

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**VALIDACION DE LOS METODOS DE ENSAYO PARA FENOLES, TENSOACTIVOS,
SOLIDOS SUSPENDIDOS Y TOTAL DE SOLIDOS DISUELTOS (TDS).**

TESIS DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA QUÍMICA

AUTOR: FERNANDA ARACELY TOASA LLUMIGUSÍN

TUTOR: ING. ANA MACHADO C.

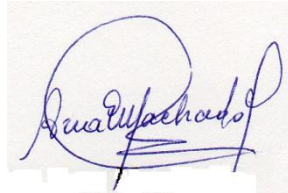
QUITO

2012

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutora, luego del estudio y análisis realizado sobre la tesis de grado presentada por la Señorita FERNANDA ARACELY TOASA LLUMIGUSÍN que titula VALIDACION DE LOS METODOS DE ENSAYO PARA FENOLES, TENSOACTIVOS, SOLIDOS SUSPENDIDOS Y TOTAL DE SOLIDOS DISUELTOS (TDS), sobre el particular informo que la tesis de grado tiene valor académico y utiliza conocimientos de la Ingeniería Química que han resuelto el problema y los objetivos planteados, por lo que declaro mi conformidad con el mismo.

En la ciudad de Quito, a los 20 días del mes de noviembre de 2012

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ana Machado C.', is centered on a light-colored rectangular background.

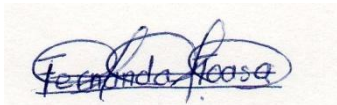
Ing. Ana Machado C.
PROFESORA TUTORA

AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL

Yo, FERNANDA ARACELY TOASA LLUMIGUSÍN en calidad de autora de la tesis de grado realizada sobre VALIDACION DE LOS METODOS DE ENSAYO PARA FENOLES, TENSOACTIVOS, SOLIDOS SUSPENDIDOS Y TOTAL DE SOLIDOS DISUELTOS (TDS), por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, 10 de Noviembre de 2012

A handwritten signature in blue ink on a light-colored background. The signature is cursive and appears to read 'Fernanda Toasa'.

Fernanda Toasa

C.C: 172208695-4

fer_toasa@hotmail.com

A mi gran Dios
por todas sus
bendiciones, a
mi familia por
su apoyo
incondicional y
a mi pequeño
Camilo.

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos a:

Dios por llenarme de bendiciones en cada paso y por haberme permitido llegar hasta este momento.

Mis padres por el cariño y apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de toda mi vida. Por ser el pilar fundamental que ha motivado mi formación académica.

Mi hermana por ser el motor que me impulsa a seguir adelante, por darme fuerza y apoyo en todo momento.

Mis amigos, en especial a Marcía, Andrea, Johana y Guísela por todos los momentos compartidos a lo largo de estos años.

Ingeniera Anita Machado por su valiosa orientación y guía, que me han servido de gran ayuda para la realización de este trabajo.

Ingeniero César Alvarado por todo el apoyo y orientación brindado en la realización del presente trabajo.

El personal del Laboratorio de Petróleos, Energía y Contaminación, DPEC, por su ayuda y colaboración durante la realización de mi trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	1
1. CONCEPTOS GENERALES	4
1.1 Agua.	4
1.1.1 <i>Composición del agua.</i>	4
1.1.2 <i>Propiedades del Agua.</i>	5
1.2 Distribución del agua en la tierra.	6
1.2.1 <i>Tipos de agua.</i>	7
1.2.1.1 <i>El agua natural.</i>	8
1.2.1.2 <i>Agua Potable.</i>	8
1.2.1.3 <i>Agua residual.</i>	8
1.3 Calidad del agua.	8
1.3.1 <i>Norma de Calidad Ambiental.</i>	9
1.3.1.1 <i>Criterios de calidad en relación al uso del agua.</i>	9
1.3.1.2 <i>Criterios de calidad en relación a las fuentes de agua.</i>	10
1.3.2 <i>Contaminación del agua.</i>	10
1.3.2.1 <i>Alteraciones de la calidad del agua.</i>	11
1.4 Clasificación de los Parámetros de Calidad del agua.	11
1.4.1 <i>Parámetros físicos de la calidad del agua.</i>	12
1.4.2 <i>Parámetros químicos de la calidad del agua.</i>	12
1.4.3 <i>Parámetros microbiológicos de la calidad del agua.</i>	12
1.5 Sólidos.	12
1.5.1 <i>Sólidos Totales en Suspensión.</i>	14
1.5.1.1 <i>Propiedades.</i>	16
1.5.2 <i>Sólidos Totales Disueltos.</i>	17
1.6 Fenoles.	18
1.6.1 <i>Características generales y estructuras.</i>	18
1.6.2.1 <i>Propiedades.</i>	19

