0.342	
Tiempo	2	0.042	0.021	42.379	2.60E-14	***
Concentración Cd extraído:/ácido	2	0.000	0.000	0.292	0.747	
Concentración/cantidad de ácido	4	0.001	0.000	0.665	0.617	
Ácido/cantidad de ácido	2	0.001	0.001	1.128	0.327	
Concentración/tiempo	4	0.067	0.017	33.489	< 2.00E-16	***
Acido/tiempo	2	0.022	0.011	22.271	7.98E-09	***
Cantidad ácido/tiempo	4	0.001	0.000	0.448	0.774	
Concentración/ácido:/cantidad de ácido	4	0.002	0.001	1.053	0.384	
Concentración/acido/tiempo	4	0.036	0.009	18.112	2.08E-11	***
Concentración/cantidad de ácido/tiempo	8	0.003	0.000	0.738	0.658	
Acido/cantidad de ácido/tiempo	4	0.001	0.000	0.650	0.628	
Concentración/ácido/cantidad de ácido/tiempo	8	0.003	0.000	0.833	0.575	
Residual	108	0.054	0.000			

Donde:

F.V: factor de variación

Gl: grados de libertad

SC: suma de cuadrados

CM: media cuadrática

Fc: f calculado

Nivel significancia	Símbolo
0	***
0.001	**
0.01	*
0.05	.
1	

De manera similar, Chaparro y colaboradores estudiaron la extracción de Cd y Pb en donde se encontró que para el Cd y Pb las diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes volúmenes de ácidos evaluados; sin embargo, al utilizar 1,0mL se favorecía la recuperación del Pb y al utilizar 5,0mL la del Cd, de igual forma, en este mismo estudio se evidenció que no habían diferencias significativas entre el tipo de ácido, debido a que se utilizó HCl 37%, HNO₃ 65% y agua regia, obteniéndose estadísticamente poca diferencia significativa entre ácidos, sin embargo el agua regia originó mayor respuesta (Acharte Lume, 2020).

6.3.2. Influencia tiempo en el ultrasonido con la concentración del metal

Teniendo en cuenta los análisis de varianzas (tabla 10), se observa que hay significancia entre el factor tiempo y respuesta del método, es decir, si existe una influencia entre el tiempo de análisis y la capacidad extractiva del método, esto es, debido a que la hipótesis nula es rechazada para el tiempo de ultrasonido, indicando que al menos una de las medias de los tratamientos difiere de las otras, por lo que se realiza un análisis de medias (Tabla 11), observándose que a pesar de la cercanía de las medias y que estadísticamente el análisis de medias muestra poca significancia entre los tiempo, se evidencia que el tiempo con menor coeficiente de variación corresponde a los 15 minutos.

Tabla 11. Comparación de medias para el tiempo en la extracción de Cd asistida por ultrasonido.

tiempo (min)	Media	Sd	N	Grupo	CV%
15	0,653	0,39	54	B	59.72%
30	0,684	0,434	54	A	63.45%
60	0,648	0,401	54	A	61.88%

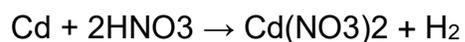
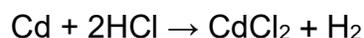
Así, con el propósito de establecer condiciones óptimas en la técnica se establece que el tiempo con mejor respuesta es a 15 minutos, lo cual tiene relación con Escobar (2019), donde realizaron extracción de Cr por ultrasonido llegando a la conclusión que los intervalos de tiempo de sonicación con los que se trabajó no

tienen influencia sobre el porcentaje de cromo extraído debido a que desde los primeros 10 minutos se obtuvo un alto porcentaje de extracción de cromo, existiendo ligeras variaciones para los 4 tiempos restantes. Aplicando el análisis estadístico se determina que el tiempo al que se extrae la máxima cantidad de cromo de las virutas es de 10 minutos, verificando que a menor tiempo de sonicación se obtiene una mejor extracción. Para el caso de Caparro (2016), citado por (Acharte Lume, 2020), el tiempo óptimo para la extracción de los metales estudiados fue de 60min, pues a partir de ese tiempo, disminuye la recuperación de estos. De acuerdo con algunos autores, la optimización del tiempo de sonicación es muy importante, ya que un tiempo más prolongado, podría dar lugar a la reducción de los elementos o formación de radicales libres, que a su vez son muy reactivos y formarían parte de una serie de reacciones que involucran a los metales pesados, interfiriendo en el análisis (Acharte Lume, 2020).

