

VERIFICACIÓN ANALÍTICA PARA LAS DETERMINACIONES DE CROMO HEXAVALENTE EN AGUAS POR ESPECTROFOTOMETRÍA

Carlos Alberto Severiche Sierra

Laboratorio de Calidad de Aguas
Aguas de Cartagena SA ESP
cseveriches@gmail.com

Humberto González García

Laboratorio de Calidad de Aguas
Aguas de Cartagena SA ESP
hgg1953@hotmail.com

(Tipo de Artículo: **Investigación**. Recibido el 03/04/2013. Aprobado el 22/05/2013)

RESUMEN

En la actualidad la prestación de servicios analíticos de laboratorios, toma de forma ascendente más auge y utilidad. El efecto de un análisis de aguas es forjar resultados correctos y confiables, siendo la verificación de ensayos uno de los aspectos más importantes y factor clave para conseguir este propósito. La determinación de cromo hexavalente en aguas por colorimetría con la difenilcarbazida es la metodología analítica más usada y útil que se conoce en el ámbito científico técnico, principalmente, por su alta selectividad y también debatida por su reacción a las interferencias. En el presente estudio se hizo la valoración analítica del método espectrofotométrico para la determinación de cromo hexavalente en aguas; el objetivo de este trabajo fue confirmar correctamente la aplicación del método para el análisis de aguas. Se trabajaron muestras de diferentes tipos de agua: potable, residual y superficial, siguiéndose estrictamente los protocolos de verificación. Se encontraron resultados satisfactorios en precisión y exactitud con el fin de emitir resultados confiables y reales de la muestra analizada.

Palabras clave

Agua, cromo hexavalente, difenilcarbazida, método espectrofotométrico.

ASSESSMENT OF AN ANALYTICAL METHOD FOR DETERMINING HEXAVALENT CHROMIUM IN WATER USING SPECTROPHOTOMETRY

ABSTRACT

Nowadays the provision of analytical laboratory services has increased its boom and usefulness, the objective of a water analysis is forging correct and reliable results, having the verification of assays as one of the most important aspects and key factor for achieving this purpose. Determining hexavalent chromium in water using colorimetry with diphenylcarbazide is the most used and useful analytical methodology being known in the scientific-technical field, specially because of its high selectivity and also discussed because of its reaction to interferences. In this study has been conducted the analytical assessment of spectrophotometric method in order to determine hexavalent chromium in water; the objective of this work is to verify the application of the method for water analysis. Different water types have been used: drinking water, sewage water and surface water, adopting strictly the validation protocols. Results have been found satisfactory for accuracy and precision aimed to issue real and reliable results for the analyzed sample.

Keywords

Water, spectrophotometry method, hexavalent chromium.

EVALUATION D'UNE MÉTHODE ANALYTIQUE POUR LA DÉTERMINATION DE CHROME HEXAVALENTE DANS L'EAU EN UTILISANT L'SPECTROPHOTOMÉTRIE

RÉSUMÉ

Dans l'actualité l'offre de services analytiques de laboratoire a pris de manière croissante plus d'essor et d'utilité, le but d'une analyse d'eau est de forger des résultats corrects et fiables, par conséquent la vérification d'essais est une des aspects les plus importants et facteur clef pour réussir cet objectif. La détermination de chrome hexavalent dans l'eau en utilisant colorimétrie à la diphenylcarbazine est la méthodologie analytique la plus utilisée et utile qu'on connaît dans le milieu scientifique-technique, principalement à cause de sa haute sélectivité et aussi débattu par sa réaction aux interférences. Dans cette étude on a réalisé l'évaluation analytique de la méthode spectrophotométrie pour la détermination de chrome hexavalent dans l'eau; l'objectif de ce travail a été de confirmer l'application de manière correcte de la méthode pour l'analyse des eaux. On a travaillé sur échantillons des différents types d'eau: potable, résiduelle et superficielle, conforme strictement aux protocoles de validation. On a trouvé des résultats satisfaisants par rapport à la précision et à l'exactitude avec le but d'émettre des résultats fiables et réels de l'échantillon analysée.

Mots-clés

Eau, méthode spectrophotométrique, chrome hexavalent.

