

VALIDACION DE UNA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE
FENOLES Y FOSFATOS EN AGUA CRUDA, TRATADA Y RESIDUAL POR EL METODO
DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y
ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

FRANCY JULIETH OSORIO VELEZ
DANIELA SANDINO VARGAS

UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGIA
TECNOLOGIA QUIMICA
PEREIRA
2012

VALIDACION DE UNA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE
FENOLES Y FOSFATOS EN AGUA CRUDA, TRATADA Y RESIDUAL POR EL METODO
DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y
ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

FRANCY JULIETH OSORIO VELEZ
DANIELA SANDINO VARGAS

TRABAJO DE GRADO

Requisito parcial para optar al título de tecnólogo en química

DIRECTOR:

Ariel Felipe Arcila Zambrano

UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGIA
TECNOLOGIA QUIMICA
PEREIRA
2012

NOTA DE ACEPTACION DE TRABAJO DE GRADO

VALIDACION DE UNA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE FENOLES Y FOSFATOS EN AGUA CRUDA, TRATADA Y RESIDUAL POR EL METODO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

Presentado por:

FRANCY JULIETH OSORIO VELEZ

DANIELA SANDINO VARGAS

Los suscritos director y jurado del presente trabajo de grado, una vez realizada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar:

La nota de: _____

Con la connotación de: _____

Para la constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy: _____

Director: Ariel Felipe Arcila Zambrano
Firma: _____

Jurado: Edwin Jhovanny Alzate Rodríguez
Firma: _____

DEDICATORIA

Para mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mis padres Flor Alba y Diego Enrique por brindarme todo su amor, cariño, comprensión y la oportunidad de tener educación.

Francy.

Dedicado a mis padres, Alfonso y Yolanda, quienes con su esfuerzo, amor y dedicación me han guiado en cada etapa de mi vida y han hecho de mí lo que soy hoy en día.

Daniela.

AGRADECIMIENTOS

A nuestro director, Felipe Arcila, por su paciencia y dedicación.

Al laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira por permitirnos realizar la parte experimental de este trabajo. De igual manera, al personal que allí labora por toda su colaboración.

A todos los profesores que nos guiaron y apoyaron durante nuestra formación académica en la Universidad.

A nuestros amigos, que de una forma u otra, nos han apoyado durante la realización de este proyecto.

CONTENIDO

	pag.
Resumen	2
Justificación	3
1. OBJETIVOS	6
1.1 Objetivo general	6
1.2 Objetivos específicos	6
2. MARCO TEORICO	7
2.1 El agua	7
2.1.1 Importancia del agua	7
2.1.2 Contaminación del agua potable	7
2.2 Química ambiental y análisis químico ambiental	7
2.3 Compuestos	9
2.3.1 Fenoles	9
2.3.1.1 Su presencia en el agua	9
2.3.1.2 Efectos toxicológicos	9
2.3.1.3 Normatividad	10
2.3.1.4 Determinación por espectrometría por absorción molecular	10
2.3.2 Fosfatos	11

2.3.2.1 Su presencia en el agua	11
2.3.2.2 Importancia de su determinación	12
2.3.2.3 Normatividad	12
2.3.2.4. Determinación por espectrometría por absorción molecular	12
2.4 Espectrometría por absorción molecular ultravioleta-visible	14
2.4.1 Introducción	14
2.4.2 Características importantes de los métodos espectrofotométricos y fotométricos	14
2.4.3 Detalles de procedimiento	15
2.4.3.1 Selección de la longitud de onda	15
2.4.3.2 Variables que influyen en la absorbancia	16
2.4.3.3 Determinación de la relación entre la absorbancia y la concentración	16
2.4.3.4 Método de las adiciones estándar	16
2.5 Validación	17
2.5.1 ¿Qué es la validación de un método?	17
2.5.2 ¿Por qué es necesaria la validación de un método?	17
2.5.3 ¿Cuándo deben validarse los métodos?	18
2.5.4 ¿Qué datos se obtienen mediante la validación?	19
2.5.4.1 Selectividad / Especificidad	19

2.5.4.2 Límite de detección	19
2.5.4.3 Límite de cuantificación	20
2.5.4.4 Intervalo lineal	20
2.5.4.5 Exactitud	20
2.5.4.6 Precisión	21
2.5.4.7 Sensibilidad	21
2.5.4.8 Recuperación	21
3. METODOLOGIA	22
3.1 Fenoles	22
3.1.1 Materiales	22
3.1.1.1 Reactivos	22
3.1.1.2 Equipos	23
3.1.1.3 Material de vidrio	23
3.1.2 Protocolo	23
3.1.3 Preparación de soluciones	26
3.1.3.1 Soluciones de fenol	26
3.1.3.2 Soluciones para estandarización de la solución madre de fenol	27
3.1.3.3 Soluciones para tratamiento de las muestras	27
3.1.3.4 Estándares para la curva de agua tratada	28
3.1.3.5 Estándares para la curva de agua cruda y residual	28

3.1.3.6 Muestras para la validación	29
3.1.3.6.1 Estándares	29
3.1.3.6.2 Agua residual	30
3.1.3.6.3 Agua cruda	30
3.1.3.6.4 Muestras adicionales	31
3.1.4 Procedimiento	32
3.1.4.1 Estandarización de la solución madre de fenol	32
3.1.4.2 Preservación de las muestras	34
3.1.4.3 Agua tratada	34
3.1.4.3.1 Tratamiento para los estándares y las muestras	34
3.1.4.4 Agua residual y cruda	34
3.1.4.4.1 Tratamiento para los estándares y las muestras	35
3.2 Fosfatos	36
3.2.1 Materiales	36
3.2.1.1 Reactivos	36
3.2.1.2 Equipos	36
3.2.1.3 Material de vidrio	37
3.2.2 Protocolo	37
3.2.3 Preparación de soluciones	39
3.2.3.1 Soluciones de fosfatos	39

3.2.3.2 Soluciones para tratamiento de las muestras	39
3.2.3.3 Estándares para la preparación de la curva para agua tratada y cruda	39
3.2.3.4 Estándares para preparación de la curva para agua residual	40
3.2.3.5 Muestras para la validación de la curva de baja concentración	41
3.2.3.5.1 Estándares	41
3.2.3.5.2 Agua tratada	41
3.2.3.5.3 Agua cruda	42
3.2.3.6 Muestras para la validación de la curva de alta concentración	42
3.2.3.6.1 Estándares	42
3.2.3.6.2 Agua residual	43
3.2.4 Procedimiento	43
3.2.4.1 Preservación de las muestras	43
3.2.4.2 Tratamiento de las muestras	44
3.2.4.2.1 Filtración preliminar	44
3.2.4.2.2 Digestión ácida	44
3.2.4.2.3 Coloración	44
4. DATOS EXPERIMENTALES	45
4.1 Fenoles	45

4.1.1 Concentración real de los estándares, las muestras fortificadas y las muestras adicionadas	45
4.1.2 Destilación	48
4.2 Fosfatos	48
4.2.1 Digestión	48
5. RESULTADOS Y CALCULOS	52
5.1 Fenoles	52
5.1.1 Análisis preliminar	52
5.1.1.1 Estudio de cinética	52
5.1.1.2 Barrido espectral	54
5.1.2 Agua tratada	55
5.1.2.1 Curva de calibración	55
5.1.3 Agua cruda y residual	56
5.1.3.1 Curva de calibración	56
5.1.3.2 Validación de la curva	59
5.1.3.2.1 Límite de detección y cuantificación	59
5.1.3.2.2 Medición de las muestras fortificadas y los estándares de comprobación	60
5.1.3.2.3 Medición de las muestras adicionales	61
5.1.3.2.4 Tratamiento estadístico de los datos	64

5.2 Fosfatos	69
5.2.1 Análisis preliminar	69
5.2.1.1 Estudio de cinética	69
5.2.1.2 Barrido espectral	70
5.2.2 Agua tratada y cruda	71
5.2.2.1 Curva de calibración	71
5.2.2.2 Validación de la curva	73
5.2.2.2.1 Determinación límites de detección y cuantificación	73
5.2.2.2.2 Medición de las muestras fortificadas y los estándares de comprobación	74
5.2.2.2.3 Dócima de Grubbs	76
5.2.2.2.4 Tratamiento estadístico de los datos	77
5.2.3 Agua residual	81
5.2.3.1 Curva de calibración	81
5.2.3.2 Validación de la curva	83
5.2.3.2.1 Determinación de los límites de cuantificación y detección	83
5.2.3.2.2 Medición de las muestras fortificadas y los estándares de comprobación	84
5.2.3.2.3 Dócima de Grubbs	85
5.2.3.2.4 Análisis estadístico de los datos	86

5.3 Resumen resultados	89
5.3.1 Fenoles	89
5.3.2 Fosfatos	91
6. DISCUSIÓN	95
6.1 Fenoles	95
6.2 Fosfatos	98
6.2.1 Curva de concentración baja	98
6.2.2 Curvas de concentración alta	99
7. CONCLUSIONES	101
8. RECOMENDACIONES	103
9. BIBLIOGRAFIA	104

INDICE DE TABLAS

	pag.
Tabla No. 1 Fragmento tabla de valores críticos para la Dócima de Grubbs	25
Tabla No. 2 Volumen de solución estándar de fenol para la preparación de la curva de calibración para determinar fenoles en agua tratada	28
Tabla No. 3 Volumen de solución estándar de fenol para la preparación de la curva de calibración para determinar fenoles en agua cruda y residual	29
Tabla No. 4 Volumen de solución intermedia de fenol para la preparación de los estándares de comprobación	30
Tabla No. 5 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación muestras de agua residual fortificadas	30
Tabla No. 6 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación muestras de agua cruda fortificadas	31
Tabla No. 7 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación del estándar adicional	31
Tabla No. 8 Volumen de solución intermedia de fenol para	32

preparación del estándar adicional

Tabla No. 9 Volumen de solución estándar de fosfatos para la **40**
preparación de la curva de calibración para determinar fosfatos
en agua tratada y cruda

Tabla No. 10 Volumen de solución madre de fosfatos para la **40**
preparación de la curva de calibración para determinar fosfatos
en agua residual

Tabla No. 11 Volumen de solución madre de fosfatos para la **41**
preparación de estándares de comprobación para la curva
de agua tratada y cruda

Tabla No. 12 Volumen de solución madre de fosfatos para la **41**
preparación de muestras de agua tratada adicionadas

Tabla No. 13 Volúmenes solución madre de fosfatos para **42**
preparación muestras de agua cruda adicionadas

Tabla No. 14 Volumen de solución madre de fosfatos para la **42**
preparación de estándares de comprobación de la curva de agua residual

Tabla No. 15 Volúmenes solución madre de fosfatos para **43**
preparación muestras de agua residual fortificadas

Tabla No. 16 Estandarización solución madre de fenol **45**

Tabla No. 17 Concentración real de fortificación a las muestras **46**

Tabla No. 18 Concentración real de fortificación a las muestras adicionales	47
Tabla No. 19 Datos comparativos en curvas de baja concentración con digestión y sin digestión	49
Tabla No. 20 Datos comparativos en curvas de alta concentración con digestión y sin digestión	50
Tabla No. 21 Estudio de cinética simple, $\lambda = 500\text{nm}$ (Junio 24/2011)	52
Tabla No. 22 Datos correspondientes a la curvas de calibración para la determinación de fenoles en agua tratada	56
Tabla No. 23 Datos obtenidos de las curvas de calibración para agua tratada	56
Tabla No. 24 Datos correspondientes a la curva de calibración para la determinación de fenoles en agua cruda y residual	57
Tabla No. 25 Datos obtenidos de la curva de calibración para agua cruda y residual	58
Tabla No. 26 Determinación de los límites de detección y cuantificación	59
Tabla No. 27 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ÜE1.b, ÜE1.m y ÜE1.a.	60
Tabla No. 28 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ÚM2A.b, ÚM2A.m y ÚM2A.a.	61
Tabla No. 29 Ensayos 1-6 para la determinación de la	61

concentración de ÜM3A.m

Tabla No. 30 Ensayos 1-3 para la determinación de las concentraciones de ÜEb,ad	62
Tabla No. 31 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ÜM1A.m, ad	62
Tabla No. 32 Resultados dcima de grubbs para datos fenoles	63
Tabla No. 33 Análisis estadístico de los datos de las tablas No. 26 a 29.	64
Tabla No. 34 Porcentajes de error en las determinaciones de las concentraciones de ÜE1.b, ÜE1.m y ÜE1.a. Ensayos 1-6.	65
Tabla No. 35. Porcentajes de recuperación para las muestras ÜM2A.b, ÜM2A.m y ÜM2A.a. Ensayos 1-6.	66
Tabla No. 36. Porcentajes de recuperación para la muestra ÜM3A.m Ensayos 1-6.	66
Tabla No. 37 Análisis estadístico de las tablas No. 30-31.	67
Tabla No. 38 Porcentajes de error en la determinación de la concentración de UEb,ad	68
Tabla No. 39 Porcentajes de recuperación para la muestra ÜM1A.b, ad	68
Tabla No. 40 Estudio de cinética simple, $\lambda = 690 \text{ nm}$ (Enero 18/2012)	69
Tabla No. 41 Datos correspondientes a la curva de calibración para la determinación de fosfatos en agua tratada y cruda	72

Tabla No. 42 Datos obtenidos de la figura No. 8	73
Tabla No. 43 Determinación límites de detección y cuantificación	73
Tabla No. 44 Ensayos 1-7 para la determinación de las concentraciones de ÜE2.b y ÜE2.a.	75
Tabla No. 45 Ensayo 1-7 para la determinación de las concentraciones de ÚM4A.b y ÚM4A.a	75
Tabla No. 46 Ensayos 1-6 para la determinación de la concentración de ÚM5A.m	76
Tabla No. 47 Dócima de Grubbs para datos de agua tratada y cruda	77
Tabla No. 48 Análisis estadístico de las tablas 43-46	78
Tabla No. 49 Porcentajes de error en la determinación de las concentraciones de ÜE2.b Y ÜE2.a.	79
Tabla No. 50 Porcentajes de recuperación en las muestras de agua tratada	80
Tabla No. 51 Porcentajes de recuperación en la muestra de agua cruda	81
Tabla No. 52 Datos correspondientes a la curva de calibración para determinar fosfatos en agua residual	82
Tabla No. 53 Datos obtenidos de la figura No. 9	83
Tabla No. 54 Límites de detección y cuantificación	83
Tabla No. 55 Ensayos 1-6 para la determinación de las	84

concentraciones de ŪE3.m

Tabla No. 56 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ŪM6A.b y ŪM6A.a	85
Tabla No. 57 Dócima de Grubbs para datos de agua residual	86
Tabla No. 58 Análisis estadístico de los datos de las tablas No. 54-56	86
Tabla No. 59 Porcentajes de error en la determinación de la concentración de ŪE3.m	87
Tabla No. 60 Porcentajes de recuperación en las muestras de agua residual ŪM5A.b y ŪM5A.a	88
Tabla No. 61 Datos resumen de la gráfica para determinación de fenoles, Fotométrico directo (Figura No. 5)	89
Tabla No. 62 Precisión del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)	89
Tabla No. 63 Exactitud del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)	90
Tabla No. 64 Selectividad del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)	90
Tabla No. 65 Datos resumen de la gráfica para determinación de fosfatos en agua tratada y cruda (Figura No. 8)	91
Tabla No. 66 Precisión del método del cloruro estañoso (para agua tratada y cruda)	91
Tabla No. 67 Exactitud del método del cloruro estañoso (para agua tratada y cruda)	92
Tabla No. 68 Selectividad del método del cloruro estañoso	92

(para agua tratada y cruda)

Tabla No. 69 Datos sobre la gráfica para determinación de fosfatos en agua residual (Figura No. 8). **93**

Tabla No. 70 Precisión del método del cloruro estañoso (para agua residual) **93**

Tabla No. 71 Exactitud del método del cloruro estañoso (para agua residual) **94**

Tabla No. 72 Selectividad del método del cloruro estañoso (para agua residual) **94**

INDICE DE FIGURAS

	pág.
Figura No. 1 Comparación entre las curvas con y sin digestión para la determinación de fosfatos en cruda y tratada	49
Figura No. 2 Comparación entre las curvas con y sin digestión para la determinación de fosfatos en agua residual	50
Figura No. 3 Estudio de cinética simple a una solución de fenol de 0,5 mg fenol/L (Junio 24/2011)	54
Figura No. 4 Espectro de absorción de una solución de fenol 0,5 mg/L	55
Figura No. 5 Curva de calibración para la determinación de fenoles en agua cruda y residual	58
Figura No. 6 Estudio de cinética simple a una muestra de fósforo 5 mg/L	70
Figura No. 7 Barrido espectral a una solución de fósforo de 2 mg/L	71
Figura No. 8 Curva de calibración para la determinación de fósforo en agua tratada y cruda	72
Figura No. 9 Curva de calibración para la determinación de fósforo en agua residual	82

RESUMEN

El laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira se encuentra acreditado por el organismo nacional de acreditación, ONAC, bajo la norma /ISO/IEC 17025:2005 "Requisitos Generales Para la Competencia de Laboratorios de Ensayo y de Calibración". Esta acreditación cubre los parámetros de pH, alcalinidad total, dureza total, aluminio, nitratos, nitritos, fluoruros, turbiedad, hierro, total aire y conductividad; y se encuentran en espera los parámetros de níquel, cobre, zinc, manganeso, calcio, magnesio, sulfatos y cloruros.

En aras de mantener y aumentar los estándares de calidad, el laboratorio decide ampliar el alcance de la acreditación, incluyendo los parámetros de fenoles y fosfatos.

Motivo por el cual se realiza la validación de las técnicas analíticas de la 4-aminoantipirina (4-AAP) para compuestos fenólicos y el método del cloruro estañoso para fosfatos teniendo en cuenta los parámetros de límites de detección y cuantificación, precisión, exactitud, linealidad, y porcentaje de recuperación.

Para los compuestos fenólicos, se determinó que el método de la 4-AAP no es adecuado para la cuantificación de los mismos, puesto que varios parámetros incluidos en la validación no presentaron valores adecuados. Mientras que para los fosfatos, si se obtuvieron resultados satisfactorios, el método resultó ser exacto, preciso y selectivo, y con buenos límites de detección y cuantificación en el rango seleccionado.

JUSTIFICACION

Mediante diversas actividades económicas, el hombre genera una gran cantidad de residuos, muchos de ellos arrojados a las aguas sin ningún tratamiento previo para disminuir sus efectos nocivos.

Fenoles, pesticidas, fertilizantes, detergentes, y otros productos químicos se desechan directamente al ambiente sin ser tratados previamente.