Una investigación similar realizada por Kou y colaboradores donde utilizaron ácido cítrico y ultrasonido para analizar distintos metales, observaron que cuando se utilizó ultrasonido para ayudar al ácido cítrico a extraer metales pesados, las tasas de extracción mejoraron significativamente y la extracción se pudo lograr en 20 mín. Las eficiencias de remoción de Zn, Ni, Cr y Cu alcanzaron 53.5%, 40.2%, 35.4% y 13.1%, respectivamente, a una concentración de ácido cítrico de 0.2 M asistida por ultrasonido durante 20 min (Kou et al., 2020)

6.3.3. interacción del ultrasonido con la muestra de estudio

Las ondas de ultrasonido provocan la formación de burbujas dentro del baño las cuales crecen y decrecen mediante un fenómeno llamado compresión y rarefacción hasta llegar a una implosión, dicha implosión provoca una cavitación que no es mas que el rompimiento molecular de la muestra. Una vez, ocurre la cavitación, el solvente entra con gran velocidad en forma de microchorros, los cuales provocan rupturas en el compuesto y por tanto el desprendimiento del elemento en estudio, el cual reacciona con el extractante formando los siguientes compuestos:



(Rojas et al., 2019)

6.4. Comparación estadística y metodológica de los métodos de digestión con microondas, digestión asistida con ultrasonido y agua regia para la determinación de Cd en muestras de suelos.

Para comprobar el supuesto de normalidad del modelo, se realizó prueba de Lilliefors (p value $< 2.2 \times 10^{-16}$) lo que indica que se rechaza la hipótesis nula de normalidad, lo que conduce a que la distribución de los residuales no es normal. Para probar el supuesto de homocedasticidad mediante la prueba de Levene (p value < 0.0001727) rechazando la hipótesis nula, indicando que no hay homogeneidad de varianzas; al no cumplir con estos supuestos se procede a realizar el análisis por método no paramétrico Kruskal Wallis, dando diferencias significativas entre tratamientos (p value $< 4.248824 \times 10^{-13}$)

Por tanto, se observa a partir de la figura 8 que los métodos que no tuvieron diferencias significativas fueron el método de extracción por agua regia y el método de extracción asistido por ultrasonido. Siendo, el método de extracción asistido por ultrasonido el que mejor comportamiento presenta en comparación con el método de extracción por agua regia