1.6.3	<i>Toxicidad.</i>	21
1.6.4	<i>Aplicaciones.</i>	21
1.7	<i>Detergentes.</i>	21
1.7.1	<i>Tensoactivos.</i>	22
1.7.1.1	<i>Composición típica.</i>	22
1.7.1.2	<i>Clasificación.</i>	24
1.7.1.3	<i>Propiedades.</i>	25
1.7.2	<i>Importancia de los detergentes.</i>	27
2.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	28
2.1	<i>Métodos analíticos.</i>	28
2.1.1	<i>Métodos clásicos.</i>	28
2.1.2	<i>Métodos Instrumentales.</i>	28
2.1.2.1	<i>Métodos instrumentales ópticos.</i>	28
2.3	<i>Fundamentos de espectroscopia de absorción molecular.</i>	29
2.3.1	<i>Radiación Electromagnética.</i>	29
2.3.1.1	<i>Propiedades ondulatorias de la radiación.</i>	30
2.3.1.2	<i>Propiedades de partícula de luz: fotones.</i>	31
2.3.1.3	<i>El espectro de radiación electromagnética.</i>	32
2.3.2	<i>Teoría de absorción molecular.</i>	33
2.3.2.1	<i>Diagramas de niveles de energía.</i>	34
2.3.2.2	<i>Absorción de la luz.</i>	35
2.3.3	<i>Ley de Lambert-Beer.</i>	36
2.3.3.1	<i>Motivos por los que falla la ley de Beer.</i>	36
2.4	<i>Instrumentos ópticos en medidas de absorbancia.</i>	38
2.4.1.1	<i>Fuentes de radiación visible.</i>	39
2.4.1.2	<i>Fuentes de radiación ultravioleta.</i>	39
2.4.2	<i>Selectores de longitud de onda.</i>	40
2.4.2.1	<i>Sistemas monocromadores.</i>	40
2.4.3	<i>Celdas o cubetas.</i>	40
2.4.4	<i>Sistemas Detectores.</i>	41
2.4.5	<i>Espectrofotómetros con configuración óptica de un solo haz.</i>	42
2.4.5.1	<i>Espectrofotómetros de haz sencillo para la región ultravioleta/visible.</i>	42
2.5	<i>Señales y ruido.</i>	43
2.5.1	<i>Fuentes de ruido en los análisis instrumentales.</i>	44
2.5.1.1	<i>Ruido químico.</i>	44

2.5.1.2 <i>Ruido instrumental.</i>	44
2.6 Determinación cuantitativa de Fenoles.	46
2.6.1 <i>Limitaciones de la determinación.</i>	47
2.6.1.1 <i>Interferencias.</i>	47
2.7 Determinación cuantitativa de Detergentes Aniónicos.	47
2.7.1 <i>Limitaciones de la determinación.</i>	48
2.7.1.1 <i>Interferencias.</i>	48
2.8 Determinación cuantitativa de Sólidos Totales Disueltos.	48
2.8.1 <i>Método gravimétrico.</i>	48
2.8.1.1 <i>Limitaciones del procedimiento.</i>	49
2.8.2 <i>Método instrumental.</i>	49
2.9 Determinación cuantitativa de Sólidos Totales en Suspensión.	49
2.9.1 <i>Método gravimétrico.</i>	49
2.9.2 <i>Método fotométrico.</i>	50
3. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN MÉTODO ANALÍTICO	51
3.1 Método de análisis.	51
3.1.1 <i>Métodos estándar o normalizados.</i>	51
3.1.2 <i>Métodos desarrollados por el laboratorio.</i>	51
3.2 Método de análisis cuantitativo.	51
3.2.1 <i>Definición del problema analítico.</i>	52
3.2.2 <i>Muestreo.</i>	53
3.2.2.1 <i>Parámetros de estudio.</i>	53
3.2.2.2 <i>Tipo de muestras a recoger.</i>	53
3.2.2.3 <i>Volumen de la muestra.</i>	53
3.2.2.4 <i>Conservación de la muestra.</i>	53
3.2.3 <i>Preparación de la muestra.</i>	55
3.2.4 <i>Medición de una propiedad física del analito.</i>	55
3.3 Norma internacional ISO/IEC 17025.	56
3.4 Validación.	56
3.4.1 <i>Requerimiento analítico.</i>	57
3.4.1.1 <i>Requerimientos analíticos y características de rendimiento relacionadas.</i>	57
3.4.2 <i>Puesta a punto.</i>	58
3.4.3 <i>Selección de parámetros de desempeño.</i>	58
3.4.3.1 <i>Linealidad.</i>	60
3.4.3.2 <i>Límite de detección.</i>	60