Entre los contaminantes, los más preocupantes, desde un punto de vista ambiental, son los llamados materiales no biodegradables o persistentes porque en el caso de no recibir un tratamiento específico para su destrucción, pueden tener varios efectos adversos en el medio ambiente; generando desde el deterioro o desaparición de determinado ecosistema hasta cambios en la salud de los individuos que viven allí. [1]

El fenol y sus derivados se utilizan en una gran variedad de industrias, para la fabricación de resinas sintéticas, colorantes, medicamentos (como antisépticos y anestésicos locales), plaguicidas, explosivos, nylon, plastificantes, biocidas, aditivos del aceite, etc. [2] y [3]

El fenol es tóxico para los seres vivos. En los humanos y otros mamíferos los vapores y los líquidos pueden ingresar fácilmente al cuerpo por vía cutánea. Los vapores inhalados ocasionan lesiones en las vías respiratorias y en el pulmón, mientras el contacto con los líquidos produce severas quemaduras en la piel y en los ojos. Además, una exposición prolongada paraliza el sistema nervioso central, pudiendo provocar la muerte. En las plantas inhibe la permeabilidad pasiva y el crecimiento.

La biodegradación de los fenoles naturales, como la vitamina A, el eugenol y la vainillina, entre otros, es en general muy buena, de modo que es mínima la acumulación en las plantas o animales, ya que, la acción bacteriana provoca la descomposición del mismo en dióxido de carbono. Sin embargo, los fenoles sintéticos se degradan con menos facilidad, puesto que muchos de ellos son tóxicos para los microorganismos.

Las aguas naturales contienen pequeñas concentraciones de fenol, tales como las sustancias húmicas, las cuales son formadas por reacciones químicas y bioquímicas durante la descomposición y transformación de restos de plantas y microorganismos [4], pero estas cantidades pueden verse incrementadas por la contaminación con aguas residuales industriales y domésticas, así como por la degradación de pesticidas, fungicidas o herbicidas. El fenol, en las aguas cloradas contribuye a la formación de clorofenoles que le proporcionan al agua un sabor y olor extremadamente desagradable incluso para concentraciones bajas, además de transmitir cierta toxicidad, que puede ser aguda para la vida acuática y los mamíferos dependiendo a la concentración en que se encuentren. [5]

A largo plazo los fenoles causan dermatitis por contacto, generando irritación por efecto fototóxico. [6]

Así como los fenoles, los fosfatos también poseen un efecto negativo en las aguas el cual dependerá de su concentración; los fosfatos son peligrosos tanto para la vida animal como la vida humana, se hace necesario realizar un estudio para la determinación de concentraciones de estos en el agua. Para hablar de estos es necesario conocer algo del ciclo del fósforo; este ciclo es único, puesto que no tiene prácticamente influencia atmosférica. La movilidad del fósforo es limitada comparada a la de otros elementos y está restringida a la fase sólida y líquida.

Debido a su baja solubilidad, el ciclo global del fósforo está controlado por el flujo

desde el continente a los océanos, donde se incorpora al medio a medida que va llegando. El impacto humano sobre este ciclo ha sido dramático en las últimas décadas. La actividad humana ha duplicado el flujo de fósforo hacia los océanos debido principalmente al aumento de fosfato inorgánico disuelto y adsorbido en partículas coloidales. Aunque el fósforo es el undécimo elemento más abundante en la litosfera, es, al mismo tiempo, un recurso limitado. De acuerdo con el crecimiento poblacional y en las demandas nutricionales, la mitad de las fuentes actuales conocidas de fósforo serán consumidas en los próximos 60 ó 70 años.

Una de las principales utilidades del fósforo reside en que es uno de los componentes utilizados para la fabricación de fertilizantes y abonos.

El fósforo es un elemento limitante y esencial en el ciclo biológico ya que es empleado por las células vivientes para la obtención de energía, en forma de ATP y ADP. Sin embargo, a altas concentraciones puede producir problemas ambientales como la eutrofización de los medios naturales. Una de las consecuencias más destacables del uso inadecuado de los fertilizantes es el aumento de fosfatos disueltos en el agua, lo que promueve el crecimiento desmesurado de algas que pueden llegar a agotar el oxígeno y, por tanto, a poner en peligro la biodiversidad del medio acuático. [7]

Se hace importante la determinación de estas sustancias mediante metodologías de análisis eficaces para continuar con el cumplimiento de los estándares establecidos con la norma NTC-ISO-IEC 17025, norma bajo la cual se encuentra acreditado el laboratorio de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

Esto se hará mediante la validación de las técnicas establecidas por el *Standard Methods* [8], SM 5530-B (4-aminoantipirina) y SM 4500-P (Cloruro estañoso) para la determinación de fenoles y fosfatos, respectivamente.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Validar las metodologías analíticas para la determinación del contenido de fenoles y fosfatos en agua cruda, tratada y residual, empleando fotometría de absorción, para el laboratorio de análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar una revisión bibliográfica acerca del método a utilizar y los contenidos de fenoles y fosfatos en agua.
- Validar las técnicas analíticas para determinación de fenoles y fosfatos según las metodologías establecidas por el *Standard Methods*, SM 5530-B y SM 4500-P [8], además obtener en forma experimental y para las condiciones del laboratorio los valores de los parámetros: límites de detección y cuantificación, precisión, exactitud, linealidad y porcentaje de recuperación.
- Elaborar el protocolo para el uso del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.
- Obtener por medio de la parte experimental, el documento final.

2. MARCO TEORICO

2.1 El agua

2.1.1 Importancia del agua

El agua es el recurso natural más importante del mundo, ya que es un elemento vital para el hombre, el suelo, las plantas y los animales. Representa la vida de ciudades y campos.

Sin agua no hay vida, por consiguiente el hombre debe aprender a conservarla y manejarla. El agua está presente en todas las partes, ya sea en grandes, pequeñas o íntimas cantidades. [9]

2.1.2 Contaminación del agua potable

A lo largo de la historia, la calidad del agua potable ha sido un factor determinante del bienestar humano.

Generalmente, la mayor preocupación sobre la seguridad del agua es ahora la presencia potencial de contaminantes químicos. Estos pueden incluir productos químicos orgánicos e inorgánicos y metales pesados, procedentes de fuentes industriales, agrícolas y de la escorrentía urbana. [10]

2.2 Química ambiental y análisis químico ambiental

La química ambiental se define como el estudio de las fuentes, las reacciones, el transporte, los efectos y los destinos de las especies químicas en el agua, el suelo, el aire, y en los ambientes vivos, así como los consiguientes efectos de la

tecnología sobre ellos.[11]

Para llevar a cabo su cometido, es necesario que los científicos ambientales conozcan la naturaleza y las cantidades de los contaminantes y de otras especies químicas en el agua, el aire, el suelo y los sistemas biológicos. Por consiguiente, las técnicas modernas de análisis químico, empleadas adecuadamente, son esenciales para la química ambiental. Estamos en un periodo muy excitante en la evolución de la química analítica, caracterizado por el desarrollo de nuevas y mejores técnicas de análisis que permiten la detección de niveles mucho más bajos de especies químicas y un incremento notable del número de datos a obtener. No obstante, estos desarrollos plantean algunos desafíos. Debido a los bajos límites de detección alcanzados por algunos instrumentos, es ahora posible detectar cantidades de contaminantes que hubieran escapado anteriormente a la detección. Esta sensibilidad analítica extrema causa dificultades con respecto al establecimiento de los límites máximos aceptables de varios contaminantes. La producción incrementada de datos propiciados por los instrumentos automatizados ha abrumado en muchos casos la capacidad humana para asimilarlos y entenderlos.

Todavía quedan retos en el desarrollo y la utilización de las técnicas de análisis químico ambiental. No es el menor de estos problemas conocer que especies deben medirse, o incluso, si un análisis debe o no realizarse. La calidad y la selección de los análisis son mucho más importantes que el número de análisis realizados. [12]

2.3 Compuestos

2.3.1 Fenoles

2.3.1.1 Su presencia en el agua

Los compuestos fenólicos son contaminantes orgánicos, los cuales se encuentran frecuentemente en aguas naturales y residuales. Estos pueden tener origen industrial de diferentes actividades como la producción de plásticos sintéticos, pinturas, medicamentos, polímeros, pesticidas, detergentes, desodorantes, papel y celulosa. Estos compuestos aparecen en una lista de sustancias peligrosas de la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en Inglés) debido a su toxicidad, bioacumulación, persistencia en el ambiente y propiedades carcinogénicas. Los fenoles afectan el sabor y olor en el agua potable y el pescado. Numerosos compuestos fenólicos muestran efectos tóxicos en animales y plantas ya que penetran fácilmente la piel y la membrana celular. [13]

2.3.1.2 Efectos toxicológicos

El fenol es un veneno protoplasmático que daña a todos los tipos de células. Los efectos toxicológicos agudos del fenol son, en gran medida, sobre el sistema nervioso central y puede ocurrir la muerte tan pronto como media hora después de la exposición. El envenenamiento agudo por fenol puede causar severas perturbaciones intestinales, mal funcionamiento del riñón, fallos en el sistema circulatorio, edema pulmonar y convulsiones. Pueden absorberse dosis fatales de fenol a través de la piel. Los órganos importantes dañados por la exposición crónica al fenol incluyen el bazo, páncreas y riñones. Los efectos tóxicos de los otros fenoles se parecen a los del fenol. [14]

2.3.1.3 Normatividad

La concentración de compuestos fenólicos, expresada como fenol, no debe superar los 0,002 mg/L en agua potable. [15]

2.3.1.4 Determinación por espectrometría por absorción molecular

Los fenoles por su reactividad química pueden tener una gran variedad de reacciones de interés para su análisis por espectrofotometría.

En general, mediante la espectrofotometría se determina la cantidad total de compuestos fenólicos presentes en la muestra, pero sin hacer distinción entre los diferentes tipos de fenoles.

Las reacciones más corrientes son las de copulación que generan colorantes azoicos intensamente coloreados y que son fácilmente analizables en el espectro visible. El desarrollo del color, la sensibilidad, la reactividad y la longitud de onda del máximo de absorción, dependen de factores tales como el pH, temperatura, disolvente, reactivo diazotado empleado, naturaleza y posición de los sustituyentes en el anillo aromático.

Los cinco métodos espectrofotométricos para la determinación de bajas concentraciones de fenoles en aguas residuales y potables son: Gibbs, Nitrosfenol, 4-aminoantipirina (4-AAP), ultravioleta e infrarrojo. El método de la 4-AAP es el más rápido, preciso y exacto. [16]

El método colorimétrico de la 4-AAP está basado en la destilación de los fenoles y la subsecuente reacción de estos con 4-aminoantipirina a un pH de $7,9 \pm 0.1$ en presencia de ferrocianuro de potasio, formando compuestos de un color amarillo intenso a rojo, midiendo su absorbancia a una longitud de onda de 500 nm. [17]

Se utiliza para determinar fenol, fenoles orto- y meta- sustituidos, y bajo adecuadas condiciones de pH, fenoles para- sustituidos en los cuales la sustitución es un grupo carboxil, metoxil, un halógeno o un ácido sulfónico. El método de la 4-aminoantipirina no determina aquellos fenoles para sustituidos cuando la sustitución es un grupo alquil, aril, nitro, benzoil, nitroso o aldehído.

2.3.2 Fosfatos

2.3.2.1 Su presencia en el agua

El fósforo se encuentra en aguas naturales y residuales de forma casi exclusiva como fosfatos. Estos se clasifican en ortofosfatos, fosfatos condensados (piro-, meta-, y otros polifosfatos), y fosfatos enlazados orgánicamente. Se presentan en solución, en partículas o detritos, o en los cuerpos de organismos acuáticos.

Estas formas de fosfatos surgen de una variedad de fuentes. Pequeñas cantidades de ciertos fosfatos condensados se adicionan durante el tratamiento del agua. Cantidades mayores de los mismos compuestos pueden ser adicionadas cuando el agua se utiliza para procesos de lavado o limpieza, ya que estos materiales son los principales componentes de muchas preparaciones de limpieza comerciales. Los fosfatos se usan de forma amplia en el tratamiento de aguas de caldera.

Los ortofosfatos están relacionados con tierras cultivadas agrícolas o residenciales ya que los fertilizantes son arrastrados a la superficie del agua mediante la escorrentía. Los fosfatos orgánicos se forman ante todo por procesos biológicos. Estos llegan a las aguas residuales debido a desechos del cuerpo humano y a residuos alimentarios, así mismo pueden ser formados durante el proceso de tratamiento biológico o por la recepción de la biota del agua.

El fósforo es esencial para el crecimiento de organismo y puede ser el nutriente

que limite la productividad primaria de un cuerpo de agua. En los casos donde el fosfato es un nutriente limitante del crecimiento, la descarga de aguas residuales tratadas o sin tratar, de drenaje agrícola o de algunos desechos industriales hacia el agua puede estimular el crecimiento de micro y macro organismos acuáticos fotosintéticos en cantidades molestas.

Los fosfatos también se presentan en sedimentos y en lodos biológicos, en ambos como formas inorgánicas precipitadas e incorporadas a compuestos orgánicos. [18]

2.3.2.2 Importancia de su determinación

El fosfato es un parámetro importante en la rutina de análisis de agua, siendo a la vez un micronutriente esencial y un posible contaminante, cuando su concentración es demasiado alta. La cuantificación de fosfatos en los diferentes cuerpos de agua es importante ya que el aumento de la concentración de fosfato en las aguas superficiales suele estar vinculado a fuentes difusas (como los escurrimientos agrícolas). [19]

2.3.2.3 Normatividad

La concentración de fosfatos en agua destinada para consumo humano no debe superar los 0,5 mg/L. [20]

2.3.2.4 Determinación por espectrometría por absorción molecular

Se utilizan tres métodos para la determinación de estos compuestos. La selección depende en gran parte del rango de concentración del compuesto.

El método del ácido vanadomolibdofosfórico es el más útil para análisis en un

rango de 1 a 20 mgP/L. Este método consiste en que en una solución diluida de ortofosfatos, el molibdato de amonio reacciona bajo condiciones ácidas para formar un heteropoliácido, el ácido molibdofosfórico.

Los métodos del cloruro estañoso y del ácido ascórbico son los más aconsejables para un rango entre 0,01 mgP/L – 6 mgP/L.

El método del ácido ascórbico se basa en la reacción entre el molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio en medio ácido con los ortofosfatos para formar un heteropoliácido, el ácido fosfomolibdico, el cual es reducido por el ácido ascórbico a un azul de molibdeno intensamente coloreado. [21]

Para este trabajo se trabajará con el método del cloruro estañoso, el cual se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido molibdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la reacción:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 690 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido.

2.4 Espectrometría por absorción molecular ultravioleta-visible

2.4.1 Introducción

La espectroscopía por absorción molecular se basa en la medición de la transmitancia T o de la absorbancia A de soluciones que están en celdas transparentes que tienen una longitud de trayectoria de b cm. Normalmente, la concentración de un analito absorbente se relaciona en forma lineal con la absorbancia según la Ley de Beer:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = Ebc \quad [22]$$

2.4.2 Características importantes de los métodos espectrofotométricos y fotométricos

- *Aplicabilidad.* Gran cantidad de especies inorgánicas, orgánicas y bioquímicas absorben radiación ultravioleta-visible y, por consiguiente, se prestan así para determinación cuantitativa directa. Muchas especies no absorbentes también se pueden determinar después de su conversión química en derivados absorbentes. Se calcula que más del 90% de los análisis en laboratorios clínicos se basan en la espectroscopía de absorción ultravioleta-visible.
- *Alta sensibilidad.* Los límites de detección habituales para la espectroscopía de absorción varían en el intervalo entre 10^{-4} y 10^{-5} M. con ciertas modificaciones del procedimiento, este intervalo se puede ampliar a 10^{-6} o inclusive 10^{-7} M.
- *Selectividad moderada a alta.* Con frecuencia, se puede identificar una longitud de onda en la que sólo absorbe el analito, lo que hace innecesarias las separaciones preliminares. Así, cuando hay bandas de

absorción sobrepuestas, las correcciones basadas en medidas adicionales a otras longitudes de onda eliminan en ocasiones la necesidad de un paso de separación previa.

- *Buena exactitud.* Los errores relativos de concentración, encontrados en un procedimiento espectrofotométrico o fotométrico utilizando radiación ultravioleta-visible, se ubican entre el 1 y el 5%. Si se toman precauciones especiales, esta clase de errores se puede reducir a unas decimas de porcentaje.
- *Facilidad y comodidad.* Las medidas espectrofotométricas y fotométricas se llevan a cabo de manera fácil y rápida con los instrumentos modernos. Además, los métodos se prestan mucho a la automatización.

2.4.3 Detalles de procedimiento

Un primer paso en cualquier análisis fotométrico o espectrofotométrico es el desarrollo de condiciones que permitan una relación reproducible (preferiblemente lineal) entre la absorbancia y la concentración del analito.

2.4.3.1 Selección de la longitud de onda

Para obtener máxima sensibilidad, las medidas de absorbancia espectrofotométrica se realizan a una longitud de onda que corresponda a un máximo de absorción, ya que el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor en este punto. Además, la curva de absorción suele ser horizontal en un máximo, lo que origina un buen cumplimiento de la ley de Beer y una menor incertidumbre en el ajuste de la longitud de onda del instrumento.

2.4.3.2 Variables que influyen en la absorbancia

Las variables comunes que afectan al espectro de absorción de una sustancia son la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las concentraciones altas del electrolito y la presencia de sustancias interferentes. Es necesario conocer los efectos de estas variables y elegir las condiciones para el análisis, de modo que la absorbancia no se vea afectada de modo sensible por variaciones pequeñas e incontroladas en su magnitud.

2.4.3.3 Determinación de la relación entre la absorbancia y la concentración

Los estándares o patrones de calibración para un análisis fotométrico o espectrofotométrico se deben aproximar tanto como sea posible a la composición final de las muestras reales y deben abarcar un intervalo razonable de concentraciones del analito. Pocas veces es posible suponer el cumplimiento de la ley de Beer y utilizar un único patrón para determinar la absorptividad molar. Casi nunca es buena la idea de basar los resultados de un análisis únicamente en un valor obtenido de alguna publicación para la absorptividad molar.

2.4.3.4 Método de las adiciones estándar

En teoría, los patrones de calibración deben aproximarse a la composición de las muestras que se analizan, no solo con respecto a la concentración del analito, sino también en relación con las concentraciones de las otras especies en la matriz de la muestra, a fin de minimizar los efectos de los diversos componentes de la muestras en la absorbancia medida. Por ejemplo, la absorbancia de muchos complejos coloreados de iones metálicos disminuye en cierto grado en presencia de iones sulfato y fosfato como consecuencia de la tendencia de estos aniones a

formar complejos incoloros con iones metálicos. Así pues, la reacción de formación de color es menos completa, y el resultado son menores absorbancias. El efecto matriz del sulfato y el fosfato se contrarresta al introducir en los estándares cantidades de las dos especies que se aproximen a las presentes en las muestras. [23]

2.5 Validación

2.5.1 ¿Qué es la validación de un método?