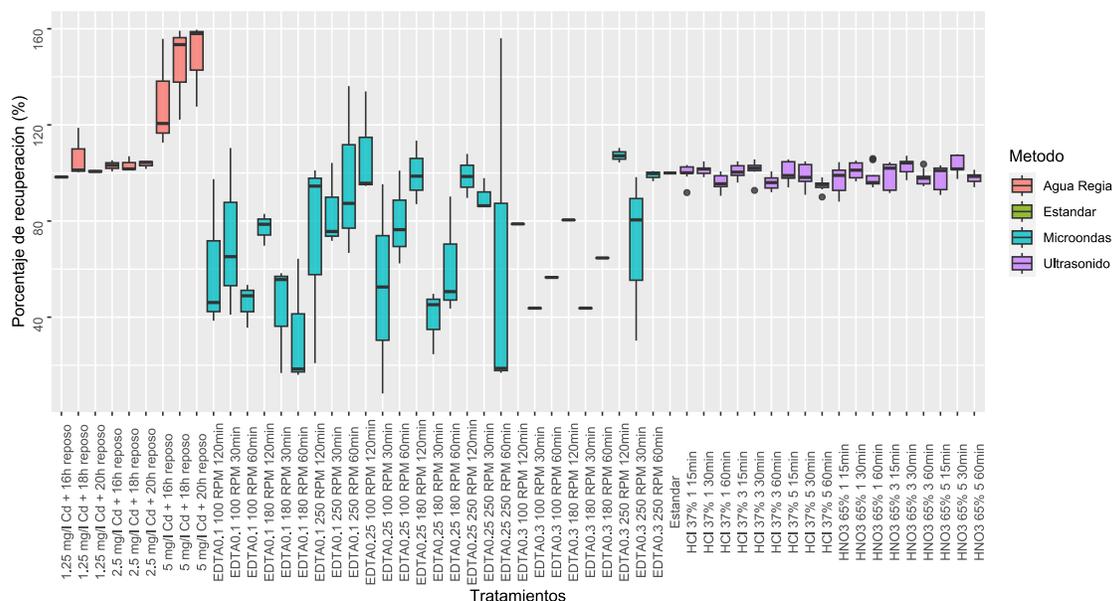


Figura 14. Gráfico de cajas y vigores (boxplot) de las diferentes combinaciones de tratamientos utilizados para la extracción de Cd

Como se observa, el método de extracción asistido por ultrasonido presenta menor variabilidad entre los datos, caso contrario muestra el método asistido por

microondas donde se evidencia mayor atipicidad de datos con mayores coeficientes de variación.

Así, desde el punto de vista estadístico el método con mejor respuesta extractiva de acuerdo con su porcentaje de recuperación, variabilidad y atipicidad de datos es el método de extracción asistido por ultrasonido. De igual forma, a nivel analítico el método de extracción asistido por ultrasonido presentó un mejor comportamiento en comparación con el método de extracción asistido por microondas y el método de extracción por agua regia debido a:

1. El método de extracción con agua regia requiere de un largo tratamiento mientras que el método de extracción asistido por ultrasonido optimiza el tiempo de análisis de manera significativa.
2. A pesar de que el método por microondas destaca por extraer el metal en un tiempo relativamente corto, éste sufre de grandes variaciones en sus datos, lo cual puede ser atribuido a la potencia del horno o el tiempo en el mismo. Lo contrario con el método de extracción asistido por ultrasonido, donde las variaciones son mucho menores y el tiempo con menor variabilidad es a 15 minutos, mientras que para el caso del método de extracción asistido por microondas es a una hora.
3. Los volúmenes de ácidos utilizados en el tratamiento por agua regia son mucho mayores que los utilizados en el tratamiento asistido por ultrasonido.

Así mismo, se observa para el caso de la extracción de Cd asistida por ultrasonido el tipo de ácido no tiene significancia, al igual que el volumen de ácido utilizado para realizar las extracciones. Sin embargo, para el caso del tiempo, se evidenció que a pesar de la cercanía de las medias y que estadísticamente el análisis de medias muestra poca significancia entre los tiempos, se muestra que el tiempo con menor coeficiente de variación corresponde a los 15 minutos. Así, con el propósito de establecer condiciones óptimas en la técnica se establece que el tiempo con mejor respuesta es a 15 minutos.

Se concluye, además, que a pesar de la utilización de agua regia y/o ácidos para la extracción de Cd en muestras de suelos, esta investigación demostró que los agentes complejantes como el EDTA son igualmente eficaces para la extracción del metal, esto debido a que la mayoría de los iones metálicos reaccionan con donadores de electrones, que en este caso son los grupos hidroxilos del EDTA formando compuestos de coordinación o complejos.

De igual forma, se puede establecer que métodos asistidos por microondas y ultrasonidos brindan respuestas positivas en la extracción de Cd a menor tiempo, lo cual da origen a nuevos estudios para la normalización y/o estandarización de métodos extractivos con nuevas tecnologías que permiten optimizar tiempo y recursos, dando resultados confiables con aseguramiento analítico. Caso similar

presentó Naicker y colaboradores donde se comparó la extracción de metales pesados por digestión ácida asistida con microondas y ultrasonido, arrojando recuperaciones para las muestras asistidas por microondas entre 80 y el 98 %, mientras que las recuperaciones asistidas por ultrasonidos fueron del 79 al 103 % para las muestras de suelo y sedimento, respectivamente. Las concentraciones de metales obtenidas oscilaron entre 0,10 y 355,4 mg/kg y entre 1,50 y 308,3 mg/kg en suelo y sedimentos, respectivamente. La mayoría de los elementos estudiados estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles en el suelo a excepción del zinc. Ambos métodos de digestión revelaron una precisión similar, lo que indica que ambos pueden usarse para una determinación precisa de los metales objetivo (Naicker et al., 2023)