3.4.3.3	<i>Límite de cuantificación.</i>	61
3.4.3.4	<i>Exactitud.</i>	62
3.4.3.5	<i>Precisión.</i>	62
3.4.3.6	<i>Especificidad.</i>	63
3.4.3.7	<i>Selectividad.</i>	63
3.4.4	<i>Fijación de objetivos.</i>	64
3.4.5	<i>Diseño experimental y estadístico.</i>	64
3.4.6	<i>Procesamiento de muestras y tratamiento estadístico.</i>	64
3.4.7	<i>Elaboración de la documentación.</i>	64
3.4.8	<i>Declaración de método validado.</i>	64
3.4.9	<i>Difusión, distribución.</i>	64
3.5	<i>Incertidumbre de medida.</i>	64
3.5.1	<i>Incertidumbre.</i>	65
3.5.2	<i>Estimación de la incertidumbre.</i>	65
3.5.2.1	<i>Especificar el mesurando.</i>	65
3.5.2.2	<i>Identificar las fuentes de incertidumbre.</i>	66
3.5.2.3	<i>Cuantificar los componentes de la incertidumbre.</i>	66
3.5.2.4	<i>Cálculo la incertidumbre estándar combinada.</i>	70
3.5.2.5	<i>Cálculo de la incertidumbre expandida.</i>	71
3.5.2.6	<i>Expresión del resultado final.</i>	72
3.6	<i>Calidad.</i>	72
3.6.1	<i>Intercomparación.</i>	72
3.6.2	<i>Tipos de Ensayos de Aptitud.</i>	73
3.6.2.1	<i>Programas de Comparación de Mediciones.</i>	73
3.6.2.2	<i>Evaluación del Desempeño.</i>	74
3.7	<i>Acreditación.</i>	74
3.8	<i>Esquema general del proceso de validación e intercomparación</i>	75
4.	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO.	77
4.1	<i>Diseño experimental.</i>	77
4.2	<i>Diseño Estadístico.</i>	84
4.3	<i>Puesta a punto.</i>	85
4.3.1	<i>Sólidos Totales en Suspensión.</i>	85
4.3.2	<i>Sólidos Totales Disueltos.</i>	86
4.3.3	<i>Fenoles.</i>	86
4.3.4	<i>Detergentes Aniónicos.</i>	87

4.4 Descripción de equipos y material volumétrico.	87
4.5 Descripción del material de referencia, reactivos, muestra fortificada y material de referencia interno.	88
4.6 Elección de los parámetros de validación y fijación de objetivos.	89
4.7 Preparación de las soluciones/suspensiones patrón y material de referencia interno, para cada método.	92
4.7.1 <i>Suspensión patrón de Sólidos Totales en Suspensión.</i>	92
4.7.2 <i>Solución patrón de Sólidos Totales Disueltos.</i>	92
4.7.3 <i>Solución patrón de Fenoles.</i>	92
4.7.4 <i>Material de referencia interno de Detergentes Aniónicos.</i>	93
4.8 Preparación de las muestras fortificadas utilizadas en la validación.	93
4.8.1 <i>Muestras Fortificadas de Sólidos Totales en Suspensión.</i>	93
4.8.2 <i>Muestras Fortificadas de Sólidos Totales Disueltos.</i>	93
4.8.3 <i>Muestras Fortificadas de Fenoles.</i>	93
4.8.4 <i>Muestras Fortificadas de Detergentes Aniónicos.</i>	94
4.9 Realización de los ensayos normalizados de acuerdo con el procedimiento.	94
4.9.1 <i>Sólidos Totales en Suspensión.</i>	94
4.9.2 <i>Sólidos Totales Disueltos.</i>	95
4.9.3 <i>Fenoles.</i>	95
4.9.4 <i>Detergentes Aniónicos.</i>	96
4.10 Datos Experimentales.	97
4.10.1 <i>Sólidos Totales en Suspensión.</i>	97
4.10.2 <i>Sólidos Totales Disueltos.</i>	98
4.10.3 <i>Fenoles.</i>	99
4.10.3.1 <i>Datos obtenidos de la función respuesta durante la puesta a punto.</i>	99
4.10.3.2 <i>Rectas de calibración utilizadas durante la validación.</i>	100
4.10.3.3 <i>Concentraciones obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.</i>	100
4.10.4 <i>Detergentes Aniónicos.</i>	101
4.10.4.1 <i>Datos obtenidos de la función respuesta durante la puesta a punto.</i>	101
4.10.4.2 <i>Rectas de calibración utilizadas durante la validación.</i>	102
4.10.4.3 <i>Concentraciones obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.</i>	102
5. CÁLCULOS Y RESULTADOS	104
5.1 Cálculo de la concentración de Sólidos Totales en Suspensión.	104