La validación es la confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Ésta se puede interpretar para la validación de un método como el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Está implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método. En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio.

2.5.2 ¿Por qué es necesaria la validación de un método?

Millones de mediciones analíticas se realizan diariamente en miles de laboratorios alrededor del mundo. Hay innumerables razones para realizar esas mediciones, por ejemplo: como una forma de evaluar bienes para propósitos de comercio;

como apoyo a la salud; para verificar la calidad del agua para consumo humano; el análisis de la composición elemental de una aleación para confirmar su conveniencia en la construcción de aeronaves; en análisis forenses de fluidos corporales en investigaciones criminales. Virtualmente, cada aspecto de la sociedad está apoyado de algún modo por mediciones analíticas.

El costo de realizar estas mediciones es elevado y surgen costos adicionales de las decisiones tomadas en base a los resultados. Por ejemplo, las pruebas que muestran que algún alimento no es adecuado para su consumo pueden resultar en demandas por compensación; pruebas que confirmen la presencia de drogas prohibidas podrían ocasionar multas, encarcelamiento o más aún, la ejecución en algunos países. Claramente es importante determinar el resultado correcto y ser capaz de demostrar que lo es.

2.5.3 ¿Cuándo deben validarse los métodos?

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:

- Un nuevo método desarrollado para un problema específico;
- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema;
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo;
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación;
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

El alcance de la validación o la revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Siempre es apropiado algún grado de validación, aún cuando se usan métodos aparentemente bien caracterizados ya sean de referencia o publicados. [24]

2.5.4 ¿Qué datos se obtienen mediante la validación?

2.5.4.1 Selectividad / Especificidad

La interferencia de otros compuestos en la medición del analito, dependerá de la efectividad de la etapa de separación y de la selectividad/especificidad de la etapa de medición. La selectividad y la especificidad son medidas que garantizan la confiabilidad de las mediciones en presencia de interferencias.

2.5.4.2 Límite de detección

Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, como en el análisis de trazas, es importante saber cuál es la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método. La importancia de determinar esto y los problemas implícitos, surgen del hecho que la probabilidad de detección no cambia repentinamente de cero a la unidad cuando se cruza un umbral. Los problemas han sido investigados estadísticamente con detalle y se ha propuesto una gama de criterios de decisión.

Normalmente para propósitos de validación es suficiente proporcionar un indicativo del nivel al cual la detección resulta problemática. Para este propósito la aproximación “blanco + 3s” usualmente será suficiente.

2.5.4.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad. También se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco. Algunas veces también se conoce como “límite de determinación”. LoQ es un valor indicativo y no deberá usarse en la toma de decisiones.

2.5.4.4 Intervalo lineal

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificaciones. En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

2.5.4.5 Exactitud

La exactitud expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados. Normalmente la exactitud se estudia en dos componentes: la veracidad y la precisión. La veracidad (de un método) es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) respecto del valor real. La precisión es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto a los otros.

2.5.4.6 Precisión

Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y la reproducibilidad. Estas representan las dos medidas extremas de precisión que pueden obtenerse. La repetibilidad dará una idea de la clase de variabilidad esperada cuando un método se ejecuta por un solo analista, con un equipo en un periodo corto de tiempo. Si la muestra se analiza por varios laboratorios para fines comparativos, entonces una medida de precisión más significativa a usarse es la reproducibilidad.

2.5.4.7 Sensibilidad

Esta es efectivamente la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito. Cuando se ha establecido que la respuesta es lineal con respecto a la concentración (o sea dentro del intervalo lineal del método) y se ha determinado la intercepción de la curva de respuesta, la sensibilidad es un parámetro para calcular y usar en fórmulas de cuantificación.

2.5.4.8 Recuperación

Los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en las muestras de las cuales no todas son de interés para el analista. El método debe entonces diseñarse deliberadamente para determinar solamente una forma específica del analito. No obstante, la incapacidad de un método para determinar todo el analito presente puede reflejar un problema inherente. De cualquier forma, es necesario evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente. [25]

3 METODOLOGIA

3.1 Fenoles

3.1.1 Materiales

3.1.1.1 Reactivos

- Estándar de fenol
- Bromato de potasio, KBr
- Bromuro de potasio, KBrO_3
- Acido clorhídrico concentrado, HCl
- Yoduro de potasio, KI
- Tiosulfato de sodio pentahidratado 0,10 M, $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Hidróxido de amonio 0,5 N, NH_4OH
- 4-aminoantipirina, $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$
- Ferrocianuro de potasio, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$
- Cloroformo, CHCl_3
- Sulfato de sodio anhidro, Na_2SO_4
- Acido fosfórico, H_3PO_4
- Indicador naranja de metilo
- Hidróxido de sodio 2,5 N, NaOH
- Acido sulfúrico 1 N, H_2SO_4
- Acido sulfúrico concentrado
- Solución tampón fosfato, K_2HPO_4 y KH_2PO_4
- Sulfato de cobre 10%, CuSO_4

3.1.1.2 Equipos

- Equipo de Destilación Velp Científica
- Espectrofotómetro Génesys 5 (Celdas de vidrio de 1 cm y de cuarzo 5 cm)
- Medidor de pH

3.1.1.3 Material de vidrio

- Balón volumétrico de 200 mL
- Balones volumétricos de 100 mL
- Balón volumétrico de 50 mL
- Balones volumétricos de 25 mL
- Bureta de 50mL
- Bureta de 25 mL
- Bureta de 10 mL
- Beaker de 250 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipeta volumétrica de 50 mL
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Pipetas volumétricas de 1 mL

3.1.2 Protocolo

Para la determinación del contenido fenólico en las muestras se utilizará el método de la 4-aminoantipirina: fotométrico directo para muestras de agua residual y cruda, y con extracción de cloroformo para muestras de agua potable.

Para la validación, la parte experimental se basa en el protocolo sugerido por el IDEAM [26], el cual consiste en la lectura de las muestras y el registro de los

resultados para cada grupo diario de ensayos. Como mínimo se deben realizar 6 ensayos con una diferencia máxima de 3 días entre un ensayo y otro.

El grupo de muestras está compuesto por:

ÚE1.bk: Blanco de reactivos y procedimiento

ÚE1.b: Estándar de concentración baja

ÚE1.m: Estándar de concentración media; aprox. el 50% del rango

ÚE1.a: Estándar de concentración alta; aprox. el 90% del rango

ÚM1A.bk: Blanco de muestra tratada para ver efectos de la matriz

ÚM1A.b: Muestra tratada adicionada para ver efectos de la matriz, concentración baja, aprox. 30%

ÚM1A.a: Muestra tratada adicionada para ver efectos de la matriz, concentración alta, aprox. el 90%

ÚM2A.bk: Blanco de muestra residual para ver efectos de la matriz

ÚM2A.b: Muestra residual adicionada para ver efectos de la matriz, concentración baja, aprox. el 30%

ÚM2A.m: Muestra residual adicionada para ver efectos de la matriz, concentración media, aprox. el 50%

ÚM2A.a: Muestra residual adicionada para ver efectos de la matriz, concentración alta, aprox. el 90%

ÚM3A.bk: Blanco de muestra cruda para ver efectos de la matriz

ÚM3A.m: Muestra cruda adicionada para ver efectos de la matriz, concentración media; aprox. 50%

Al obtener los datos, se tendrá en cuenta la Dócima de Grubbs [27] para la

aceptación o el rechazo de los mismos. Los criterios de aceptación o rechazo son los siguientes:

- A)** Si el valor estadístico G es menor o igual al valor crítico correspondiente a un α de un 5% se acepta como correcto.
- B)** Si el valor estadístico es mayor al de su valor crítico para una α de un 5% y menor o igual al de su valor crítico para un α de un 1%, se considera dudoso y se trata de localizar la causa, si se determina se rechaza y en caso contrario se acepta.
- C)** Si el valor del estadístico es mayor al de su valor crítico para un α de un 1% se considera estadísticamente incompatible y se rechaza.

Tabla No. 1 Fragmento tabla de valores críticos para la Dócima de Grubbs [27]

N	95%
3	1,15
4	1,46
5	1,67
6	1,82
7	1,94
8	2,03
9	2,11

N	95%
10	2,18
11	2,24
12	2,29
13	2,33
14	2,37
15	2,41
16	2,44

$$G_i = \frac{\bar{X} - X_i}{s} \text{ y } G_n = \frac{X_n - \bar{X}}{s}$$

Donde:

G_i : se refiere a los valores mínimos

G_n : Se refiere a los valores máximos

\bar{X} : valor medio del grupo de datos

X_i : valor mínimo del grupo de datos

X_n : valor máximo del grupo de datos

Al tener definidos los datos aceptados, se utilizarán los mismos para la determinación de las siguientes características: límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad, precisión, exactitud y recuperación.

3.1.3 Preparación de soluciones

3.1.3.1 Soluciones de fenol

➤ **Solución madre de fenol (1000 mg fenol/L)**

Pesar 0,1 g de fenol y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

➤ **Solución intermedia de fenol (100 mg fenol/L)**

Tomar con pipeta volumétrica 10 mL de solución madre de fenol y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

➤ **Solución estándar de fenol (10 mg fenol/L)**

Tomar con pipeta volumétrica 10 mL de solución intermedia de fenol y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

3.1.3.2 Soluciones para estandarización de la solución madre de fenol

- **Tiosulfato de sodio 0,10 M:** Disolver 24,820 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada. Adicionar 0,4 g de NaOH y diluir a 1 L con agua destilada.
- **Bromuro-bromato:** disolver 2,784 g de KBrO_3 en agua, adicionar 10 g de cristales de KBr, disolver, y diluir a 1 L con agua destilada.

3.1.3.3 Soluciones para tratamiento de las muestras

- **Buffer de fosfatos:** disolver 104,5 g de K_2HPO_4 y 72,3 g de KH_2PO_4 en agua y diluir a 1 L con agua destilada. El pH debe ser 6,8.
- **Hidróxido de amonio 0,5 N:** Diluir 35 mL de solución concentrada de NH_4OH A 1 L con agua destilada.
- **Aminoantipirina:** Disolver 2 g de 4-aminoantipirina en agua y diluir a 100 mL con agua destilada. Preparar diariamente.
- **Ferrocianuro de potasio:** disolver 8 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en agua y diluir a 100 mL con agua destilada. Filtrar si es necesario. Guardar en una botella de vidrio oscura. Preparar semanalmente la solución.
- **NaOH 2,5 N:** disolver 10 g de NaOH en 100 mL de agua destilada.

3.1.3.4 Estándares para la curva de agua tratada

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución estándar de fenol (10 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla 2 y aforar a 500 mL con agua destilada fresca.

Tabla No. 2 Volumen de solución estándar de fenol para la preparación de la curva de calibración para determinar fenoles en agua tratada

Patrón	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
Blanco	0,00	0
1	0,01	0,5
2	0,02	1,0
3	0,03	1,5
4	0,04	2,0
5	0,05	2,5

3.1.3.5 Estándares para la curva de agua cruda y residual

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución estándar de fenol (10 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla 3 y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

Tabla No. 3 Volumen de solución estándar de fenol para la preparación de la curva de calibración para determinar fenoles en agua cruda y residual

Patrón	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
Blanco	0	0
1	0,1	1
2	0,2	2
3	0,3	3
4	0,5	5
5	0,8	8
6	1,0	10
7	1,2	12
8	1,3	13

3.1.3.6 Muestras para la validación

3.1.3.6.1 Estándares

Tomar en bureta el volumen de solución intermedia de fenol (100 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 4, aforar a 2 L con agua destilada.

Tabla No. 4 Volumen de solución intermedia de fenol para la preparación de los estándares de comprobación

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
ÚE1.b	0,6875	13,75
ÚE1.m	0,7500	15,00
ÚE1.a	0,8750	17,50

3.1.3.6.2 Agua residual

Tomar en bureta el volumen de solución intermedia de fenol (100 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 5 y aforar a 2 L con agua residual.

Tabla No. 5 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación muestras de agua residual fortificadas

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
ÚM2A.bk	N.A.	0,0
ÚM2A.b	0,6875	13,75
ÚM2A.m	0,7500	15,0
ÚM2A.a	0,8750	17,5

3.1.3.6.3 Agua cruda

Tomar en bureta el volumen de solución intermedia de fenol (100 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 6 y aforar a 2 L con agua cruda.

Tabla No. 6 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación muestras de agua cruda fortificadas

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
ÚM3A.bk	N.A.	0,0
ÚM3A.m	0,24	4,8

3.1.3.6.4 Muestras adicionales

➤ Estándar

Tomar en bureta el volumen necesario de solución intermedia de fenol (100 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 7 y aforar a 2 L con agua destilada.

Tabla No. 7 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación del estándar adicional

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
ÚEb, ad	0,3	6

➤ Muestra residual

Tomar en bureta el volumen necesario de solución intermedia de fenol (100 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 8 y aforar a 2 L con agua residual.

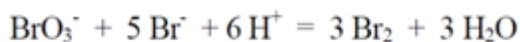
Tabla No. 8 Volumen de solución intermedia de fenol para preparación del estándar adicional

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
ÚM1A.bk, ad	N.A.	N.A.
ÚM1A.b, ad	0,3	6

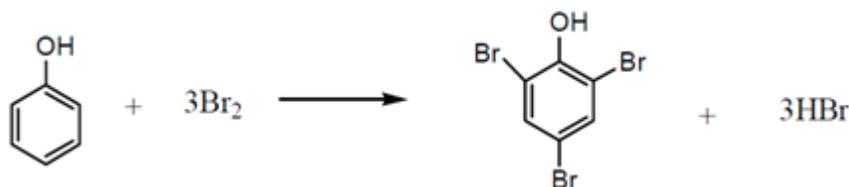
3.1.4 Procedimiento

3.1.4.1 Estandarización de la solución madre de fenol

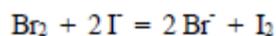
Para la estandarización de la solución madre de fenol se utiliza una cantidad medida de una solución bromuro-bromato para generar un exceso de Br₂ en medio ácido.



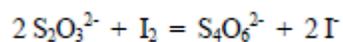
El Br₂ producido reacciona con el fenol para formar el 2,4,6-tribromofenol de la siguiente manera:



Después de que se termina el fenol, se adiciona un exceso del ion yoduro (I⁻) a la mezcla para determinar la cantidad de Br₂ que no reaccionó (en exceso).



La cantidad de I₂ formada se determina por titulación con tiosulfato de sodio, Na₂S₂O₃ utilizando una solución de almidón como indicador.



La concentración real del ion tiosulfato se determina mediante la titulación de un blanco, el cual se prepara en ausencia de la muestra de fenol.

Calcule la concentración de fenol de la siguiente manera:

$$\text{mg fenol/L} = 7,842 [(A*B) - C]$$

Donde:

A = mL de tiosulfato para el blanco.

B = mL de solución bromuro-bromato usado para la muestra / 10.

C = mL de tiosulfato para la muestra.

7,842 = Factor de conversión. Obtenido del peso molecular del fenol dividido los equivalentes totales aportados a la reacción.



$$\text{Factor de conversión} = 94,10584/12 = 7,842$$

A un erlenmeyer tapado con 100 mL de agua adicione 50 mL de solución madre de fenol y 10 mL de solución bromuro-bromato (Ver numeral 3.1.3.2). Inmediatamente adicione 5 mL de solución concentrada de HCl y agite suavemente. Si el color café del bromo no persiste, adicione porciones de 10 mL de solución bromuro-bromato hasta que lo haga. Mantenga el matraz tapado y déjelo reposar 10 minutos; luego adicione aproximadamente 1 g KI. Normalmente se requieren 4 porciones de 10 mL de solución bromuro-bromato si la solución madre de fenol contiene 1000 mg fenol/L.

Prepare un blanco de la misma forma, usando agua destilada y 10 mL de solución bromuro-bromato. Titule el blanco y la muestra con tiosulfato de sodio 0,025 M, utilizando como indicador una solución de almidón.

3.1.4.2 Preservación de las muestras

Adicione 2 mL de solución de H₂SO₄ al 98% o la cantidad necesaria para lograr un pH menor a 2 y almacene a 4 °C.

La muestra es estable por 28 días.

3.1.4.3 Agua tratada

3.1.4.3.1 Tratamiento para los estándares y las muestras

Tome una muestra de 500 mL o una porción adecuada y diluya a 500 mL; proceda con los estándares, la muestra y el blanco de la siguiente manera: adicione 12 mL de NH₄OH 0,5 N e inmediatamente ajuste el pH a $7,9 \pm 0,1$ con la solución buffer de fosfato (Ver numeral 3.1.3.3). Bajo ciertas circunstancias se puede requerir un pH mayor. Se necesitan alrededor de 10 mL de estándar de fosfato. Transfiera a un embudo de separación de 1 L y adicione 3 mL de solución de 4-amoniantipiridina, mezcle bien, adicione 3 mL de ferrocianuro de potasio, mezcle bien y permita el desarrollo del color durante 15 minutos. La solución debe ser amarilla.

Extraiga inmediatamente con CHCl₃, usando 25 mL para celdas de 5 cm y 50 mL para celdas de 10 cm. Agite los embudos de separación por lo menos 10 veces, permita al CHCl₃ reposar, filtre cada extracto de CHCl₃ en filtros que contengan una capa de 5 g de Na₂SO₄ anhidro. Recoja los extractos secos en celdas limpias para la medición de la absorbancia, no adicione más CHCl₃ o lave los papeles filtro o los embudos de separación con CHCl₃.