Igualmente, se observa que los métodos de extracción por agua regia y ultrasonido producen mayor porcentaje de recuperación que el método por de extracción asistido por microondas, lo cual puede ser atribuido a pérdidas del analito durante el análisis, puesto que en el procedimiento por microondas hay evaporación de muestra, lo cual puede ser un factor que ocasione alta variabilidad de resultados con bajos porcentajes de recuperación, lo cual tiene relación con Benredjem y colaboradores donde al extraer Cd mediante el microondas observaron que el efecto de la potencia del microondas infería en la tasa de extracción de cadmio, debido, a que cuando se aumentaba la potencia de microondas se conducía a una mayor tasa de extracción del metal, esto puede ser atribuido al hecho del campo de microondas, puesto que la migración de especies iónicas y/o la rotación de especies dipolares promueven el proceso de reacción líquido-sólido debido al aumento del área de contacto de los reactivos y la constante de velocidad de la reacción de extracción. La eficiencia de cadmio alcanza el 40,1% cuando la potencia de microondas se establece en 400 W. Según los resultados, cuando la potencia de microondas aumenta progresivamente, se producen algunos fenómenos desfavorables, como la pulverización de suspensión. Por lo tanto, la potencia óptima de microondas debe establecerse en 400 W, según el estudio (Benredjem et al., 2016b), siendo así, el microondas utilizado en esta investigación una mayor potencia de entrada lo cual pudo haber influenciado en los porcentajes de recuperación.

7. CONCLUSIONES

En este trabajo investigativo se concluye que:

El método de digestión asistido por microondas presentó significancia para las variables tiempo de agitación (P – valor 0.00112) y velocidad de agitación (P – valor 0.00138) por lo que realizando un análisis de medias se establece que las condiciones con menor coeficiente de variación son agitación a 250 RPM a 1 hora. De igual forma para el método de microondas se establece mediante análisis de varianza que la concentración de EDTA no es significativa (P-valor 0.2526) por lo cual el análisis tiene un comportamiento similar bajo las tres concentraciones de EDTA.

El método de digestión utilizando agua regia no presentó significancia entre la variable tiempo de reposo en relación con la extracción de cadmio (P – valor 0.627) por lo cual el análisis tiene un comportamiento similar trabajando a cualquier tiempo de reposo (16, 18 y 20 horas), sin embargo, se establece el tiempo de 16 horas como tiempo óptimo de reposo de acuerdo con la NTC 3888:1996.

El método de extracción utilizando ultrasonido presentó significancia en la variable tiempo (P-valor 2.60E-14), así realizando un análisis de medias se establece que el tiempo de 15 minutos presentó menor coeficiente de variación. De igual forma se estableció que las variables ácido y volumen de ácido no presentaron significancia (P-valor 0.459 y P-valor 0.342 respectivamente).

Se observó que las tres metodologías originaban buen comportamiento de respuesta con porcentajes de recuperación para el Cd en promedio de 100% para el caso de la extracción con agua regia, 98% para el caso de la extracción asistida con ultrasonido y 72% para el caso de la extracción asistida con microondas, sin embargo, estadísticamente se observó que el método de digestión asistido con ultrasonido fue el que presentó menor coeficiente de variación, por lo que se establece que de los tres métodos estudiados, el método de extracción asistido con ultrasonido es el más óptimo.