1. INTRODUCCIÓN

El aumento en la demanda de agua potable se debe al crecimiento demográfico mundial, al rápido desarrollo económico y social, a la urbanización acelerada, y a las mejoras en el nivel de vida y de los ecosistemas circundantes [1], [2].

El control de la potabilidad y la calidad del agua son muy importantes, ya que éste es el medio de transporte de todas las sustancias y compuestos tanto biológicos como fisicoquímicos [3].

Para llevar a cabo la inspección, vigilancia y control, es necesario realizar un seguimiento de las características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de potabilización de agua y del producto terminado, con el ánimo de comparar con los valores normativos [4], [5].

El incremento de uso de metales y sustancias químicas en los procesos industriales ha resultado en la generación de grandes cantidades de efluentes acuíferos que contienen altos niveles de contaminantes orgánicos e inorgánicos [6]. Se sabe que la presencia de metales pesados en el ambiente acuático causa severos daños a la vida acuática, además de que eliminan microorganismos durante los tratamientos biológicos de aguas residuales, lo que ocasiona que el proceso de purificación decaiga. Aunado a lo anterior las sales de estos metales pesados son solubles en agua y por consecuencia no pueden ser separadas por métodos ordinarios [7].

El cromo se encuentra presente en agua y suelo principalmente en dos estados de oxidación: Cr (III) o Cr (VI), aunque también puede encontrarse como óxido de cromo, sulfato de cromo, trióxido de cromo, ácido crómico y dicromato [8]. En presencia de la materia orgánica, el Cr (VI) presente en aguas y suelos es reducido a Cr (III); sin embargo, las altas concentraciones del ión en estado hexavalente pueden sobrepasar esta capacidad de reducción, lo que impediría su adecuada eliminación [9]. Se halla en rocas, en el suelo, en animales y en las plantas, en concentraciones variables. Presenta valencia tres (III) y seis (VI). En estado trivalente es esencial para los seres humanos, en los que promueve la acción de la insulina [10].

Los derivados del cromo hexavalentes (cromatos y dicromatos), usualmente, son de origen antropogénico, que en sus altas concentraciones producen toxicidad para las plantas, ocasionando disminución en la incorporación de calcio, de potasio, de fósforo, de hierro y de manganeso, además, de afecciones en el metabolismo de los carbohidratos y disminución de la clorofila [10]. Algunos factores que afectan su disponibilidad son el pH del suelo, la interacción con otros elementos y compuestos orgánicos quelados [11], [12]. Se utiliza en metalurgia, en curtido de cueros y en fabricación de pinturas; los efluentes de cromo hexavalente de estas industrias contaminan el agua y el suelo. Dicho analito se puede determinar por método

colorimétrico que se basa en la reacción del cromo hexavalente con 1,5-difenilcarbazida en medio ácido, lo que produce la formación de un compuesto desconocido de color rojo violeta. Éste puede ser medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 540 nm y la absorbancia es proporcional a la concentración de cromo en la muestra. Para determinar cromo total, la muestra debe ser sometida a digestión ácida y oxidación con permanganato de potasio, previo a la reacción con la difenilcarbazida [13].

La reglamentación colombiana especifica los criterios y los valores respectivos para evaluar las condiciones físicas, químicas y bacteriológicas de las aguas destinadas para consumo humano a través del Decreto 1575 del 2007, y establece como valor máximo admisible 0,05 mg/L para Cromo Total, la legislación para agua potable no considera las concentraciones de Cromo Hexavalente [14].