3.1.4.4 Agua residual y cruda

3.1.4.4.1 Tratamiento para los estándares y las muestras

- a. Proceder de la siguiente manera con los estándares, la muestra y el blanco: tomar 250 mL en un beaker, ajustar el pH a aproximadamente 4,0 con una solución de H_3PO_4 utilizando naranja de metilo como indicador o un medidor de pH. Adicionar 1 mL de CuSO_4 al 10% y transferir al equipo de destilación. Omita la adición de H_3PO_4 y ajustar el pH a 4,0 con NaOH 2,5 N si la muestra fue preservada como se describió en el numeral 4.1.2.
- b. Esta destilación debe hacer purificado la muestra adecuadamente. Sin embargo, algunas veces, el destilado es turbio. Si lo está, se requiere acidificar con una solución de H_3PO_4 y se destila como la primera vez. Si el segundo destilado aun esta turbio, se debe utilizar el proceso de extracción descrito en el siguiente item antes de destilar la muestra.
- c. TRATAMIENTO CUANDO EL SEGUNDO DESTILADO ES TURBIO: extraer una porción de 500 mL de la muestra original de la siguiente forma: Adicione 4 gotas de indicador anaranjado de metilo y acidifique con H_2SO_4 1 N. Transfiera a un embudo de separación y adicione 150 g de NaCl . Extraiga con 5 porciones sucesivas de CHCl_3 , utilizando 40 mL en la primera extracción y 25 mL en cada porción sucesiva. Transfiera la capa de CHCl_3 a un segundo embudo de separación y extraiga con 3 porciones sucesivas de solución de NaOH 2,5 N, usando 4,0 mL en la primera porción y 3,0 mL en las 2 porciones siguientes. Combine los extractos alcalinos, caliente en un baño de agua hasta remover todo el CHCl_3 , cuando este frio, se diluye a 500 mL con agua destilada. Proceda con la destilación como se describe en 4.1.4.1.a. y 4.1.4.2.b.

Tomar el destilado y aforar la solución a 200 mL con agua destilada.

Adicionar 2,5 mL de solución NH_4OH 0,5 N e inmediatamente ajustar el pH a $7,9 \pm 0,1$ con la solución tampón de fosfato. Adicionar 1 mL de solución de 4-aminoantipirina, mezclar bien, adicionar 1 mL de solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, y mezclar bien.

Después de 10 minutos, transfiera a las celdas y lea la absorbancia de la muestras contra el blanco a 500 nm.

3.2 Fosfatos

3.2.1 Materiales

3.2.1.1 Reactivos

- Fosfato mono potásico, KH_2PO_4
- Acido clorhídrico concentrado, HCl
- Ácido clorhídrico 1:1, HCl
- Ácido sulfúrico concentrado, H_2SO_4
- Molibdato de amonio tetra hidratado, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- Cloruro estañoso di hidratado, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Glicerol, $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.
- Hidróxido de sodio 50%, NaOH
- Ácido nítrico concentrado, HNO_3

3.2.1.2 Equipos

- Espectrofotómetro Génesys 5 (Celdas de vidrio de 1 cm y 5 cm)
- Medidor de pH

- Plancha de calentamiento

3.2.1.3 Material de vidrio

- Balón volumétrico de 1 L
- Balón volumétrico de 500 mL
- Balones Volumétricos de 100 mL
- Bureta de 25 mL
- Bureta de 10 mL
- Bureta 50 mL
- Beaker de 250 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipeta graduada de 1 mL
- Goteros

3.2.2 Protocolo

Para la determinación del contenido de fosfatos en las muestras se utilizará el método del cloruro estañoso. Se realizaran dos curvas de calibración, una con un rango de concentración entre 0,1 y 1 mg fósforo/L para la medición de muestras de agua tratada y cruda; y la otra con un rango comprendido entre 1 y 5 mg fósforo/L para la medición de muestras de agua residual.

Para la validación, la parte experimental se basa en el protocolo sugerido por el IDEAM [26] el cual consiste en la lectura de las muestras y el registro de los resultados para cada grupo diario de ensayos. Como mínimo se deben realizar 6 ensayos con una diferencia máxima de 3 días entre un ensayo y otro.

El grupo de muestras para la curva de concentración baja está compuesto por:

ÚE2.bk: Blanco para determinación de límites de cuantificación y detección

ÚE2.b: Estándar de concentración baja; aprox. el 30%

ÚE2.a: Estándar de concentración alta; aprox. el 90%

ÚM4A.bk: Blanco de muestra tratada para ver efectos de la matriz

ÚM4A.b: Muestra tratada adicionada para ver efectos de la matriz, concentración baja; aprox. el 30%

ÚM4A.a: Muestra tratada adicionada para ver efectos de la matriz, concentración alta; aprox. el 90%

ÚM5A.bk: Blanco de muestra cruda para ver efectos de la matriz

ÚM5A.m: Muestra cruda adicionada para ver efectos de la matriz, concentración media; aprox el 50%

ÚE3.bk: Blanco para determinación de límites de cuantificación y detección

ÚE3.m: Estándar de concentración media; aprox. el 50%

ÚM6A.bk: Blanco de muestra residual para ver efectos de la matriz

ÚM6A.b: Muestra residual adicionada para ver efectos de la matriz, concentración baja; aprox. el 30%

ÚM6A.a: Muestra residual adicionada para ver efectos de la matriz, concentración alta; aprox. el 90%

Se tendrá en cuenta la Dócima de Grubbs [27] para la aceptación o rechazo de los datos tal cual se encuentra explicado en el numeral 3.1.2.

3.2.3 Preparación de soluciones

3.2.3.1 Soluciones de fosfatos

- **Solución madre de fosfatos (50 mg fosfato/L):** Disolver en agua destilada 0,2195 g de KH_2PO_4 anhidro y aforar a 1 L con agua destilada.
- **Solución estándar de fosfatos (5 mg fosfatos/L):** Tomar con pipeta volumétrica 10 mL de solución madre de fosfatos y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

3.2.3.2 Soluciones para tratamiento de las muestras

- **Cloruro estañoso:** Disolver 2,5 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de Glicerol, calentar en baño de agua y agitar para acelerar la disolución.
- **Molibdato de amonio:** Disolver 25 g de $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 175 mL de agua destilada, cuidadosamente adicionar 280 mL de H_2SO_4 concentrado a 400 mL de agua destilada. Enfriar y adicionar la solución de molibdato, aforar a 1 L con agua destilada.
- **Hidróxido de sodio 50% m/v:** Disolver 250 g de NaOH en 500 mL de agua destilada.

3.2.3.3 Estándares para la preparación de la curva para agua tratada y cruda

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución estándar de fosfatos (5 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla 9 y aforar a

100 mL con agua destilada fresca.

Tabla No. 9 Volumen de solución estándar de fosfatos para la preparación de la curva de calibración para determinar fosfatos en agua tratada y cruda

Patrón	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
Blanco	0,0	0,0
1	0,1	2,0
2	0,3	6,0
3	0,5	10,0
4	0,8	16,0
5	1,0	20,0

3.2.3.4 Estándares para preparación de la curva para agua residual

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución madre de fosfatos (50 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla No. 10 y aforar a 100 mL con agua destilada fresca.

Tabla No. 10 Volumen de solución madre de fosfatos para la preparación de la curva de calibración para determinar fosfatos en agua residual

Patrón	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
Blanco	0,00	0,0
1	1,00	2,0
2	2,00	4,0
3	3,00	6,0
4	4,00	8,0
5	5,00	10,0

3.2.3.5 Muestras para la validación de la curva de baja concentración

3.2.3.5.1 Estándares

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución madre de fosfatos (50 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla No. 11 y aforar a 2 L con agua destilada fresca.

Tabla No. 11 Volumen de solución madre de fosfatos para la preparación de estándares de comprobación para la curva de agua tratada y cruda

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar (mL)
ÚE2.bk	0,08	3,2
ÚE2.b	0,25	10
ÚE2.a	0,90	36

3.2.3.5.2 Agua tratada

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución madre de fosfatos (50 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla No. 12 y aforar a 2 L con agua tratada.

Tabla No. 12 Volumen de solución madre de fosfatos para la preparación de muestras de agua tratada adicionadas

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar (mL)
ÚM4A.bk	N.A	0
ÚM4A.b	0,25	10
ÚM4A.a	0,85	34

3.2.3.5.3 Agua cruda

Tomar en bureta el volumen de solución madre de fosfatos (50 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 13 y aforar a 2 L con agua cruda.

Tabla No. 13 Volúmenes solución madre de fosfatos para preparación muestras de agua cruda adicionadas

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución madre a tomar (mL)
ÚM5A.bk	N.A.	0,0
ÚM5A.m	0,50	20,0

3.2.3.6 Muestras para la validación de la curva de alta concentración

3.2.3.6.1 Estándares

Tomar en bureta el volumen necesario de la solución madre de fosfatos (50 mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo con la tabla No. 14 y aforar a 2 L con agua destilada fresca.

Tabla No. 14 Volumen de solución madre de fosfatos para la preparación de estándares de comprobación de la curva de agua residual

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución estándar (mL)
ÚE3.bk	0,5	20
ÚE3.m	3,5	140

3.2.3.6.2 Agua residual

Tomar en bureta el volumen de solución madre de fosfatos (50 mg/L) de acuerdo con la tabla No. 15 y aforar a 2 L con agua residual.

Tabla No. 15 Volúmenes solución madre de fosfatos para preparación muestras de agua residual fortificadas

Muestra	Concentración (mg/L)	Volumen de solución madre a tomar (mL)
ÚM6A.bk	N.A.	0,0
ÚM6A.b	1	40
ÚM6A.a	3	120

3.2.4 Procedimiento

3.2.4.1 Preservación de las muestras

Adicionar 2 mL de solución de H₂SO₄ al 98% o la cantidad necesaria para lograr un pH menor a 2 y almacenar a 4 °C en recipientes de vidrio.

No se recomienda almacenar las muestras de bajo contenido de fósforo en recipientes plásticos, porque este se puede absorber sobre las paredes del recipiente. Se podrían almacenar manteniéndolas congeladas.

Los recipientes de vidrio son preferibles para la recolección de la muestra enjuagándolas con ácido clorhídrico diluido y después con agua destilada y desionizada.

La muestra es estable por 28 días.

3.2.4.2 Tratamiento de las muestras

3.2.4.2.1 Filtración preliminar

Filtrar las muestras a través de filtros de membrana de 0,45 µm. se puede utilizar un filtro de fibra de vidrio para prefiltrar las muestras difíciles de filtrar.

Lavar los filtros de membrana remojándolas en agua destilada antes de usarlos porque estas pueden tener cantidades de fósforo que resultan significantes para aquellas muestras que contienen bajas concentraciones de fosfatos. Utilizar una de estas dos técnicas de lavado: (a) sumergir los filtros en 2 L de agua destilada durante 24 h; (b) sumergir los filtros en 2 L de agua destilada durante 1 h, cambiar el agua destilada, y sumergir los filtros por 3 h más.

3.2.4.2.2 Digestión ácida

Servir 100 mL de la muestra y adicionar 1 mL de H₂SO₄ concentrado y 5 mL de HNO₃ concentrado. Digerir hasta un volumen aproximado de 5 mL.

Enfriar y adicionar 20 mL de agua destilada y llevar hasta pH 8,3 con una solución de hidróxido de sodio al 40%.

3.2.4.2.3 Coloración

Transferir la solución neutralizada (filtrar de nuevo si es necesario) a un matraz volumétrico de 100 mL. Adicionar los lavados durante la filtración. Adicionar 4 mL del molibdato de amonio y 0,5 mL (10 gotas) de cloruro estañoso. Aforar el matraz. Transferir las muestras a celdas de vidrio de 5 cm si es muestra de agua tratada o cruda, o celdas de 1 cm si es una muestra de agua residual. Medir la absorbancia después de 10 minutos de adicionados los reactivos.

4 DATOS EXPERIMENTALES

4.1 Fenoles

4.1.1 Concentración real de los estándares, las muestras fortificadas y las muestras adicionales

➤ **Estandarización solución madre de fenol**

$$\text{Concentración de fenol} = 7,842 * ((A*B) - C)$$

Donde:

7,842 = Factor de conversión

A = mL de tiosulfato para el blanco

B = mL de solución bromuro-bromato usado para la muestra / 10.

C = mL de tiosulfato para la muestra

Tabla No. 16 Estandarización solución madre de fenol

Muestra	Volumen tiosulfato (mL)	Volumen solución bromuro-bromato (mL)
Blanco	9,4	-
	9,4	-
Solución madre	15,45	50
	15,50	50

➤ **Concentración real**

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

Donde:

V₁: Volumen de solución madre (L)

V₂: Volumen final de solución (L)

C₁: Concentración real solución madre (mg/L)

C₂: Concentración final de la muestra fortificada (mg/L)

Estándar bajo:

$$C_2 = \frac{0,01375 \text{ L} \cdot 98,8876 \text{ mg fenol/L}}{2 \text{ L}} = 0,67985225 \text{ mg fenol/L}$$

Tabla No. 17 Concentración real de fortificación a las muestras

MUESTRA	Concentración real adicionada de fenol (mg/L)
ÚE1.b	0,679852
ÚE1.m	0,741657
ÚE1.a	0,865266
ÚM2A.b	0,679852
ÚM2A.m	0,741657
ÚM2A.a	0,865266
ÚM3A.m	0,23733

➤ **Concentración real**

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

Donde:

V₁: Volumen de solución madre (L)

V₂: Volumen final de solución (L)

C₁: Concentración real solución madre (mg/L)

C₂: Concentración final de la muestra fortificada (mg/L)

Estándar adicional:

$$C_2 = \frac{0,006 L * 101,0049 \text{ mg fenol/L}}{2L} = 0,303014 \text{ mg fenol/L}$$

Tabla No. 18 Concentración real de fortificación a las muestras adicionales

Solución	Concentración real solución intermedia de fenol (mg/L)	Concentración real adicionada de fenol (mg/L)
ÚEb, ad	101,0049	0,303014
ÚM1A.bk, ad	96,4566	0,289369
ÚM1A.b, ad	96,4566	0,289369

4.1.2 Destilación

El procedimiento establecido por el *Standard Methods* [8] propone realizar una destilación a las muestras como tratamiento preliminar.

En el manual del destilador Velp Científica [28] se indica que para muestras con contenido fenólico la destilación debe ser durante 4 minutos utilizando 40% de vapor y adicionando 1 mL de solución de CuSO_4 al 10%.

Se prepararon varios estándares de 0,1 mg fenol/L y se realizaron los siguientes ensayos para determinar si estas eran las condiciones adecuadas para la destilación:

- Ensayo 1: 40% de vapor – 4 minutos – 1 mL CuSO_4 al 10%
- Ensayo 2: 40% de vapor – 4 minutos – 0 mL CuSO_4 al 10%
- Ensayo 3: 70% de vapor – 4 minutos – 1 mL CuSO_4 al 10%
- Ensayo 4: 40% de vapor – 4 minutos – 0 mL CuSO_4 al 10%

Después de la realización de estos ensayos, se determinó que la mayor exactitud en la determinación se obtenía al realizar la destilación según el Ensayo 1. Por lo tanto, se escogió este para el posterior análisis de las muestras.

4.2 Fosfatos

4.2.1 Digestión

Se prepararon varias curvas con y sin digestión, con el fin de determinar con cuál de las dos se obtenían mejores resultados.

Tabla No. 19. Datos comparativos en curvas de baja concentración con digestión y sin digestión

Concentración (mg Fósforo/L)	Con digestión		Sin digestión	
	Absorbancia	Regresión lineal	Absorbancia	Regresión lineal
0,1	0,627	$y = 3,6591x + 0,3009$ $R^2 = 0,9991$	0,147	$y = 0,3877x + 0,0955$ $R^2 = 0,9948$
0,3	1,450		0,199	
0,5	2,147		0,286	
0,8	3,186		0,401	
1,0	3,974		0,491	

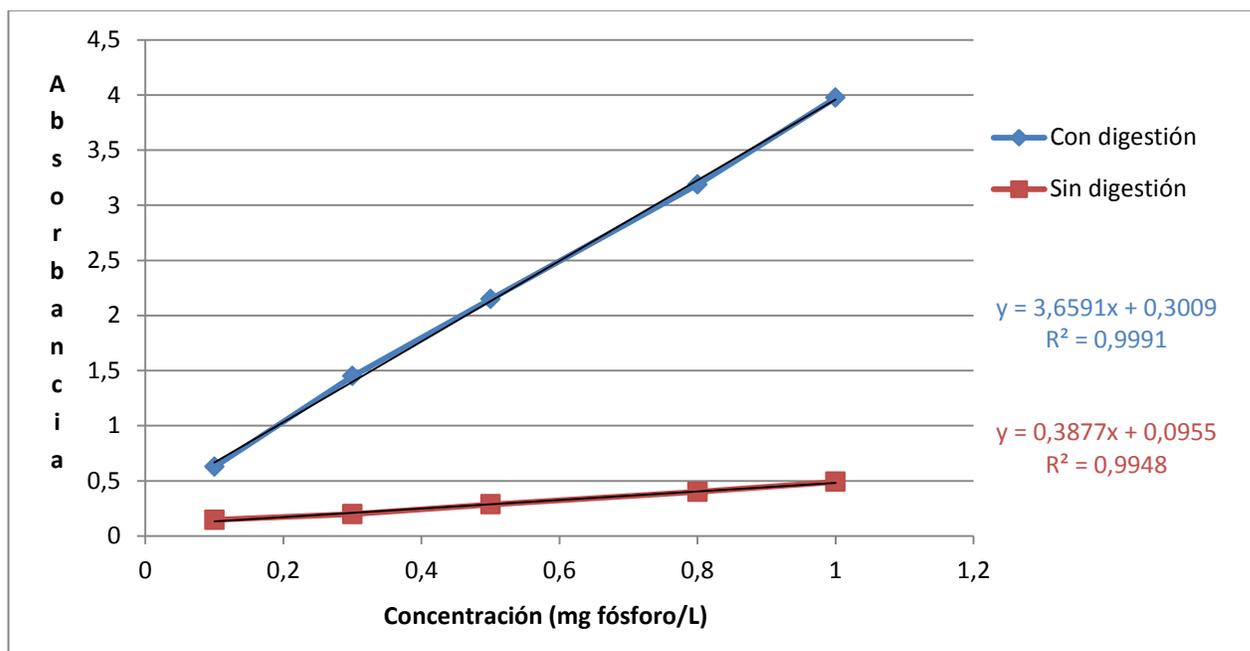


Figura No. 1. Comparación entre las curvas con y sin digestión para la determinación de fosfatos en cruda y tratada.

