



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE  
SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO  
(SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**

**Carlos Enrique Cruz Espina**

Asesorado por la M. Sc. Inga. Jessy Mabel Alfaro Soto

Guatemala, noviembre de 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE  
SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO  
(SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**CARLOS ENRIQUE CRUZ ESPINA**

ASESORADO POR LA M. SC. INGA. JESSY MABEL ALFARO SOTO

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martínez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Kevin Vladimir Armando Cruz Lorente
VOCAL V	Br. Fernando José Paz González
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
EXAMINADOR	Ing. Cesar Ariel Villela Rodas
EXAMINADOR	Ing. Carlos Salvador Wong Davi
EXAMINADOR	Ing. William Eduardo Fagiani Cruz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 30 de noviembre de 2021.



**Carlos Enrique Cruz Espina**

Guatemala 11 de julio de 2022

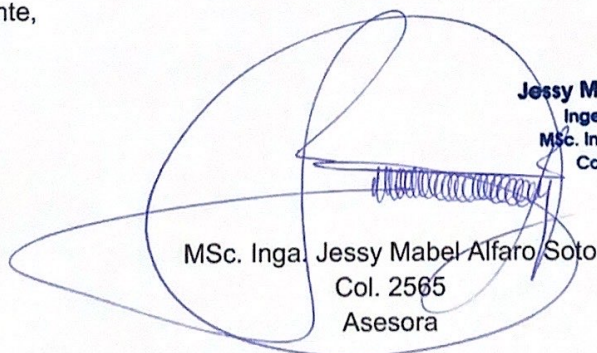
Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
Director de Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Estimado Ingeniero Álvarez

Por medio de la presente HAGO CONSTAR que he revisado y aprobado el informe final de trabajo de graduación titulado **"IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES"**, del estudiante de Ingeniería Química Carlos Enrique Cruz Espina, quien se identifica con CUI No. 3600 97707 0101 y registro académico número 201602660.

Sin otro particular me suscribo a usted

Atentamente,



**Jessy Mabel Alfaro Soto**  
Ingeniera Química  
MSc. Ingeniería Sanitaria  
Colegiado 2565

MSc. Inga. Jessy Mabel Alfaro Soto  
Col. 2565  
Asesora





Guatemala, 25 de agosto de 2022.  
Ref. EIQ.TG-IF.021.2022.

Ingeniero  
Williams Guillermo Álvarez Mejía  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **054-2021**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

**INFORME FINAL**

Solicitado por el estudiante universitario: **Carlos Enrique Cruz Espina**.  
Identificado con número de carné: **3600977070101**.  
Identificado con registro académico: **201602660**.  
Previo a optar al título de la carrera: **Ingeniería Química**.  
En la modalidad: **Informe Final, Seminario de Investigación**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

**Jessy Mabel Alfaro Soto, profesional de la Ingeniería Química**

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ingrid Lopera   
profesional de Ingeniería Química  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación

C.c.: archivo





LNG.DIRECTOR.210.EIQ.2022

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor, el visto bueno del Coordinador de Área y aprobación del área de lingüística del trabajo de graduación titulado: **IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**, presentado por: **Carlos Enrique Cruz Espina**, procedo con el Aval del mismo, ya que cumple con los requisitos normados por la Facultad de Ingeniería.

*“Id y Enseñad a Todos”*

  
Ing. Williams G. Alvarez, M.I.Q., M.U.I.E.  
DIRECCIÓN  
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, octubre de 2022.

LNG.DECANATO.OI.692.2022

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES**, presentado por: **Carlos Enrique Cruz Espina**, después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

  
Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada  
Decana



Guatemala, noviembre de 2022

AACE/gaoc



## **ACTO QUE DEDICO A:**

### **Dios**

Fuente de vida, de inspiración y de ciencia, mi luz y camino. Quien desde el primer día de mi vida me ha bendecido, gracias por darme la fortaleza y haberme guiado a lo largo de este camino.

### **Mi padre**

Por tus esfuerzos impresionantes, por ser el apoyo más grande del mundo, el que todo hijo desea tener. Por buscar siempre la manera de ofrecerme siempre lo mejor. Tu compañía y amor incondicional han sido la base importante para el camino que hoy culmina y ahora soy consciente de eso.

### **Mi madre**

Por tu invaluable amor y consejo, porque tuve la dicha de poder disfrutar de tu apoyo, gracias madre por creer y confiar en mí, por estar junto a mí en cada paso. Por sentar en mí las bases de responsabilidad y deseo de superación

### **Mis hermanas**

Karla y Alejandra Cruz, si no las tuviera mi vida sería un desastre, gracias por esos lotes de felicidad que siempre me han causado, en ellas tengo el ejemplo de virtudes infinitas y de un

gran corazón, que me lleva a admirarlas cada día un poco más.

**Mi familia**

Que han estado a mi lado desde mi nacimiento y desde ese día no ha dejado de apoyarme y alegrar cada día de mi vida.

**Mis amigos**

Daniel Arriola, Héctor Rodríguez, Herber Sandoval, José Véliz, Karla Gonzáles, Luis Díaz, Manuel Castro, Pablo Hernández y William López. Por haber estado a mi lado durante este camino, por hacer los momentos difíciles más agradables y por todas las risas compartidas. Sin ustedes no sé qué haría.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

<b>Universidad de San Carlos de Guatemala</b>	Por darme las herramientas para formarme como profesional y por las incomparables oportunidades que me ha brindado.
<b>Mis catedráticos</b>	Los encargados de custodiar el saber del mundo y que me han permitido expandir mi conocimiento, exalto su trabajo y les agradezco por ayudarme a lograr esta meta.
<b>Mi asesora</b>	Jessy Alfaro, por su apoyo invaluable en la elaboración de este proyecto y por la confianza puesta en mi persona desde el primer día.
<b>Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales</b>	Por abrirme las puertas al mundo profesional y regalarme cada día una oportunidad nueva de ser un mejor profesional.
<b>Compañeros de trabajo</b>	Héctor Rodríguez, Karen Pérez, Nancy Morales y Rebeca Batres, por su valiosa amistad, por sus consejos en la elaboración de este proyecto y por todo lo que día a día aprendo de ustedes.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS .....	VII
GLOSARIO .....	IX
RESUMEN.....	XIII
OBJETIVOS.....	XV
HIPÓTESIS.....	XVII
INTRODUCCIÓN .....	XXI
1. ANTECEDENTES .....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Química analítica.....	5
2.2. Métodos analíticos cuantitativos.....	5
2.3. Un análisis cuantitativo típico .....	6
2.3.1. Definición del problema .....	6
2.3.2. Selección de un método de análisis .....	7
2.3.3. Muestreo.....	7
2.3.4. Preparación de la muestra para análisis.....	7
2.3.5. Definición de réplicas de muestras .....	8
2.3.6. Preparación de disoluciones.....	8
2.3.7. Eliminación de interferencias .....	9
2.3.8. Calibrado y medida.....	9
2.3.9. Cálculo y evaluación de los resultados.....	9
2.4. Método de ensayo .....	11
2.5. Método normalizado .....	11

2.6.	Tipos de métodos y grado de validación según su normalización .....		11
2.6.1.	Método normalizado (tipo 1).....		12
2.6.2.	Métodos alternativos al método de referencia (tipo 2) .....		12
2.6.3.	Métodos normalizados con modificaciones o basados en métodos normalizados (tipo 3).....		12
2.6.4.	Métodos no normalizados (tipo 4) .....		13
2.7.	Requerimientos de validación de métodos en el marco de la acreditación de laboratorios según la Norma ISO/IEC 17025:2017 .....		13
2.7.1.	Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Comisión Electrónica Internacional (IEC).....		14
2.7.2.	Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR).....		15
2.7.3.	Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR/ISO/IEC 17025:2017, requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración .....		15
2.7.4.	Requisitos para la selección y validación de métodos según ISO/IEC 17025:2017 .....		16
2.8.	Validación de métodos de ensayo .....		18
2.8.1.	¿Qué se puede validar? .....		18
2.8.2.	¿Cómo se valida un método?.....		18
2.8.3.	Parámetros de validación .....		20
	2.8.3.1.	Selectividad/especificidad .....	21
	2.8.3.2.	Precisión.....	22
	2.8.3.2.1.	Repetibilidad .....	22



	2.8.3.2.2.	Reproducibilidad.....	22
	2.8.4.	Exactitud.....	23
	2.8.5.	Linealidad.....	23
	2.8.6.	Límite de detección y de cuantificación.....	24
	2.8.7.	Robustez.....	24
2.9.		Agentes tensoactivos.....	24
	2.9.1.	Clasificación.....	25
		2.9.1.1. Surfactantes aniónicos.....	25
		2.9.1.2. Surfactantes catiónicos.....	25
2.10.		Tensoactivos y el ambiente.....	26
	2.10.1.	Legislación ambiental.....	27
		2.10.1.1. Sobre las normas y guías de calidad del agua en Guatemala.....	27
2.11.		Método 5540 – C surfactantes aniónicos como SAAM.....	29
	2.11.1.	Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM).....	29
	2.11.2.	Métodos colorimétricos.....	30
	2.11.3.	Ley de Lambert – Beer.....	30
3.		DISEÑO METODOLÓGICO.....	31
	3.1.	Variables.....	31
	3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	32
	3.3.	Recurso humano disponible.....	32
	3.4.	Recursos materiales disponibles.....	33
		3.4.1. Reactivos.....	33
		3.4.2. Instrumentos de medición.....	33
		3.4.3. Equipo adicional.....	34
		3.4.4. Cristalería y materiales.....	34
	3.5.	Técnica cuantitativa.....	34
	3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	35

3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	38
3.8.	Análisis estadístico.....	42
3.8.1.	Media aritmética .....	42
3.8.2.	Desviación estándar .....	42
3.8.3.	Error relativo.....	43
3.8.4.	Análisis de varianza de un factor.....	43
3.8.5.	Prueba t-Student .....	44
3.8.6.	Análisis de reproducibilidad y repetitividad.....	45
3.8.7.	Análisis de la incertidumbre para la modificación al método normalizado .....	48
3.8.7.1.	Incertidumbre debida a la resolución de un instrumento, tipo B.....	48
3.8.7.2.	Incertidumbre debida a la repetibilidad del método de ensayo, tipo A .....	49
3.8.7.3.	Análisis del proceso de medición .....	49
3.8.7.4.	Definición del modelo .....	50
4.	RESULTADOS.....	53
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	57
	CONCLUSIONES.....	63
	RECOMENDACIONES .....	65
	REFERENCIAS .....	67
	APÉNDICES.....	75
	ANEXOS.....	79

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Análisis cuantitativo típico .....	10
2.	Requerimientos de validación según el tipo de método .....	13
3.	Requisitos para la selección y validación de métodos analíticos .....	17
4.	¿Cómo se valida un método? .....	20
5.	Parámetros de validación de un método .....	21
6.	Repetibilidad y reproducibilidad .....	23
7.	Método normalizado 5540 – C .....	36
8.	Modificación propuesta al método normalizado 5540 – C.....	37
9.	Fuentes de incertidumbre en la determinación de SAAM .....	49
10.	Curva de calibración e intervalo lineal de trabajo para el método normalizado 5540 – C .....	53
11.	Curva de calibración e intervalo lineal de trabajo para la modificación al método normalizado 5540 – C.....	54
12.	Factores de contribución a la incertidumbre estándar del método .....	56

### TABLAS

I.	Variables del diseño experimental.....	31
II.	Datos experimentales para la curva de calibración para el método normalizado 5540 – C .....	38
III.	Datos experimentales para la curva de calibración, modificación propuesta al método normalizado 5540 – C.....	38

IV.	Datos experimentales para análisis de porcentaje de recuperación, método normalizado 5540 – C .....	39
V.	Datos experimentales para análisis de porcentaje de recuperación, modificación al método normalizado 5540 – C .....	39
VI.	Datos experimentales para la determinación del límite de detección de la modificación del método normalizado .....	40
VII.	Datos experimentales para la determinación del límite de cuantificación de la modificación del método normalizado.....	40
VIII.	Datos experimentales para análisis de repetibilidad y sesgo .....	41
IX.	Datos experimentales para el análisis de reproducibilidad .....	41
X.	Análisis de varianza de un factor .....	43
XI.	Prueba t para una concentración de 0.25 mgL <sup>-1</sup> de SAAM .....	44
XII.	Prueba t para una concentración de 0.8 mgL <sup>-1</sup> de SAAM .....	44
XIII.	Prueba t para una muestra fortificada .....	45
XIV.	Análisis estadístico de regresión lineal para la curva de calibración del método normalizado 5540 – C .....	46
XV.	Análisis estadístico de regresión lineal para la curva de calibración de la modificación al método propuesto.....	46
XVI.	Análisis estadístico para la determinación de la repetitividad .....	47
XVII.	Análisis estadístico para el análisis de reproducibilidad.....	47
XVIII.	Análisis estadístico para el análisis de sesgo y exactitud .....	48
XIX.	Incertidumbre debida a la calibración.....	52
XX.	Análisis del porcentaje de recuperación para el método normalizado 5540 – C .....	55
XXI.	Análisis de porcentaje de recuperación para la modificación propuesta al método normalizado 5540 – C .....	55
XXII.	Parámetros de validación para la modificación propuesta al método normalizado 5540 – C .....	56

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
<b>Abs</b>	Absorbancia
<b>CV%</b>	Coeficiente de variación
<b>S</b>	Desviación estándar
<b>DSR</b>	Desviación estándar relativa
<b>t</b>	Estadístico t, prueba t-Student
<b>H<sub>1</sub></b>	Hipótesis alternativa
<b>H<sub>0</sub></b>	Hipótesis nula
<b>μ</b>	Incertidumbre
<b>L</b>	Litros
<b>mg</b>	Miligramos
<b>mL</b>	Mililitro
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>α</b>	Nivel de significancia
<b>N</b>	Normalidad
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b><math>\bar{x}</math></b>	Promedio
<b>SM</b>	Standard Method





## GLOSARIO

<b>Absorbancia</b>	Cantidad de luz que es absorbida por una muestra, y se define como la relación logarítmica entre la intensidad de la luz que llega a la muestra y la intensidad que es transmitida por esta.
<b>COGUANOR</b>	Comisión Guatemalteca de Normas. Es el organismo nacional de normalización. Es la encargada de elaborar, adoptar y promover la utilización de normas técnicas en el territorio nacional.
<b>Espectro visible</b>	Región del espectro electromagnético que el ojo humano es capaz de percibir.
<b>Exactitud</b>	Se utiliza para medir el nivel en que coinciden el valor de una medición y el valor real de una muestra determinada. Puede ser expresada como el porcentaje de recuperación en el análisis de un patrón.
<b>Espectrofotometría</b>	Una de las técnicas más utilizadas para medir la concentración de una sustancia química en una muestra, con base en la cantidad de luz que absorbe la misma.

<b>Fase</b>	Región del espacio a lo largo de la cual todas las propiedades de un material son uniformes.
<b>Incertidumbre</b>	Valor que se determina para un método cuantitativo, y que está asociado a una medición. Se define como la diferencia entre una medida y su resultado verdadero.
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization, es la Oficina Internacional de Normalización. Es la encargada de la elaboración de normas técnicas internacionales.
<b>LC</b>	Límite de cuantificación, es la habilidad que posee un método para realizar la detección y la cuantificación con precisión y exactitud de la cantidad mínima de un analito en una muestra.
<b>LD</b>	Límite de detección, es la menor cantidad de un analito que produce una señal que puede ser distinguida del ruido. Corresponde a la mínima concentración que puede ser detectada por un método.
<b>Longitud de onda</b>	Es la distancia física entre dos puntos a partir de los cuales una onda se repite, medida en nanómetros.
<b>Par iónico</b>	Interacciones entre un catión, anión y las moléculas de disolvente que los rodea.

**SAAM**

Sustancias que tienen la capacidad de transferir el azul de metileno desde una fase acuosa hasta una orgánica inmiscible en equilibrio, durante la formación de un par iónico.

**Tensoactivo**

Moléculas con una porción hidrofílica y otra hidrofóbica, que se localizan en la interfase de fluidos con una polaridad diferente.





## RESUMEN

En el presente estudio de investigación se llevó a cabo la implementación y validación de una modificación al método normalizado 5540 – C, método fotométrico para la determinación de surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno (SAAM) en muestras de aguas residuales y superficiales, dentro del Laboratorio de Calidad del Agua del Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

De conformidad a lo establecido en la norma ISO/IEC 17025:2017 y de acuerdo con los procedimientos que establece la Política de la Selección y Validación de Métodos de Ensayo OGA-GEC-016, se determinaron parámetros de desempeño como la exactitud, sesgo, los límites de cuantificación y detección, así como porcentajes de recuperación e intervalo lineal de trabajo, tomando como referencia aquellos resultados obtenidos por el método normalizado 5540 – C. Esto se realizó cuantificando de manera no específica el contenido de tensoactivos aniónicos como sustancias activas al azul de metileno en soluciones estándar preparadas a partir de una solución de dodecilsulfato de sodio (SDS), y utilizando un método fotométrico a una longitud de onda de 652 nm.

Se determinó que la modificación de este método permite una reducción del tamaño de la muestra, eliminando la necesidad de utilizar costosa cristalería y la disminución de la cantidad de cloroformo necesaria en comparación con el método normalizado. También se hizo todo cumpliendo con los criterios de exactitud, reproducibilidad y repetibilidad para la cuantificación de sustancias

activas al azul de metileno (SAAM), y entregando resultados precisos y reproducibles.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Implementar y validar una modificación al método normalizado 5540 – C, método fotométrico para la cuantificación de surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno, de acuerdo con los procedimientos que se establece la política OGA-GEC-016.

### **Específicos**

1. Determinar los límites de cuantificación y detección, la exactitud y sesgo en la mediación del contenido de sustancias activas al azul de metileno en muestras de aguas residuales por medio de la modificación del método 5540 – C.
2. Determinar el porcentaje de recuperación y los intervalos de linealidad y trabajo para el método normalizado 5540 – C y la modificación propuesta.
3. Realizar un análisis de reproducibilidad y repetitividad para la modificación propuesta del método 5540 – C.
4. Determinar la incertidumbre y el sesgo que presenta la modificación propuesta del método 5540 – C.