En el presente trabajo se llevó a cabo la verificación del método colorimétrico de la difenilcarbazida para las determinaciones de cromo hexavalente en aguas, y demostrar que el laboratorio genera resultados correctos y confiables. La técnica experimentada es aplicable a un rango de 0.010 a 0.200 mgCr⁶⁺/L, rango de interés, ya que la mayoría de muestras analizadas en el laboratorio están en este intervalo; se trataron los resultados de análisis obtenidos de muestras de diferente procedencia con el ánimo de hacer más completo el estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El Método de referencia aplicado es el descrito en la edición 22 de los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales 3500-Cr B. APHA-AWWA-WEF (2012) [13], el procedimiento es aplicable a aguas naturales, residuales y tratadas. La medición de la absorción del complejo formado, pueden interferir color y turbiedad. Esta última puede disminuirse con filtración y/o centrifugación previa. Para muestras con color, es necesario analizar un blanco de muestra leyendo la absorción de ésta a 540 nm sin adicionar los reactivos para el desarrollo del color [13]. Para aguas residuales debe aplicarse filtración y corrección del color. La reacción con difenilcarbazida es casi específica para cromo. Las sales de molibdeno hexavalente y de mercurio reaccionan dando color con el reactivo, pero con intensidades mucho más bajas que para el cromo y son tolerables concentraciones hasta 200 mg/L. El vanadio sólo causa problemas a concentraciones 10 veces superiores a las del cromo. El hierro en concentraciones mayores de 1 mg/L puede producir coloración amarilla pero no causa problemas si se lee a la longitud de onda adecuada [13]. No obstante, ninguna de las sustancias antes mencionadas se halla habitualmente en nuestras aguas a niveles tales que pueda interferir en la determinación del cromo. El rango de trabajo va hasta 0.2 mg/L de Cr⁺⁶; hecho por lo cual,

se utiliza el método debido al tipo de muestras que se analizan con frecuencia.

Se muestra a continuación en detalle la ruta desarrollada:

▪ **Recolección y preservación:**

Las muestras pueden colectarse en frascos plásticos o de vidrio. En función de lo que se desee determinar, no pueden colectarse muestras compuestas. Si se desea la fracción disuelta, filtrar inmediatamente por membrana de 0.45 μm . Debe analizarse sin dilación pero en caso de requerirse almacenamiento, éste debe realizarse a temperatura aproximadamente 4 °C por no más de 24 horas.

▪ **Equipos y materiales:**

Espectrofotómetro ultravioleta-visible UV-VIS para trabajar a 540 nm con celdas de 5 cm de paso óptico.

Vidriería: vasos de precipitados, agitadores de vidrio, volumétricos (la cual no debe lavarse con mezcla crómica).

▪ **Reactivos:**

Para la preparación de reactivos, patrones y muestras, se empleará agua desionizada. Todos los reactivos son de grado analítico, excepto que se indique lo contrario.

Solución patrón de Cromo hexavalente: utilizar solución trazable de 0.02 a 5 mg/L. De forma alternativa pesar 141.45 mg de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), disolverlos y enrasar con agua en un matraz aforado de 100 mL, previa adición de HNO_3 concentrado para ajustar el $\text{pH} < 2$ (2-5 mL). Un mL de esta solución contiene 0.5 mg de Cr^{+6} . Almacenar hasta seis meses en frasco ámbar.

Solución de Difenilcarbazida al 0.5% (m/v): esta solución debe prepararse al momento de su uso, por lo cual se tendrá en cuenta el volumen necesario. Habitualmente 10 mL son suficientes, lo que implica pesar 50 mg de 1.5-difenilcarbazida (difenilcarbohidrazida) y disolverlos en 10 mL de acetona.

Solución de Acido Sulfúrico 1:1 ó de 50%: utilizar solución comercial o de forma alternativa, tomar 100 mL de ácido sulfúrico concentrado y llevarlo hasta 200 mL en balón aforado con agua.

▪ **Procedimiento:**

Las condiciones ambientales no influyen para la realización de este ensayo.

A. *Preparación de la curva de calibración:*

1. Pipetear volúmenes crecientes de la solución patrón de cromo, utilizando pipetas mecánicas previamente calibradas o de forma alternativa pipetas aforadas de vidrio, en volumétricos completar con agua desionizada hasta el aforo,

para obtener al menos seis concentraciones comprendidas en el intervalo de 0.000 a 0.200 mg/L.

2. Transferir las soluciones patrón a vasos de precipitado de 100 mL. a cada una adicionar 0.5 mL de ácido sulfúrico 1:1 y agitar con varilla de vidrio. El pH debe ser alrededor de 2.
3. Añadir 1.0 mL de solución de difenilcarbazida, agitar y dejar reposar 5 a 10 minutos para desarrollar color.
4. Leer de 5 a 10 minutos en espectrofotómetro a 540 nm con celdas de 5 cm (50 mm) de paso óptico.