Tabla No. 20 Datos comparativos en curvas de alta concentración con digestión y sin digestión

Concentración (mg Fósforo/L)	Con digestión		Sin digestión	
	Absorbancia	Regresión lineal	Absorbancia	Regresión lineal
1	0,401	$y = 0,5941x - 0,0861$ $R^2 = 0,9512$	0,800	$y = 0,6037x + 0,2723$ $R^2 = 0,9865$
2	1,423		1,463	
3	1,463		2,211	
4	2,222		2,786	
5	2,972		3,157	

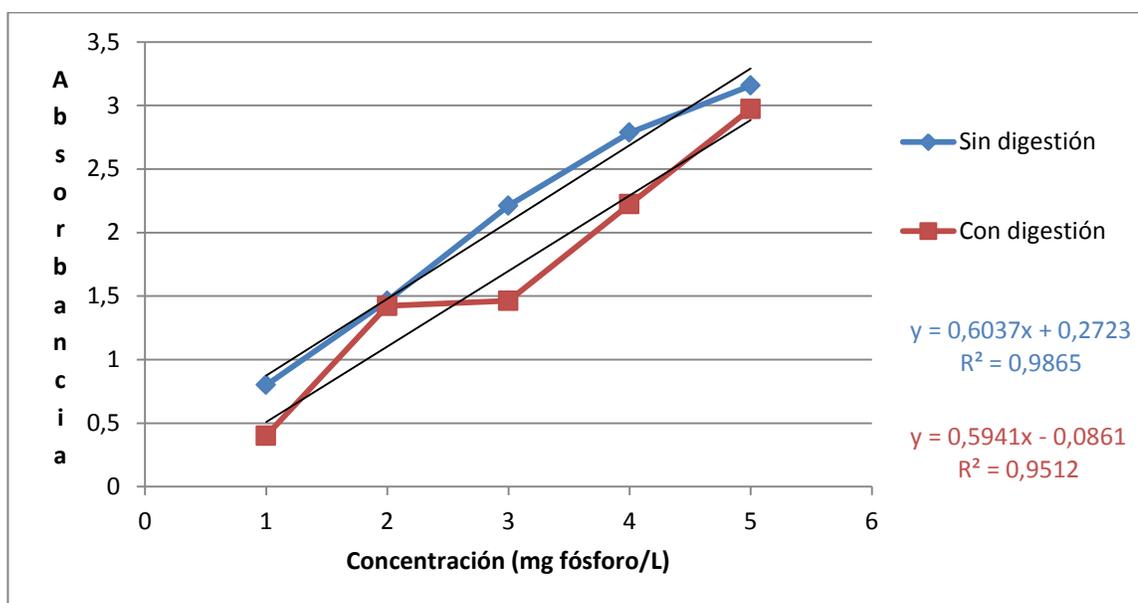


Figura No. 2. Comparación entre las curvas con y sin digestión para la determinación de fosfatos en agua residual

En la tabla No. 19 se observa que los patrones digeridos tenían una mayor absorbancia que aquellos sin digerir. También se observa que la relación entre concentración y absorbancia presenta una mayor linealidad si se digieren las

muestras. Por lo tanto se decidió trabajar con la curva con digestión.

Por otra parte, en las curvas de alta concentración, se observó que aunque la realizada con patrones digeridos tenía valores de absorbancia mayores, la que se hizo sin digestión tiene mejor linealidad y mayor sensibilidad. Por lo tanto para la determinación de altas concentraciones, se escogió la curva sin digestión.

5. RESULTADOS Y CALCULOS

5.1 Fenoles

5.1.1 Análisis preliminar

5.1.1.1 Estudio de cinética

Se realizó un estudio de cinética a una solución de fenol de concentración 0,5 mg/L en el espectrofotómetro Génesys 5 utilizando celdas de vidrio de 1 cm, a una longitud de onda de 500 nm con el fin de establecer cuanto tiempo después de la coloración se obtiene un máximo en la absorbancia de la solución de fenol.

Tabla No. 21. Estudio de cinética simple, $\lambda = 500$ nm (Junio 24/2011)

Tiempo (s)	Absorbancia
0	0,325
10	0,326
20	0,327
30	0,329
40	0,330
50	0,331
60	0,331
70	0,332
80	0,333
90	0,334
100	0,334
110	0,335
120	0,336
130	0,336
140	0,337
150	0,337
160	0,337

Tiempo (s)	Absorbancia
170	0,338
180	0,338
190	0,339
200	0,339
210	0,339
220	0,339
230	0,340
240	0,340
250	0,340
260	0,341
270	0,341
280	0,341
290	0,341
300	0,341
310	0,341
320	0,341
330	0,341

Tiempo (s)	Absorbancia
340	0,341
350	0,342
360	0,342
370	0,342
380	0,342
390	0,342
400	0,342
410	0,342
420	0,342
430	0,342
440	0,342
450	0,342
460	0,342
470	0,342
480	0,342
490	0,342
500	0,342

Continuación Tabla No. 21 Estudio de cinética simple, $\lambda = 500 \text{ nm}$ (Junio 24/2011)

Tiempo (s)	Absorbancia
510	0,342
520	0,342
530	0,342
540	0,342
550	0,342
560	0,341
570	0,341
580	0,341
590	0,341
600	0,341
610	0,341
620	0,341
630	0,341
640	0,341
650	0,341
660	0,341
690	0,341
700	0,341
710	0,341
720	0,341
730	0,340
740	0,340
750	0,340

Tiempo (s)	Absorbancia
760	0,340
770	0,340
780	0,340
790	0,340
800	0,339
810	0,339
820	0,339
830	0,339
840	0,339
850	0,339
860	0,339
870	0,339
880	0,339
890	0,339
900	0,339
910	0,339
920	0,338
930	0,338
940	0,338
950	0,338
960	0,338
970	0,338
980	0,338

Tiempo (s)	Absorbancia
990	0,338
1000	0,337
1010	0,337
1020	0,337
1030	0,337
1040	0,337
1050	0,337
1060	0,337
1070	0,337
1080	0,337
1090	0,337
1100	0,337
1110	0,336
1120	0,336
1130	0,336
1140	0,336
1150	0,336
1160	0,336
1170	0,336
1180	0,336
1190	0,335
1200	0,335

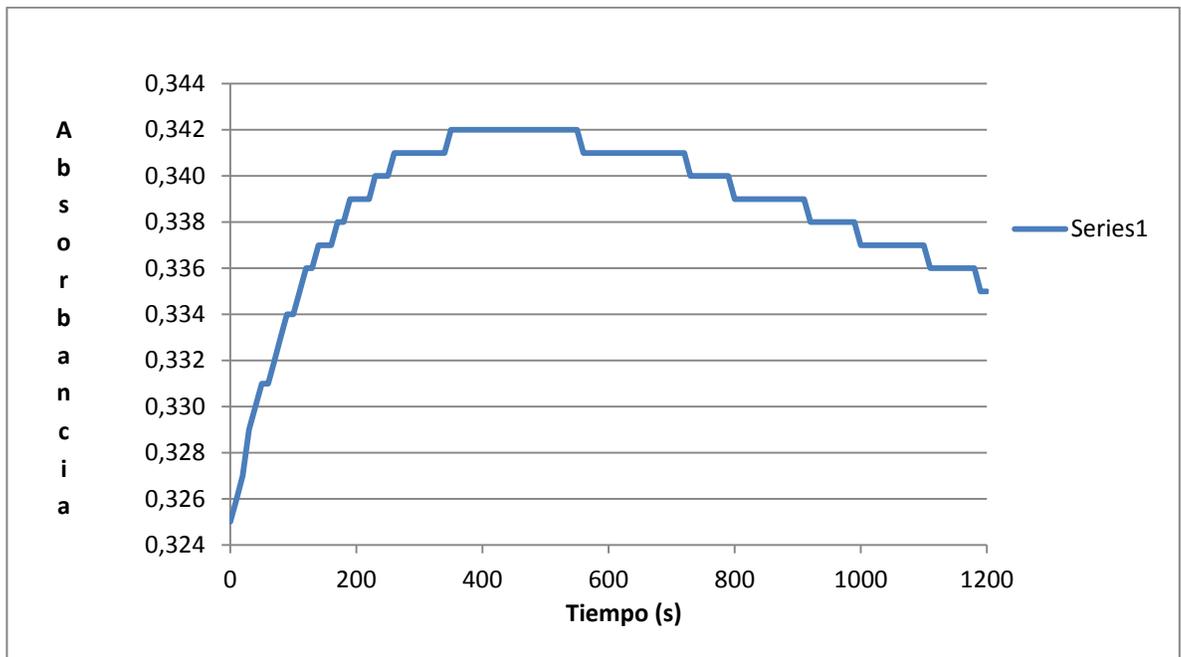


Figura No. 3 Estudio de cinética simple a una solución de fenol de 0,5 mg/L (Junio 24/2011)

La figura No 3 se obtiene utilizando los datos consignados en la tabla No. 21.

5.1.1.2 Barrido espectral

Se realizó un barrido espectral a una solución de fenol de concentración 0,5 mg/L en el espectrofotómetro Génesys 5 utilizando celdas de vidrio de 1 cm de longitud. Este se inició en una longitud de onda de 400 nm, terminando en 700 nm; esto se hace con el fin de establecer la longitud de onda en la cual esta solución muestra su máximo de absorción.

18 JUL 2011 16:33:42
Aplicación: BARRIDO
Nombre análisis:
Archivo datos: DEFAULT
Long onda initial: 400.0
Long onda final: 700.0

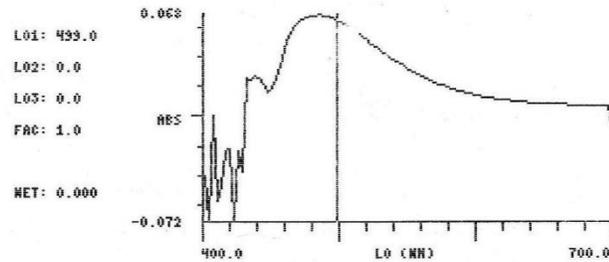


Figura No. 4 Espectro de absorción de una solución de fenol de 0,5 mg/L

5.1.2 Agua tratada

5.1.2.1 Curva de calibración

Se prepararon varias curvas de calibración para la determinación de fenoles en agua tratada en un rango de concentración de fenol entre 0,01 y 0,05 mg/L. Midiéndose la absorbancia a una longitud de onda de 500 nm en celdas de cuarzo 5 cm de longitud. En la tabla No. 22 se muestran las diferentes absorbancias mostradas por los patrones preparados.

Tabla No. 22 Datos correspondientes a la curvas de calibración para la determinación de fenoles en agua tratada

Concentración de fenol (mg/L)	Absorbancia curva 1	Absorbancia curva 2	Absorbancia curva 3	Absorbancia curva 4
0,01	1,268	1,260	1,266	1,265
0,02	1,279	1,273	1,275	1,270
0,03	1,285	1,281	1,279	1,282
0,04	1,320	1,321	1,329	1,319
0,05	1,345	1,351	1,350	1,341

Tabla No. 23 Datos obtenidos de las curvas de calibración para agua tratada

Parámetro	Valor curva 1	Valor curva 2	Valor curva 3	Valor curva 4
Sensibilidad, m	1,95	2,34	2,22	2,01
Intercepto en el eje Y, b	1,2409	1,2278	1,2332	1,2351
Coeficiente de correlación lineal, r²	0,9245	0,9287	0,8860	0,9213

5.1.3 Agua cruda y residual

5.1.3.1 Curva de calibración

Se preparó una curva de calibración para la determinación de fenoles en agua cruda y residual en un rango de concentración de fenol entre 0,1 y 1,2 mg/L. Midiéndose la absorbancia a una longitud de onda de 500 nm en celdas de vidrio de 1 cm de longitud. A continuación se muestran los valores de absorbancia

presentados por los patrones en la obtención de la curva de calibración.

Tabla No. 24 Datos correspondientes a la curva de calibración para la determinación de fenoles en agua cruda y residual

Concentración de fenol (mg/L)	Absorbancia
0,1	0,051
0,2	0,123
0,3	0,191
0,5	0,317
0,8	0,512
1,0	0,657
1,2	0,797
1,3	0,867

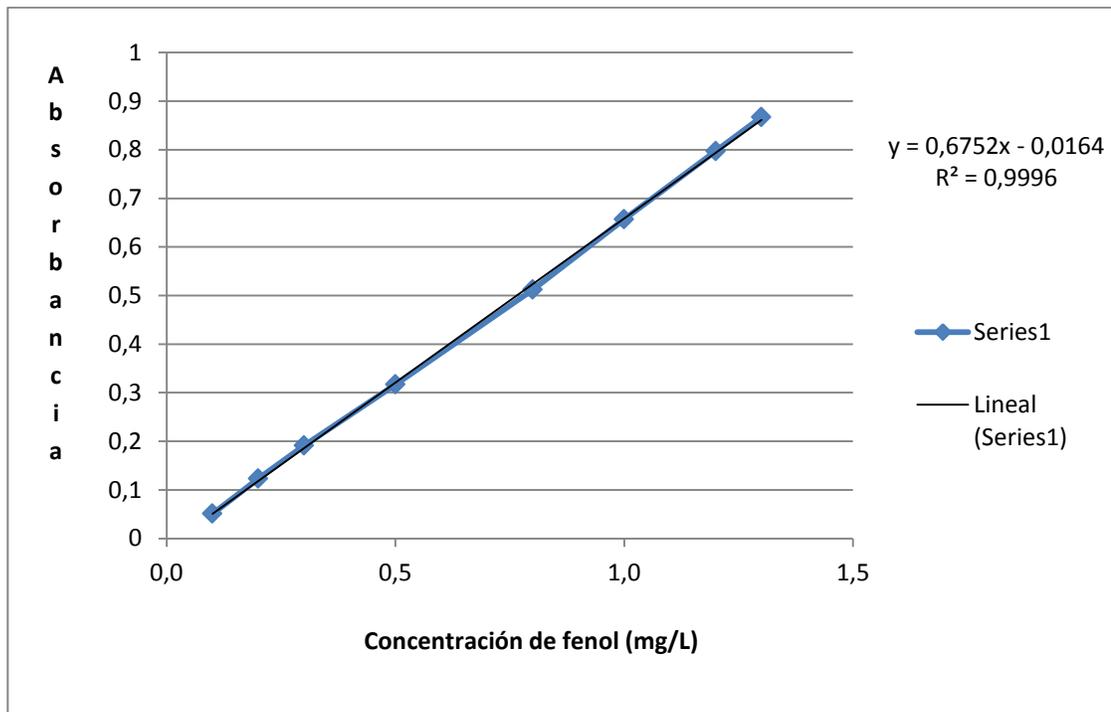


Figura No. 5 Curva de calibración para la determinación de fenoles en agua cruda y residual

Tabla No. 25 Datos obtenidos de la curva de calibración para agua cruda y residual

Parámetro	Valor
Sensibilidad, m	0,6752
Intercepto en el eje Y, b	-0,0164
Coefficiente de correlación lineal, r^2	0,9996

5.1.3.2 Validación de la curva

Para la validación de la curva se tomó como referencia el protocolo de validación propuesto por el IDEAM. [26]

5.1.3.2.1 Limite de detección y cuantificación

Mediante la medición de un estándar de fenol de concentración 0,0 mg/L se obtuvieron los valores de los límites de detección y cuantificación para la Figura No. 5.

Tabla No. 26 Determinación de los límites de detección y cuantificación

Muestra	Concentración (mg fenol/L)							Desviación estándar
	L1 (19-09-11)	L2 (20-09-11)	L3 (21-09-11)	L4 (22-09-11)	L5 (23-09-11)	L6 (26-09-11)	Media	
0,0 mg/L	0,036145	0,037626	0,039107	0,037626	0,045030	0,047992	0,041451	0,00439551
	0,037626	0,040588	0,037626	0,045030	0,046511	0,046511		

$$\text{LoD} = \overline{Cbl} + 3s$$

$$\text{LoD} = 0,054637 \text{ mg fenol/L}$$

$$\text{LoQ} = \overline{Cbl} + 10s$$

$$\text{LoQ} = 0,085406 \text{ mg fenol/L}$$

Donde:

LoD: Límite de detección

LoQ: Límite de cuantificación

$\overline{C_{bl}}$: Concentración promedio de los blancos

s: Desviación estándar de los blancos

5.1.3.2.2 Medición de las muestras fortificadas y los estándares de comprobación

En la tabla No. 27 se muestran las concentraciones de fenol, en mg/L, de los estándares de comprobación medidos en la figura No 5.

Tabla No. 27 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ÜE1.b, ÜE1.m y ÜE1.a.

Estándar	Concentración (mg fenol/L)					
	E1 (19-09-11)	E2 (20-09-11)	E3 (21-09-11)	E4 (22-09-11)	E5 (23-09-11)	E6 (26-10-11)
ÜE1.b	0,528350	0,559825	0,539450	0,528350	0,539450	0,585737
	0,483925	0,526500	0,535750	0,539450	0,582037	0,600550
ÜE1.m	0,569075	0,537600	0,622762	0,554262	0,587587	0,600550
	0,620912	0,587587	0,613500	0,589437	0,600550	0,620912
ÜE1.a	0,685700	0,654237	0,604250	0,693112	0,648675	0,715325
	0,632012	0,654237	0,698662	0,678300	0,654237	0,728275

En las tablas No. 28 y No. 29 se muestran las concentraciones de las muestras de agua residual y tratada adicionadas, respectivamente. Las absorbancias de estas muestras fueron medidas en la figura No. 5.

Tabla No. 28 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de ÚM2A.b, ÚM2A.m y ÚM2A.a.

Muestra	Concentración (mg fenol/L)					
	E 1 (26-09-11)	E2(27-09-11)	E3 (28-09-11)	E4 (29-09-11)	E5 (30-09-11)	E6 (03-10-11)
ÚM2A.b k	0,035925	0,035925	0,048883	0,085907	0,076651	0,000000
	0,078502	0,085907	0,061841	0,078502	0,050735	0,000000
ÚM2A.b	0,563525	0,493175	0,513537	0,485775	0,500575	0,500575
	0,580187	0,554262	0,580187	0,485775	0,500575	0,509837
ÚM2A.m	0,659787	0,656087	0,663487	0,828250	0,828250	0,748637
	0,698662	0,693112	0,704212	0,748637	0,818987	0,704212
ÚM2A.a	0,963387	0,904150	1,031875	0,748637	0,633862	0,693112
	0,985600	1,007812	1,028175	0,748637	0,589437	0,698662

Tabla No. 29 Ensayos 1-6 para la determinación de la concentración de ÚM3A.m

Muestra	Concentración (mg fenol/L)					
	E1 (19-09-11)	E2 (20-09-11)	E3 (21-09-11)	E4 (22-09-11)	E5 (23-09-11)	E6 (26-10-11)
ÚM3A.bk	0,056287	0,054436	0,050735	0,035925	0,050735	0,063692
	0,048883	0,035925	0,050735	0,058138	0,035925	0,061841
ÚM3A.m	0,232150	0,213637	0,217350	0,204387	0,209937	0,228450
	0,204387	0,187725	0,196975	0,217350	0,204387	0,211787

5.1.3.2.3 Medición de las muestras adicionales

La concentración de fenol de las muestras adicionales (estándar y agua residual) se muestra en las tablas No. 30 y No. 31. La absorbancia de estas muestras fue medida en la figura No. 5.