## HIPÓTESIS

Es posible implementar un método fotométrico para la cuantificación de surfactantes aniónicos en aguas residuales de conformidad a la norma internacional ISO/IEC 17025:2017.

Objetivo 1:

Ho: no es posible la determinar los límites de cuantificación y detección, exactitud y sesgo para una modificación al método normalizado 5540 – C para la cuantificación de sustancias activas al azul de metileno.

- Límites de detección y cuantificación  
 $LC < LD$

- Exactitud y sesgo  
 $t_{cal} > t_c$

Hi: es posible la determinar los límites de cuantificación y detección, exactitud y sesgo para una modificación al método normalizado 5540 – C para la cuantificación de sustancias activas al azul de metileno.

- Límites de detección y cuantificación  
 $LC > LD$

- Exactitud y sesgo  
 $t_{cal} < t_c$

Objetivo 2:

Ho: no existe diferencia significativa en los porcentajes de recuperación, linealidad e intervalo de trabajo para los métodos normalizado y propuesto.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Hi: existe diferencia significativa en los porcentajes de recuperación, linealidad e intervalo de trabajo para los métodos normalizado y propuesto.

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

Objetivo 3:

Ho: no existe una diferencia significativa entre los datos obtenidos al variar las condiciones del experimento, para la modificación propuesta al método normalizado.

$$DSR < 1 \%$$

Hi: existe una diferencia significativa entre los datos obtenidos al variar las condiciones del experimento, para la modificación propuesta al método normalizado.

$$DSR > 1 \%$$

Objetivo 4:

Ho: no existe una diferencia significativa entre los datos obtenidos manteniendo constantes las condiciones del experimento, para la modificación propuesta al método normalizado.

$$Sesgo < 10 \%$$

Hi: existe una diferencia significativa entre los datos obtenidos manteniendo constantes las condiciones del experimento, para la modificación propuesta al método normalizado.

$$Sesgo > 10 \%$$





## INTRODUCCIÓN

Los surfactantes son los principales componentes activos en la formulación y fabricación de detergentes que son utilizados en actividades domésticas e industriales, así como en la fabricación de una gran variedad de productos para el cuidado personal (Fernández, 2011). Dentro de los principales tipos de agentes tensoactivos, los surfactantes aniónicos son los mayormente utilizados, estos ingresan principalmente al ambiente por la descarga de residuos acuosos generados por las operaciones domésticas e industriales de lavado de ropa y demás operaciones de limpieza (APHA, et al., 1989). Debido al volumen de tensoactivos que son consumidos en la actualidad se hace indispensable el desarrollo de metodologías que permitan su monitoreo una vez que han ingresado al ambiente para conocer su impacto.

Los métodos ópticos para la determinación de surfactantes aniónicos son ampliamente utilizados para la estimación cuantitativa y cualitativa de muchos de estos compuestos. Entre los métodos más utilizados se encuentra el de absorción molecular dentro del rango UV-VIS, que permite su cuantificación como sustancias activas al azul de metileno (Mercado, Salager, Celis y Avendaño, 2010).

El análisis de los surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno (SAAM) es útil como una medida no específica de la concentración total de surfactantes aniónicos en muestras de aguas superficiales, aguas residuales, lodos y sedimentos (Chitikela, Dentel y Allen, 1995).

Las sustancias activas al azul de metileno, un colorante catiónico, son aquellas que transfieren el color azul desde una fase acuosa a un líquido inmiscible con el que se encuentra en equilibrio. La intensidad del color azul es una medida de la concentración de estas sustancias en una matriz acuosa. Este método es relativamente fácil de implementar y muy preciso, se basa en una serie de tres extracciones en fase líquida desde una fase acuosa, rica en azul de metileno, hasta una fase orgánica de cloroformo y su posterior lectura mediante fotometría a una longitud de onda de 652 nm. (Rodríguez, 2007)

## 1. ANTECEDENTES

El Acuerdo Gubernativo 236-2006: *Reglamento de las descargas y reúso de aguas residuales y de la disposición de lodos*, así como el 12-2011: *Reglamento de vertidos para cuerpos receptores de la cuenca del lago de Atitlán*, tienen por objetivo establecer los requisitos que se deben cumplir para la descarga de aguas residuales y la disposición y reúso de lodos. Con la finalidad de proteger los cuerpos receptores de aguas residuales de los impactos debido a la actividad humana, se establecen dentro de estos reglamentos los parámetros y los límites máximos permisibles para la descarga de aguas residuales.

El Laboratorio de Calidad del Agua, creado bajo el Acuerdo Ministerial 197-2020 y reformado en el Acuerdo Gubernativo 73-2021, busca ser el centro de referencia nacional para la determinación de los parámetros físicos, químicos y biológicos del recurso hídrico, y es el responsable de realizar el análisis y la medición de los parámetros que garanticen la operación óptima de las unidades de tratamiento de aguas residuales, emitiendo informes analíticos de acuerdo con los parámetros estipulados en el Acuerdo Gubernativo 236-2006 y el Acuerdo Gubernativo 12-2011. (MARN, 2020)

Los requisitos que todo laboratorio de ensayo y calibración debería de cumplir para demostrar su competencia técnica y la validez de sus resultados aparecen por primera vez en la norma internacional ISO 17025:2000, aprobada en el año de 1999 como una sustitución a la antigua norma europea EN 45001 y a la ISO/IEC guía 25. Esta norma engloba los requisitos relativos a la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración, con un

enfoque dirigido al cliente, enfoque compatible con un sistema de gestión de la calidad ISO 9000 e ISO 9001. Esta norma es utilizada para el desarrollo de los sistemas de gestión de la calidad, administrativos y técnicos, con los que todo laboratorio ha de regir sus operaciones. Así mismo es utilizada por los clientes, autoridades reguladoras y organismos de acreditación para la confirmación y reconocimiento de la competencia de los laboratorios. (López, 2004)

La Norma ISO 17025:2005 anula y sustituye a la primera edición aprobada en el mes de diciembre de 1999, primera edición que es producto de la experiencia que se fue adquiriendo mediante la implementación de la guía ISO/IEC 25 y de la norma europea 45001. Esta segunda edición agregó capítulos de acuerdo con las necesidades identificadas según la norma ISO 9001:2000.

El cumplimiento de los requisitos que están establecidos en la norma Internacional ISO 17025 permite demostrar que un laboratorio de ensayo o calibración es competente y es capaz de obtener resultados que son válidos. Debido a que los laboratorios deben ajustar sus actividades de acuerdo a las nuevas exigencias, la norma ISO se ha actualizado a su versión ISO/IEC 17025:2017, cambiando el enfoque que se tenía hacia el cliente a un enfoque ahora dirigido a procesos y a la gestión de riesgos, llevando a una mejora en la capacitación del personal y a una conducta diferente. La implementación de un sistema ISO/IEC 17025:2017 mejora la organización de las actividades y la gestión de riesgos. (Betancourt, 2019)

La Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) es el organismo nacional de normalización, institución adscrita al Ministerio de Economía y cuya principal función es la de brindar apoyo y soporte técnico a los sectores productivos y protección a los consumidores, a través de las actividades de

normalización. Esta comisión ha adoptado la norma internacional ISO/IEC 17025:2017 y, a través del Comité Técnico de Trabajo para la Elaboración de Normas, integrado por sus distintos miembros, ha realizado su estudio y traducción, poniendo a disposición de los interesados la Norma para la Acreditación de Laboratorios COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025:2017.

La Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA), componente del Sistema Nacional de Calidad del Ministerio de Economía, tiene la función de aplicar y administrar la acreditación en todo el territorio guatemalteco con la finalidad de reconocer de manera formal la competencia técnica con base en las normas nacionales e internacionales vigentes. Sin embargo, dentro del territorio nacional la acreditación según la norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 no es un requisito obligatorio para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo y calibración.

El reconocimiento formal de la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración, dentro del territorio nacional, es uno de los principales objetivos de la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA), con el fin de que los resultados que estos organismos han de emitir sean aceptados a nivel nacional e internacional. Es por esto que se emite la Política de la Selección y Validación e Método de Ensayo OGA-GEC-016 acorde a lo internacionalmente aceptado y que ha de ser aplicada por la OGA en la evaluación de los laboratorios que soliciten su acreditación y en las evaluaciones de seguimiento y de reacreditación.

Se han realizado análisis de la concentración de surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno, en cuerpos receptores de descargas industriales y domésticas, como los realizados por Uchiyama (1982). Él observó la distribución de las sustancias activas al azul de metileno, como un

estudio para la determinación de la calidad del agua en el Lago Oze, llegando a determinar que la concentración de SAAM en el fondo del lago se debe a la descarga de aguas residuales de los refugios que se encuentran en las orillas del lago.

En su estudio, Vílchez, Pinell y Valdivia (2019) determinaron como un parámetro de desempeño de un sistema de tratamiento de aguas residuales la concentración de sustancias activas al azul de metileno, verificando de este modo que el sistema opera dentro de las regulaciones legales en Nicaragua.

Otros estudios realizados sobre el tema incluyen las modificaciones al método normalizado 5540 – C, como la realizada por Chitikela, Dentel y Allen (1995), en la que han logrado disminuir hasta en cinco veces el consumo de cloroformo utilizado por el método normalizado, alcanzando valor de  $R^2$  entre 0.994 y 0.999 en las curvas de calibración realizadas. Otra modificación al método que debe mencionarse es la realizada por Wyrwas y Zgoła-Grześkowiak (2014), en la cual, con el objetivo de disminuir el tiempo invertido en el desarrollo del método, este se ajusta para trabajar en sistema de flujo continuo combinado con medición espectrofotométrica. El método desarrollado resultó satisfactorio en términos de sensibilidad y precisión, con un breve tiempo de análisis. El límite de cuantificación para los tensioactivos aniónicos fue de 16  $\mu\text{g}/\text{L}$ , con una desviación estándar relativa de 1.3 % para una muestra modelo y 3.8 % para una muestra de agua de río. Los resultados obtenidos para las muestras ambientales fueron comparables a los obtenidos mediante el método estándar MBAS.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Química analítica**

La química analítica es aquella que se dedica a la caracterización química de toda la materia y da respuesta a dos interrogantes: ¿qué es? Esta pregunta hace referencia al aspecto cualitativo, y: ¿en qué cantidad se presenta? Se refiere al aspecto cuantitativo. Todo lo que hemos de consumir o de utilizar está compuesto por un gran número de productos químicos y el conocimiento de su composición es de gran importancia en la vida diaria. Se dice que la química analítica desempeña un papel de mucha importancia en casi todos los aspectos de la ciencia y la industria, incluyendo las ciencias agrícolas, ciencias ambientales, la industria manufacturera, entre otros. (Christian, 2009)

La química analítica es la ciencia de obtener, procesar y comunicar información sobre la composición y estructura de la materia. En otras palabras, es el arte y la ciencia de determinar qué es la materia y cuánto de ella existe. (American Chemical Society, 2021, p.12)

### **2.2. Métodos analíticos cuantitativos**

En un análisis cuantitativo típico los resultados se obtienen a través de dos medidas. La primera se refiere a la determinación de la masa o el volumen de la muestra que se ha de analizar. La segunda es la medición de alguna cantidad que es proporcional a la cantidad del analito en la muestra, como puede ser la masa, el volumen la cantidad de luz absorbida o una carga

eléctrica. Esta segunda medición constituye la base para la clasificación de los métodos analíticos. Los métodos gravimétricos determinan la masa del analito o de algún compuesto que se relaciona con él. (Skoog, West, Holler y Crouch, 2005)

En los métodos volumétricos se realiza la cuantificación del volumen de alguna solución que contiene un reactivo en cantidad suficiente para reaccionar por completo con el analito de interés. Los métodos electroanalíticos y espectroscópicos se basan en la medición de cargas eléctricas y la interacción de la radiación electromagnética con los átomos, respectivamente. (Skoog, West, Holler y Crouch, 2005)

## **2.3. Un análisis cuantitativo típico**

Cuando se plantea un problema susceptible de ser analizado por medio de la química analítica existe por lo general una secuencia de pasos que deberían seguirse para obtener una solución.

### **2.3.1. Definición del problema**

Antes de que cualquier persona pueda desarrollar un proceso de análisis, existe información necesaria que debe ser especificada, por ejemplo: para qué propósito se desarrolla el análisis, qué tipo de muestra se ha de analizar y quién necesita esta información. El analista debería tener una buena comunicación con el cliente que puede ser una agencia de protección ambiental o algún cliente industrial. (Christian, 2009)



### **2.3.2. Selección de un método de análisis**

La correcta elección de un método de análisis muchas veces resulta complicada y requiere de una gran experiencia e intuición por parte del analista. Es el primer paso esencial en todo proceso de análisis. Entre los primeros factores a considerar está la exactitud del método, sin embargo, se debe tomar en cuenta que una gran precisión requiere de una gran inversión de tiempo y recursos. Por lo general el método escogido es un intermedio entre la exactitud, el tiempo y el dinero disponible para realizar el ensayo. (Caballero, 2015)

### **2.3.3. Muestreo**

El siguiente paso para un correcto análisis cuantitativo es la obtención de la muestra. Con el fin de obtener información que sea significativa es necesario realizar el análisis de una muestra de composición idéntica a la del material de la que se obtuvo (Skoog, West, Holler y Crouch, 2005). Es de vital importancia asegurar la integridad de la muestra desde el momento de su toma hasta el de su análisis y disposición final. A este procedimiento se le denomina cadena de vigilancia. El objetivo de la toma de muestra es el de obtener una porción del material cuyo volumen sea lo suficientemente pequeño para su fácil transporte y manipulación. Esto implica que la proporción o concentración de los componentes presentes en la muestra será la misma que la del material de donde proceden. (APHA, AWWA y WPCF, 1989)

### **2.3.4. Preparación de la muestra para análisis**

Todos los procedimientos analíticos incluyen, como se mencionó con anterioridad, una serie de pasos de gran importancia, dentro de los que destacan el muestreo, la preparación de las muestras para el análisis, el

aislamiento del compuesto de interés, la cuantificación y el tratamiento de datos. Sin embargo, la preparación de la muestra es la etapa limitante en el proceso analítico. Es de hecho especialmente crítico dentro del campo medioambiental. Estos procedimientos suelen utilizar procesos bien definidos para los que son necesarias grandes cantidades de muestras, solventes de alta pureza, adsorbentes, como por ejemplo la extracción líquido-líquido. Debido a las bajas concentraciones en las que se presentan los contaminantes dentro de matrices medioambientales, además de su complejidad y la presencia constante de interferentes, se hace necesario el exhaustivo tratamiento de las muestras antes de realizar la separación y la cuantificación del analito de interés. (Ramos y Ramos, 2005)

#### **2.3.5. Definición de réplicas de muestras**

Muchos análisis se realizan con réplicas de las muestras. La realización de réplicas en los análisis constituye una mejora en la calidad de la información presentada y además constituye una medida de fiabilidad en los resultados. Estas medidas suelen promediarse seguido de la aplicación de análisis estadístico para establecer la fiabilidad del método. (Skoog, West, Holler y Crouch, 2005)

#### **2.3.6. Preparación de disoluciones**

En la mayoría de los análisis será necesario realizar una dilución a la muestra, teniendo siempre la precaución de no perder en el proceso parte del analito de interés. (Caballero, 2015)

### **2.3.7. Eliminación de interferencias**

Las muestras reales son complejas y es necesario realizar tratamientos para evitar las interferencias de algunos componentes sobre el analito de interés. En el análisis químico cuantitativo existe una interferencia cuando algún componente de una muestra interfiere con el analito, haciendo que este sea indistinguible o su presencia sea atenuada. El procedimiento que se utiliza para lograr aislar el componente de interés se denomina separación y en el análisis químico cuantitativo son las operaciones más importantes, siendo al mismo tiempo la fuente más grande de error posterior a la toma de muestras. La técnica de separación que se considera adecuada dependerá de las propiedades físicas y estructurales del analito, así como de las características de la matriz dentro de la que se encuentra y los objetivos del análisis. (Rodríguez, 2014)

### **2.3.8. Calibrado y medida**

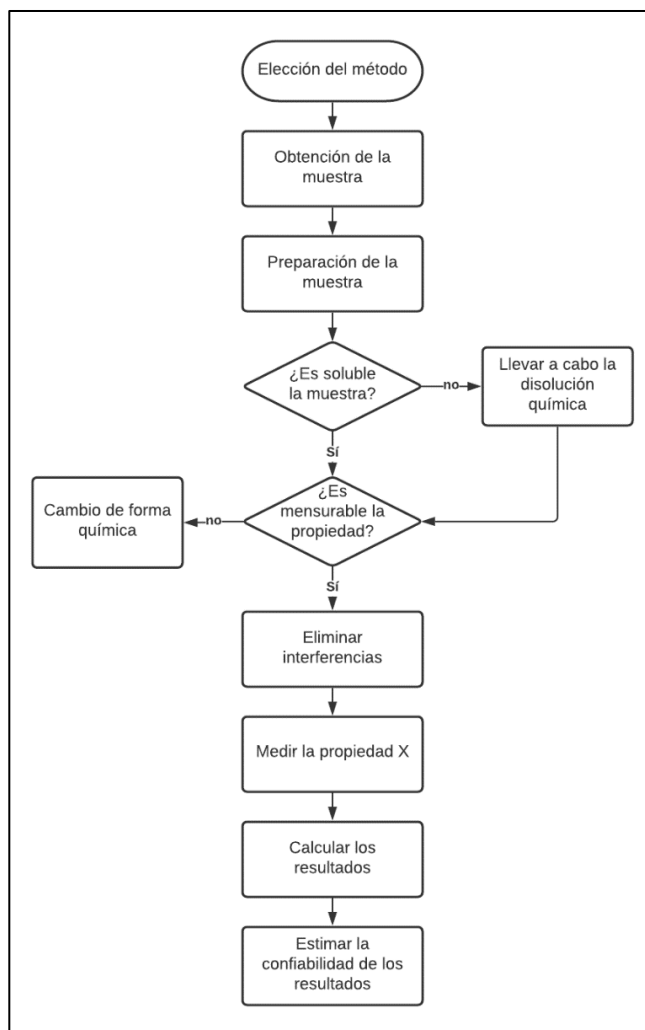
Todos los resultados dependen de la medición de alguna propiedad del analito, esta propiedad debe ser escogida de modo que tenga una variación conocida y reproducible con su concentración, en teoría la medida de la propiedad varía de forma directamente proporcional a la concentración. (Skoog, West, Holler y Crouch, 2005)

### **2.3.9. Cálculo y evaluación de los resultados**

El objetivo que busca satisfacer toda determinación cuantitativa es el de dar resultados experimentales que se aproximen a la composición real de una muestra, aun sabiendo que es imposible dar la composición con una veracidad del cien por ciento. Para la evaluación de la fiabilidad de un método se realiza el

análisis de materiales de referencia (patrones), tomando la diferencia entre el resultado obtenido y la concentración real del analito en el patrón como una medida de la exactitud del método. Suele referirse la exactitud como la probabilidad de que un resultado se encuentre dentro de ciertos límites. (Pickering, 1980)

Figura 1. **Análisis cuantitativo típico**



Fuente: Skoog, West, Holler y Crouch. (2005). *Fundamentos de química analítica*.