B. *Verificación de la curva de calibración:*

Cada vez que se analicen muestras, no es necesario construir una nueva curva de calibración, sino verificar la validez de la existente. En este caso, se prepara un patrón de concentración 0.020 mg/L y se lee como si fuera muestra. Si el resultado es coincidente $\pm 10\%$, se considera que la curva es válida y se procede a preparar y leer las muestras [15]. En caso negativo, repetir el patrón. Si el problema persiste, verificar los reactivos, en particular, la solución madre de cromo y si es necesario prepararlos y construir una nueva curva de calibración.

C. *Determinación de cromo hexavalente en muestras:*

1. Transferir 50 mL de muestra (previamente filtrada si la muestra lo amerita) a un vaso de precipitados de 100 mL, adicionarle 0.5 mL de ácido sulfúrico 1:1. Agitar para mezclar bien.
2. Añadir 1 mL de solución de difenilcarbazida, agitar y dejar reposar 5 a 10 minutos para desarrollar color.
3. Preparar y analizar un blanco de reactivos con agua.
4. Leer de 5 a 10 minutos en espectrofotómetro a 540 nm con celdas de 5 cm de paso óptico respecto a la curva de calibración de cromo hexavalente. Si la absorbancia de la muestra resultase mayor que la del mayor patrón, es necesario repetir el proceso mediante diluciones sucesivas de la muestra y posterior lectura en el equipo. Para esto, debe realizarse como mínimo dos diluciones, se calculó el coeficiente de variación y si éste no supera 10 %, se informó el valor promedio; en estos casos, es necesario multiplicar previamente por el factor de dilución [15].

El resultado se obtendrá directamente en la curva de calibración del equipo. Se expresará con tres cifras decimales. La concentración mínima a reportar será 0.010 mg/L [13]. Cuando las características de la muestra respecto al color, hagan necesario analizar un blanco para corregirlo, se procederá con base a la siguiente fórmula:

$$A_c = A_r - A_b$$

Dónde:

A_b = Absorbancia de la muestra sin los reactivos
 A_r = Absorbancia de la muestra con los reactivos
 A_c = Absorbancia de la muestra (corregida)

Ac, se introduce en la fórmula de la curva vigente para calcular la concentración real de la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los protocolos de verificación se evaluaron los siguientes parámetros: límite de cuantificación, límite de detección, precisión, exactitud, recuperación de adiciones conocidas (exactitud en matriz) [15], [16]. Por tratarse de un método estandarizado, no es necesario evaluar: identificación, selectividad, especificidad ni robustez, ya que estos parámetros no son alterados ni modificados [17].

A continuación se exponen e interpretan los resultados obtenidos en los ensayos de verificación del método, que se realizaron siguiendo el procedimiento de análisis referenciado. Este método fue acreditado en 2006 por el IDEAM, con base a los resultados experimentales que se presentaron y que resumidamente incluían:

Exactitud:

Pruebas de añadido-recobrado: con agua potable (n=15) y agua cruda (n=16), recobrados de 89.0 y 99.0%, respectivamente.

Precisión:

Muestra de agua tratada con adición (aproximadamente 0.040 mg/L), analizadas 5 réplicas durante el mismo día con dos diferentes analistas: coeficiente de variación 3.6%.

El método continuó bajo control, lo que se demuestra en los resultados satisfactorios en:

Pruebas de desempeño del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM: 100 puntos (2007, 2008, 2009, 2010 y 2011).

Pruebas de desempeño del Instituto Nacional de Salud de Colombia PICCAP: clasificado como referencia para sulfatos durante todos estos años.

El único cambio importante ocurrió a fines de 2010, con la entrada de un nuevo analista y la sustitución del espectrofotómetro, siendo estas causales de una nueva verificación del método modificado, buscando así pruebas que evidencien repetibilidad y reproducibilidad.