Tabla No. 30 Ensayos 1-3 para la determinación de las concentraciones de
 ÚEb,ad

Muestra	Concentración (mg fenol/L)		
	E1 (10-10-11)	E2 (11-10-11)	E3 (11-10-11)
ÚEb, ad	0,228450	0,226600	0,232150
	0,234000	0,239562	0,224750

Tabla No. 31 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de
 ÚM1A.m, ad

Muestra	Concentración (mg fenol/L)					
	E 1 (10-10-11)	E2 (10-10-11)	E3 (10-10-11)	E4 (11-10-11)	E5 (11-10-11)	E6 (11-10-11)
ÚM1A.bk, ad	0,056287	0,054436	0,050735	0,069246	0,069246	0,063692
	0,048883	0,052585	0,050735	0,069246	0,061841	0,061841
ÚM1A.m, ad	0,217350	0,209937	0,204387	0,228450	0,232150	0,213637
	0,204387	0,196975	0,217350	0,224750	0,202537	0,211787

La dcima de Grubbs se utilizó para determinar si existen valores atípicos en las series de datos obtenidos para los estándares y las muestras adicionales.

Tabla No. 32 Resultados dcima de grubbs para datos fenoles

Ejemplo Gi y Gn para Estándar E1.bk, con los datos de la tabla No. 26.

$$G_i = \frac{\bar{X} - X_i}{s} = \frac{0,04145 - 0,03614}{0,00439} = 1,209$$

$$G_n = \frac{X_n - \bar{X}}{s} = \frac{0,04799 - 0,04145}{0,00439} = 1,489$$

Muestra		G	
		Gi	Gn
Estándares	E1.bk	1,209	1,489
	E1.b	1,944	1,721
	E1.m	1,997	1,126
	E1.a	1,854	1,612
Residual	M2A.bk	1,737	1,066
	M2A.b	1,004	1,589
	M2A.m	1,128	1,523
	M2A.a	1,483	1,177
Cruda	M3A.bk	1,469	1,374
	M3A.m	1,844	1,72

5.1.3.2.4 Tratamiento estadístico de los datos

En la tabla No. 33 se encuentran consignados los valores de las desviaciones estándar y las medias de las series de datos de las concentraciones de las muestras y los estándares de comprobación.

Tabla No. 33 Análisis estadístico de los datos de las tablas No. 26 a 29.

Ejemplo para Estándar ŪE1.bk con los datos de la tablas 26 a 29

$$\text{Media, } \bar{X}_{E1.bk} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i = 0,04145 \text{ mg fenol/L}$$

$$\text{Desviación estándar, } \bar{X}_{E1.bk} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} = 0,00439$$

Muestra		Media (mg/L)	Desviación estándar
Estándar	ŪE1.bk	0,04145	0,00439
	ŪE1.b	0,54578	0,03181
	ŪE1.m	0,59206	0,02727
	ŪE1.a	0,67058	0,03578
Agua residual	ŪM2A.bk	0,05323	0,03064
	ŪM2A.b	0,52233	0,03642
	ŪM2A.m	0,73862	0,08511
	ŪM2A.a	0,83611	0,16631
Agua cruda	ŪM3A.bk	0,05245	0,05245
	ŪM3A.m	0,21205	0,01240

En la tabla No. 34 se encuentran los porcentajes de error de las mediciones a los estándares de comprobación de fenoles.

Tabla No. 34 Porcentajes de error en las determinaciones de las concentraciones de ÜE1.b, ÜE1.m y ÜE1.a. Ensayos 1-6.

Ejemplo para Estándar ÜE1.b (E1) con los datos de la tabla No. 27

$$\% \text{ Error} = \frac{| \text{Concentración real} - \text{Concentración medida} |}{\text{Concentración real}} * 100\% = \frac{0,528350 - 0,84981531}{0,84981531} * 100\%$$

$$= 31,83 \%$$

Estándar	% Error						
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ÜE1.b	37,83	34,12	36,52	37,83	36,52	31,07	35,78
	43,06	38,05	36,96	36,52	31,51	29,33	
ÜE1.m	38,62	42,01	32,82	40,21	36,62	35,22	36,14
	33,02	36,62	33,82	36,42	35,22	33,02	
ÜE1.a	36,60	39,51	44,13	35,92	40,03	33,86	38,00
	41,57	39,51	35,40	37,29	39,51	32,67	

En las tablas No. 35 y No. 36 están los datos correspondientes a los porcentajes de recuperación observados en las muestras adicionadas, residual y cruda respectivamente.

Tabla No. 35. Porcentajes de recuperación para las muestras ÚM2A.b, ÚM2A.m y ÚM2A.a. Ensayos 1-6.

Ejemplo para Muestra ÚM2A.b (E1) con los datos de la tabla No. 28.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|\text{Concentración medida} - \text{Concentración del blanco}|}{\text{Concentración adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{0,563525 - 0,035925}{0,849815} = 100\% = 62,05\%$$

Muestra	% Recuperación						
	E 1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ÚM2A.b	62,05	53,81	54,68	47,05	49,88	58,90	55,20
	59,03	55,11	61,00	47,92	52,93	59,99	
ÚM2A.m	67,29	66,89	66,30	80,07	81,07	80,75	72,93
	66,89	65,50	69,29	72,29	82,87	75,96	
ÚM2A.a	85,75	80,27	90,88	61,27	51,52	64,08	72,38
	83,87	85,24	89,34	61,96	49,81	64,60	

Tabla No. 36. Porcentajes de recuperación para la muestra ÚM3A.m Ensayos 1-6.

Ejemplo para muestra ÚM3A.m (E1) con los datos de la tabla No. 29.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|\text{Concentración medida} - \text{Concentración del blanco}|}{\text{Concentración adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{0,232150 - 0,056287}{0,1929132} = 100\% = 91,16\%$$

Muestra	% Recuperación						
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ÚM3A.m	91,16	82,52	86,37	87,33	82,53	85,40	83,17
	80,61	78,69	75,81	82,53	87,33	77,73	

A continuación, en la tabla No. 37 se muestran los valores de las medias y las desviaciones estándar de las muestras de agua residual y el estándar de comprobación adicionales.

Tabla No. 37 Análisis estadístico de las tablas No. 30-31.

Ejemplo para Estándar $\bar{U}Eb, ad$ con los datos de las tablas 30 - 31

$$\text{Media, } \bar{U}Eb, ad = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Xi = 0,230919 \text{ mg/L}$$

$$\text{Desviación estándar, } \bar{U}Eb, ad = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (xi - \bar{x})^2}{n}} = 0,005450$$

Muestra		Media (mg/L)	Desviación estándar
Estándar adicional	$\bar{U}Eb, ad$	0,230919	0,005450
Agua residual adicional	$\bar{U}M1A.bk, ad$	0,059065	0,007754
	$\bar{U}M1A.m, ad$	0,213617	0,010881

Los valores correspondientes a los porcentajes de error del estándar adicional y los porcentajes de recuperación de la muestra de agua residual adicional se encuentran consignados en las tablas No. 38 y No. 39.

Tabla No. 38 Porcentajes de error en la determinación de la concentración de
 ÚEb, ad

Ejemplo para Estándar ÚEb, ad (E1) con los datos de la tabla No. 30

$$\% \text{ Error} = \frac{|Concentración \text{ real} - Concentración \text{ medida}|}{Concentración \text{ real}} * 100\% = \frac{0,30301488 - 0,228450}{0,30301488} * 100\%$$

$$= 24,61\%$$

Estándar	% Error			
	E1	E2	E3	Media
ÚEb, ad	24,61	25,22	23,39	23,79
	22,78	20,94	25,83	

Tabla No. 39 Porcentajes de recuperación para la muestra ÚM1A.b, ad

Ejemplo para Muestra ÚM1A.b, ad (E1) con los datos de la tabla No. 31.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|Concentración \text{ medida} - Concentración \text{ del blanco}|}{Concentración \text{ adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{0,217350 - 0,056287}{0,1929132} = 100\% = 91,16\%$$

Muestra	% Recuperación						Media
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
ÚM1A.b, ad	55,66	53,74	53,10	55,02	56,30	51,82	53,42
	53,74	49,90	57,58	53,74	48,62	51,82	

5.2 Fosfatos

5.2.1 Análisis preliminar

5.2.1.1 Estudio de cinética

Se realizó un estudio de cinética a una solución de fósforo de 5 mg/L en el espectrofotómetro Génesys 5 utilizando celdas de vidrio de 5 cm, a una longitud de onda de 690 nm con el fin de establecer cuanto tiempo después de la coloración se obtiene un máximo en la absorbancia de la solución de fósforo.

Tabla No. 40 Estudio de cinética simple, $\lambda = 690$ nm (Enero 18/2012)

Tiempo (s)	Absorbancia	Tiempo (s)	Absorbancia	Tiempo (s)	Absorbancia
0	2,947	240	3,04	480	3,094
10	2,957	250	3,046	490	3,101
20	2,965	260	3,046	500	3,097
30	2,97	270	3,051	510	3,098
40	2,973	280	3,052	520	3,096
50	2,978	290	3,055	530	3,101
60	2,981	300	3,057	540	3,104
70	2,985	310	3,06	550	3,106
80	2,99	320	3,059	560	3,108
90	2,991	330	3,063	570	3,108
100	2,996	340	3,066	580	3,107
110	3,004	350	3,067	590	3,111
120	3,005	360	3,07	600	3,11
130	3,012	370	3,071	610	3,112
140	3,008	380	3,076	620	3,112
150	3,014	390	3,075	630	3,111
160	3,016	400	3,078	640	3,113
170	3,02	410	3,081	650	3,112
180	3,021	420	3,082	660	3,114
190	3,029	430	3,083	670	3,112
200	3,028	440	3,088	680	3,115
210	3,032	450	3,089	690	3,113
220	3,034	460	3,089	700	3,114
230	3,037	470	3,093	710	3,116

Tiempo (s)	Absorbancia
720	3,114
730	3,115
740	3,117
750	3,113
760	3,115
770	3,117
780	3,118

Tiempo (s)	Absorbancia
790	3,115
800	3,113
810	3,116
820	3,115
830	3,113
840	3,116
850	3,114

Tiempo (s)	Absorbancia
860	3,113
870	3,116
880	3,113
890	3,115
900	3,116

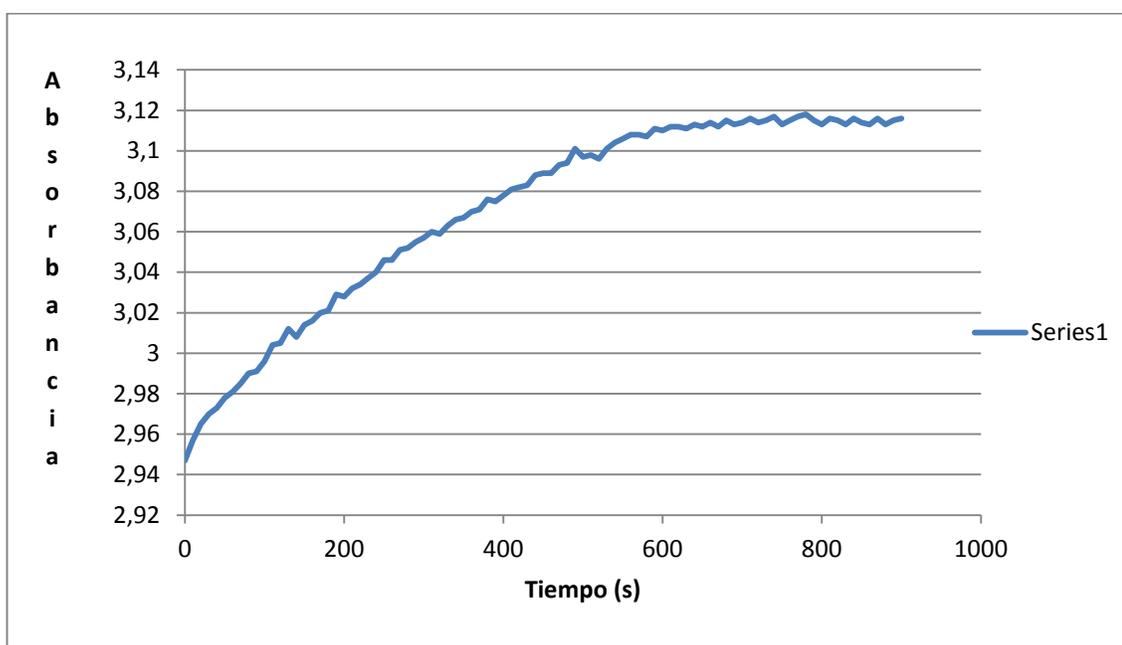


Figura No. 6 Estudio de cinética simple a una muestra de fósforo de 5 mg/L

5.2.1.2 Barrido espectral

Se realizó un barrido espectral a una solución de fósforo de concentración 2 mg/L en el espectrofotómetro Génesys 5 utilizando celdas de vidrio de 5 cm de longitud. Este se inició en una longitud de onda de 400 nm, terminando en 700 nm, con el

fin de establecer la longitud de onda en la cual esta solución muestra su máximo de absorción.

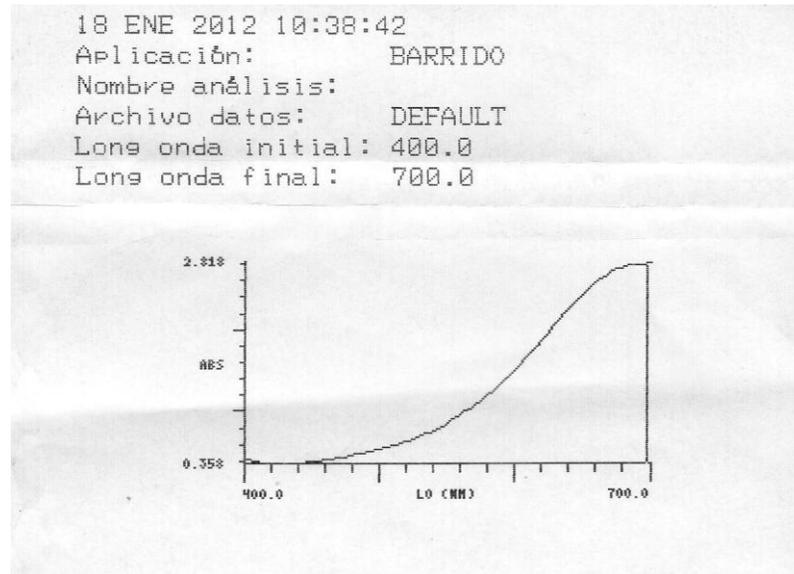


Figura 7. Barrido espectral a una solución de fósforo de 2 mg/L

5.2.2 Agua tratada y cruda

5.2.2.1 Curva de calibración

Se realizó una curva de calibración para la determinación de fosfatos en agua tratada y cruda en un rango de concentración de fósforo entre 0,1 y 1,0 mg/L. se utilizaron celdas de vidrio de 1 cm de longitud y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 690 nm. A continuación se muestran los valores de absorbancia de los patrones para la obtención de esta curva.

Tabla No. 41 Datos correspondientes a la curva de calibración para la determinación de fosfatos en agua tratada y cruda

Concentración de fósforo (mg/L)	Absorbancia
0,1	0,627
0,3	1,450
0,5	2,147
0,8	3,186
1,0	3,974

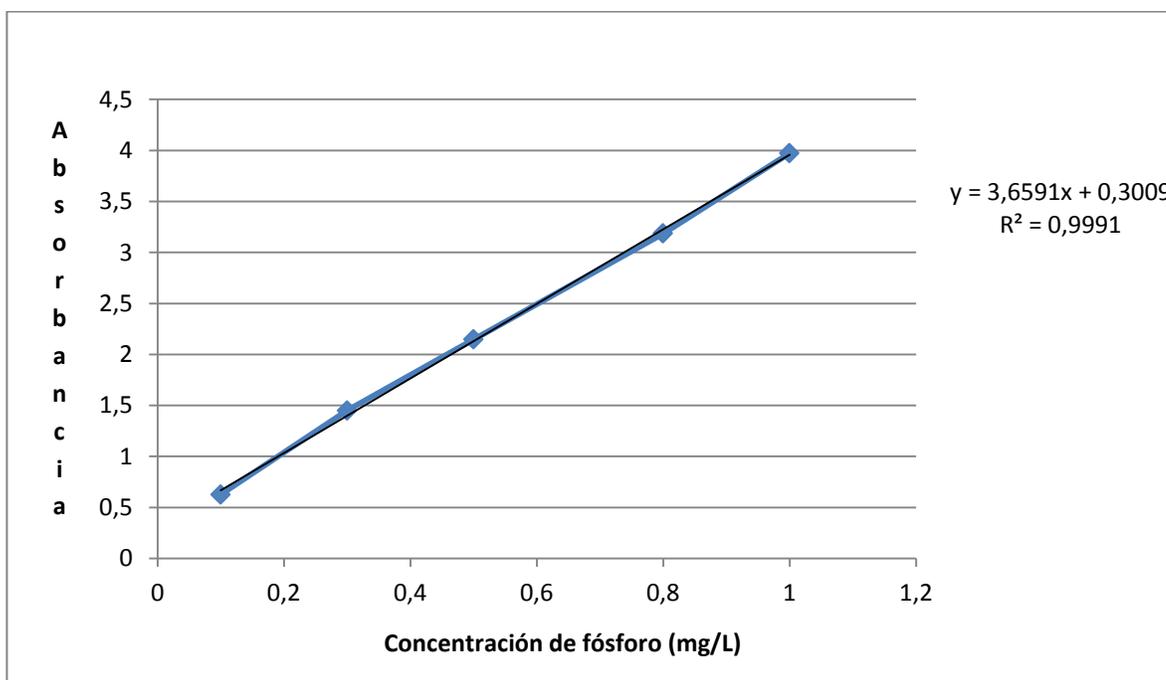


Figura No. 8 Curva de calibración para la determinación de fósforo en agua tratada y cruda

Tabla No. 42 Datos obtenidos de la figura No. 8

Parámetro	Valor
Pendiente, m	3,6591
Intercepto en el eje Y, b	0,3009
Coefficiente de correlación lineal, r ²	0,9991

5.2.2.2 Validación de la curva

5.2.2.2.1 Determinación límites de detección y cuantificación

Se utilizó un estándar de fósforo de concentración de 0,08 mg/L, para la determinación de los valores de los límites de detección y cuantificación presentados por la figura No. 8.