## **2.4. Método de ensayo**

Son todos aquellos procedimientos que se encuentran documentados y detallan el desarrollo de técnicas de análisis, manejo y preparación de reactivos para determinar la concentración o cualquier otra propiedad de una muestra de interés. Es de responsabilidad de cada uno de los laboratorios realizar las actividades de ensayo y calibración de modo que se cumplan los requisitos del cliente y de las normas nacionales e internacionales a las que se está sujeto. (COGUANOR, 2001)

## **2.5. Método normalizado**

Es considerado un método normalizado todo aquel que ha sido emitido por un organismo de normalización internacional (ISO), regional (normas europeas EN) o nacionales como ASTM o COGUANOR. (OAA, 2019)

Los métodos normalizados son considerados como métodos de referencia, ya que podrían ser utilizados para la evaluación de otros métodos que se han desarrollado para la misma determinación. Estos métodos no requieren de una completa validación, pero sí la confirmación de su correcta aplicación. (Camaró, Martínez, Olmos, Catalá, Dolores y Gimeno, 2015)

## **2.6. Tipos de métodos y grado de validación según su normalización**

Con el paso de los años todas aquellas actividades que se relacionan con la verificación y la validación de métodos toman una gran importancia, debido a la actualización de las técnicas analíticas y los equipos cada vez más complejos, además del interés de poder garantizar la calidad de los procesos y

resultados. Los requisitos de validación varían en función del método que se emplee.

#### **2.6.1. Método normalizado (tipo 1)**

Son aquellos que han sido desarrollados por un organismo bien establecido, cuyos métodos son considerados como de referencia. (Camaró, *et al.*, 2015)

#### **2.6.2. Métodos alternativos al método de referencia (tipo 2)**

Son métodos que son validados por comparación con el método de referencia correspondiente (Camaró, *et al.*, 2015). La validación de un método alternativo es un procedimiento que se realiza para demostrar que los resultados que se han obtenido son técnicamente válidos comparados con aquellos obtenidos por la aplicación del método de referencia. (Meylín, González y Martínez, 2013)

#### **2.6.3. Métodos normalizados con modificaciones o basados en métodos normalizados (tipo 3)**

Son aquellos que están descritos dentro de los procedimientos internos de cada laboratorio y que estuvieron basados en métodos de referencia y que no han sufrido una modificación técnica como: cambio en los controles utilizados, cambio en las condiciones instrumentales, tiempos, temperaturas u otros parámetros. Será necesario mantener estos métodos actualizados en relación con el método en el que se basan. Estos no requieren una validación completa pero sí la verificación de su correcto funcionamiento. (Camaró, *et al.*, 2015)

#### 2.6.4. Métodos no normalizados (tipo 4)

Son aquellos métodos que han sido desarrollados por los propios laboratorios o por cualquier otra de las partes involucradas en los procedimientos de análisis, como puede ser un proveedor o un fabricante. La validación de estos métodos deberá ser tan amplia como se necesite para satisfacer las necesidades del campo de aplicación.

Figura 2. **Requerimientos de validación según el tipo de método**

Tipo de método	Validación
No normalizado	Sí
Normalizado con modificación en su alcance	Sí
Normalizado con valores de reproducibilidad, repetibilidad, exactitud	Se debe comprobar que se cumplen los parámetros, pero se puede realizar mediante la evaluación de la calidad de los ensayos
Métodos normalizados sin información	Obtener los parámetros que faltan

Fuente: Camaró, Martínez, Olmos, Catalá, Dolores y Gimeno (2015). *Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos*.

#### 2.7. requerimientos de validación de métodos en el marco de la acreditación de laboratorios según la Norma ISO/IEC 17025:2017

La norma ISO/IEC 17025:2017, en su numeral 5.4, presenta uno de los principales requisitos de cumplimiento obligatorio para la acreditación de laboratorios de ensayo y calibración, la utilización de métodos normalizados, con vistas a garantizar a los clientes la trazabilidad, la confiabilidad y la precisión de los resultados. Durante un procedimiento de acreditación los

laboratorios y auditores se ven en la obligación de especificar la diferencia entre la validación y la verificación de los métodos de ensayo, diferencia que será aclarada posteriormente en este capítulo.

### **2.7.1. Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Comisión Electrónica Internacional (IEC)**

ISO es una organización internacional no gubernamental independiente que cuenta en la actualidad con 165 organismos nacionales de normalización miembros, que son las organizaciones de normalización más importantes de cada uno de los países y existe un único miembro por país. La Organización Internacional de Normalización, a través de sus miembros, reúne a expertos para compartir conocimientos y así desarrollar normas internacionales, voluntarias, consensuadas y relevantes para el mercado que respalda la innovación y brinda soluciones a los diferentes desafíos globales. (Organización Internacional de Normalización, s.f.)

La IEC es una organización mundial de miembros sin fines de lucro, cuyo trabajo se sustenta en la infraestructura de calidad y en el comercio internacional de productos eléctricos y electrónicos. Su trabajo facilita la innovación técnica, el acceso a la energía eficiente y sostenible, la mitigación del cambio climático y aumenta la seguridad de las personas y el medio ambiente. Esta organización reúne a más de 170 países para formar una plataforma de normalización global e independiente. La IEC publica alrededor de 10 000 normas internacionales que, junto con la evaluación de la conformidad, proporcionan el marco técnico que permite a los gobiernos construir una infraestructura nacional de calidad, y a empresas de todos los tamaños comprar y vender productos o servicios consistentemente seguros y confiables en la mayoría de los países del mundo. Las normas internacionales



IEC sirven como base para la gestión de riesgos y calidad y se utilizan en las pruebas y certificaciones para verificar que se cumplan las promesas del fabricante. (IEC, 2021)

### **2.7.2. Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR)**

La Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) es el organismo nacional de normalización. Se trata de una organización adscrita al Ministerio de Economía, cuyo principal deber es el de brindar apoyo técnico al sector productivo y protección a los consumidores por medio de las actividades de normalización. Atienden también a las solicitudes de los sectores industriales, comercial, oficial y académico, con la finalidad de elaborar y actualizar las normas que se requieran. (COGUANOR, 2001)

### **2.7.3. Norma técnica guatemalteca COGUANOR/ISO/IEC 17025:2017: *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración***

Esta es una normativa internacional que fue desarrollada por la Organización Internacional de normalización (ISO) dentro de la cual se establecen los requerimientos que deberían cumplir los laboratorios de ensayo y calibración. Es una norma de calidad que sienta sus bases en la familia de normas ISO 9000, pero que además introduce un conjunto de requisitos técnicos que son imprescindibles para lograr la acreditación de los laboratorios de ensayo y calibración. Esta acreditación se obtiene a través de los entes regionales de acreditación. Esta norma se aplica con el objetivo de demostrar que los laboratorios son técnicamente capaces y que los resultados que estos proporcionan son técnicamente válidos. (Trew, 2019)

Un laboratorio acreditado es aquel que tiene implantado un sistema ISO 17025, utiliza métodos normalizados que han sido previamente verificados o métodos no normalizados con previa validación, a través de la que se demuestra la competencia y la aptitud para satisfacer los requerimientos del cliente. (Delgado, 2009)

#### **2.7.4. Requisitos para la selección y validación de métodos según ISO/IEC 17025:2017**

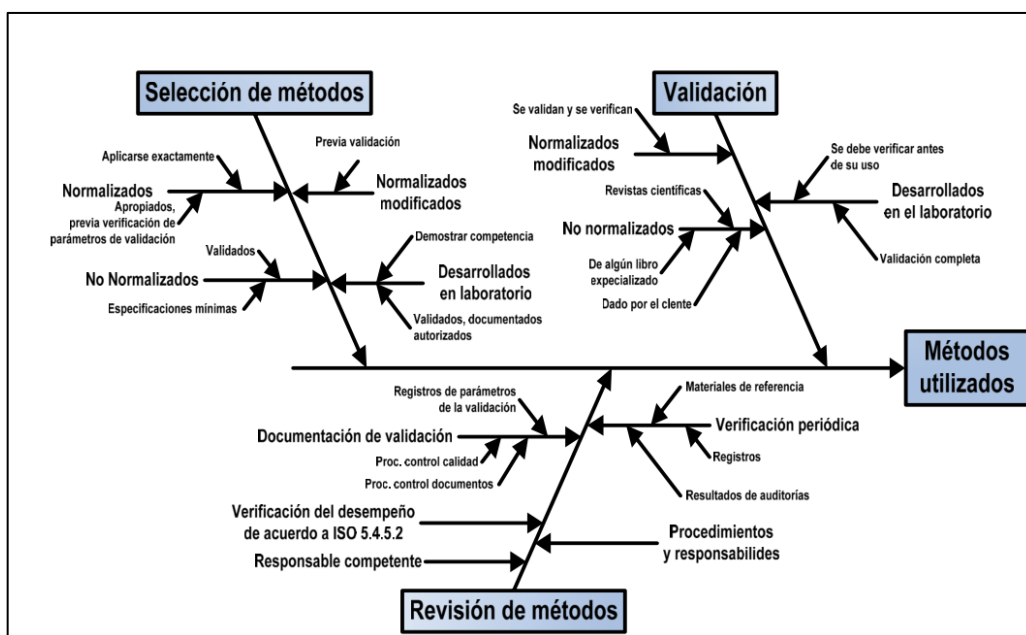
La Norma ISO/IEC 17025:2017 establece de manera general que cada laboratorio debe aplicar los métodos y procedimientos más apropiados para todos los ensayos que se encuentren contemplados dentro del alcance de la acreditación que se ha planteado (Basantes, 2009), y, con vistas a garantizar la calidad de los resultados, esta norma ha establecido que los laboratorios deben utilizar métodos normalizados, es decir, aquellos métodos que han sido validados y verificados. (Delgado, 2009)

Cuando se plantea un problema analítico el primero de los pasos es la selección del método de análisis que proporcione la información requerida para tratar el problema en cuestión. Dado que el análisis de aguas residuales, potables y continentales es un área de investigación de mucha demanda en la actualidad, existe una variedad de referencias muy completas (Álvarez, 2002). Debido a esto los métodos seleccionados deberían estar basados en publicaciones realizadas, en normas internacionales, regionales o nacionales, publicaciones científicas o métodos desarrollados por fabricantes de equipos relacionados al análisis de aguas (Hernández, 2013). Dentro del presente trabajo se realizan ensayos basados en los procedimientos propuestos por la Agencia de Protección Medioambiental Norteamericana (EPA), Asociación Americana de Salud Pública (APHA), Asociación Americana de Servicios de

Aguas (AWWA) y la Federación para el Control de la Contaminación del Agua (WPCF).

Es de importancia hacer la aclaración que un laboratorio debe realizar la constante revisión de sus métodos de ensayo. Estos deben ser verificados de forma periódica, documentarlos y tomar decisiones para la revalidación. Dentro de las posibilidades de cada uno de los laboratorios es recomendable utilizar los métodos más actualizados conforme al avance de la ciencia y la tecnología. (Delgado, 2009)

Figura 3. **Requisitos para la selección y validación de métodos analíticos**



Fuente: Delgado (2009). *Validación y verificación de métodos de ensayos. Un dilema en los laboratorios de ensayos y en las auditorías de la acreditación.*

## **2.8. Validación de métodos de ensayo**

La validación consiste en realizar una evaluación del desempeño de un método y de este modo demostrar que cumple con los requisitos (Delgado, 2009). Validar es confirmar mediante un examen y la obtención de evidencia objetiva que un método cumple los requisitos particulares para un uso específico. (NTG/ISO/IEC 17025:2017)

### **2.8.1. ¿Qué se puede validar?**

Dentro de los requisitos de validación de métodos de ensayo, dentro de un marco para la acreditación de laboratorio de ensayo y calibración según la norma ISO 17025:2017, se establece que es posible validar:

- Métodos analíticos
- Métodos de control de limpieza
- Los equipos y las instalaciones
- Procesos
- Programas de computación
- Personal

### **2.8.2. ¿Cómo se valida un método?**

Existen dos formas para realizar la validación de un método:

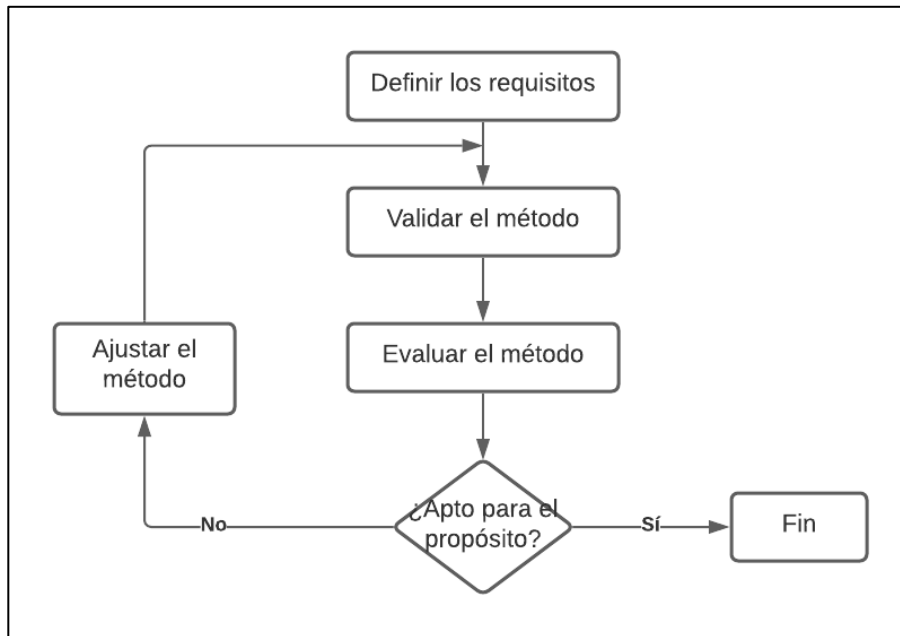
- Estudios colaborativos (estudio interlaboratorio): este estudio tiene por objetivo la determinación, por medio de comparación, del desempeño (precisión y exactitud) de un método alternativo frente a un método de referencia o normalizado. Dentro del laboratorio que desempeña el papel

de organizador se deben contemplar aspectos para la preparación de muestras y traslado. (Meylín, *et al.*, 2013)

- Estudio en un solo laboratorio (*in-house validation*): en la validación en un solo laboratorio existe el riesgo de no tener en cuenta el sesgo del laboratorio y este suele ser el mayor factor de incertidumbre. Es por esto que es necesario realizar comparaciones de las estimaciones de incertidumbre y las de reproducibilidad a partir de ensayos que se realicen de forma colectiva. (Castellucci, 2005)

Para interpretar de manera correcta el concepto de validación es de mucha importancia identificar los requisitos del cliente. Cuando algún cliente solicita el servicio de un laboratorio espera resultados de calidad de acuerdo con los indicadores que se han establecido según la naturaleza de la muestra, que puede ser: ambiental, alimenticia, biológica o farmacológica. El cliente podría esperar que su muestra sea caracterizada de forma correcta con valores exactos, confiables y precisos respecto a las especificaciones de su muestra. Para que un laboratorio pueda garantizar sus resultados es necesario que se apliquen métodos validados. Para validar un método, entonces, es necesario realizar una evaluación de su desempeño de acuerdo con lo establecido en la norma ISO/IEC 17025:2017. (Delgado, 2009)

Figura 4. **¿Cómo se valida un método?**



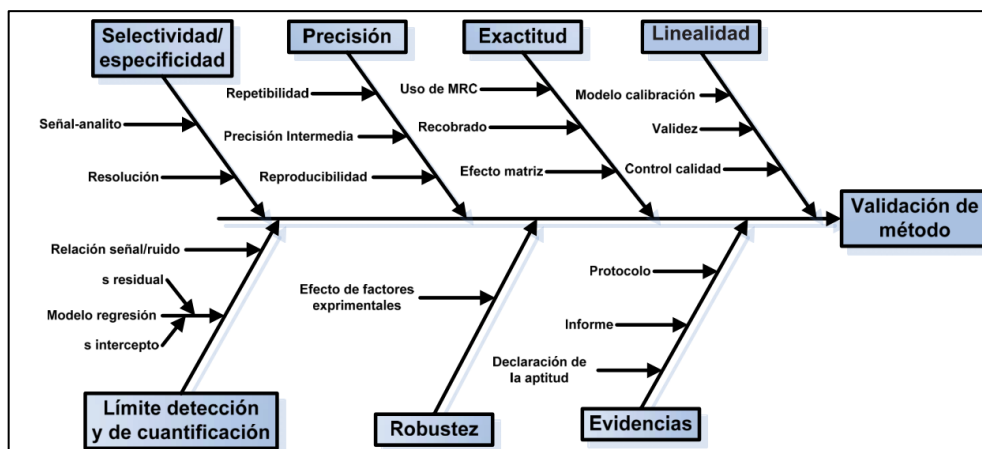
Fuente: Álvarez. (2002). *Requerimientos sobre validación de métodos en el marco de la acreditación de laboratorios según la norma ISO 17025.*

### 2.8.3. **Parámetros de validación**

De acuerdo con la Norma ISO/IEC 17025:2017 los parámetros de validación son: la selectividad o especificidad; la precisión, la exactitud, linealidad y rango; límite de detección, límite de cuantificación y robustez. Estos parámetros son llamados también parámetros técnicos. Es necesario establecer un orden dentro de lo proceso de validación, siendo este orden importante por dos motivos: el primero es la posibilidad de interrumpir el proceso si este no cumple los requisitos mínimos que debería cumplir el método a validar y de esta forma poder ahorrar recursos y tiempo. La segunda razón radica en la posibilidad de analizar la interdependencia de los parámetros de validación de modo que los de mayor relevancia deberían abordarse en primer lugar.