Tabla 1. Datos de exactitud para patrones

PATRÓN (mgCr ⁺⁶ /L)	% Error	VECES ANALIZADO
Muestra certificada de 2.290	-3.49	2
Muestra certificada de 2.690	-6.32	2
Muestra certificada de 0.218	-1.83	2
Muestra certificada de 2.330	1.29	2
Muestra certificada de 0.144	3.70	3

PATRÓN (mgCr ⁺⁶ /L)	% Error	VECES ANALIZADO
Muestra certificada de 0.046	5.03	1
Patrón interno de 0.020	-2.50	18
Patrón interno de 0.010	0.00	1

Los resultados descritos se obtuvieron con muestras de agua superficial, cruda, residual doméstica o tratada así como con muestras certificadas y patrones de control interno.

Para las adiciones de concentración del analito se utilizaron soluciones patrón y se añadieron a muestras de agua obtenidas en la planta de tratamiento de agua potable PTAP El Bosque: cruda del punto de llegada del agua de la captación y potable del manhole del tanque de salida, y agua residual de la estaciones de bombeo de aguas residuales EBAR de la ciudad de Cartagena. Para establecer la posible presencia de datos atípicos, se aplicó el contraste estadístico de Grubbs [15].

En las tablas 1y 2, se muestran datos de exactitud en patrones de referencia y añadidos recobrados en muestras respectivamente.

Exactitud:

Pruebas de añadido-recobrado:

Se realizaron por duplicado a muestras de agua cruda, tratada y residual con diferentes adiciones.

Con base a:

- El error relativo promedio de los patrones varió entre -6.32 y 5.03%.
- Los recobrados estuvieron entre 82.3 y 101.0 y nuestro criterio para recobrados está entre 80 y 120% [13].

Se observa que el método no presenta tendencia alguna que indique sesgos ni errores sistemáticos apreciables [18], debido a interferencias presentes en la matriz de las muestras ni al proceso de análisis mismo. Se considera satisfactoria la exactitud [15].

Tabla 2. Datos de recobrado

MUESTRA	% recobrado
agua tratada+ 0.08 mgCr ⁺⁶ /L	99.8
agua tratada + 0.16 mgCr ⁺⁶ /L	95.4
agua cruda + 0.08 mgCr ⁺⁶ /L	101.0
agua cruda + 0.16 mgCr ⁺⁶ /L	99.7
agua residual + 0.05 mgCr ⁺⁶ /L	82.3

En la tabla 3, se muestran los datos de repetibilidad para muestras de diferente procedencia (aguas crudas, tratadas y residuales).

Tabla 3. Datos de repetibilidad

TIPO DE MUESTRA	CV%	n
agua residual 1	0.0	2
agua residual 1 + añadido	0.0	2
agua cruda + añadido 1	0.0	2
agua cruda + añadido 2	0.4	2
agua tratada	0.0	3
agua tratada + añadido 1	2.7	2
agua tratada + añadido 2	1.4	2
agua residual 2	0.0	3

Precisión:

Análisis de muestras de diferente procedencia. Con base a los contenidos de cromo hexavalente ($< 0.2 \text{ mg Cr}^{+6}/\text{L}$) y la tabla de Horwitz, puede considerarse satisfactoria la repetibilidad [18]. Para la reproducibilidad interna, se analizaron patrones de control interno: Concentración del patrón ($\text{mgCr}^{+6}/\text{L}$) = 0.020; CV% = 5.1; replicas = 18, se considera también satisfactoria.

Curva de calibración:

Intervalo de trabajo: 0.020-0.200 mg/L

Coefficiente de correlación: 0.999957

CV método: 3.57%

Límite de detección ($X_{bl} + 3 S_{bl}$): 0.000966 mg Cr^{+6}/L

Límite de cuantificación ($X_{bl} + 10 S_{bl}$): 0.003100 mg Cr^{+6}/L

Concentración a reportar: 0.01 mg Cr^{+6}/L

Dado que la legislación para agua potable no considera las concentraciones de Cromo Hexavalente y establece el valor de 0.05 mg/L para Cromo Total como valor máximo aceptable [14]; y que la inmensa mayoría de aguas naturales o residuales, presentan concentraciones superiores a 0.01 mg/L, la concentración a reportar [13], se considera satisfactoria para el análisis de agua.

4. CONCLUSIONES

El método estandarizado se fundamenta en aprovechar las potencialidades de las reacciones de coloración con difenilcarbazida y de la espectrofotometría con detección visible. Esta combinación proporciona una técnica fiable y rápida.