Tabla No. 43 Determinación límites de detección y cuantificación

Muestra	Concentración (mg fósforo/L)								Desviación estándar
	E1 (14-03-12)	E2 (15-03-12)	E3 (16-03-12)	E4 (20-03-12)	E5 (21-03-12)	E6 (22-03-12)	E7 (23-03-12)	Media (mg P/L)	
0,08 mg P/L	0,07436	0,07300	0,07327	0,07300	0,07327	0,07327	0,07327	0,07343	0,00094
	0,07190	0,07382	0,07464	0,07218	0,07464	0,07245	0,07491		

$$\text{LoD} = \overline{Cbl} + 3s$$

$$\text{LoD} = 0,076761 \text{ mg fósforo/L} = (0,076761 * (94,97/30,97)) \text{ mg fosfatos/L}$$

$$= 0,235389 \text{ mg fosfato/L}$$

$$\text{LoQ} = \overline{Cbl} + 10s$$

$$\begin{aligned}\text{LoQ} &= 0,082959 \text{ mg fósforo/L} = (0,082959 \cdot (94,97/30,97)) \text{ mg fosfatos/L} \\ &= 0,254395 \text{ mg fosfato/L}\end{aligned}$$

Donde:

LoD: Límite de detección

LoQ: Límite de cuantificación

\overline{Cbl} : Concentración promedio de los blancos

s: Desviación estándar de los blancos

94,97/30,97: Factor de conversión para pasar de concentración de fósforo a concentración de fosfatos en mg/L

5.2.2.2.2 Medición de las muestras fortificadas y los estándares de comprobación

La concentración de los estándares de comprobación y las muestras de agua tratada y cruda adicionadas se midieron en la figura No. 8.

En las tablas No 44 a No. 46 se encuentran consignados los datos correspondientes a estas mediciones.

Tabla No. 44 Ensayos 1-7 para la determinación de las concentraciones de ÜE2.b y ÜE2.a.

Estándar	Concentración (mg fósforo/L)						
	E1 (14-03-12)	E2 (15-03-12)	E3 (16-03-12)	E4 (20-03-12)	E5 (21-03-12)	E6 (22-03-12)	E7 (23-03-12)
ÜE2.b	0,20227	0,24927	0,23643	0,27578	0,23151	0,22140	0,23779
	0,19953	0,24135	0,26594	0,24381	0,25747	0,22577	0,22331
ÜE2.a	0,87156	0,94753	0,88850	0,82182	0,91556	0,94097	0,90681
	0,86937	0,90517	0,87156	0,82045	0,96994	0,87347	0,91774

Tabla No. 45 Ensayo 1-7 para la determinación de las concentraciones de ÜM4A.b y ÜM4A.a

Muestra	Concentración (mg fósforo/L)						
	E1 (14-03-12)	E2 (15-03-12)	E3 (16-03-12)	E4 (20-03-12)	E5 (21-03-12)	E6 (22-03-12)	E7 (23-03-12)
ÜM4A.bk	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ÜM4A.b	0,23260	0,22686	0,22358	0,25583	0,25064	0,27360	0,23424
	0,23342	0,21757	0,19844	0,21702	0,26430	0,22560	0,23451
ÜM4A.a	0,87101	0,89588	0,88276	0,87648	0,87101	0,86910	0,9254
	0,82619	0,89834	0,84946	0,86609	0,86363	0,86093	0,84641

Tabla No. 46 Ensayos 1-6 para la determinación de la concentración de ŪM5A.m

Estándar	Concentración (mg fósforo/L)					
	E1 (09-04-12)	E2 (10-04-12)	E3 (11-04-12)	E4 (12-04-12)	E5 (13-04-12)	E6 (16-04-12)
ŪM5A.bk	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ŪM5A.m	0,48786	0,48786	0,48813	0,50368	0,48931	0,54415
	0,50398	0,50343	0,50261	0,47876	0,45971	0,53956

5.2.2.2.3 Dócima de Grubbs

Se utilizó la dócima de Grubbs como criterio para definir si existían valores atípicos en las series de datos obtenidas para los estándares de comprobación y las muestras de agua tratada y cruda adicionadas.

- Ejemplo Gi y Gn para Estándar ŪE2.bk, con los datos de la tabla No. 43.

$$G_i = \frac{\bar{X} - X_i}{s} = \frac{0,07343 - 0,07190}{0,00094} = 1,628$$

$$G_n = \frac{X_n - \bar{X}}{s} = \frac{0,07491 - 0,07343}{0,00439} = 1,574$$

Tabla No. 47 Dócima de Grubbs para datos de agua tratada y cruda

Muestra		G	
		Gi	Gn
Estándares	ÚE2.bk	1,628	1,574
	ÚE2.b	1,699	1,801
	ÚE2.m	1,690	1,730
Tratada	ÚM4A.bk	-	-
	ÚM4A.b	1,807	1,921
	ÚM4A.a	1,861	2,203
Cruda	ÚM5A.bk	-	-
	ÚM5A.m	1,662	1,902

5.2.2.2.4 Tratamiento estadístico de los datos

En la tabla No. 48 se encuentran consignados los valores de las desviaciones estándar y las medias de las series de datos de las concentraciones de las muestras y los estándares de comprobación.

Los porcentajes de error para los estándares de comprobación están consignados en la tabla No. 49.

En las tablas No. 50 y No. 51 se encuentran los porcentajes de recuperación de los fosfatos observados en las muestras de agua tratada y cruda, respectivamente.

Tabla No. 48 Análisis estadístico de las tablas 43-46

Ejemplo para Estándar $\bar{X}_{Eb,ad}$ con los datos de las tablas No. 43 – 46.

$$\text{Media, } \bar{X}_{Eb,ad} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i = 0,07338 \text{ mg/L}$$

$$\text{Desviación estándar, } \bar{X}_{Eb,ad} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} = 0,00096$$

Muestra		Media (mg/L)	Desviación estándar
Estándar	$\bar{X}_{E2.bk}$	0,07338	0,00096
	$\bar{X}_{E2.b}$	0,23654	0,02179
	$\bar{X}_{E2.a}$	0,89432	0,04371
Agua tratada	$\bar{X}_{M4A.bk}$	0,00000	0,00000
	$\bar{X}_{M4A.b}$	0,23487	0,02016
	$\bar{X}_{M4A.a}$	0,87162	0,02441
Agua cruda	$\bar{X}_{M5A.bk}$	0,00000	0,00000
	$\bar{X}_{M5A.m}$	0,49909	0,02370

Tabla No. 49 Porcentajes de error en la determinación de las concentraciones de
 ÚE2.b Y ÚE2.a.

Ejemplo para Estándar ÚE2.b (E1) con los datos de la tabla No. 44.

$$\% \text{ Error} = \frac{|Concentración \text{ real} - Concentración \text{ medida}|}{Concentración \text{ real}} * 100\% = \frac{0,25 - 0,20227}{0,25} * 100\%$$

$$= 19,09\%$$

Muestra	% Error							
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	Media
ÚE2.b	19,09	0,29	5,43	10,31	7,40	11,44	4,88	8,19
	20,19	3,46	6,38	2,48	2,99	9,69	10,68	
ÚE2.a	3,16	5,28	1,28	8,69	1,73	4,55	0,76	3,87
	3,40	0,57	3,16	8,84	7,77	2,95	1,97	

Tabla No. 50 Porcentajes de recuperación en las muestras de agua tratada

Ejemplo para Muestra **ÚM4A.b** (E1) Ccon los datos de la tabla No. 45

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|Concentración \textit{medida} - Concentración \textit{del blanco}|}{Concentración \textit{adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{0,23260 - 0,0}{0,25} = 100\% = 93,04\%$$

Estándar	% Recuperación							Media
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	
ÚM4A.b	93,04	90,74	89,43	102,33	100,26	109,44	93,70	93,95
	93,37	87,03	79,38	86,81	105,72	90,24	93,80	
ÚM4A.a	102,47	105,40	103,85	103,12	102,47	102,25	108,87	102,54
	97,20	105,69	99,94	101,89	101,60	101,29	99,58	

Tabla No. 51 Porcentajes de recuperación en la muestra de agua cruda

Ejemplo para Muestra ÚM5A.m (E1) Ccon los datos de la tabla No. 46

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|\text{Concentración medida} - \text{Concentración del blanco}|}{\text{Concentración adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{0,48786 - 0,0}{0,5} = 100\% = 97,57\%$$

Muestra	% Recuperación						
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ÚM5A.m	97,57	97,57	97,63	100,74	97,86	108,83	99,82
	100,80	100,69	100,52	95,75	91,94	107,91	

5.2.3 Agua residual

5.2.3.1 Curva de calibración

Se preparó una curva de calibración para la determinación de fosfatos en agua residual en un rango de concentración de fósforo entre 1 y 5 mg/L. Midiéndose la absorbancia a una longitud de onda de 690 nm en celdas de vidrio 1 cm de longitud. En la tabla No. 52 se muestran las absorbancias mostradas por los patrones preparados.

Tabla No. 52 Datos correspondientes a la curva de calibración para determinar fosfatos en agua residual

Concentración (mg fósforo/L)	Absorbancia
1	0,800
2	1,463
3	2,211
4	2,786
5	3,157

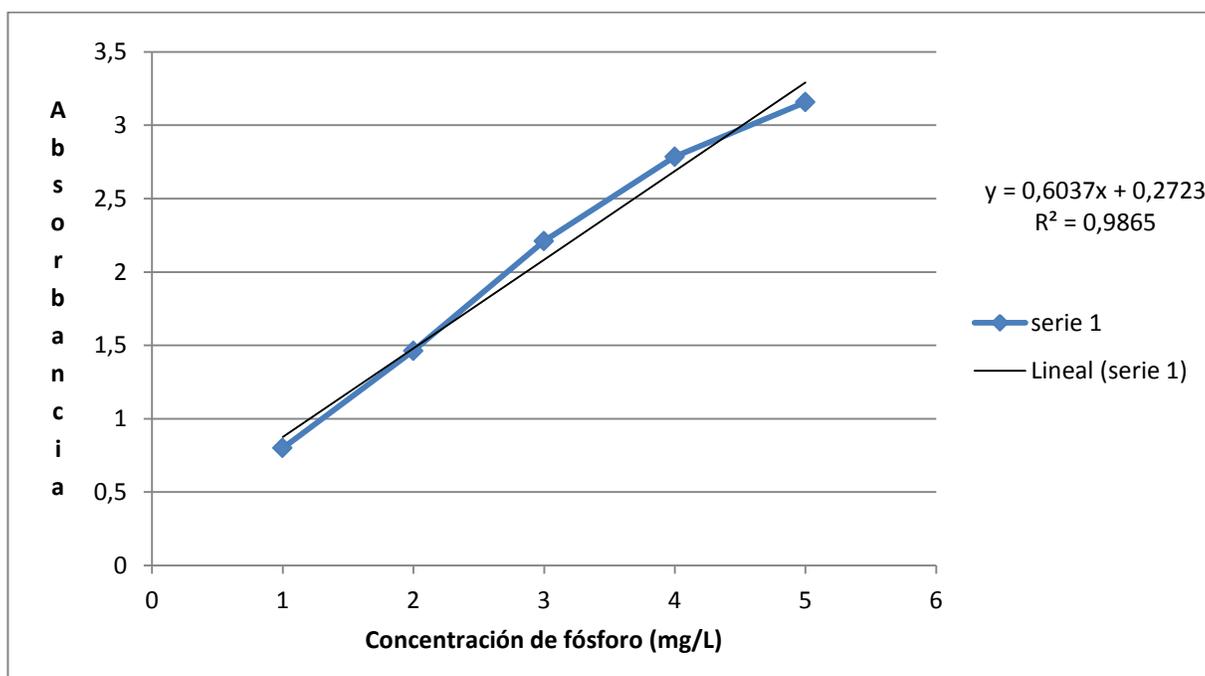


Figura No. 9 Curva de calibración para la determinación de fósforo en agua residual

Tabla No. 53 Datos obtenidos de la figura No. 9

Parámetro	Valor
Pendiente, m	0,6037
Intercepto en el eje Y, b	0,2723
Coefficiente de correlación lineal, r²	0,9865

5.2.3.2 Validación de la curva

5.2.3.2.1 Determinación de los límites de cuantificación y detección

Mediante la medición de un estándar de concentración 0,5 mg fósforo/L se obtuvieron los valores de los límites de detección y cuantificación para la Figura No. 9.

Tabla No. 54 Límites de detección y cuantificación

Muestra	Concentración (mg fósforo/L)							Desviación estándar
	E1 (09-04-12)	E2 (10-04-12)	E3 (11-04-12)	E4 (12-04-12)	E5 (13-04-12)	E6 (16-04-12)	Media	
0,5 mgP/L	0,48300	0,49120	0,49450	0,49620	0,46640	0,50120	0,4897	0,0103337
	0,49450	0,48130	0,48960	0,48620	0,50610	0,48620		

$$\text{LoD} = \overline{Cbl} + 3s$$

$$\text{LoD} = 0,520702 \text{ mg fósforo/L} = (0,520702 * (94,97/30,97)) \text{ mg fosfatos/L}$$

$$= 1,59674 \text{ mg fosfato/L}$$

$$\text{LoQ} = \overline{Cbl} + 10s$$

$$\text{LoQ} = 0,59301 \text{ mg fósforo/L} = (0,59301 * (94,97/30,97)) \text{ mg fosfatos/L}$$

$$= 1,81848 \text{ mg fosfato/L}$$

Donde:

LoD: Límite de detección

LoQ: Límite de cuantificación

\overline{Cbl} : Concentración promedio de los blancos

s: Desviación estándar de los blancos

5.2.3.2.2 Medición de muestras fortificadas y los estándares de comprobación

En las tablas No. 55 y No. 56 están consignados los valores de concentración de fósforo obtenidas al medir el estándar de comprobación y la muestra de agua residual adicionada en la figura No. 9.

Tabla No. 55 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de $\ddot{U}E3.m$

Estándar	Concentración (mg fósforo/L)					
	E1 (09-04-12)	E2 (10-04-12)	E3 (11-04-12)	E4 (12-04-12)	E5 (13-04-12)	E6 (16-04-12)
$\ddot{U}E3.m$	3,3952	3,4416	3,7066	3,5774	3,7182	3,4847
	3,4631	3,4515	3,6039	3,7033	3,2859	3,4631

Tabla No. 56 Ensayos 1-6 para la determinación de las concentraciones de
 ŪM6A.b y ŪM6A.a

Estándar	Concentración (mg fósforo/L)					
	E1 (09-04-12)	E2 (10-04-12)	E3 (11-04-12)	E4 (12-04-12)	E5 (13-04-12)	E6 (16-04-12)
ŪM6A.bk	1,7454	1,8050	1,8282	1,6427	1,8630	1,7653
	1,8498	1,8017	1,7471	1,7818	1,8597	1,7404
ŪM6A.b	2,9860	2,9546	3,0474	2,7360	3,0441	2,9546
	3,1368	2,5985	2,6432	2,8900	3,0242	2,9756
ŪM6A.a	4,8314	4,9175	4,7999	4,7088	4,8628	4,7767
	4,8645	4,8082	4,7916	4,7552	4,7436	4,8314

5.2.3.2.3 Dócima de Grubbs

Se utilizó la dócima de Grubbs como criterio para definir si existían valores atípicos en las series de datos obtenidas para el estándar de comprobación y la muestra de agua residual.

- Ejemplo Gi y Gn para Estándar ŪE3.bk, con los datos de la tabla No. 54

$$G_i = \frac{\bar{X} - X_i}{s} = \frac{0,48970 - 0,46640}{0,01033} = 2,255$$

$$G_n = \frac{X_n - \bar{X}}{s} = \frac{0,50610 - 0,48970}{0,01033} = 1,587$$

Tabla No. 57 Dócima de Grubbs para datos de agua residual

Muestra		G	
		Gi	Gn
Estándar	ÚE3.bk	2,255	1,587
	ÚE3.m	1,741	1,413
Residual	ÚM6A.bk	2,262	1,219
	ÚM6A.b	2,228	1,163
	ÚM6A.a	1,696	1,885

5.2.3.2.4 Análisis estadístico de los datos

Tabla No. 58 Análisis estadístico de los datos de las tablas No. 54-56

Ejemplo para Estándar ÚE3.bk con los datos de las tablas No. 54-56.

$$\text{Media, } \check{U}E3.bk = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i = 0,489700$$

$$\text{Desviación estándar, } \check{U}E3.bk = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} = 0,010334$$

Muestra		Media (mg/L)	Desviación estándar
Estándar	ÚE3.bk	0,489700	0,010334
	ÚE3.m	3,52454	0,137088
Agua residual	ÚM6A.bk	1,78584	0,063275
	ÚM6A.m	2,91592	0,168919
	ÚM6A.a	4,80763	0,058285

Tabla No. 59 Porcentajes de error en la determinación de la concentración de
 ŪE3.m

Ejemplo para Estándar ŪE3.m (E1) con los datos de la tabla No. 55.

$$\% \text{ Error} = \frac{|Concentración \text{ real} - Concentración \text{ medida}|}{Concentración \text{ real}} * 100\% = \frac{3,5 - 3,3952}{3,5} * 100\%$$

$$= 2,99\%$$

Estándar	% Error						
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ŪE3.m	2,99	1,67	5,90	2,21	6,23	0,44	3,15
	1,05	1,39	2,97	5,81	6,12	1,05	

Tabla No. 60 Porcentajes de recuperación en las muestras de agua residual ÚM5A.b y ÚM5A.a

Ejemplo para Muestra ÚM5A.b (E1) con los datos de la tabla No. 56

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|\text{Concentración medida} - \text{Concentración del blanco}|}{\text{Concentración adicionada}} * 100\%$$

$$= \frac{2,9860 - 1,7454}{1} * 100\% = 124,06$$

Estándar	% Recuperación						
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Media
ÚM5A.b	124,06	114,96	121,92	109,33	118,11	118,93	113,01
	128,70	79,68	89,61	110,82	116,45	123,52	
ÚM5A.a	102,87	103,75	99,06	102,20	99,99	100,38	100,73
	100,49	100,22	101,48	99,11	96,13	103,03	

5.3 Resumen resultados

5.3.1 Fenoles

Tabla No. 61 Datos resumen de la gráfica para determinación de fenoles, Fotométrico directo (Figura No. 5)

Parámetro	Valor
Coefficiente de correlación	0,9996
Sensibilidad	0,6752
Límite de detección	0,054638
Límite de cuantificación	0,085406

Tabla No. 62 Precisión del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)

Muestra		Desviación estándar
Estándar	ÚE1.bk	0,004395
	ÚE1.b	0,031815
	ÚE1.m	0,027272
	ÚE1.a	0,035782
Agua residual	ÚM2A.bk	0,030640
	ÚM2A.b	0,036416
	ÚM2A.m	0,085111
	ÚM2A.a	0,166314
Agua cruda	UM3A.bk	0,052453
	ÚM3A.m	0,012404

Tabla No. 63 Exactitud del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)

EXACTITUD		
Patrón	% Error relativo	Media
ÚE1.b	35,78	36,64
ÚE1.m	36,14	
ÚE1.a	38,00	

Tabla No. 64 Selectividad del método de la 4-AAP (Fotométrico directo)

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD			
Matriz de agua	Muestra	% Recuperación	Media
Residual	ÚM1A.b	55,20	67,17
	ÚM1A.m	73,93	
	ÚM1A.a	72,38	
Cruda	ÚM2A.m	83,17	83,17

5.3.2 Fosfatos

Tabla No. 65 Datos resumen de la gráfica para determinación de fosfatos en agua tratada y cruda (Figura No. 8)

Parámetro	Valor
Coefficiente de correlación	0,9991
Sensibilidad	3,6591
Límite de detección (mg P / L)	0,076761
Límite de detección (mg PO₄⁻³/L)	0,235389
Límite de cuantificación (mg P / L)	0,082959
Límite de cuantificación (mg PO₄⁻³/ L)	0,254396

Tabla No. 66 Precisión del método del cloruro estañoso (para agua tratada y cruda)

Muestra		Desviación estándar
Estándar	ÚE2.bk	0,00096
	ÚE2.b	0,02179
	ÚE2.a	0,04371
Agua tratada	BK	0,00000
	ÚM4A.b	0,02016
	ÚM4A.a	0,02441
Agua cruda	ÚM5A.bk	0,00000
	ÚM5A.m	0,02370

Tabla No. 67 Exactitud del método del cloruro estañoso (para agua tratada y cruda)

EXACTITUD		
Patrón	% Error relativo	Media
ÚE2.b	8,19	6,02
ÚE2.a	3,86	

Tabla No. 68 Selectividad del método del cloruro estañoso (para agua tratada y cruda)

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD			
Matriz de agua	Patrón	% Recuperación	Media
Cruda	ÚM1A.m	99,82	99,82
Tratada	ÚM2A.m	93,95	98,24
	ÚM2A.a	102,54	

Tabla No. 69 Datos sobre la gráfica para determinación de fosfatos en agua residual (Figura No. 8).