Entonces podría decirse que en primer lugar debería evaluarse los parámetros de selectividad y especificidad, pues es necesario conocer el nivel de respuesta del método a validar al analito de interés sin ninguna interferencia y, en segundo lugar, se debería abordar el estudio de sensibilidad y los límites de detección del método. Por último, se estimaría la veracidad (sesgo) y la precisión expresada como reproducibilidad y repetitividad (Hernández, 2013).

Figura 5. **Parámetros de validación de un método**



Fuente: Delgado (2009). *Validación y verificación de métodos de ensayos. Un dilema en los laboratorios de ensayos y en las auditorías de la acreditación.*

### 2.8.3.1. **Selectividad/especificidad**

La selectividad de un método se refiere a la capacidad que tiene para determinar simultáneamente o de forma separada uno o varios analitos de interés sin interferencia alguna y de forma inequívoca. El término de especificidad es utilizado como un sinónimo de selectividad, pero más específicamente hace referencia a la respuesta que puede producir una única especie química. (AEFI, 2001)

### **2.8.3.2. Precisión**

Este parámetro indica el grado de concordancia entre los resultados que se han obtenido para las réplicas de una misma muestra a la que se le ha aplicado el mismo procedimiento de análisis. El objetivo que persigue un estudio de precisión es el de conocer cuál es la variabilidad de los métodos de ensayo, variabilidad que es debida a los errores que son inherentes a los mismos. Como resultados de estos errores el análisis que es efectuado a una misma muestra bajo las mismas condiciones no producirá los mismos resultados. (González y Herrador, 2007)

#### **2.8.3.2.1. Repetibilidad**

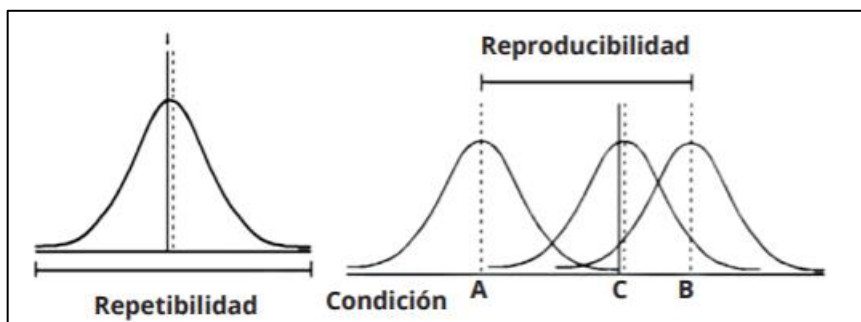
Estudia la variabilidad de un método de ensayo aplicando una serie de análisis sobre la misma muestra y bajo las mismas condiciones dentro de un periodo relativamente corto.

#### **2.8.3.2.2. Reproducibilidad**

Estudia la variabilidad de un método de análisis bajo condiciones experimentales distintas (la hora, el día, el analista).



Figura 6. **Repetibilidad y reproducibilidad**



Fuente: Román, Betancur, Cadavid, Martínez, Imbachí, Muñoz, Ospina, Quiceno, Cardona, Gómez, Argumedo, Passaro, Monsalve y Jiménez (2017). *Conceptos básicos para la validación de metodologías analíticas*.

#### 2.8.4. **Exactitud**

Se refiere al grado de aproximación entre los valores experimentales obtenidos y los valores que son considerados como aceptables. La exactitud debe de evaluarse utilizando materiales de referencia. La utilización de estos materiales de referencia es de una gran importancia para demostrar trazabilidad en los resultados. (Delgado, 2009)

#### 2.8.5. **Linealidad**

Se refiere a la capacidad que posee un método analítico para producir resultados que son, de forma directa o a través de una transformación matemática bien definida, proporcionales a la concentración del analito en la muestra. A partir de los resultados obtenidos a través de un estudio de linealidad se determina la estrategia a utilizar en el método de rutina. (Álvarez, 2002)

### **2.8.6. Límite de detección y de cuantificación**

El límite de cuantificación o concentración neta mínima cuantificable es la cantidad mínima de un analito que puede ser cuantificada con precisión por parte de un método analítico determinado (Ricard, 2004). El límite de detección de un método es entonces la menor concentración de un analito que puede ser confiablemente distinguida en un blanco. (Álvarez, 2002)

El límite de cuantificación es la menor concentración de un analito dentro de una muestra que podría ser determinada con un nivel de incertidumbre que se considera como aceptable. (Álvarez, 2002)

### **2.8.7. Robustez**

La robustez de un método se refiere a la resistencia que poseen los resultados obtenidos al cambio cuando existen desviaciones menores en las condiciones experimentales que son descritas en el procedimiento. Dentro del protocolo de ejecución de un método deberán especificarse las desviaciones permisibles y los límites en los parámetros experimentales, así como aquellos aspectos de un método que son susceptibles de producir variaciones que se consideran significativas en los resultados. Este parámetro de validación se demuestra introduciendo de forma deliberada variaciones en el procedimiento y observando sus efectos en los resultados. (Castellucci, 2005)

## **2.9. Agentes tensoactivos**

Un agente tensoactivo es una molécula que reduce la tensión en la interfase. Debido a esta propiedad los agentes tensoactivos se ubican por lo general en las interfases de los sistemas agua-aceite o agua-aire. La presencia

de una de estas moléculas en un medio acuoso provoca un cambio en la tensión superficial de los líquidos y un incremento en la solubilidad y en la disponibilidad de compuestos orgánicos. (Jiménez, Medina y Gracida, 2010)

### **2.9.1. Clasificación**

Atendiendo a la naturaleza de su grupo hidrófilo los tensoactivos se pueden clasificar de la siguiente manera:

#### **2.9.1.1. Surfactantes aniónicos**

Son todos aquellos que, estando en solución acuosa, se disocian en dos iones, un anión anfífilo y un catión metálico o amonio. Dentro de esta categoría se encuentran contenidos más del 60 % de la producción de los surfactantes, jabones, detergentes, entre otros. (Jean y Alvaro, 2004)

#### **2.9.1.2. Surfactantes catiónicos**

Estos están compuestos por grupos catiónicos en su fracción polar. Son comúnmente sales de amonio cuaternario, amina o una sal de fosfonio, las cuales se encuentran comúnmente unidas a una cadena carbonada de distinta naturaleza. Su uso es más limitado que el que se puede dar a los tensoactivos aniónicos. Son utilizados en la industria de productos textiles como ablandadores de fibras, además a este tipo de compuesto puede atribuírsele propiedades antibacterianas y propiedades como inhibidores de corrosión. (Cantarero, 2010)

## **2.10. Tensoactivos y el ambiente**

A pesar de la que la aplicación de agente tensoactivos trae ventajas principalmente a la economía, a la producción industrial y a la situación sanitaria de la población, existe un factor de interés que ha ido ganando relevancia y es el de los efectos ambientales que trae consigo la utilización de estas sustancias. La aplicación de estas sustancias se encuentra encabezada por la producción de detergentes y su uso doméstico, uso que ha transformado a los tensoactivos en un importante contaminante del recurso hídrico, esto debido que son arrastrados por las aguas residuales hasta los sistemas depuradores o en muchos casos son vertidos a los suelos y las aguas superficiales. (Brand, 2019)

Los problemas ambientales que puede provocar un detergente como consecuencia de su presencia en las aguas se pueden resumir de la siguiente manera:

- Aumento de pH en las aguas residuales hasta valores por encima de 12.
- Incremento de niveles de cloro y compuestos organoclorados, posiblemente de carácter tóxico o carcinógeno.
- Es necesario el oxígeno para degradar los diferentes compuestos orgánicos que forman el detergente, lo que podría causar condiciones anóxicas peligrosas para las formas de vida en el medio.
- Reducción de la efectividad en los procesos de coagulación y sedimentación en las unidades depuradoras.

- Acumulación de sales por precipitación en diferentes matrices medioambientales.

Por todo lo anterior se ha potenciado en las últimas décadas la formulación de diferentes tipos de detergentes con sustancias que son degradables fácilmente. Además, se han desarrollado nuevas metodologías analíticas capaces de determinar los tensoactivos en cualquiera que sea su forma y en las diferentes matrices medioambientales. (Cantarero, 2010)

### **2.10.1. Legislación ambiental**

Los avances en la legislación relacionada con la presencia de tensoactivos en las matrices ambientales van relacionadas con la problemática que surge como una consecuencia de su utilización y consumo, influida por dos aspectos ambientales muy importantes: la aparición de espumas y de metabolitos de alta toxicidad. (Cantarero, 2010)

#### **2.10.1.1. Sobre las normas y guías de calidad del agua en Guatemala**

En Guatemala, el Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología (INSIVUMEH) es la institución que tiene la responsabilidad de realizar estudios hidrometeorológicos, dentro de lo cual se incluyen monitores de calidad del agua en las diferentes cuencas y principales ríos del país. Del mismo modo, las cuatro principales autoridades: Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Amatitlán (AMSA), Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Atitlán y su Entorno (AMSCLAE), Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Izabal y Río Dulce (AMASURLI), y Autoridad para el Manejo y

Desarrollo Sostenible de la Cuenca del Lago de Petén Itzá (AMPI), generan datos para la evaluación de la calidad del agua dentro de los lagos y ríos.

En un reporte elaborado por el Instituto Nacional de Estadística se logró una sistematización de datos para dar a conocer los parámetros que son monitoreados por cada una de las autoridades de cuencas, siendo estos los más importantes: temperatura, conductividad, salinidad, sólidos totales disueltos, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, potencial de hidrógeno, transparencia, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, nitrógeno, total, nitrógeno de nitrito, nitrógeno de nitrato, nitrógeno de amoníaco, fósforo de ortofosfato, sílice, sulfato, sulfito, cianuro, tensoactivos, grasas y aceites, aluminio, arsénico, calcio, cadmio, cobre, cromo total, cromo hexavalente, hierro, manganeso, mercurio, potasio, magnesio, níquel, sodio, plomo, cinc, color, turbiedad, dureza, sólidos suspendidos, sólidos sedimentables, clorofila, feotina, coliformes totales, E. coli, caudal, conductividad, oxígeno disuelto disponible y fósforo total.

Respecto a las guías de calidad del agua disponibles en Guatemala, la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) ha emitido la Norma COGUANOR NGO 29001 para agua potable, publicada en el año 2000 a través del *Diario de Centroamérica*. Aunque los cuerpos de agua monitoreados no sean exclusivamente para el consumo humano, esta norma define al agua potable como aquella que por sus características de calidad especificadas es adecuada para el consumo humano, describiendo para el efecto las características físicas, químicas y bacteriológicas.

El Acuerdo Gubernativo 236-2006: *Reglamento de las descargas y reúso de aguas residuales y de la disposición de lodos*, tiene por objetivo establecer todos los parámetros y criterios que deben ser cumplidos para la descarga de

aguas residuales y disposición de lodos, de manera que se logre la protección de los cuerpos receptores de estas descargas y la disminución del impacto proveniente de la actividad humana. Este reglamento define los parámetros y los límites máximos permisibles para descarga de aguas residuales en cuerpos receptores y las etapas de cumplimiento para entes generadores. Cabe mencionar dentro de este acuerdo no se incluye la determinación de tensoactivos a pesar de que existen estudios que hacen referencia al impacto que estos tienen sobre el recurso hídrico, por lo que es necesario realizar una revisión técnica a este reglamento.

## **2.11. Método 5540 – C de surfactantes aniónicos como SAAM**

Este es un método espectrofotométrico, basado en la transferencia del azul de metileno, un colorante catiónico, desde una fase acuosa a una orgánica en equilibrio, debido a la presencia de sustancias activas al azul de metileno. La intensidad del color azul es una medida de la concentración de SAAM determinada por espectrofotometría a una longitud de onda de 652 nm.

### **2.11.1. Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)**

Las sustancias activas al azul de metileno son aquellas que llevan a cabo una transferencia del azul de metileno de una solución acuosa a un líquido orgánico inmiscible, hasta el equilibrio. Esto debido a la formación de un par iónico entre el anión SAAM y el catión azul de metileno en donde la intensidad del color azul en la fase orgánica es una medida de la presencia de sustancias activas al azul de metileno. Los agentes tensoactivos naturales y sintéticos muestran una actividad al azul de metileno. Este método es útil y relativamente simple y preciso para valorar el contenido de surfactantes aniónicos en las aguas limpias y residuales. (APHA, *et al.*, 1989)

### **2.11.2. Métodos colorimétricos**

La colorimetría se refiere a una de las técnicas más empleadas en los laboratorios de análisis. Estos métodos proporcionan información cualitativa y cuantitativa sobre sustancias en disolución. Un colorímetro es un instrumento que ha sido diseñado para dirigir un haz de luz monocromática a través de una muestra líquida y medir la intensidad de la luz que emerge de la misma. Estas técnicas se basan en la medida de la absorción de radiación en la zona visible del espectro, es decir se basan en la medición de la absorción de radiación en la zona visible por sustancias coloreadas. La absorbancia de una solución es proporcional a su concentración, a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas. (Aparicio, 2017)

### **2.11.3. Ley de Lambert – Beer**

Esta ley muestra la relación existente entre la absorbancia de luz monocromática y la concentración de un cromóforo en una solución. Esta ley expresa que la fracción de luz incidente que es absorbida por una solución a una longitud de onda específica está relacionada con el paso óptico y con la concentración de la especie de una sustancia absorbente. Estas dos relaciones se encuentran combinadas en la ley de Lambert-Beer.

$$A = \log \frac{I}{I_0} = \varepsilon * c * l$$



### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Variables

A continuación, se presentan las variables definidas para este estudio de investigación, que representan aquellos atributos medibles y que cambian o permanecen constantes a lo largo del experimento.

Tabla I. **Variables del diseño experimental**

Variable	Dimensional	Factor de diseño	
		Constante	Variable
<b>Preparación de la muestra</b>			
Temperatura de la muestra	°C	X	
Volumen de Fenoltaleína	mL	X	
Volumen de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	mL	X	
Volumen de NaOH	mL	X	
Volumen de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	mL	X	
<b>Apareamiento iónico y Extracción</b>			
Volumen de muestra	mL		X
Volumen de CHCl <sub>3</sub>	mL		X
Volumen de alcohol isopropílico	mL	X	
Longitud de onda fotómetro	nm	X	
Concentración de SAAM	mg/L		X

Fuente: elaboración propia.

### **3.2. Delimitación del campo de estudio**

Este estudio se llevará a cabo en el km 14.5 de la Carretera a El Salvador, Ofibodegas Muxbal, Santa Catarina Pinula. Dentro de las instalaciones del Laboratorio de Calidad del Agua, que pertenece al Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Esta investigación busca dar cumplimiento a las funciones que se le atribuyen a esta unidad en el Acuerdo Gubernativo 073 – 2021: *Reglamento Orgánico Interno del Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales*, específicamente recomendar la actualización de la normativa vigente, en función de las investigaciones realizadas, a través de la implementación de un método de análisis que permita la cuantificación de surfactantes aniónicos en muestras de aguas residuales y superficiales.

En este estudio se realizará la implementación y la determinación de los parámetros de desempeño de una modificación al SM 5540 – C, de acuerdo con los procedimientos descritos en la *Política de la Selección y Validación de Métodos de Ensayo OGA-GEC-016*, determinando el intervalo lineal de trabajo, un análisis de porcentaje de recuperación de estándares, la realización de estudios de repetibilidad y reproducibilidad, y la determinación de los límites de cuantificación y detección. También se realiza el análisis estadístico correspondiente que permita interpretar los resultados obtenidos.

### **3.3. Recurso humano disponible**

- Investigador: Br. Carlos Enrique Cruz Espina
- Asesora: M. Sc. Ing. Jessy Mabel Alfaro Soto

### **3.4. Recursos materiales disponibles**

Constituye todo aquel equipo, reactivos y espacio físico a utilizar para el desarrollo de este proyecto.

#### **3.4.1. Reactivos**

- Dodecil sulfato, sal sódica para bioquímica y test de surfactantes. No. CAS: 151-21-3, Merck 1.12533.0050.
- Hidróxido de sodio, perlas para análisis. No CAS:1310-73-2, Supelco 1.06498.1000.
- EMSURE, ácido sulfúrico 98 % para análisis. No. CAS: 7664-93-9, Merck
- ACS, ISO, Reag. Ph Eur. Cloroformo para análisis. No. CAS 57-66-3, Supelco 1.02445.4000.
- Solución indicadora de fenolftaleína, RGH.
- Reag. Ph Eur. Azul de metileno (C.I. 52015), Merck 1.59270.0010.
- ISO. Peróxido de Hidrógeno 30 % (Perhydrol ®), para análisis, Supelco 1.07210.1000.
- Lana de vidrio.
- Agua destilada libre de SAAM, ELGA PURELAB Prima.
- ACS. Reag. Ph Eur. Fosfato de sodio monobásico, para análisis. No. CAS: 10049-21-5, Supelco 1.06346.1000.

#### **3.4.2. Instrumentos de medición**

- Espectrofotómetro UV/Vis HACH modelo DR 6000
- Balanza analítica, Adam Equipment modelo ABL 125
- Pipeta automática Brand modelo Transferpette de 1,0 – 10,0 mL  $\pm$  0,6 %
- Pipeta automática Brand modelo Transferpette de 0,5 – 5,0 mL  $\pm$  0,6 %

- Pipeta automática Brand modelo Transferpette de 0,1 – 1,0 mL  $\pm$  0,6 %
- Balón aforado 100 mL  $\pm$  0,10, Pyrex clase A
- Balón aforado 1000 mL  $\pm$  0,30, Kimax Kimble clase A
- Balón aforado 2000 mL  $\pm$  0,60, Pyrex clase A

#### **3.4.3. Equipo adicional**

- Campana de extracción de gases, Labconco Premier
- Respirador con filtros de carbón activado 3M 6038

#### **3.4.4. Cristalería y materiales**

- Embudos de separación de 250 mL, Pyrex.
- Vidrio de reloj.
- Frasco 1,000 mL, Pyrex.
- Espátula.
- Tubos de ensayo graduados con tapa de rosca de 20 mL, previamente calibrados.