5.2 Cálculo de la concentración de Sólidos Totales Disueltos.	105
5.3 Tratamiento estadístico de los datos.	107
5.3.1 <i>Precisión.</i>	107
5.3.1.1 <i>Cálculo del valor medio de las determinaciones diarias.</i>	107
5.3.1.2 <i>Cálculo de la media de medias.</i>	108
5.3.1.3 <i>Cálculo de la Suma de Diferencias Cuadráticas Dentro del Grupo “SDCW”.</i>	108
5.3.1.4 <i>Cálculo del promedio de la Suma de Diferencias Cuadráticas Dentro del Grupo “DCMW”.</i>	108
5.3.1.5 <i>Cálculo de la Suma de Diferencias Cuadráticas Entre Grupos “SDCB”.</i>	109
5.3.1.6 <i>Cálculo del promedio de la Suma de Diferencias Cuadráticas Entre Grupos “DCMB”.</i>	109
5.3.1.7 <i>Cálculo de la Desviación Estándar por Repetibilidad “Sr”.</i>	109
5.3.1.8 <i>Cálculo de Precisión Intermedia “SL”.</i>	109
5.3.1.9 <i>Cálculo de la Desviación Estándar por Reproducibilidad “SR”.</i>	110
5.3.1.10 <i>Cálculo del Coeficiente de Variación de Repetibilidad “CVr”.</i>	110
5.3.1.11 <i>Cálculo del Coeficiente de Variación de Reproducibilidad “CVR”.</i>	110
5.3.2 <i>Deterrminacion de la linealidad de la funcion respuesta.</i>	110
5.3.3 <i>Calculo de los parámetros de validación.</i>	113
5.3.3.1 <i>Límite de Detección.</i>	113
5.3.3.2 <i>Límite de Cuantificación.</i>	113
5.3.3.3 <i>Veracidad.</i>	114
5.4 Estimación de la Incertidumbre del Método.	115
5.4.1 <i>Estimación de la incertidumbre del método de Sólidos Totales en Suspensión.</i>	115
5.4.1.1 <i>Incertidumbre debida al cálculo de la concentración.</i>	116
5.4.1.2 <i>Cálculo de la Incertidumbre Estándar de la Estufa.</i>	122
5.4.1.3 <i>Cálculo de la Incertidumbre Estándar del Material Volumétrico.</i>	122
5.4.1.4 <i>Cálculo de la Incertidumbre por Reproducibilidad.</i>	124
5.4.1.5 <i>Cálculo de la Incertidumbre Estándar de la preparación de la muestra fortificada.</i>	124
5.4.1.6 <i>Correcciones no Aplicadas.</i>	128
5.4.2 <i>Estimación de la incertidumbre del método de Detergentes Aniónicos.</i>	130
5.4.2.1 <i>Cálculo de la Incertidumbre estándar de la lectura del espectrofotómetro.</i>	131
5.4.2.2 <i>Cálculo de la Incertidumbre Estándar del material volumétrico utilizado en el ensayo.</i>	136
5.4.2.3 <i>Cálculo de la Incertidumbre por Reproducibilidad.</i>	138
5.4.2.4 <i>Cálculo de la Incertidumbre de la muestra fortificada</i>	139

5.4.2.5 <i>Cálculo de la Incertidumbre estándar del pretratamiento de la muestra</i>	140
5.4.2.6 <i>Correcciones no Aplicadas.</i>	140
5.5 <i>Resultados.</i>	142
5.5.1 <i>Resultados para el método de Sólidos Totales en Suspensión.</i>	142
5.5.1.1 <i>Resultados de Validación.</i>	142
5.5.2 <i>Resultados para el método de Sólidos Totales Disueltos.</i>	142
5.5.2.1 <i>Resultados de Validación.</i>	142
5.5.3 <i>Resultados para el método de Fenoles.</i>	143
5.5.3.1 <i>Resultados de la estimación lineal de la calibración para Fenoles-puesta a punto.</i>	143
5.5.3.2 <i>Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración.</i>	144
5.5.3.3 <i>Resultados de las rectas de calibración utilizadas en la validación.</i>	144
5.5.3.4 <i>Resultados para la selección de la recta de calibración fija.</i>	146
5.5.3.5 <i>Resultados de la validación.</i>	147
5.5.4 <i>Resultados de la validación del método de Detergentes Aniónicos.</i>	147
5.5.4.1 <i>Resultados de la estimación lineal de las rectas de calibración-puesta a punto.</i>	147
5.5.4.2 <i>Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración.</i>	148
5.5.4.3 <i>Resultados de las rectas de calibración utilizadas en la validación.</i>	149
5.5.4.4 <i>Resultados para la elección de la recta de calibración fija.</i>	151
5.5.4.4 <i>Resultados de la validación.</i>	151
5.5.4.5 <i>Resumen de los resultados de cada parámetro validado.</i>	152
5.6 <i>Resultados de la intercomparación</i>	153
6. DISCUSION	154
7. CONCLUSIONES	157
8. RECOMENDACIONES	162
CITAS BIBLIOGRAFICAS	162
BIBLIOGRAFÍA	169
ANEXOS	174