Parámetro	Valor
Coefficiente de correlación	0,9865
Sensibilidad	0,6037
Límite de detección (mg P / L)	0,520702
Límite de detección (mg P₀₄⁻³/L)	1,596741
Límite de cuantificación (mg P / L)	0,593010
Límite de cuantificación (mg P₀₄⁻³/L)	1,818475

Tabla No. 70 Precisión del método del cloruro estañoso (para agua residual)

Muestra		Desviación estándar
Estándar	ÚE3.bk	0,01033
	ÚE3.m	0,13709
Agua residual	ÚM6A.bk	0,063275
	ÚM6A.m	0,20417
	ÚM6A.a	0,05828

Tabla No. 71 Exactitud del método del cloruro estañoso (para agua residual)

EXACTITUD		
Patrón	% Error relativo	Media
ÚE3.m	3,15	3,15

Tabla No. 72 Selectividad del método del cloruro estañoso (para agua residual)

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD			
Matriz de agua	Muestra	% Recuperación	Media
Residual	ÚM6A.m	113,01	106,87
	ÚM6A.a	100,73	

6 DISCUSION

6.1 Fenoles

Se realizó un estudio de cinética simple y un barrido espectral a dos muestras de fenol de concentración 0,5 mg/L con el fin de establecer las condiciones de tiempo y longitud de onda bajo las cuales debían realizarse las mediciones de absorbancia de las soluciones.

De acuerdo con los resultados, la medición de la absorbancia de las muestras debe hacerse 600 s después de la coloración a una longitud de onda de 500 nm, mostrando esto una variación en cuanto al procedimiento sugerido en el *Standard Methods*, pues en este se menciona que la medición debe hacerse después de 900 s a una longitud de onda de 500 nm.

Para la determinación cuantitativa del contenido de los compuestos fenólicos presentes en agua potable, se realizaron varias curvas de calibración; pero tal como se observa en la tabla No. 23, el valor de la correlación lineal entre las variables de concentración y absorbancia está muy alejado de su valor ideal, 1, disminuyendo esto su confiabilidad.

Para las condiciones del laboratorio de análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira no fue posible la obtención de una gráfica con un grado de linealidad aceptable para esta determinación. Sin embargo, para la determinación de fenoles en agua cruda y residual, la figura No. 3 sí cumple con los parámetros de linealidad requeridos para este tipo de medición. Su factor de correlación, con un valor de 0,9996, muestra una relación lineal casi perfecta entre los parámetros de concentración de la muestra y su respectiva absorbancia,

indicando así que puede ser utilizada para la determinación cuantitativa de compuestos fenólicos.

La mínima concentración detectable de forma confiable mediante esta curva es de 0,0546375 mg fenol/L, pero si se requiere un nivel aceptable de precisión, repetibilidad y exactitud esta concentración mínima es de 0,0854061 mg fenol/L.

La sensibilidad del método, medido como la pendiente de la curva no presenta un valor alto, indicando esto que no se podrán detectar pequeños cambios en la concentración.

Antes de la preparación de las muestras para la validación, se realizó la estandarización de la solución madre de fenol. Este procedimiento se realizó debido a la inestabilidad de las soluciones de fenol. Conociendo los valores reales de las soluciones de fenol, se procedió a la adición y posterior medición de las muestras.

De acuerdo con la tabla No. 34, el método fotométrico directo de la 4-aminoantipirina para la determinación de fenoles es altamente repetitivo. Las diferentes mediciones hechas a los estándares y a las muestras fortificadas tanto de agua cruda como de agua residual muestran una alta repetibilidad en términos de la desviación estándar.

En cuanto a la exactitud del método, esta no es aceptable, puesto que en la medición de los estándares se presentaron porcentajes de error que varían entre 29,33% y 43,06%, siendo el promedio de 36,64%.

Respecto a la recuperación del analito de interés, también se observaron valores muy deficientes. En promedio, la recuperación más alta de los compuestos fenólicos presentes en agua residual, se observó en la muestra de menor

fortificación, siendo esta de 56,31%; mientras que en la muestra de fortificación media mostró la mayor cantidad de compuesto recuperado, con un promedio de 73,93%.

En promedio la recuperación de compuestos fenólicos en agua residual fue de 66,83%.

En comparación con el agua residual, en las muestras de agua cruda se obtuvo una recuperación más alta. Para este caso los porcentajes de recuperación variaron entre 75,81 y 91,16, teniendo como promedio un valor de 83,17%.

Debido a la recuperación tan baja en el agua residual, y al error tan alto en los estándares, se decidió tomar nuevamente unas muestras, y realizar las mediciones en un tiempo menor al utilizado para las muestras anteriores; esto se realizó con el fin de determinar si el tiempo de almacenamiento estaba propiciando la degradación de los compuestos fenólicos impidiendo esto una adecuada recuperación de los mismos.

Estas nuevas muestras se fortificaron con una concentración menor a la utilizada para las muestras iniciales y se analizaron en 6 ocasiones por duplicado los días 1 y 2 después de su recolección y preservación.

Al realizar el análisis de las nuevas muestras de agua residual y los nuevos estándares, los bajos resultados en la recuperación del compuesto fueron una constante, llegándose a obtener porcentajes de recuperación menores que los observados en las muestras iniciales. (Ver tablas No 35, 36, 39 y 40)

De acuerdo con esto, se puede inferir que el problema con la recuperación del compuesto de interés no era debido a la degradación fenólica durante el almacenamiento, sino que el método por sí mismo no era capaz de medir la

concentración presente en las muestra.

Aunque algunos de los parámetros tomados en cuenta para la validación de este método, tales como el límite de detección, sensibilidad y precisión presentan valores aceptables, pero la exactitud y el porcentaje de recuperación muestran que el método no presenta en su totalidad las características requeridas para asegurar la confiabilidad del mismo.

Para las condiciones del laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, el método fotométrico directo de la 4-AAP para la determinación cuantitativa de compuestos fenólicos no cumple con los requerimientos estipulados para arrojar datos con un nivel aceptable de precisión y exactitud.

6.2 Fosfatos

Realizando un estudio de cinética simple y un barrido espectral a dos muestras de fósforo de concentración 2 mg/L con se establecieron las condiciones bajo las cuales se deben realizar las mediciones de absorbancia de las soluciones.

Se determinó que la medición de las muestras debía realizarse 10 minutos después de la coloración a una longitud de onda de 690 nm para así obtener un máximo de absorbancia.

6.2.1 Curva de concentración baja

Esta gráfica muestra una relación lineal casi perfecta entre los parámetros de absorbancia y concentración; su factor de correlación lineal con un valor de 0,9991 muestra que presenta una alta confiabilidad para la determinación de la concentración de fósforo en un rango comprendido entre 0,1 mg/L y 1 mg/L.

Su pendiente, de 3,6591 L/mg, muestra su aptitud para la detección de pequeños cambios en la concentración.

Mediante esta curva se puede determinar una concentración mínima de 0,235389 mg fosfatos/L, y con un nivel aceptable de precisión y exactitud, esta concentración mínima es de 0,254395 mg fosfatos/L.

Las mediciones realizadas a los estándares y a las muestras fortificadas de aguas tratada y cruda, registran datos que presentan una pequeña variación entre sí, mostrando así un alto grado de repetibilidad del método.

En cuanto a la exactitud del método, se obtuvo un buen resultado en términos de porcentaje de error. El estándar de concentración baja mostró en promedio 8,19% mientras que el de concentración alta tuvo en promedio 3,87%. El método muestra un porcentaje de error de 6,03%, afirmando así que cumple con las condiciones de exactitud requeridas para este tipo de determinación analítica.

Así mismo, en términos de porcentajes de recuperación se obtuvieron resultados satisfactorios; en la matriz de agua residual se obtuvo un promedio de 98,24% mientras que en el agua cruda se obtuvo un promedio de 99,82%. Esto indica que el método presenta un alto grado de selectividad, pudiendo así determinar el analito de interés a pesar de las sustancias que se encuentran en estas matrices de agua.

6.2.2 Curva de concentración alta

Aunque la concentración y la absorbancia se encuentran relacionadas de forma lineal, el coeficiente de correlación lineal muestra que existe un grado de covariación entre estos dos parámetros lo cual no permite una relación

perfectamente lineal.

Sin embargo esta variación no es muy alta, por lo cual se decidió utilizarla para las mediciones posteriores de las muestras.

La mínima concentración detectable mediante esta curva es de 1,59674 mg fosfatos/L y si se requiere un nivel de precisión, repetibilidad y exactitud, esta concentración mínima es de 1,81848 mg fosfatos/L.

Para esta curva, el error del método fue de 3,15%, valor adecuado para las aplicaciones posteriores de la curva.

En cuanto a la recuperación del analito de interés, se obtuvo en promedio un porcentaje de 106,87% para el agua residual.

De acuerdo con esto, el método planteado es confiable, repetitivo y exacto.

7 CONCLUSIONES

- Se validaron los métodos de la 4-aminoantipirina y el cloruro estañoso para la determinación de fenoles y fosfatos, respectivamente.
- El método de la 4-AAP (extracción con cloroformo) no es lineal en el rango de 0,02 mg fenol/L – 0,10 mg fenol/L; debido a esto no fue posible la determinación cuantitativa de compuestos fenólicos en agua tratada.
- El método de la 4-AAP (fotométrico directo) mostró ser lineal en el rango de 0,1 mg fenol/L – 1,2 mg fenol/L, además es repetible; sin embargo no es exacto ni selectivo, por lo tanto no es apto para utilizarlo en el laboratorio para la determinación cuantitativa de compuestos fenólicos.
- Se determinó que el método del cloruro estañoso es apto para la cuantificación de fosfatos en agua tratada, cruda y residual.
- La curva seleccionada para la determinación de fosfatos en agua cruda y tratada, mostró que en el rango comprendido entre 0,1 mg fósforo/L y 1 mg fósforo/L, el método es lineal. Además cuenta con bajos límites de detección y cuantificación, los cuales permiten la detección de pequeñas concentraciones de fosfatos. De igual manera, se comprobó que el método es preciso, exacto y selectivo.
- En el rango comprendido entre 1 mg fósforo/L – 5 mg fósforo/L, el método del cloruro estañoso es lineal. Además es exacto, preciso y también selectivo. Conforme a esto, el método presenta características óptimas para la realizar la determinación cuantitativa de fosfatos en agua residual de forma confiable.

- Se elaboraron los informes de validación de las técnicas fotométricas de fenoles y fosfatos según los instructivos del Laboratorio de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

8 RECOMENDACIONES

- Aunque con las condiciones de almacenamiento se hace frente a varias interferencias que pueden producir degradación rápida de los compuestos fenólicos, se recomienda al laboratorio tener en cuenta el procedimiento 5530 A, numeral 2, del *Standard Methods*, el cual propone un tratamiento a las muestras tan pronto se hace su recolección, este tratamiento permite eliminar otro tipo de interferencias que pueden estar presentes, especialmente en aguas residuales. De esta manera se podrán obtener mayores porcentajes de recuperación del compuesto de interés.
- Se recomienda al laboratorio tener en cuenta, como método alternativo para la determinación de fenoles totales, la modificación del método de la 4-AAP que conlleva la adición de cloruro de sodio. Según estudios [29] y [30], la utilización de este compuesto durante la destilación permite una mayor recuperación de los compuestos fenólicos.

9 BIBLIOGRAFIA

[1] RODRIGUEZ, Miguel. Fenton and UV-vis based advanced oxidation processes in wastewater treatment: Degradation, mineralization and biodegradability enhancement. Trabajo de grado Doctor en Ingeniería Química. Barcelona: Universitat de Barcelona. Facultat de Química. Departament D'enginyria Química i Metal·lúrgia, 2003. 6 p.

[2] GOMEZ-TAYLOR, Bárbara. Nuevos métodos de análisis en flujo (F.I.A. y multiconmutación) aplicados a la determinación por quimioluminiscencia directa de fenoles y polifenoles. Trabajo de grado Doctor en Farmacia. Valencia: Universitat de València, Facultat de Farmàcia. Departament de Química Analítica, 2003. 145 p.

[3] GARCIA-OCHOA, Félix y SANTOS, Aurora. Oxidación catalítica de compuestos fenólicos en aguas residuales. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Ingeniería Química. Facultad de CC. Químicas. 275 p.

[4] ORSETTI, Silvia. Estudio de la heterogeneidad de ácidos húmicos en el enlace de cationes. Trabajo de grado Doctor en Química Inorgánica, Analítica y Química Física. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, 2010. p. VII

[5] GOMEZ-TAYLOR. Op. cit., p 146-147.

[6] ALONZO, Lourdes y RODRIGUEZ PEÑALOSA, María Elizabeth. Dermatitis por contacto ocupacional. En: Cent Dermatol Pascua. Mayo-Agosto, 1999. vol. 8, no. 2, p. 91.

[7] RONCAL-Herrero, Teresa y OELKERS, Eric H. Reactividad de minerales fosfatados: Implicaciones ambientales. En: Macla. Septiembre, 2008. no. 9. p. 217.

[8] BRIDGEWATER, Laura, *et al.* Standard Methods for the examination of water and waste water. 19th Ed. Washington: American Public Health Association, 2005. 4-152, 5-45 – 5,47 p.

[9] PALOMINO-TORRES, Alberto. Desarrollo endógeno agropecuario. Nueva biblioteca del campo 21: El agua. Colombia: Fundación Hogares Juveniles Campesinos, c2008

[10] MANAHAN, Stanley E. Introducción a la química ambiental. México: Reverte Ediciones, 2007. 145 p.

[11] MANAHAN. Op. cit., p. 5.

[12] MANAHAN. Op. cit., p. 659

[13] SOUSA, Ana R. y TRANCOSO, Maria A. Validation of an environmental friendly segmented flow method for the determination of phenol index in waters as alternative to the conventional one. En: Talanta. Agosto 15, 2009. vol. 79, p. 796-803.

[14] MANAHAN. Op. Cit., p. 538

[15] COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Decreto 1494 (1984)

[16] SILVA, María Eugenia. Preconcentración selectiva de fenoles contaminantes prioritarios y determinación por espectrofotometría ultravioleta-visible. Cromatografía líquida de alta eficiencia y cromatografía de gases/espectrometría de masas. Doctor en química. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica, 2000. 16 p.

[17] ORTEGA, Fabio Alejandro. Proyecto de grado Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente. Sangolquí, Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército, 2009. 24 p.

[18] BRIDGEWATER. Op. cit., 4-146 p.

[19] MESQUITA, Raquel, *et al.* Development of a flow method for the determination of phosphate in estuarine and freshwaters—Comparison of flow cells in spectrophotometric sequential injection analysis. En: Analytica Chimica Acta. Septiembre 2011. vol. 701, p. 15-22

[20] COLOMBIA. MINISTERIOS DE LA PROTECCIÓN SOCIAL Y DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 (4, julio, 2007). Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Diario Oficial. Bogotá D.C., 2007. No. 46679. p. 6.

[21] BRIDGEWATER. Op. cit., 4-151 - 4-153 p

[22] SKOOG, Douglas A, *et al.* Principios de análisis instrumental. 5ed.

México: Cengage Learning Editores, 2001. p. 322

[23] SKOOG, Douglas A, *et al.* Fundamentos de química analítica. 8ed. México: Cengage Learnig Editores, S.A. de C.V., C2005. p. 800-802.

[24] EURACHEM. Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. LCG, Queens Rd, Teddington, Middlesex, TW11 OLY, Reino Unido. 2a Ed. p. 7-9. Disponible en: <http://www.eurachem.org/guides/pdf/valid.pdf>

[25] EURACHEM. Op. Cit., p. 17-29

[26] COY, Gustavo Adolfo. Protocolo, Estandarización de métodos analíticos. Bogotá, Colombia. Noviembre 1999.

[27] PEREZ, Marlen; PEREZ, *et al.* Técnicas analíticas para indicadores de calidad del agua en Bahías. La Habana. 2008. p. 3-4.

[28] VELD SCIENTIFICA. Manual de instrucciones del destilador.

[29] NORWITZ, George; NATARRO, Nicole y KELIHER, Peter. Steam distillation of phenolic compounds in the presence of a large amount of sodium chloride. En: Microchemical Journal. Abril, 1987. vol. 35, Issue 2, p. 240-243. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.utp.edu.co/science/article/pii/0026265X87900816>

[30] NORWITZ, George y KELIHER, Peter. Spectrophotometric determination of phenol by the 4-aminoantipyrine method after steam distillation in a semimicro kjeldahl apparatus in the presence of a large

amount of sodium chloride. En: Analytica Chimica. Diciembre, 1982. vol.
144, p. 273-276. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com.ezproxy.utp.edu.co/science/article/pii/S0003267001955448>