### **3.5. Técnica cuantitativa**

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizó espectrofotometría Uv – VIS como método analítico cuantitativo para la determinación no específica de la concentración de surfactantes aniónicos en soluciones estándar, preparadas con dodecilsulfato de sodio como surfactante aniónico de referencia para el análisis, a una longitud de onda de 652 nm.

Previo a la determinación por espectrofotometría de la concentración total de surfactantes aniónicos, se realizó la preparación de la muestra para

análisis utilizando peróxido de hidrógeno para evitar la decoloración del azul de metileno por la presencia de sulfuros. Posteriormente se realizaron tres extracciones sucesivas en fase líquida de acuerdo con el método normalizado para el análisis de aguas potables y residuales 5540 – C. Se utilizó cloroformo como solvente para lograr la transferencia total del indicador azul de metileno desde una fase acuosa a una fase orgánica en equilibrio, como resultado de la formación de un par iónico entre el catión azul de metileno y el anión (SAAM). La intensidad del color resultante representó la medida de la concentración de las sustancias activas al azul de metileno presentes en la muestra para análisis.

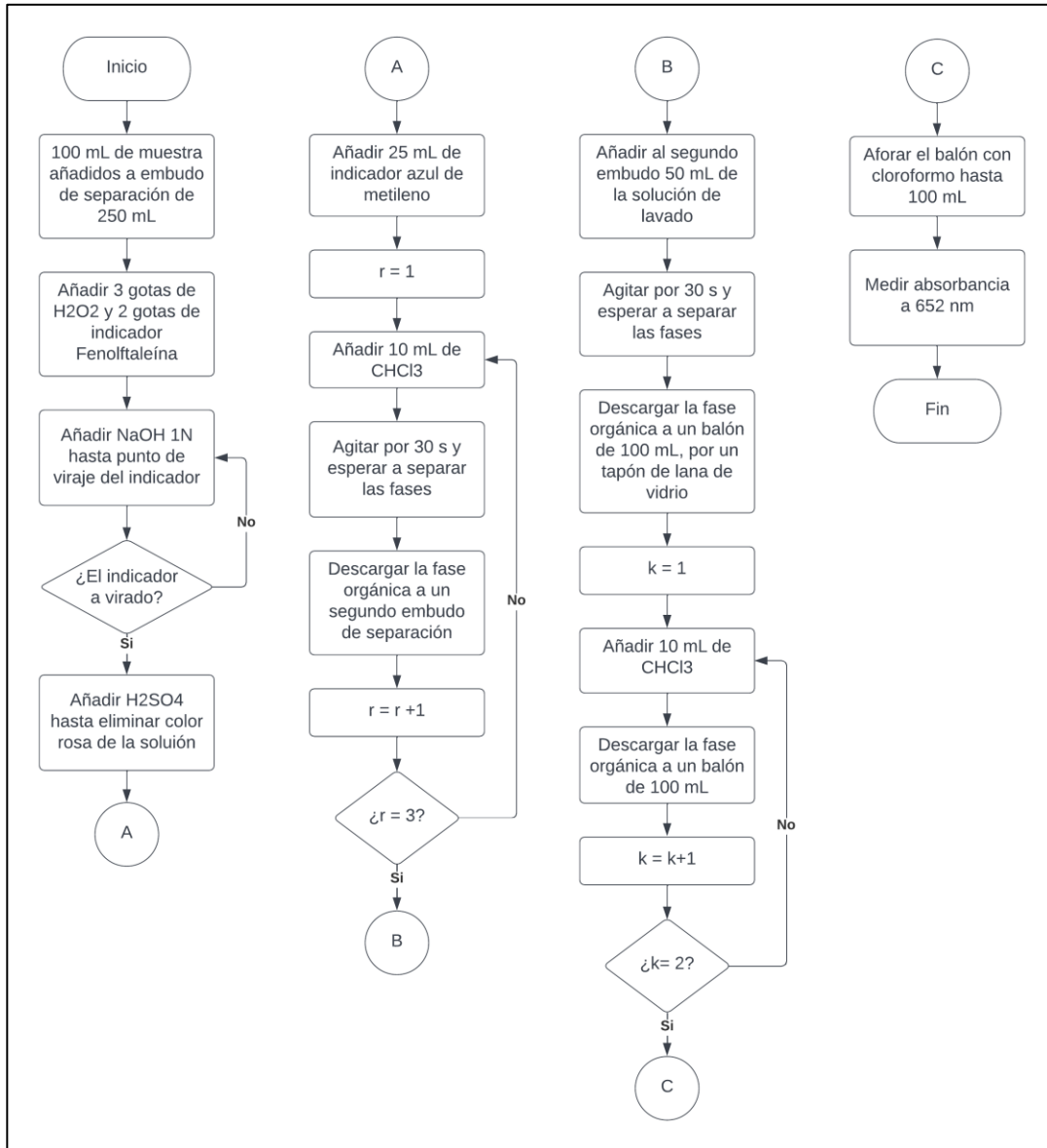
Para la realización del experimento se utilizó un espectrofotómetro marca HACH, modelo DR600, ubicado en las instalaciones del Laboratorio de Calidad del Agua del Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Los resultados obtenidos a partir del método normalizado se utilizaron como referencia para evaluar los porcentajes de recuperación y linealidad del método propuesto y los resultados obtenidos para la evaluación de los parámetros de desempeño del método, exactitud y sesgo, así como límites de cuantificación y detección.

### **3.6. Recolección y ordenamiento de la información**

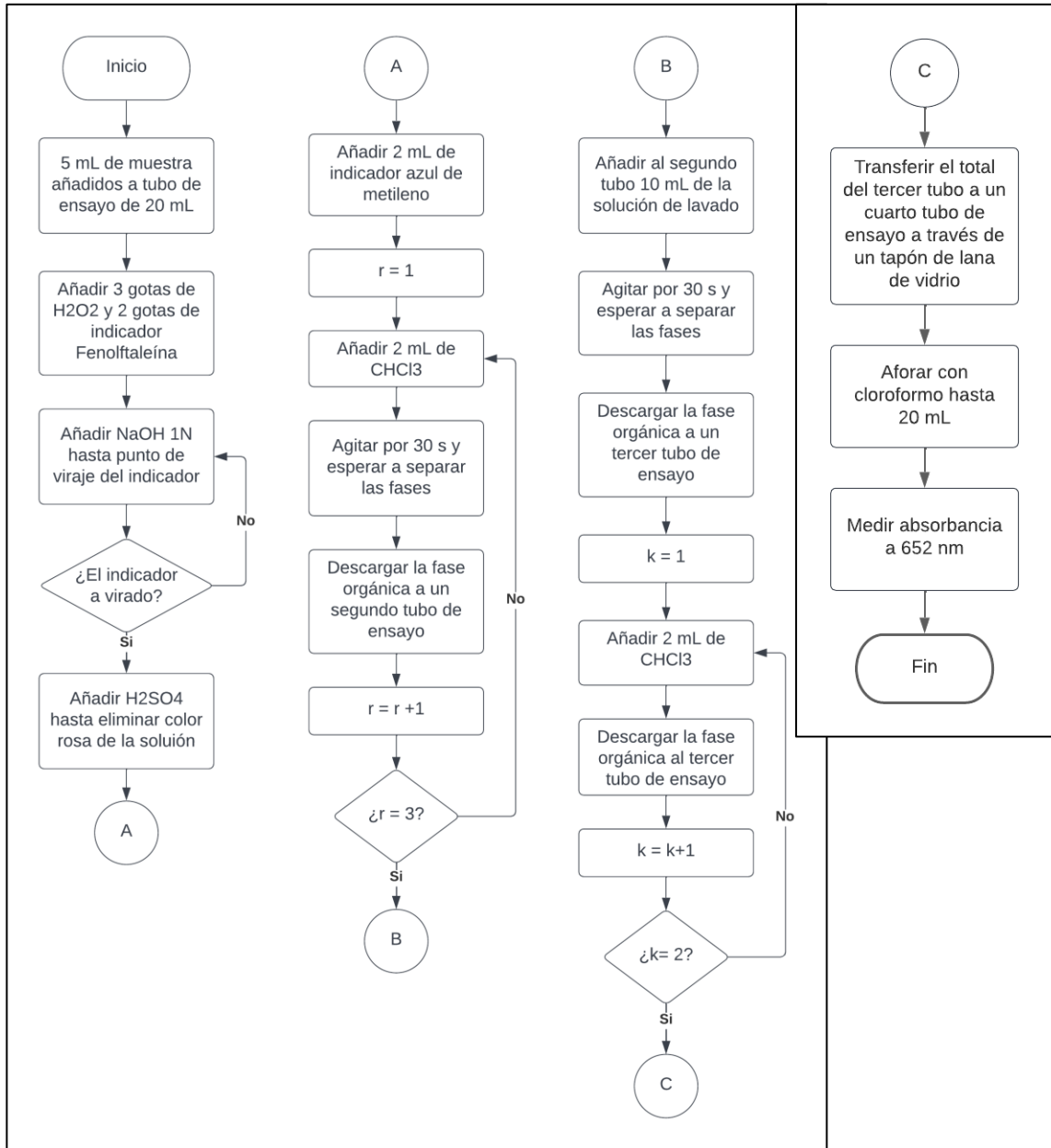
A continuación, se detalla, a través de un diagrama de flujo, el procedimiento utilizado para la obtención de los resultados.

Figura 7. Método normalizado 5540 – C



Fuente: elaboración propia, empleando Visio 2019.

Figura 8. **Modificación propuesta al método normalizado 5540 – C**



Fuente: elaboración propia, empleando Visio 2019.

### 3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

A continuación, se presenta la tabulación y el ordenamiento de la información obtenida durante el desarrollo de este proyecto.

Tabla II. **Datos experimentales para la curva de calibración para el método normalizado 5540 – C**

<b>Curva de calibración del método normalizado 5540 -C</b>				
Concentración (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio
0.00	0	-0.002	0	-0.001
0.40	0.097	0.096	0.092	0.095
1.00	0.273	0.281	0.261	0.272
1.50	0.471	0.429	0.441	0.447
2.00	0.591	0.573	0.567	0.577

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla III. **Datos experimentales para la curva de calibración, modificación propuesta al método normalizado 5540 – C**

<b>Curva de Calibración Modificación Método Normalizado 5540 -C</b>				
Concentración (mg/L)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio
0.00	0.007	0.0012	0.009	0.006
0.40	0.042	0.037	0.040	0.040
1.00	0.078	0.073	0.07	0.074
1.50	0.102	0.109	0.107	0.106
2.00	0.139	0.158	0.143	0.147

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.



Tabla IV. **Datos experimentales para análisis de porcentaje de recuperación, método normalizado 5540 – C**

<b>Método Normalizado 5540 -C</b>			
Concentración SAAM	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0.25 ppm en agua destilada	0.055	0.055	0.056
0.8 ppm en agua destilada	0.198	0.216	0.216
Muestra fortificada (1.2 ppm en agua de grifo)	0.312	0.326	0.309
Muestra sin fortificar (agua de grifo)	-0.005	-0.004	-0.006

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla V. **Datos experimentales para análisis de porcentaje de recuperación, modificación al método normalizado 5540 – C**

<b>Modificación Método Normalizado 5540 -C</b>			
Concentración SAAM	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0.25 ppm en agua destilada	0.024	0.025	0.026
0.8 ppm en agua destilada	0.061	0.060	0.061
Muestra fortificada (1.2 ppm en agua de grifo)	0.090	0.086	0.084
Muestra sin fortificar (agua de grifo)	0.008	0.011	0.009

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla VI. **Datos experimentales para la determinación del límite de detección de la modificación del método normalizado**

<b>Repetición</b>	<b>Abs LD</b>
1	0.012
2	0.010
3	0.008
4	0.012
5	0.006
6	0.012
7	0.008
8	0.009
9	0.016
10	0.012
<b>Promedio</b>	0.011
<b>Desviación estándar</b>	0.003
<b>LD</b>	0.018

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla VII. **Datos experimentales para la determinación del límite de cuantificación de la modificación del método normalizado**

<b>Repetición</b>	<b>Abs LC</b>
1	0.039
2	0.035
3	0.036
4	0.033
5	0.036
6	0.035
7	0.039
8	0.038
9	0.037
10	0.035
<b>Promedio</b>	0.036
<b>Desviación estándar</b>	0.0019

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla VIII. **Datos experimentales para análisis de repetibilidad y sesgo**

<b>Muestra</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Abs</b>
1	0.5	0.041
		0.042
		0.042
2	1.0	0.071
		0.073
		0.073
3	2.0	0.140
		0.139
		0.142

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Tabla IX. **Datos experimentales para el análisis de reproducibilidad**

	<b>Muestra 1</b>	<b>Muestra 2</b>	<b>Muestra 3</b>
	<b>0.5 mg/L</b>	<b>1 mg/L</b>	<b>2 mg/L</b>
<b>Día 1</b>	0.041	0.076	0.15
	0.042	0.072	0.152
	0.042	0.074	0.149
<b>Día 2</b>	0.041	0.077	0.152
	0.041	0.074	0.151
	0.042	0.074	0.151
<b>Día 3</b>	0.043	0.075	0.152
	0.040	0.076	0.148
	0.042	0.074	0.152

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

### 3.8. Análisis estadístico

En la etapa posterior al desarrollo experimental del presente trabajo de investigación se realizó el análisis estadístico de los datos experimentales obtenidos, para determinar los parámetros de desempeño que son de interés para el método implementado.

#### 3.8.1. Media aritmética

$$\bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$$

Donde

X: es la media aritmética

X<sub>i</sub>: valor individual de la medición realizada

n: número total de observaciones

#### 3.8.2. Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

Donde:

s desviación estándar

$\bar{x}$  media aritmética

$x_i$  valor de lectura

n número de lectura

### 3.8.3. Error relativo

$$\%E = \frac{|D_e - D_t|}{D_t}$$

Donde:

%E: es el porcentaje de error relativo

D<sub>t</sub>: es el valor real o teórico

D<sub>e</sub>: es el valor o la medición obtenida por medio de la experimentación

### 3.8.4. Análisis de varianza de un factor

Los modelos de ANOVA son las llamadas técnicas de análisis de dependencia multivariables, que son utilizadas para el análisis de datos procedentes de diseños que incluyen una o más variables. Estos modelos permiten comparar los valores medios de una variable dependiente en una población, con la finalidad de determinar si existen diferencias significativas según los niveles o si la respuesta a cada población es independiente de los niveles de los factores.

Tabla X. Análisis de varianza de un factor

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F Calculada
Tratamientos	$SCT = \sum_i^k \sum_j^n (x_{i,j} - \bar{X})^2$	$k - 1$	$S_1^2 = \frac{SCT}{(k - 1)}$	$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$
Error	$SCE = \sum_i^k \sum_j^n (x_{i,j} - \bar{x}_i)^2$	$k(n - 1)$	$S_2^2 = \frac{SCE}{k(n - 1)}$	
Total	$STC = n \sum_i^k (\bar{x}_i - \bar{X})^2$	$nk - 1$		

Fuente: Laboratorio de Calidad del Agua, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

### 3.8.5. Prueba t-Student

Se realizó la prueba de t-Student de los valores de las mediciones del porcentaje de recuperación obtenidas por ambos métodos. Los datos fueron evaluados con un nivel de confianza del 95 % ( $\alpha = 0.05$ ).

Tabla XI. **Prueba t para una concentración de 0.25 mgL<sup>-1</sup> de SAAM**

<b>0.25 mgL<sup>-1</sup> en agua destilada</b>	
Estadístico t	1.878421592
P(T<=t) una cola	0.066762286
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786
P(T<=t) dos colas	0.133524571
Valor crítico de t (dos colas)	2.776445105

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Prueba t para una concentración de 0.8 mgL<sup>-1</sup> de SAAM**

<b>0.8 mgL<sup>-1</sup> en agua destilada</b>	
Estadístico t	2.581018435
P(T<=t) una cola	0.030630767
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786
P(T<=t) dos colas	0.061261535
Valor crítico de t (dos colas)	2.776445105

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. Prueba t para una muestra fortificada

<b>Muestra fortificada (1.2 mgL<sup>-1</sup> en agua de grifo)</b>	
Estadístico t	1.94638727
P(T<=t) una cola	0.061734104
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786
P(T<=t) dos colas	0.123468208
Valor crítico de t (dos colas)	2.776445105

Fuente: elaboración propia.

### 3.8.6. Análisis de reproducibilidad y repetitividad

La repetitividad se define como la cercanía, entre sí, de los datos obtenidos aplicando el mismo método bajo las mismas condiciones. El parámetro estadístico que determina este estudio es la Desviación Estándar Relativa (DSR), la cual debe estar por debajo de 1 %. La reproducibilidad se define como la proximidad entre los resultados de las mediciones realizadas en las que se ha hecho variar las condiciones de la experimentación. Las condiciones que se hacen variar pueden ser: el patrón de referencia, el analista, los instrumentos de medición, entre otros. La medida cuantitativa que caracteriza a este parámetro de desempeño es la desviación estándar relativa, la cual debería estar por debajo de 2 %:

$$DSR\% = \frac{S}{\bar{x}} * 100$$

- DSR* Desviación estándar relativa
- S* Desviación estándar
- $\bar{x}$  Promedio

Tabla XIV. **Análisis estadístico de regresión lineal para la curva de calibración del método normalizado 5540 – C**

<b>Método normalizado 5540-C</b>			
Parámetro	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
Intercepto	-0.013	-0.010	-0.013
Pendiente	0.306	0.291	0.291
R <sup>2</sup>	0.997	0.9996	0.998
Error típico	0.022	0.008	0.017
p (ANOVA)	< 0.05	<0.05	<0.05
Suma de cuadrados residual	1.41E-03	1.79E-04	8.98E-04

Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Análisis estadístico de regresión lineal para la curva de calibración de la modificación al método propuesto**

<b>Modificación del método normalizado 5540-C</b>			
Parámetro	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
Intercepto	0.012	0.008	0.0096
Pendiente	0.063	0.071	0.066
R <sup>2</sup>	0.996	0.995	0.998
Error típico	0.005	0.007	0.004
p (ANOVA)	<0.05	<0.05	<0.05
Suma de cuadrados residual	7.79E-05	1.46E-04	5.05E-05

Fuente: elaboración propia.