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Propiedades físicas del agua.	6
Tabla 2. Distribución del agua en la Tierra.	7
Tabla 3. Criterios de calidad en relación al uso del agua.	9
Tabla 4. Efectos en la calidad del agua de acuerdo a cada fuente.	10
Tabla 5. Tipos de alteraciones de la calidad del agua.	11
Tabla 6. Clasificación de los parámetros de calidad del agua.	12
Tabla 7. Comparación de constantes de acidez del agua con otros compuestos.	19
Tabla 8. Propiedades físicas del fenol.	20
Tabla 9. Composición de los detergentes.	21
Tabla 10. Estructura química de un agente tensoactivo.	23
Tabla 11. División del espectro visible.	33
Tabla 12. Reacciones producidas durante el secado de la muestra a 180°C.	48
Tabla 13. Almacenamiento y conservación de muestra para la realización de diferentes análisis.	54
Tabla 14. Operaciones previas de preparación de la muestra.	55
Tabla 15. Parámetros de desempeño a evaluar según el nivel de normalización del método.	58
Tabla 16. Parámetros de desempeño según el tipo de método de ensayo.	59
Tabla 17. Parámetros de desempeño para métodos instrumentales y gravimétricos.	59
Tabla 18. Parámetros de calidad para la precisión de métodos analíticos.	63
Tabla 19. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución normal.	68
Tabla 20. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución rectangular.	69
Tabla 21. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución triangular.	69
Tabla 22. Tabla modelo para registrar los datos obtenidos diariamente, de las rectas de calibración.	78

Tabla 23. Tabla modelo para registrar los parámetros de linealidad de las rectas de calibración.	78
Tabla 24. Tabla modelo para registrar las concentraciones leídas durante la validación de los diferentes métodos.	79
Tabla 25. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Sólidos Totales en Suspensión.	79
Tabla 26. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Sólidos Totales Disueltos.	81
Tabla 27. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Fenoles.	82
Tabla 28. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método Detergentes Aniónicos.	83
Tabla 29. Tabla de datos para el análisis simple de varianza.	84
Tabla 30. Modelo general para el Análisis Simple de la Varianza.	85
Tabla 31. Fijación de objetivos de validación para Sólidos Totales en Suspensión.	89
Tabla 32. Fijación de objetivos de validación para Sólidos Totales Disueltos.	90
Tabla 33. Fijación de objetivos de validación para Fenoles.	90
Tabla 34. Fijación de objetivos de validación para Detergentes Aniónicos.	91
Tabla 35. Datos de pesos obtenidos diariamente, durante la determinación de diferentes concentraciones de los Sólidos Totales en Suspensión.	97
Tabla 36. Datos de pesos obtenidos diariamente, durante la determinación de diferentes concentraciones de Sólidos Totales Disueltos.	98
Tabla 37. Datos obtenidos de las rectas de calibración construidas durante la puesta a punto del método de Fenoles.	99
Tabla 38. Datos de las rectas de calibración, utilizadas diariamente durante la validación de Fenoles.	100
Tabla 39. Concentraciones de fenol obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.	100
Tabla 40. Datos obtenidos de las rectas de calibración construidas durante la puesta a punto del método de Detergentes Aniónicos.	101
Tabla 41. Datos de las rectas de calibración, utilizadas diariamente durante la validación de Detergentes Aniónicos.	102
Tabla 42. Concentraciones de Detergente Aniónico obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.	102
Tabla 43. Resultados del cálculo de la concentración de Sólidos Totales en Suspensión, en todos los niveles.	104

Tabla 44. Resultados del cálculo de la concentración de Sólidos Totales Disueltos, en todos los niveles.	106
Tabla 45. Tabla resumen del cálculo del valor medio de las determinaciones, para el nivel de 10mg/l en Sólidos Totales en Suspensión.	107
Tabla 46. Tabla resumen del cálculo de Varianzas para el nivel de 10mg/l en Sólidos Totales en Suspensión.	108
Tabla 47. Determinación de los parámetros de linealidad para la recta de calibración, obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.	110
Tabla 48. Intervalos de confianza para la recta de calibración, obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.	111
Tabla 49. Residuales de la recta de calibración obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.	112
Tabla 50. Incertidumbre debida al cálculo de la concentración de los Sólidos Totales en Suspensión, determinado a todos los niveles.	121
Tabla 51. Incertidumbre debida a la Reproducibilidad del método para la determinación de Sólidos Totales en Suspensión.	124
Tabla 52. Incertidumbre debida a la concentración inicial de la muestra de Sólidos Totales en Suspensión.	128
Tabla 53. Incertidumbre para la determinación de Sólidos Totales en Suspensión a todos los niveles.	129
Tabla 54. Incertidumbre debida a la preparación del material de referencia interno, utilizado para la calibración.	135
Tabla 55. Incertidumbre debida a la lectura de las concentraciones en el espectrofotómetro.	136
Tabla 56. Incertidumbre debida al aporte del material volumétrico utilizado en el ensayo de Detergentes Aniónicos.	138
Tabla 57. Incertidumbre debida a la reproducibilidad del método de Detergentes Aniónicos.	138
Tabla 58. Incertidumbre debida a la concentración de la muestra inicial de Detergentes Aniónicos.	139
Tabla 59. Incertidumbre debida al aporte del material volumétrico utilizado en el pretratamiento de Detergentes Aniónicos.	140
Tabla 60. Incertidumbre para la determinación de Detergentes Aniónicos a todos los niveles.	141
Tabla 61. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales en Suspensión, en un rango de 10 a 250mg/l.	142