8. BIBLIOGRAFIA

- Acharte Lume, L. M. (2020). Presencia de cadmio y plomo en agua, suelo y su acumulación en pastos naturales de las bocaminas san antonio y tangana de la comunidad de Huachocolpa Huancavelica-2018.
- Almeida Zambrano, J. A., & Macías Moreira, D. A. (2020). Metodología NIR en la determinación rápida de ácidos grasos en aceites crudos. Área de control de calidad La Fabril SA.
- Araujo-Abad, S., Tapia, W., & Villamarín-Ortiz, A. (2020). Verificación del método analítico de espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en almendra de cacao (*Theobroma cacao*).
- Behbahani, E. S., Dashtian, K., & Ghaedi, M. (2021). Fe₃O₄-FeMoS₄: Promise magnetite LDH-based adsorbent for simultaneous removal of Pb (II), Cd (II), and Cu (II) heavy metal ions. *Journal of hazardous materials*, 410, 124560.
- Benredjem, Z., Delimi, R., & Khelalfa, A. (2016). Cadmium extraction from phosphate ore. Effect of microwave. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S446-S450. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.016>
- César, E., & Zamora, D. (2019). Uso de enmiendas en la reducción del contenido de cadmio en el suelo y en los granos del cacao (*Theobroma cacao* L.) clon ccn-51.
- Chavarrea Macas, B. M., & Aguaisa Tamay, J. M. (2021). Evaluación de la capacidad fitorremediadora de dos especies vegetales *Raphanus sativus* y *Brassica rapa* en suelos contaminados con cadmio en laboratorio.

- Cuyubamba Meza, J. D. (2021). Evaluación de la influencia del cadmio y plomo disponible en el suelo sobre la densidad del bioindicador (*eisenia foetida*) en los cultivos de cacao (*teobroma cacao*), Huamalíes, Huánuco–2020.
- Dendievel, A.-M., Grosbois, C., Ayrault, S., Evrard, O., Coynel, A., Debret, M., Gardes, T., Euzen, C., Schmitt, L., & Chabaux, F. (2022). Key factors influencing metal concentrations in sediments along Western European Rivers: A long-term monitoring study (1945–2020). *Science of the Total Environment*, 805, 149778.
- ELICEO, E. O. J. (2022). EVALUACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN EL SUELO DE CULTIVOS DE CAÑA DE AZÚCAR DEL INGENIO COAZÚCAR, LA TRONCAL-ECUADOR.
- García-Sánchez, B. E., Vara-Castro, G. M., Kretzschmar, T., & Sánchez-Avila, J. I. (2022). Organic compounds in surface and groundwaters in the surrounding of a Mexican geothermal reservoir; case study Los Humeros, Puebla. *Applied Geochemistry*, 147, 105442.
- Guzman Pinto, I. A. (2019). Métodos analíticos aplicados en la espectroscopía de absorción atómica.
- Harvey, D. T. (2009). *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, (by LHJ Lajunen and P. Perämäki).
- Hernández, M. V. F., Gamboa, O. A. S., & De Astudillo, L. L. R. (2019). Evaluación del riesgo ambiental de metales pesados en los sedimentos superficiales del saco del Golfo de Cariaco. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(1), 101-114.

- Isern Roselló, R., & Martínez Planas, M. del M. (2011). Estudio experimental de la movilidad de metales pesados en sedimentos de la cuenca del Jequetepeque, Perú.
- Karimova, U. A. (2020). EFFECT OF ULTRASOUND ON CATALYTIC ACTIVITY OF CHROMIUM SALT OF PETROLEUM ACIDS IN THE PROCESS OF AEROBIC OXIDATION OF N-UNDECANE. *Journal Processes of Petrochemistry and Oil Refining*, 21(3), 372-377.
- Khan, W. A., Arain, M. B., & Soylak, M. (2020). Nanomaterials-based solid phase extraction and solid phase microextraction for heavy metals food toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111704.
- Kim, E. J., Jeon, E.-K., & Baek, K. (2016). Role of reducing agent in extraction of arsenic and heavy metals from soils by use of EDTA. *Chemosphere*, 152, 274-283. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.005>
- Kou, Y., Zhao, Q., Cheng, Y., Wu, Y., Dou, W., & Ren, X. (2020). Removal of heavy metals in sludge via joint EDTA-acid treatment: Effects on seed germination. *Science of the Total Environment*, 707, 135866.
- Kouzbour, S., Gourich, B., Gros, F., Vial, C., Allam, F., & Stiriba, Y. (2019). Comparative analysis of industrial processes for cadmium removal from phosphoric acid: A review. *Hydrometallurgy*, 188, 222-247. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2019.06.014>
- Liu, Y., Chu, Y., Hu, Z., Zhang, S., Ma, S., Khan, M. S., Chen, F., Zhang, D., Guo, L., & Lau, C. (2020). High-sensitivity determination of trace lead and cadmium in cosmetics using laser-induced breakdown spectroscopy with

ultrasound-assisted extraction. *Microchemical Journal*, 158, 105322.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105322>