Tabla XVI. **Análisis estadístico para la determinación de la repetitividad**

Muestra	Concentración (mg/L)	Abs	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
1	0.5	0.041	0.042	0.0006	1.386
		0.042			
		0.042			
2	1.0	0.071	0.072	0.0012	1.596
		0.073			
		0.073			
3	2.0	0.140	0.14	0.0015	1.088
		0.139			
		0.142			
<b>COEFICIENTE DE VARIACIÓN PROMEDIO</b>					
1.357					

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Análisis estadístico para el análisis de reproducibilidad**

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	0.5 mg/L	1 mg/L	2 mg/L
<b>Día 1 abs promedio</b>	0.042	0.074	0.150
<b>Día 2 abs promedio</b>	0.041	0.075	0.151
<b>Día 3 abs promedio</b>	0.041	0.075	0.151
<b>Promedio</b>	0.0414	0.0747	0.1508
<b>Desviación estándar</b>	0.0002	0.0006	0.0005
<b>Coefficiente de variación (%)</b>	0.46	0.77	0.34
<b>Coefficiente de variación promedio</b>			
0.53			

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Análisis estadístico para el análisis de sesgo y exactitud**

Muestra	Concentración (mg/L)	Abs	Concentración (mg/L)	Error relativo (%)	Sesgo
1	0.5	0.041	0.47	5.37	0.027
		0.042	0.49	2.39	0.012
		0.042	0.49	2.39	0.012
2	1.0	0.071	0.92	7.91	0.079
		0.073	0.95	4.93	0.049
		0.073	0.95	4.93	0.049
3	2.0	0.140	1.95	2.46	0.049
		0.139	1.94	3.21	0.064
		0.142	1.98	0.97	0.019
<b>Promedio</b>				3.84	0.040

Fuente: elaboración propia.

### **3.8.7. Análisis de la incertidumbre para la modificación al método normalizado**

En el presente trabajo de investigación se evaluó la incertidumbre de la medición en la cuantificación no específica del contenido de surfactantes aniónicos contenidos en una muestra, a través de la aplicación de la ley de propagación de la incertidumbre descrita en *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM).

#### **3.8.7.1. Incertidumbre debida a la resolución de un instrumento, tipo B**

La habilidad que tiene un instrumento para dar respuesta a los cambios en la medición se puede considerar como la incertidumbre de la medición debida a la resolución, y en aquellos instrumentos digitales puede ser

considerada como  $\pm \frac{1}{2}$  de la menor diferencia que puede haber entre dos lecturas.

### 3.8.7.2. Incertidumbre debida a la repetibilidad del método de ensayo, tipo A

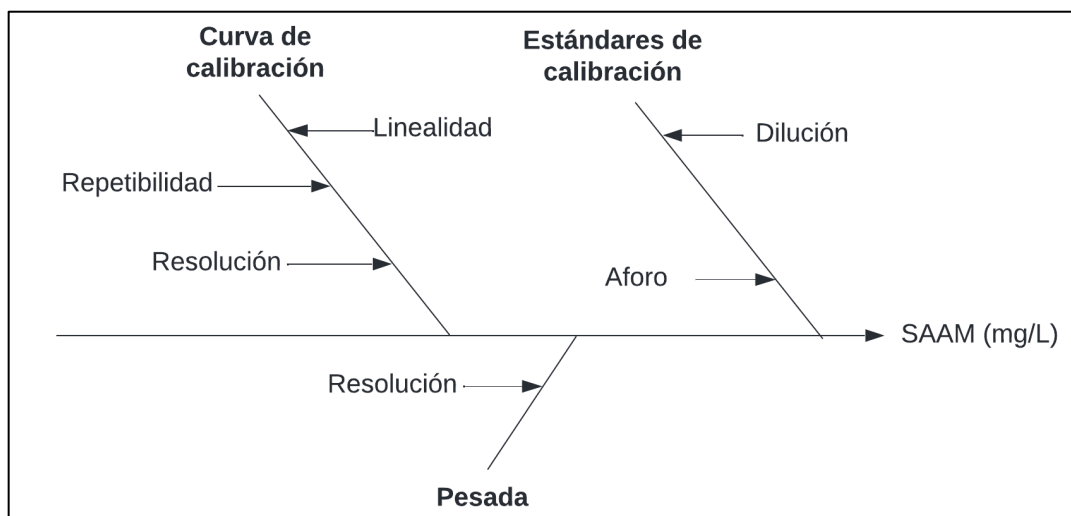
El aporte de la repetibilidad de un método de ensayo a la incertidumbre es obtenido a través de la desviación estándar en ensayos de reproducibilidad.

$$u_{rep} = S_R$$

### 3.8.7.3. Análisis del proceso de medición

Se realizó la identificación de las fuentes de incertidumbre a través de un análisis de causa y efecto.

Figura 9. Fuentes de incertidumbre en la determinación de SAAM



Fuente: elaboración propia, empleando Visio 2019.

### 3.8.7.4. Definición del modelo

A continuación, se muestra el modelo utilizado para el cálculo de la incertidumbre del mensurado:

$$C = f_{ajuste\ lineal} \cdot f_{dilución} \cdot f_{peso} \cdot f_{volumen}$$

La incertidumbre se describe como la suma cuadrática de las incertidumbres individuales, multiplicada por un coeficiente de sensibilidad, obteniendo entonces:

$$u = u_{Co}$$

Donde:

$u_{Co}$ : es la incertidumbre debida a la calibración

- Curva de calibración

La construcción de una curva de calibración para un equipo es una de las mayores fuentes de incertidumbre, para esta investigación se evaluó dicho efecto de la siguiente forma:

- Curva de calibración

Se considera la incertidumbre debida al ajuste lineal de la curva, la cual se calcula siguiendo la siguiente expresión:

$$u_{Co} = \frac{s}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{Sxx}}$$

- Estándar

La incertidumbre que se deriva de la construcción de una curva de calibración viene determinada por el material de referencia y por aquellas diluciones necesarias para obtener cada uno de los puntos de calibración:

$$u_{est} = \sqrt{\left(\frac{u_w}{V}\right)^2 + \left(\frac{m}{V^2}\right)^2} u_V$$

- Preparación de los estándares de la curva de calibración

Los estándares preparados para la calibración fueron los siguientes: 0.4, 1, 1.5, y 2 mgL<sup>-1</sup>. Para cada uno de los puntos en la curva de calibración se prepararon 100 mL, teniendo un factor de dilución y, por lo tanto, se tuvieron dos volúmenes, el volumen final y el de la toma de las alícuotas, ambos con la incertidumbre que les corresponde.

- Calibración del matraz: para esta componente se asume que la incertidumbre indicada por el fabricante (balón aforado, clase A) siguen una distribución triangular:

$$u_v = u_{calib} = \frac{\text{incertidumbre}}{\sqrt{6}}$$

- Alícuotas: por otro lado, para la preparación de los estándares es necesario tomar alícuotas, para esta componente se asume que la incertidumbre indicada por el fabricante sigue una distribución triangular:

$$u_{ali} = u_{calib} = \frac{\text{incertidumbre}}{\sqrt{6}}$$

Por lo tanto, la incertidumbre debida al factor de dilución será:

$$u_f = \sqrt{\left(\frac{u_v}{V}\right)^2 + \left(\frac{u_{ali}}{V_{ali}}\right)^2}$$

Entonces, la incertidumbre generada por cada patrón será:

$$u_{est} = \sqrt{\left(\frac{u_{est}}{C_{Est}}\right)^2 + \left(\frac{u_f}{f}\right)^2}$$

Finalmente, la incertidumbre debida a la calibración del equipo será:

$$u_{Co} = \sqrt{u_{Ajuste}^2 + nu_{est}^2}$$

Tabla XIX. **Incertidumbre debida a la calibración**

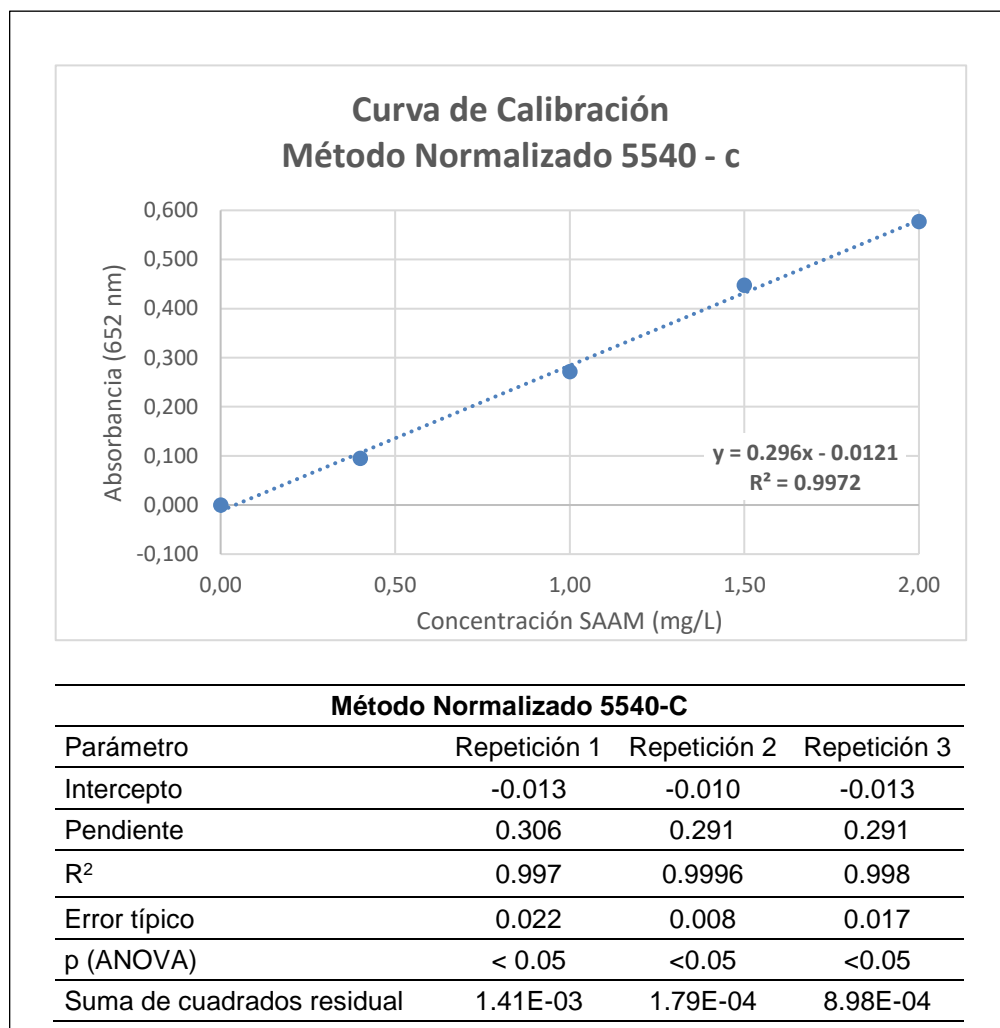
Causa	Tipo	Incertidumbre	Unidades
Ajuste lineal	Tipo A	0.059	mg/L
Material de referencia	Tipo A	0.316	mg/L
Medición de volumen (balón)	Tipo B	0.041	mL
Medición de volumen (pipeta)	Tipo B	0.002	mL
Factor de dilución	Tipo B	0.024	mL
Preparación de estándar de calibración	Tipo B	0.003	mg/L
<b>Incertidumbre estándar del método</b>	<b>0.0759</b>		<b>mg/L</b>

Fuente: elaboración propia.

## 4. RESULTADOS

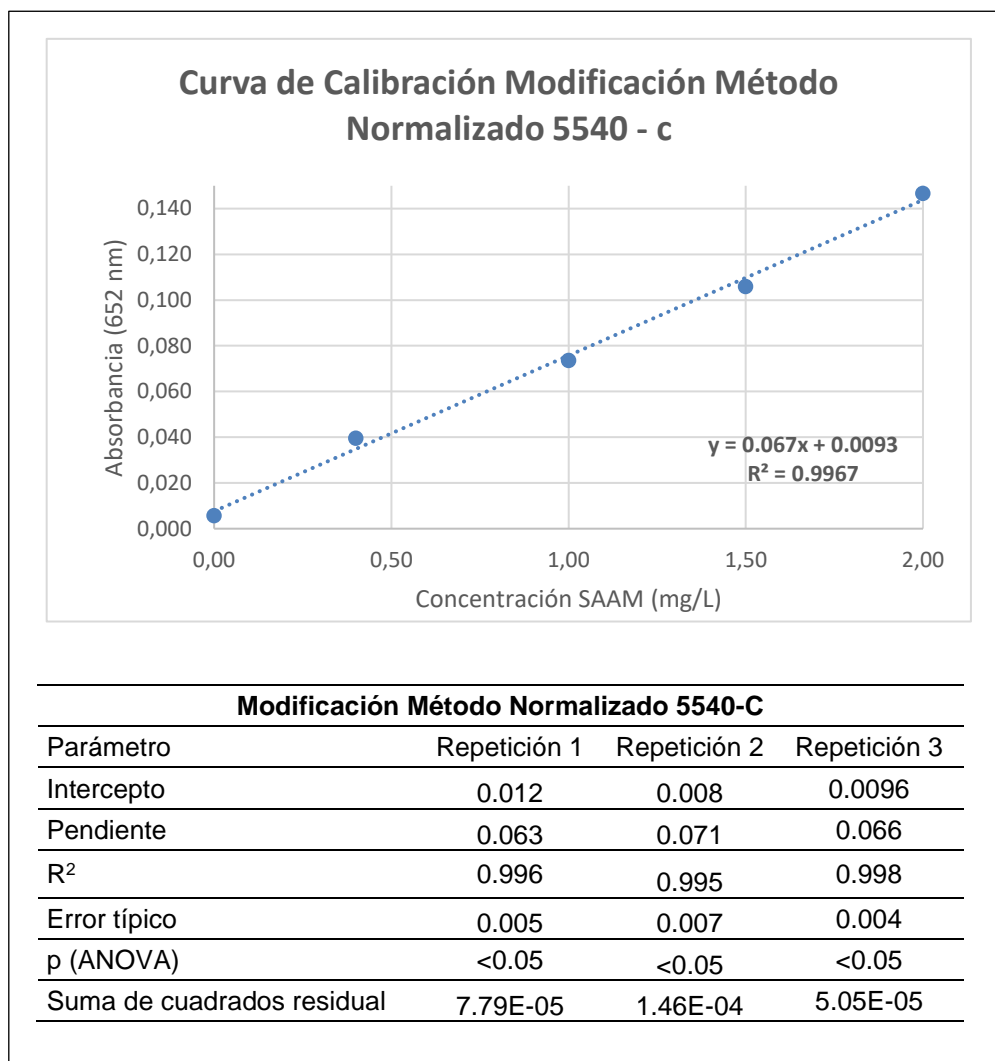
A continuación, se presentan los resultados de la investigación:

Figura 10. **Curva de calibración e intervalo lineal de trabajo para el método normalizado 5540 – C**



Fuente: elaboración propia.

Figura 11. **Curva de calibración e intervalo lineal de trabajo para la modificación al método normalizado 5540 – C**



Fuente: elaboración propia.



Tabla XX. **Análisis del porcentaje de recuperación para el método normalizado 5540 – C**

<b>% Recuperación del método normalizado 5540 -C</b>				
Concentración SAAM	%Rec1	%Rec2	%Rec3	<b>Promedio</b>
0.25 ppm en agua destilada	99.8	99.8	101.3	100.3
0.8 ppm en agua destilada	97.6	106.0	106.0	103.2
Muestra fortificada (1.2 ppm en agua de grifo con 0.025 ppm SAAM)	98.3	102.7	97.4	99.5

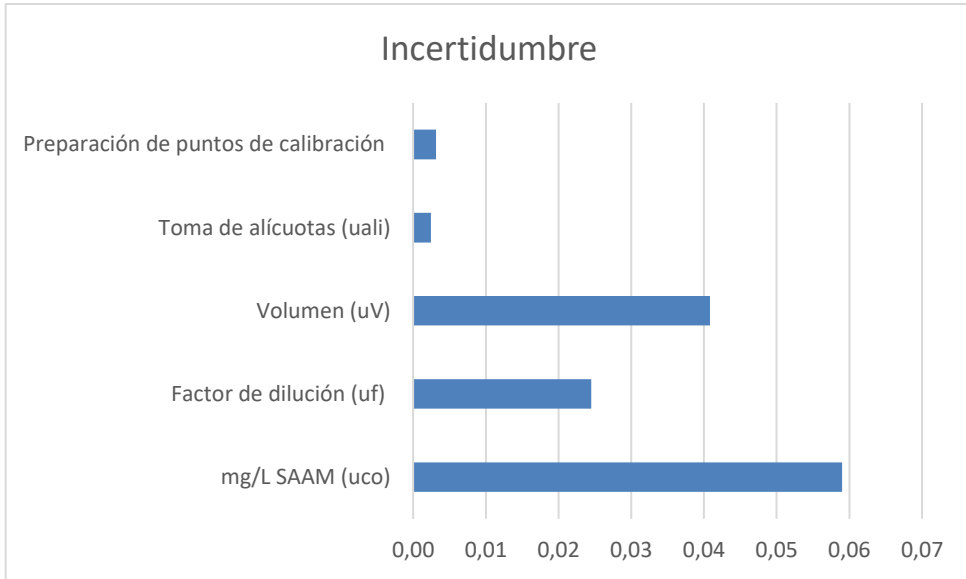
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXI. **Análisis de porcentaje de recuperación para la modificación propuesta al método normalizado 5540 – C**

<b>% Recuperación de la modificación del método normalizado 5540 -C</b>				
Concentración SAAM	%Rec1	%Rec2	%Rec3	<b>Promedio</b>
0.25 ppm en agua destilada	87.8	93.7	99.7	93.7
0.8 ppm en agua destilada	96.5	94.6	96.5	95.8
Muestra fortificada (1.2 ppm en agua de grifo con 0.025 ppm SAAM)	98.3	93.3	90.8	94.1

Fuente: elaboración propia.