Tabla 62. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales en Suspensión, en un rango de 500 a 4000mg/l.	142
Tabla 63. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales Disueltos, en un rango de 50 a 750mg/l.	142
Tabla 64. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales Disueltos, en un rango de 1000 a 5000mg/l.	143
Tabla 65. Resultados obtenidos para la estimación lineal de la calibración del método de Fenoles.	143
Tabla 66. Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración para el método de Fenoles.	144
Tabla 67. Resultados de la verificación de las rectas de calibración utilizadas diariamente durante la validación de Fenoles.	146
Tabla 68. Resultados para la determinación de la recta de calibración fija para el método Fenoles.	146
Tabla 69. Resultados de validación obtenidos para Fenoles, en un rango de 0,01 a 0,25mg/l.	147
Tabla 70. Resultados de validación obtenidos para Fenoles, en un rango de 0,5 a 2,5mg/l.	147
Tabla 71. Resultados obtenidos para la estimación lineal de la calibración del método de Detergentes Aniónicos.	147
Tabla 72. Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración para el método de Detergentes Aniónicos.	148
Tabla 73. Resultados de la verificación de las rectas de calibración utilizadas diariamente durante la validación de Detergentes Aniónicos.	150
Tabla 74. Resultados para la determinación de la recta de calibración fija para el método de Detergentes Aniónicos.	151
Tabla 75. Resultados de Validación obtenidos para Detergentes Aniónicos, en un rango de 0,01 a 0,3 mg/l.	151
Tabla 76. Resultados de Validación obtenidos para Detergentes Aniónicos, en un rango de 0,6 a 2,5 mg/l.	152
Tabla 77. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, referente a rango de validación.	152
Tabla 78. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, referente a límites de detección y cuantificación.	152
Tabla 79. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, en cuanto a precisión e incertidumbre.	153

Tabla 80. Datos proporcionados por el laboratorio organizador para las pruebas de intercomparación.	153
Tabla 81. Resultados obtenidos de la participación en la intercomparación de cada método de ensayo.	153

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura molecular del agua.	5
Figura 2. Interrelación de las fracciones de sólidos.	13
Figura 3. Clasificación de los sólidos de acuerdo al tamaño de partícula.	14
Figura 4. Intervalo usual del ensayo de sólidos totales en suspensión.	15
Figura 5. Coloide con carga neta negativa.	16
Figura 6. Obtención del fenol.	18
Figura 7. Propiedades químicas.	19
Figura 8. Resonancia del fenol.	20
Figura 9. Reactividad del fenol.	20
Figura 10. Formación de micelas de tensoactivo.	23
Figura 11. Principales tipos de detergentes no iónicos y catiónicos.	25
Figura 12. Concentración micelar crítica.	26
Figura 13. Estructura básica de una micela de tensoactivos aniónicos.	26
Figura 14. Clasificación de los métodos ópticos.	29
Figura 15. Parámetros de una onda electromagnética.	30
Figura 16. Campo eléctrico y magnético de una onda electromagnética.	30
Figura 17. Regiones del espectro electromagnético.	32
Figura 18. Niveles de energía de un átomo o molécula.	34
Figura 19. Transmitancia de una solución.	35
Figura 20. Partes básicas de un espectrofotómetro de absorción.	38
Figura 21. Lámpara de arco.	39
Figura 22. Perdidas por reflexión y dispersión.	41
Figura 23. Fototubo empleado en la detección de luz UV-VIS.	42
Figura 24. Representación de la señal y ruido.	44
Figura 25. Reacción química del método de la 4-Aminoantipirina.	46
Figura 26. Reacción química del LAS con el cristal violeta.	47
Figura 27. Diagrama de flujo de un análisis cuantitativo.	52
Figura 28. Procedimiento para la validación de métodos de ensayo, primera etapa.	75

Figura 29. Procedimiento para la validación de métodos de ensayo, segunda etapa.	76
Figura 30. Diseño experimental para la validación de métodos instrumentales.	77
Figura 31. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método.	115
Figura 32. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre de la muestra fortificada.	115
Figura 33. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método.	130
Figura 34. Diagrama de Ishikawa para la preparación del material de referencia interno.	130

LISTA DE GRÁFICOS

	pág.
Gráfico 1. Recta de calibración del primer día para el método de Detergentes Aniónicos.	112
Gráfico 2. Residuales de la recta de calibración del primer día para el método de Detergentes Aniónicos.	113
Gráfico 3. Recta de calibración del primer día de validación de Fenoles.	144
Gráfico 4. Recta de calibración del segundo día de validación de Fenoles.	145
Gráfico 5. Recta de calibración del tercer día de validación de Fenoles.	145
Gráfico 6. Recta de calibración del primer día de validación de Detergentes Aniónicos.	149
Gráfico 7. Recta de calibración del segundo día de validación de Detergentes Aniónicos.	149
Gráfico 8. Recta de calibración del tercer día de validación de Detergentes Aniónicos.	150