Mahmoud, M. E., Amira, M. F., Zaghoul, A. A., & Ibrahim, G. A. A. (2016). High performance microwave-enforced solid phase extraction of heavy metals from aqueous solutions using magnetic iron oxide nanoparticles-protected-nanosilica. *Separation and Purification Technology*, 163, 169-172.

<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.02.039>

Martínez Guijarro, M. (2020). *Análisis Instrumental. Espectrometría de Absorción Atómica (EAA)*.

Meneses Escobar, J. P. (2019a). Desarrollo de un método de digestión para extracción de cromo de virutas de las curtiembres aplicando ultrasonido.

Meneses Escobar, J. P. (2019b). Desarrollo de un método de digestión para extracción de cromo de virutas de las curtiembres aplicando ultrasonido.

Morales, E. L. A., Llanos, X. M. G., & Angulo, D. E. R. (2021). Análisis de los efectos que produce la presencia del cadmio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). *Ingeniería e Innovación*, 9(2).

Muñoz Sandoval, M. J. (2022). Nuevos sistemas de microextracción dispersiva combinados con espectrometría de absorción atómica para la especiación de trazas de metales. Proyecto de investigación.

Naghipour, D., Gharibi, H., Taghavi, K., & Jaafari, J. (2016). Influence of EDTA and NTA on heavy metal extraction from sandy-loam contaminated soils. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(3), 3512-3518.

<https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.07.034>

Naicker, K., Mahlambi, P., & Mahlambi, M. (2023). Comparison of ultrasonic and microwave assisted digestion methods for the determination of heavy metals in soil and sediment: The effect of seasonal variations on metal concentrations and risk assessment. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 32(3), 320-336.

<https://doi.org/10.1080/15320383.2022.2084032>

Perelonia, K. B. S., Benitez, K. C. D., Banicod, R. J. S., Tadifa, G. C., Cambia, F. D., & Montojo, U. M. (2021). Validation of an analytical method for the determination of cadmium, lead and mercury in fish and fishery resources by graphite furnace and Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *Food Control*, 130, 108363.

Rojas, T., Fuentes Campos, M. E., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui, A. M. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 258-267.

Salazar Oliva, J. P. (2019). Aplicación de la extracción con agua regia para analizar elementos traza en suelos contaminados.

Sánchez Sarango, M. B. (2022). Cuantificación electroquímica simultánea de pb (ii), cd (ii) y zn (ii) en sedimentos marinos superficiales utilizando microelectrodo de carbono.

Santisteban Rojas, O. P. (2021). Comparación de los niveles de arsénico, cadmio, mercurio y plomo en piensos y huevos de codorniz (*Coturnix coturnix japonica*), producidos en empresas formales e informales y comercializados en mercados, supermercados y ambulatoriamente en la región Lima,

mediante espectrofotometría de absorción atómica y espectrometría de plasma acoplado inductivamente.

Shokunbi, O. S., Adepoju, O. T., Ramaite, I. D. I., Shokunbi, O. S., Mojapelo, P. E.

L., & Akinyele, I. O. (2023). Potassium, sodium, calcium and magnesium levels of commonly consumed foods and estimates of dietary intakes of selected Nigerian adults. *Heliyon*, 9(3), e13729.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13729>

Vettorel, S., Tabares, I., & Oliva, A. (2019). 7405-19 FÍSICA Electrostática.

Xie, L., & Kirk, D. W. (2020). Stability comparison of Pt and Ni as base metal catalysts in anion exchange membrane fuel cells. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(6), 064519.