Figura 12. Factores de contribución a la incertidumbre estándar del método



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXII. Parámetros de validación para la modificación propuesta al método normalizado 5540 – C

Parámetro	Valor	Unidades
Intervalo lineal de trabajo (lectura directa)	0.4 - 2.0	mgL <sup>-1</sup> SAAM
Límite de detección	0.018	mgL <sup>-1</sup> SAAM
Límite de cuantificación	0.410	mgL <sup>-1</sup> SAAM
Sesgo	0.04	mgL <sup>-1</sup> SAAM
Exactitud (en términos de error relativo)	96.16	%
Porcentaje de recuperación	97.80	%
Reproducibilidad (%CV)	0.525	%
Repetibilidad (%CV)	1.357	%
Incertidumbre	0.0759	mgL <sup>-1</sup> SAAM

Fuente: elaboración propia.

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo la implementación y la determinación de los parámetros de desempeño de una modificación al método normalizado 5540 – C, método fotométrico para la cuantificación no específica de surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno (SAAM), según lo establecido en la norma ISO/IEC 17025:2017 y en la *Política de la Selección y Validación de Métodos de Ensayo OGA-GEC-016*. La totalidad de este proyecto fue realizada dentro de las instalaciones de la Unidad del Laboratorio de Calidad del Agua (LCA), unidad que pertenece al Viceministerio del Agua del Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales.

Para esta investigación se utilizó dodecil sulfato sódico (SDS), como material de referencia. Uno de los tensoactivos aniónicos más investigados hasta el momento por sus diversas aplicaciones en la fabricación de productos para la higiene personal. Esta determinación se llevó a cabo realizando extracciones sucesivas utilizando cloroformo como solvente y su posterior lectura a una longitud de onda de 652 nm.

Previo al proceso de extracción cada una de las muestras fue tratada añadiendo peróxido de hidrógeno al 30 %, para prevenir la degradación del color por la presencia de sulfuros, y añadiendo una pequeña cantidad de alcohol isopropílico para evitar la formación de emulsiones, facilitando así las separaciones de las fases.

Este método se basa principalmente en la transferencia del azul de metileno desde una fase acuosa hasta una fase orgánica inmiscible hasta alcanzar el equilibrio, durante la formación de un par iónico hidrofóbico extractable en cloroformo. Este proceso de apareamiento iónico se lleva a cabo al acidificar la muestra utilizando una solución de ácido sulfúrico 1 N y mezclarla con una solución de azul de metileno.

Una vez formado el par iónico, se realizan 3 extracciones sucesivas utilizando cloroformo, extracto que posteriormente fue lavado con una solución ácida (solución de lavado) para eliminar los pares iónicos que son menos hidrofóbicos y que en su mayoría serán formados por sustancias interferentes. El cloroformo que retiene los pares altamente hidrofóbicos presenta un color azul, siendo su intensidad una medida de la concentración de surfactantes aniónicos en la muestra.

En la figura 10 y 11 se presentan las curvas de calibración obtenidas para los métodos normalizados y la modificación propuesta. Estas no presentaron, dentro del intervalo lineal de trabajo ( $0,4 - 2,0 \text{ mgL}^{-1}$ ), desviaciones o curvaturas significantes ni errores sistemáticos. Un análisis de regresión lineal fue realizado para evaluar los resultados.

Las tablas XI y XII muestran los estadísticos de regresión obtenidos para cada una de las curvas de calibración de los métodos normalizado y modificado dentro de los que destacan los valores de  $R^2$ , que oscilan entre 0,995 y 0,999 para ambos métodos. Los valores de error típico, al ser estos relativamente pequeños, y en concreto menores para la modificación del método normalizado, muestran, junto con los valores de las sumas de cuadrados residuales, resultados que indican una variabilidad en la variable dependiente que no es

posible conseguir con el modelo, ya que las regresiones se ajustan muy bien a los datos experimentales.

El valor p (ANOVA), en el análisis de regresión lineal menor al nivel de significancia ( $<0,05$ ), indica que sí existe una dependencia significativa entre las variables absorbancia y concentración, mostrando que los cambios en la concentración producirán cambios en la absorbancia.

Las tablas XX y XXI muestran los resultados de los análisis del porcentaje de recuperación realizados utilizando soluciones estándar y una muestra fortificada. Estos resultados son satisfactorios y muestran que ambos métodos son capaces de cuantificar valores de SAAM que están por debajo del rango de concentraciones de 0,4 a 2,0 mgL<sup>-1</sup>. Un análisis estadístico a un nivel de confianza de 95 % basado en una prueba t de dos colas para la comparación de dos muestras independientes con varianzas iguales, indica que las medias en los porcentajes de recuperación para los dos métodos no son estadísticamente distintos a un nivel de significancia  $\alpha = 0,05$ .

El análisis estadístico realizado dilucida que el método modificado puede ser implementado y tiene una precisión que es comparable con la del método normalizado, por lo que puede ser utilizado para la cuantificación de surfactantes aniónicos en muestras de aguas superficiales y residuales.

Luego de verificar que era factible la implementación de la modificación propuesta al método normalizado realizando una comparación de este con el método normalizado, se procedió a realizar la determinación de los parámetros de desempeño para la modificación propuesta.

La tabla XXII muestra los resultados de los parámetros de desempeño establecidos en la norma ISO/IEC 17025:2017 y calculados de acuerdo con los procedimientos que establece la *Política de la Selección y Validación de Métodos de Ensayo OGA-GEC-016*.

Para la determinación del límite de detección del método se realizó un análisis de repetibilidad, utilizando 10 blancos como tamaño de muestra, determinando que el límite de detección del método es de  $0,018 \text{ mgL}^{-1}$  de SAAM. Para la determinación del límite de cuantificación del método se seleccionó el menor punto de la curva de calibración y se realizó un análisis de repetibilidad, obteniendo un coeficiente de variación menor al 10 % y un límite de cuantificación de  $0,410 \text{ mgL}^{-1}$ , cumpliendo con los requisitos para definirse como el límite de cuantificación del método.

Para la realización del estudio de repetibilidad se seleccionaron concentraciones que se encuentran dentro del intervalo lineal de trabajo  $0,5$ ,  $1,0$  y  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$  de SAAM, abarcando de este modo la totalidad del intervalo, realizando 3 repeticiones para cada uno de los patrones. Se determinó el coeficiente de variación promedio, siendo este de 1,35 %, por lo que se concluye que los resultados son satisfactoriamente repetibles bajo las mismas condiciones de análisis y por un mismo analista.

Un análisis de reproducibilidad se realizó para determinar la proximidad de los resultados al variar las condiciones en las que se realiza la medición. Para este análisis se realizaron lecturas de estándares dentro del intervalo lineal de trabajo en 3 días distintos y se determinó el coeficiente de variación promedio, parámetro estadístico que caracteriza este estudio, siendo este de 0,53 %, muy por debajo de lo que se considera aceptable, demostrando que la variación de las condiciones bajo las que se realiza el análisis no tiene un efecto

significativo en la medición. Por lo que se considera que, tanto los análisis de repetibilidad como los de reproducibilidad, son estadísticamente satisfactorios.

Se determinó del mismo modo el sesgo y la exactitud del método en términos del error relativo, siendo estos de  $0,04 \text{ mgL}^{-1}$  y  $96,16 \%$ , respectivamente.

Como último parámetro de desempeño se realizó la determinación de la incertidumbre del método a través de la aplicación de la ley de propagación de la incertidumbre descrita en la guía *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM). Se realizó un análisis de causa y efecto para determinar las fuentes que introducen incertidumbre al método. A partir de esto, se identificaron 3 puntos clave para tener en cuenta, que pueden ser observados en la figura 12 y sus contribuciones en la tabla XVI. Como primer punto se tiene la incertidumbre debida al ajuste lineal del método, como segundo y tercer puntos clave se tiene la mediación del volumen de la muestra y la dilución en la preparación de los puntos para realizar la calibración.

Luego de establecer los factores que contribuyen a la incertidumbre se procedió al establecimiento de un modelo de incertidumbre y a realizar el cálculo de la incertidumbre estándar de  $0,076 \text{ mgL}^{-1}$  de SAAM.

Cada uno de los resultados que han sido descritos confirma finalmente que la modificación propuesta cumple con todos los requisitos estadísticos para ser implementada y que su precisión es comparable con la del método normalizado.





## CONCLUSIONES

1. Los métodos normalizado y modificado presentan un valor de  $R^2$  mayor a 0.995 indicado por el SM 5540 – C como base para la aceptación de la linealidad. Del mismo modo, se determinó que el intervalo lineal propuesto: 0.4 – 2.0 mgL<sup>-1</sup>, permite obtener resultados que son confiables y repetibles.
2. A un nivel de significancia  $\alpha = 0,05$  los resultados de la prueba t muestran que los porcentajes de recuperación para los métodos modificado y normalizado no son estadísticamente diferentes, por lo que sus precisiones son comparables y esto puede ser implementado.
3. El método modificado tiene un límite de detección de 0.018 mgL<sup>-1</sup> y un límite de cuantificación de 0.410 mgL<sup>-1</sup>, con un coeficiente de variación menor al 10 %. La exactitud y sesgo de la modificación del método en términos de error relativo son de 0,04 mgL<sup>-1</sup> SAAM y 96,16 %, respectivamente.
4. El análisis de repetibilidad de estándares presenta un coeficiente de variación 1.36 %, por lo que los resultados son estadísticamente repetibles bajo las mismas condiciones y por un mismo analista. El análisis de reproducibilidad presenta un coeficiente de variación de 0.53 %, por lo que se concluye que un cambio en las condiciones de la medición no afecta de forma significativa al resultado obtenido.

5. El método presenta una incertidumbre de  $0.076 \text{ mgL}^{-1}$ , siendo la fuente de incertidumbre más importante la calibración del equipo, seguido de la medición de los volúmenes y el factor de dilución.

## RECOMENDACIONES

1. Utilizar un roto evaporador rotativo para recuperar el solvente utilizado y realizar la lectura de blancos para verificar que no existe riesgo de contaminación al momento de la reutilización de este, de modo que se minimicen los gastos para el laboratorio.
2. Realizar gráficos de control con las lecturas de los controles como forma de prever fallos y realizar mantenimientos preventivos a los equipos utilizados.
3. Realizar, de forma periódica, estudios de reproducibilidad interlaboratorio para garantizar la veracidad de los resultados entregados.
4. Utilizar para el proceso de extracción una pipeta automática con puntas de teflón para garantizar una recuperación máxima.



## REFERENCIAS

1. AEFI. (2001). *Validación de Métodos Analíticos. Asociación Española de Farmacéuticos de La Industria*. España: Autor. Recuperado de [https://www.academia.edu/10365264/Validacion\\_de\\_Metodos\\_Analiticos\\_Asoociacion\\_Espanola\\_de\\_Farmaceuticos\\_de\\_la\\_Industria](https://www.academia.edu/10365264/Validacion_de_Metodos_Analiticos_Asoociacion_Espanola_de_Farmaceuticos_de_la_Industria).
2. Álvarez, P. (2002). Requerimientos sobre Validación de Métodos en el marco de la Acreditación de Laboratorios según la norma ISO 17025. Argentina: INTI.
3. American Chemical Society. (12 de mayo de 2021). What is analytical chemistry? [Mensaje de blog]. Recuperado de <https://www.acs.org/content/acs/en/careers/chemical-sciences/areas/analytical-chemistry.html>.
4. Aparicio, E. (agosto, 2017). Técnicas colorimétricas. *Visión Criminológica-Criminalística*, 5 (18), 18–23. Recuperado de: [http://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/1703/articulos/Articulo08\\_Tecnicas\\_colorimetricas.pdf](http://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/1703/articulos/Articulo08_Tecnicas_colorimetricas.pdf).
5. APHA, AWWA y WPCF. (1989). *Métodos Normalizados para el Análisis de Agua Potables y Residuales*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos S.A.

6. Basantes, R. (2009). *Desarrollo y validación de procedimientos específicos de ensayo estandarizados de acuerdo con los requerimientos de la Norma ISO 17025:2005 para la empresa SERNTINLAN S.A.* Ciudad de Guatemala: Escuela Politécnica Nacional.
7. Betancourt Bravo, A. (agosto, 2019). Evolución del sistema de gestión de la calidad en los laboratorios de ensayo. Evolution of the quality management system in the testing laboratories. *Revista de Salud Animal*, 41 (2), 2–4. Recuperado de <http://opn.to/a/KXqL2>.
8. Brand, D. (2019). Efectos de los tensoactivos en el medio ambiente. *Repositorio Institucional USC*, 2, 1–7. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/i0100s/i0100s.pdf%0Ahttps://repository.usc.edu.co/handle/20.500.12421/623>.
9. Caballero, M. S. (2015). *Introducción a la química analítica*. Argentina: Universidad Nacional del Litoral. Recuperado de: <https://aulavirtual4.unl.edu.ar/mod/resource/view.php?id=22>.
10. Camaró, M., Martínez, R., Olmos, P., Catalá, V., Dolores, M., y Gimeno, C. (2015). Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 33(7), e31-e36.

11. Cantarero, A. (2010). *Determinación de Tensoactivos Aniónicos en Matrices Ambientales. Comportamiento del Jabón en una Parcela Agrícola* (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, España. Recuperado de: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/4854/18615521.pdf;jsessionid=79021A0E2C26F9683342ECE20243AB86?sequence=1>.
12. Castellucci, F. (2005). *Recomendaciones armonizadas para la validación de métodos de análisis en un solo laboratorio (informe técnico). Simposio Sobre Armonización de Sistemas de Garantía de Calidad Para Laboratorios Analíticos*. España: OVI. Recuperado de <https://www.oiv.int/public/medias/795/oeno-8-2005-es.pdf>.
13. Chitikela, S., Dentel, S. y Allen, H. (1995). Modified method for the analysis of anionic surfactants as methylene blue active substances. *The Analyst*, 120 (7), 2001–2004. Recuperado de: <https://doi.org/10.1039/AN9952002001>.
14. Christian, G. (2009). *Química analítica*. Bogotá, Colombia: McGraw-Hill/Interamericana Editores.
15. Comisión Guatemalteca de Normas. (2001). *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025*. Guatemala: COGUANOR.
16. Delgado, G. (2009). Validación y verificación de métodos de ensayos. Un dilema en los laboratorios de ensayos y en las auditorías de la acreditación. *Revista Científica de La UNAN, León*, 3(2), 14–21. Recuperado de: <https://doi.org/10.5377/universitas.v3i2.1661>.

17. Fernández, M. (2011). *Desarrollo y validación de métodos analíticos para la determinación en distintas matrices medioambientales de tensioactivos aniónicos derivados de alcoholes* (Tesis doctoral). Universidad de Granada, España. Recuperado de: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/20309?locale-attribute=fr>.
18. González, A. y Herrador, M. (marzo, 2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 26 (3), 227–238. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.01.009>.
19. Hernández, M. (2013). *Validación de métodos de ensayo y estimación de la incertidumbre de medida conforme a la norma ISO/IEC 17025* (Tesis de doctorado). Universidad de Valladolid, España. Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/4284/TESIS457-140212.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
20. IEC. (2021). Qué hacemos por la seguridad, la sostenibilidad y el comercio mundial? [Mensaje de blog]. Recuperado de <https://www.iec.ch/what-we-do/>
21. Jean, S. y Alvaro, F. (1970). Surfactantes. *British Journal of Anaesthesia*, 42(12), 1027. Recuperado de: <https://doi.org/10.1093/bja/42.12.1027>.



22. Jiménez, D., Medina, S. y Gracida, J. (2010). Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26 (1), 65–84.
23. López, A. (2004). *Lineamientos para la acreditación de la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración según ISO 17025*. (Tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. Recuperado de [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_1244\\_IN.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1244_IN.pdf).
24. Mercado, R., Salager, J., Celis, M., y Avendaño, J. (enero, 2010). Volumetría de determinación espectrofotométrica de un surfactante catiónico tipo diamina, mediante la formación de un complejo coloreado. *Ciencia e Ingeniería*, 31 (3), 177–182.
25. Meylín, L., González, O. y Martínez, C. (agosto, 2013). Validación de métodos alternativos para análisis microbiológico de alimentos y aguas Validation of alternative methods for the microbiological analysis of food products and water. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51(1), 111–121.
26. Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (2020). *Acuerdo Ministerial Número 197-2020*. Guatemala: MARN.
27. OAA. (2019). *Guía para Validación de Métodos de Ensayo*. Argentina: Autor. Recuperado de [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/142975/mod\\_folder/content/0/GUI-LE-03%20v2modelo..pdf?forcedownload=1](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/142975/mod_folder/content/0/GUI-LE-03%20v2modelo..pdf?forcedownload=1).