El procedimiento propuesto presenta adecuadas características de desempeño, por lo que puede definirse como un método preciso (coeficientes de variación $< 10\%$), veraz (no presenta sesgo significativo), con un adecuado intervalo de concentración y un límite de detección relativamente bajo (0,000966 mg/L). Estas características permiten que el mismo se ajuste al propósito para el cual fue diseñado, que consiste en la determinación de Cromo Hexavalente en muestras de aguas de diferente procedencia.

Se vuelve un método de referencia para otros laboratorios que deseen aplicarlo en Colombia, al estar este parámetro acreditado ante el IDEAM, ya que pueden reportar resultados correctos y confiables.

REFERENCIAS

- [1] H. Cheng, Y. Hu and J. Zhao. "Meeting China's water shortage crisis: current practices and challenges". *Environm. Sci. Techn. J. (USA)*. 43(2), pp. 240-244, 2009.
- [2] I. F. Sarabia. "Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México". *Rev. Int. Contam. Ambient. (México)*. 27(2), pp.103-113, 2011.
- [3] J. Arboleda. "Teoría y práctica de la purificación del agua". Colombia: Ed. Mc Graw Hill, p. 31, 2000.
- [4] M. Simanca, B. Álvarez and Paternina, R. "Calidad física, química y bacteriológica del agua envasada en el municipio de Montería". *Temas Agrarios. (Colombia)*. 15(1), pp. 71-83, 2010.
- [5] EPA. *Guidelines for Water Reuse, EPA- Part III, 40 CFR, Part 122, U.S. Environmental Protection Agency U.S.* Agency for International Development, Washington, DC, 2007, p.136.
- [6] E. Campos. "Estudio de la adsorción de cromo hexavalente como biomaterial la ectodermis de opuntia". *Revista Quivera* 10(1), pp. 16-31, 2008.
- [7] H. Hussein, F. Ibrahim, K. Kandeel and H. Moawad. "Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas sp.* en *Environmental Biotechnology* 7(1)", pp. 1023-1027, 2004.
- [8] A. I. Zouboulis, K. Kydros and K. Matis. "Removal of hexavalent Chromium anions from solutions by pyrite fines", *Water Research* 29 (7), pp. 1755-1760, 1995.
- [9] C. Cervantes, J. Campos, S. Devars, F. Gutiérrez. "Interactions of chromium with microorganisms and plants", *FEMS Microbiology Review* 25, pp. 333-347, 2001.
- [10] R. Lora y H. Bonilla. "Remediación de un suelo de la cuenca alta del río Bogotá contaminado con los metales pesados cadmio y cromo". *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13 (2), pp. 61-70, 2010.
- [11] S. Panda y S. Choudhury. "Chromium stress in plants". *Braz. J. Plant Physiol* 17(1), pp. 95-102, 2005.
- [12] E. Cuberos, A. Rodríguez y E. Prieto. "Niveles de cromo y alteraciones de salud en una población expuesta a las actividades de curtiembres en Bogotá, Colombia". *Rev. Salud Pública* 11(2), pp. 278-289, 2009.
- [13] APHA-AWWA-WEF. 2012. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". 22th Edition. USA, 3-67 y 3-68, method 3500-Cr B.
- [14] MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, MINISTERIO DE AMBIENTE VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. *Resolución 1575 de 2007, Bogotá, D.C.*: Ministerio de la Protección Social; Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007.
- [15] G. Cortes. "Lineamientos para el control de calidad analítica". Ed. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. Colombia, p.11, 1999.
- [16] C. Cortés y R. García. "Validación con base en los criterios de aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 en mediciones químicas y físicas". Ed. Entidad Mexicana de Acreditación. México, p.25, 2009.
- [17] C. Cortés. "Validación de métodos". *Docto. No. MP-CA005-02*. Ed Entidad Mexicana de Acreditación. México, p.37, 2010.
- [18] M. Velázquez; J. Pimentel and M. Ortega. "Estudio de la distribución de boro en fuentes de agua de la cuenca del río Duero, México, utilizando análisis estadístico multivariado". *Rev. Int. Contam. Ambient. (México)*. 27(1), pp. 9-30, 2011.