28. Organización Internacional de Normalización. (s.f.). Amistades entre Iguales. [Mensaje de blog]. Recuperado de <https://www.iso.org/about-us.html>.
29. Pickering, W. . (1980). *Química analítica moderna*. Madrid, España: Editorial Reverté.
30. Ramos, J. y Ramos, L. (marzo, 2005). Técnicas miniaturizadas de preparación de muestras líquidas para análisis medioambientales. *Revista Digital CSIC*. 26(2). Recuperado de <https://digital.csic.es/bitstream/10261/191995/1/tecnicaminiautura.pdf>.
31. Ricard, B. (2004). *El límite de detección de un método analítico*. España: Universitat Rovira i Virgili. Recuperado de <http://rodi.urv.es/quimio/general/lod.pdf>.
32. Rodríguez, C. (2007). *Tensoactivos Aniónicos En Agua – Método Saam*. *Tensoactivos Aniónicos En Agua – Método Saam*. Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Recuperado de: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Tensoactivos+en+agua%2C+método+SAAM..pdf/d0859c8f-b5c4-4125-98eb-f157a72cf830>.
33. Rodríguez, J. (2014). *Muestreo y preparación de la muestra*. Ciudad de Guatemala: Autor.
34. Román, M., Betancur, M., Cadavid, N., Martínez, B., Imbachí, P., Muñoz, L., Ospina, L., Quiceno, J., Cardona, L., Gómez, D., Argumedo, C., Passaro, C., Monsalve, J. y Jiménez, A. (2017). *Conceptos*

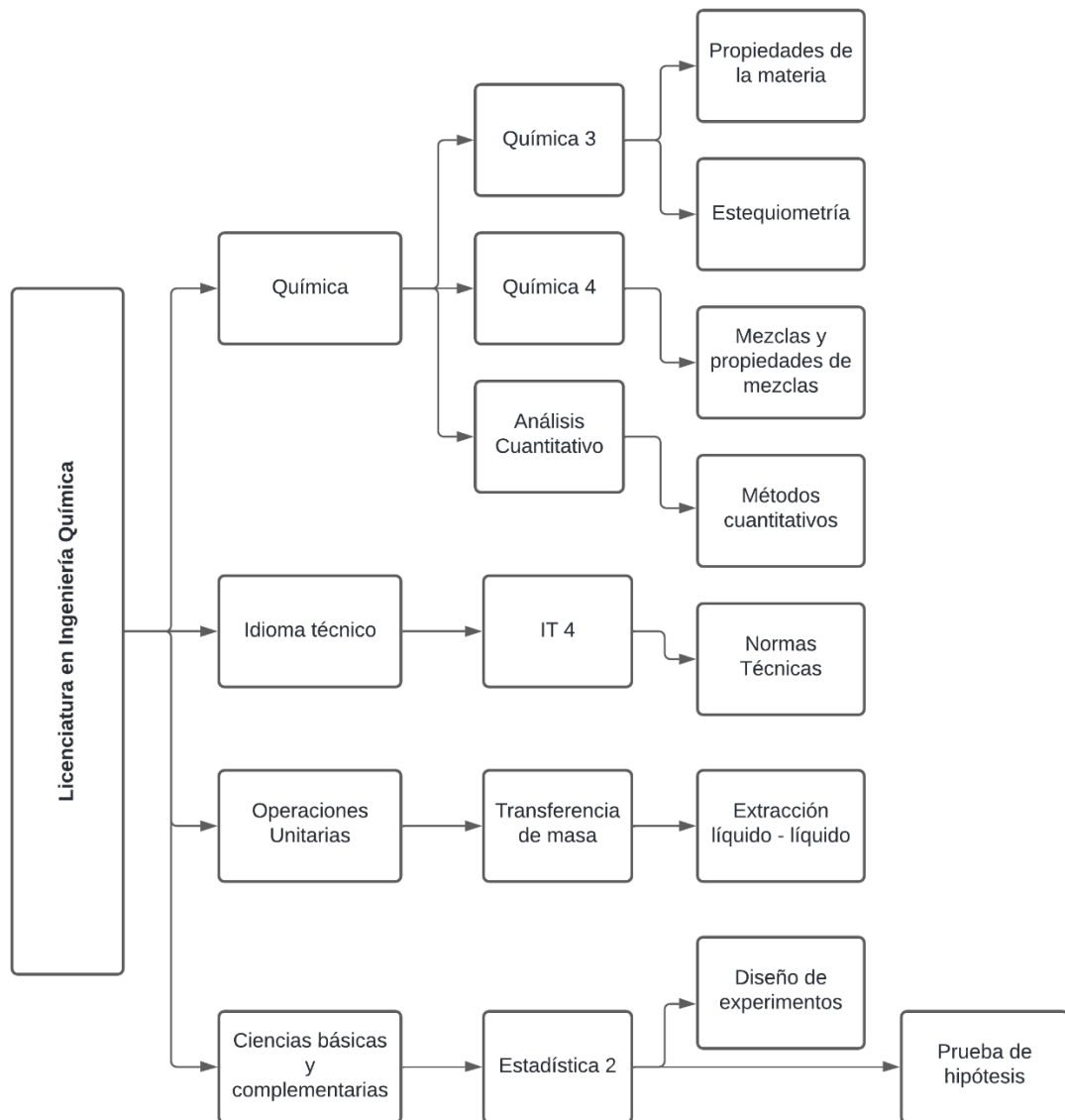
*básicos para validación de metodologías analíticas*. Colombia: SENA.

35. Skoog, West, Holler y Crouch. (2005). *Fundamet de Química Analítica*. Nueva York: Thomson.
36. Trew, D. (2019). *The process of achieving iso 17025:2017 accreditation*. December. New York: Autor.
37. Uchiyama, M. (agosto, 1982). The Distribution of Methylene Blue Active Substances (MBAS) in Lake Oze. *Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi)*, 43 (1), 39–43. Recuperado de <https://doi.org/10.3739/rikusui.43.39>.
38. Vílchez, H., Pinell, W. y López, F. (diciembre, 2019). Evaluación operacional del sistema de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Estelí, Nicaragua. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 5 (1), 42–57. Recuperado de <https://doi.org/10.5377/elhigo.v5i1.8628>.
39. Wyrwas, B. y Zgoła, A. (abril, 2014). Continuous flow methylene blue active substances method for the determination of anionic surfactants in river water and biodegradation test samples. *Journal of Surfactants and Detergents*, 17 (1), 191–198. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s11743-013-1469-x>.



# APÉNDICES

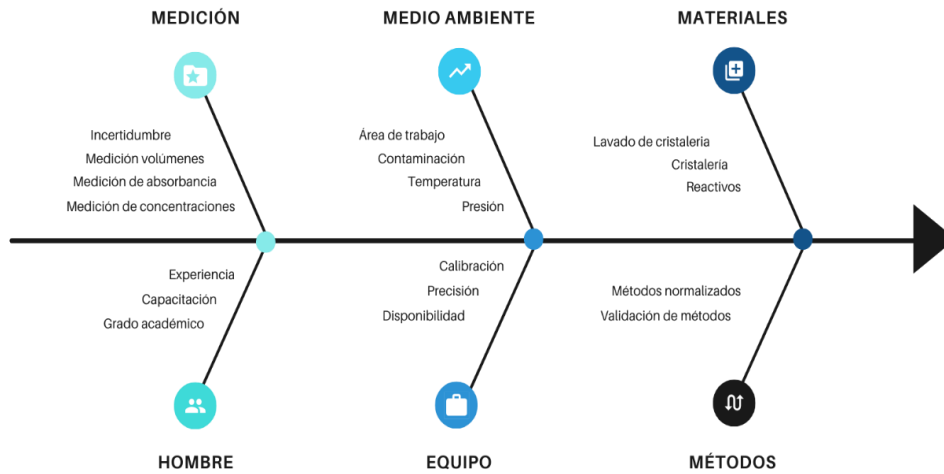
Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**



Fuente: elaboración propia.

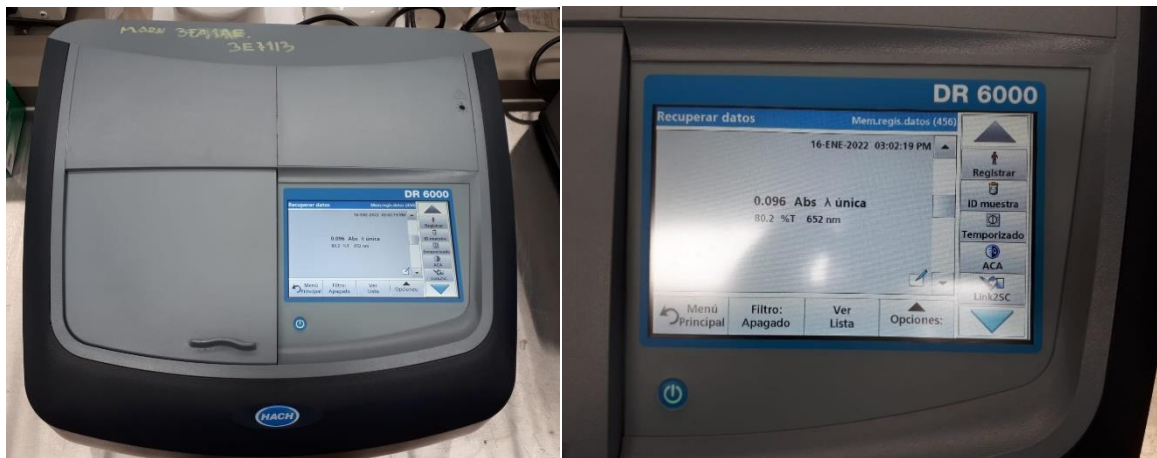
## Apéndice 2. Árbol de problemas

**IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO 5540-C PARA LA DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS COMO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM) EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES Y SUPERFICIALES, DE CONFORMIDAD A LA NORMA ISO/IEC 17025.**



Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 3. Espectrofotómetro HACH DR 6000



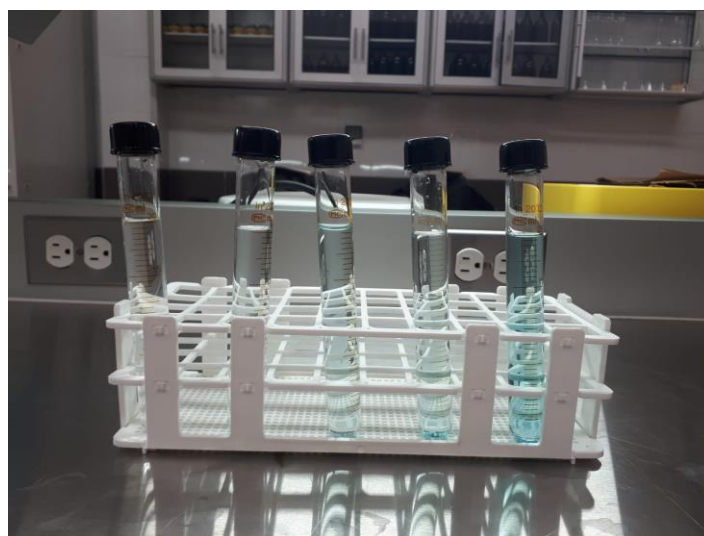
Fuente: elaboración propia, Laboratorio de Calidad del Agua (LCA).

Apéndice 4. **Curva de calibración, método normalizado 5540-C**



Fuente: elaboración propia, Laboratorio de Calidad del Agua (LCA).

Apéndice 5. **Curva de calibración, modificación al método normalizado**



Fuente: elaboración propia, Laboratorio de Calidad del Agua (LCA).

**Apéndice 6. Agitador tipo Vortex VWR**



Fuente: elaboración propia, Laboratorio de Calidad del Agua (LCA).

**Apéndice 7. Extracción de una muestra para análisis por medio del método 5540 - C**



Fuente: elaboración propia, Laboratorio de Calidad del Agua (LCA).





## Anexo 2. Factura de Solmer



**JORGE ALFREDO SOLÍS GONZÁLEZ**  
**FARMACIA, DROGUERÍA Y DISTRIBUIDORA DE MATERIAS PRIMAS**  
 8va. Calle 8-80 Zona 1, Guatemala, Guatemala  
 NIT: 283781-3  
 Tel.: 2261 3012 al 13  
 Info@solmer.gt // www.solmer.gt



Fecha y hora de certificación: 28/11/2021 08:17:11

FEL Documento Tributario Electrónico

Factura Cambiaria			
Serie	939DE754		
No. de DTE:	4173284801		
DIA	MESES	AÑO	HORA
29	11	2021	08:17:10

LIBRE DE PROTESTO

PATENTE DE COMERCIO 132846-171-108

Nombre :		CARLOS ENRIQUE CRUZ ESPINA		NIT : 108802167	
Dirección :		22 Av. "A" 11-43 zona 6, Barrio San Antonio.		Tel.: 55234868	
Email :		cecruz@mam.gob.gt		Cobrador : UNICO	
				No. Pedido: 36514	
Vendido:		Facturado:		Orden Compra:	
Flor de María Pineda		Facturador1		F. M 2021-743	
				Condición de Pago:	
				2 días	
				Fecha Vencimiento:	
				01/12/2021	
CANTIDAD	DESCRIPCION	VALOR UNID.	IMPORTE		
1.00	1592700010 - AZUL DE METILENO (C.I. 52015) REAG. PH EUR: L:K51701770 V:30/09/2029	Q 490.80	Q 490.80		
1.00	1063461000 - SODIO DIHIDROGENOFOSFATO MONOHIDRATO P.A. EMSURE ACS.REAG. PH EUR. FRASCO 1KG.-: L:AM1616946 V:31/07/2025	Q 791.90	Q 791.90		
1.00	1125330050 - Dodecyl sulfate sodium salt; Forma: polvo; Color: blanco; Olor: inodoro; Presentación: 1 frasco de vidrio - 1 unidad; Concentración: 50 Gramos; Marca: MILLIPORE®: L:NO19006733 V:31/03/2024	Q 520.60	Q 520.60		
Sujeto a pagos trimestrales			I.V.A.	Q	193.22
TOTAL EN LETRAS :			Total Exento:	Q	0.00
UN MIL OCHOCIENTOS TRES QUETZALES CON 30/100			Total Gravado:	Q	1,610.08
Observaciones:			Total Global:	Q	1,803.30
A.S.			 		
NÚMERO DE AUTORIZACIÓN : 939DE754-F8BF-45C1-A16E-8F7D7B7CE328			Datos Internos		
DATOS DEL CERTIFICADOR : NIT: 95189416 GOM Solutions, S.A.			Sucesión: H		
DATOS DE LA FACTURA CAMBIARIA			No.: 1922		
Abono No.	Monto	Fecha de Vencimiento			
1	Q 1,803.30	1/12/2021			

A la fecha de vencimiento de este documento, se servirá (n) Ud. (es) por esta única Factura Cambiaria Electrónica cuya serie y número expresados anteriormente, girada libre de protesto. A la orden o endoso de SOLMER/ Jorge Alfredo Solís González, por el valor total extendido; los intereses monetarios son a razón de 2.5% mensual del valor recibido que asentará (n) en cuenta según aviso de su (s) seguro (s) servidor (es). Por tanto, se firma y sella haciendo constar el acuerdo con lo indicado anteriormente.

Fecha de aceptación

Comprador - Aceptante

\*\*\*NO SE CONSIDERA CANCELADA ESTA FACTURA SI NO CUENTA CON RECIBO DE CAJA CON PAGO ACREDITADO\*\*\*

No. de paginas: 1/1

Fuente: Solmer.

Anexo 3. **Certificado de análisis de cloroformo para análisis EMSURE, ACS, ISO, Reag pH Eur**



**Certificate of Analysis**

1.02445.4000 Chloroform for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur  
Batch K52941245

	Spec. Values		Batch Values	
Purity (GC)	99.9 - 99.4	%	99.2	%
Assay (according to ACS)	≥ 99.5	%	99.9	%
Identity (IR)	conforms		conforms	
Appearance	clear		clear	
Color	≤ 10	Hazen	5	Hazen
Free acid (as HCl)	≤ 0.0002	%	0.0001	%
Density (d <sub>20</sub> °C/20 °C)	1.476 - 1.481		1.480	
Boiling point	60 - 62	°C	60	°C
Acid and chloride	conforms		conforms	
Dichloride (GC)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Free chlorine	≤ 0.0003	%	≤ 0.0003	%
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.005	%	≤ 0.005	%
Reactivity carbonizable substances	conforms		conforms	
Residue (GC)	0.6 - 1.0	%	0.8	%
Dichloromethane (GC)	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Carbon tetrachloride (GC)	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Tetrachloroethylene (GC)	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Trichloroethylene (GC)	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Related substances (GC)	≤ 0.7	%	≤ 0.7	%
Aldehyde and ketones (as C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> )	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Suitability for determination with dichlorine	conforms		conforms	
Al (Aluminum)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
B (Boron)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Ba (Barium)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Ca (Calcium)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Cd (Cadmium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
Co (Cobalt)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Cr (Chromium)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Cu (Copper)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Fe (Iron)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Mn (Manganese)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Mo (Molybdenum)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Ni (Nickel)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Pb (Lead)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
Sn (Tin)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Zn (Zinc)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Evaporation residue	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Water	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%


Stabilized with 0.9-1.0% Ethanol

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64283 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0  
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
480 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA; Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 2

Fuente: EMD, Millipore Corporation.

Anexo 4. **Certificado de análisis de solución indicadora de fenolftaleína**

  
www.gruporgh.com

---

**Certificado de análisis**

Denominación: Solución indicadora de fenolftaleína  
Código: i1014  
Lote: ojmi10141  
Vence: 23 de abril de 2022  
Fórmula molecular:  $C_{20}H_{14}O_4$   
Peso fórmula: 318.33  
Prueba de aplicación: conforme

**Licda. Regina Hurtarte**  
Jefa de Laboratorio  
Química Colegiada No. 4,289

RGH S.A.  
CALLE 7-25, ZONA 2  
P.O. BOX: 2323-1212  
P.O. BOX: 2238-1950  
www.gruporgh.com

Guatemala, 13 de diciembre de 2019.

---

da Calle 7-25, Zona 2  
Guatemala, Guatemala, C.A.  
P.O. BOX: (502) 2323-1212  
www.gruporgh.com


11 Av. Norte No. 511  
San Salvador, El Salvador, C.A.  
P.O. BOX: (503) 2233-6680  
ventas.es@gruporgh.com

Via Ferrocarril de Cárdenas Plaza Aguan No. 2  
Panamá, Panamá, C.A.  
Tel: (507) 261-2311  
Email: ventas.pa@gruporgh.com

Calle Luis Padilla No. 6, Los Prados  
DN Santa Dolorosa, República Dominicana  
Tel: +1 (809) 378-1951  
ventas.od@gruporgh.com

Fuente: Grupo RGH.

Anexo 5. **Certificado de análisis de peróxido de hidrógeno para análisis EMSURE, ISO**



## Certificate of Analysis

---

1.07210.1000 Hydrogen peroxide 30% (Perhydroil®) (stabilized for higher storage temp.)  
for analysis EMSURE® ISO  
Batch K52021410

---

	Batch Values	
	31.8	%
Assay (Perhydroil®)	31.8	%
Color	≤ 10	Hazen
Free acid (as sulfuro acid)	≤ 30	ppm
Chloride (Cl)	≤ 0.5	ppm
Nitrate (NO <sub>3</sub> )	≤ 2	ppm
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 2	ppm
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 2	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 1	ppm
Total nitrogen (N)	≤ 4	ppm
Cd (Cadmium)	≤ 0.02	ppm
Co (Cobalt)	≤ 0.02	ppm
Cu (Copper)	≤ 0.02	ppm
Fe (Iron)	≤ 0.1	ppm
Ni (Nickel)	≤ 0.02	ppm
Pb (Lead)	≤ 0.02	ppm
Zn (Zinc)	≤ 0.05	ppm
Non volatile matter	≤ 50	ppm
ISO-Reagent		pass

Date of release (DD.MM.YYYY): 19.11.2019  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 30.11.2021

Dr. Rainer Vogt  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt | Germany: +49 6151 72-0  
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
466 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6800  
G454 Version 00411 05/09/19/02/201 Date: 19.11.2019

Page 1 of 1

Fuente: EMD, Millipore Corporation.