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN.	174
ANEXO B. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS.	176
ANEXO C. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE FENOLES.	178
ANEXO D. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE DETERGENTES ANIÓNICOS.	180
ANEXO E. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÉTODO DE SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN.	182
ANEXO F. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÉTODO DE SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS.	183
ANEXO G. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÉTODO DE FENOLES.	184
ANEXO H. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÉTODO DE DETERGENTES ANIÓNICOS.	185

VALIDACION DE LOS METODOS DE ENSAYO PARA FENOLES, TENSOACTIVOS, SOLIDOS SUSPENDIDOS Y TOTAL DE SOLIDOS DISUELTOS (TDS).

RESUMEN

Fueron validados los métodos de ensayo para la determinación de Sólidos en Suspensión, Sólidos Totales Disueltos, Fenoles y Detergentes, en la matriz Agua, siguiendo los procedimientos definidos en las normas SM 2540 D, SM 2540 C, HACH 8047 y HACH 8028, respectivamente; mediante un protocolo que incluye criterios de aceptación y rechazo, de acuerdo a el cumplimiento de los requerimientos.

Una vez revisada la documentación correspondiente, se establece el alcance para cada método de ensayo con la definición de los intervalos de trabajo. Se realiza el diseño experimental para cada uno de los métodos, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. Una vez llevada a cabo la puesta a punto de cada ensayo, se plantean los objetivos de validación, esencialmente coeficientes de variación $\leq 10\%$ e incertidumbre $\leq 30\%$. Luego se ejecutan los ensayos según los procedimientos normalizados y se procesan estadísticamente los datos obtenidos utilizando el método ANOVA y se cuantifica la incertidumbre de medida determinada a un nivel de confianza del 95,45%. Finalmente se procede a la aprobación de los procedimientos y la consecuente declaración de los métodos validados.

Los parámetros de desempeño obtenidos para los métodos de ensayo estudiados, cumplen con los requerimientos establecidos para su validación y consecuentemente son aptos para ser sometidos al proceso de acreditación conforme lo establece la norma ISO/IEC 17025.

PALABRAS CLAVE: MÉTODOS DE ENSAYO// ANÁLISIS DE AGUAS// VALIDACIÓN// FENOLES//DETERGENTES//SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN//SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS//CONTROL DE CALIDAD/

VALIDATION OF TEST METHODS PHENOLS, DETERGENTS, SUSPENDED SOLIDS AND TOTAL DISSOLVED SOLIDS (TDS).

ABSTRACT

Were validated the test methods for the determination of suspended solids, total dissolved solids, phenols and detergents in matrix water, according to the procedures defined in the standards SM 2540D, SM 2540 C, HACH 8047 and HACH 8028, respectively; using a protocol that includes acceptance and rejection criteria, according to the performance of requirements.

After review the documentation, to establish the scope for each test method with the definition of the work intervals. Experimental design is performed for each of the methods, in terms of repeatability and reproducibility. Once carried out the start-up of each test, sets out the objectives of validation, essentially coefficients of variation $\leq 10\%$ and uncertainty $\leq 30\%$. After the tests are run according to standard procedures and statistically processed the data obtained using the ANOVA method and is quantified measurement uncertainty determined to a confidence level of 95.45%. Finally we proceed to the approval of the procedures and the subsequent declaration of validated methods.

The performance parameters obtained for the studied test methods, comply with the requirements for their validation and then are capable for undergoing the accreditation process as established by the ISO / IEC 17025.

KEYWORDS:/TEST METHODS// WATER TESTING// VALIDATION// PHENOLS//DETERGENTS// SUSPENDED SOLIDS// TOTAL DISSOLVED SOLIDS// QUALITY CONTROL/

INTRODUCCIÓN

Día a día se realizan innumerables determinaciones en laboratorios de todo el mundo, estas mediciones son necesarias en muchos campos de aplicación. Virtualmente cada aspecto de la sociedad y la vida cotidiana está soportado de alguna manera en mediciones analíticas.

Por lo tanto, actualmente la validación de métodos es una herramienta de competencia en el mercado y es además en muchas ocasiones una exigencia dentro del sistema de gestión de calidad de cada laboratorio. Ya que muchas de las decisiones que se toman están basadas en los datos que se emiten de un método analítico. Se evidencia claramente la importancia de determinar si los resultados obtenidos son fiables y a la vez establecer hasta qué punto se puede tener confianza de su exactitud.

El Organismo de Acreditación Ecuatoriano OAE, ha impuesto que los laboratorios de calibración y ensayos, cumplan con una serie de parámetros y exigencias que garanticen la calidad de sus servicios, además de una acreditación que valide su funcionamiento.

La Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Central del Ecuador, cuenta con el Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación, DPEC; el cual es encargado de la prestación de servicios en las áreas de petróleo, aguas, gases de combustión, calidad del aire ambiente y ruido.

Es por ello que ante la competencia de laboratorios que prestan los mismos servicios; el DPEC se ha visto en la necesidad de validar los métodos de ensayo de Fenoles, Sólidos Totales en Suspensión, Detergentes y Sólidos Totales Disueltos en aguas. Con el fin de ampliar sus parámetros de acreditación.

La validación de estos parámetros, permitirán establecer las condiciones de los equipos, sustancias y materiales, necesarios para su determinación; respaldado por la estimación de la incertidumbre que caracteriza a todo método analítico. Con el fin de garantizar resultados y por ende confiabilidad de los procedimientos realizados.

En el área de aguas, es necesario garantizar la calidad de resultados así como la confiabilidad de procedimientos, que con su posterior acreditación le permitirá al DPEC ser competitivo no solo a nivel provincial sino nacional, a fin de asegurar la satisfacción del cliente basado en la confianza generada por la excelencia del servicio y la fiabilidad de los resultados.

En este contexto, y con la implementación de los Sistemas de Gestión de Calidad, todas sus mediciones deben estar debidamente certificadas desde el punto de vista analítico; esto se logra con una adecuada validación de los métodos de ensayo de Fenoles, Sólidos Totales en Suspensión, Detergentes y Sólidos Totales Disueltos en aguas; dado el uso extensivo de éstos dentro del área de aguas del DPEC. Adicionalmente cabe recalcar que los parámetros a validar son un indicador importante de la calidad del agua a descargar al ambiente.

A nivel internacional se han realizado y se continúan realizando trabajos sobre validación de métodos los mismos que aportan importante información que servirá de base para posteriores trabajos en universidades o laboratorios de prestación de servicios. A nivel nacional día a día se incursiona más en este tema, debido a los requerimientos dentro del sistema de gestión de calidad.

El presente trabajo tuvo como objetivos específicos:

- Establecer los métodos y procedimientos de ensayo más apropiados para determinar Fenoles, Detergentes, Sólidos Totales en Suspensión y Sólidos Totales Disueltos en aguas.
- Confirmar a partir del aporte de evidencias objetivas, de que los métodos de ensayo seleccionados, cumplen los requisitos particulares para un uso específico.
- Certificar por medio de la calibración del equipo y evaluación sistemática de los factores que influyen en el resultado e incertidumbre de medición, que los métodos mencionados son válidos.
- Establecer un protocolo de validación que incluya criterios de aceptación y rechazo con el fin de verificar su cumplimiento.
- Documentar los procedimientos de validación de los resultados obtenidos en los diferentes métodos de ensayo

Para lo cuál, inicialmente se realiza una selección de los procedimientos estándar más adecuados para cada uno de los métodos de ensayo antes mencionados, luego se proponen las modificaciones pertinentes para asegurar la conformidad con la normativa. Se establecen entonces los parámetros de rendimiento para cada método. El cálculo adecuado de estos requiere un diseño de experimentos acorde a las necesidades del laboratorio y al alcance de la validación.

Se determina, además, un estimado de la incertidumbre de medida, que establecerá el grado de confianza en los resultados aportados.

Se determinó que para una correcta validación se debe tener pleno conocimiento de los fenómenos que tienen lugar en el método a validar.

Además, se verificó que los métodos de ensayo son aptos para su aplicación en aguas limpias y residuales bajo condiciones específicas con fines de cumplimiento de normas ambientales nacionales vigentes. Los métodos analíticos que se validaron son: Fenoles, Sólidos Totales en Suspensión, Detergentes y Sólidos Totales Disueltos.

1. CONCEPTOS GENERALES

1.1 Agua

El agua es el compuesto químico que nos es más familiar, el más abundante y el de mayor significación para nuestra vida. Su excepcional importancia desde el punto de vista químico, reside en que casi la totalidad de los procesos que ocurren en la naturaleza; no solo en los organismos vivos, animales y vegetales, sino en la superficie de la tierra, así como los que se llevan a cabo en los laboratorios y en la industria; tienen lugar entre sustancias disueltas en agua. [1]

Se considera que las propiedades físicas y químicas del agua son las responsables de que la Tierra sea tal como se conoce y que la vida misma es consecuencia de las propiedades tan especiales de la molécula de agua, ya que se piensa que las primeras formas primitivas de vida comenzaron en una solución acuosa.

El agua se presenta principalmente como un líquido de características poco comunes, es un recurso natural indispensable para todos los seres vivos y en general forma parte de toda la materia viva. El ser humano la utiliza para realizar muchas de sus actividades como la agricultura, la industria, el transporte y otras actividades diarias. [2]

1.1.1 Composición del agua. El agua está compuesta por un átomo de oxígeno y dos de hidrógeno. Cada átomo de hidrógeno se encuentra unido covalentemente al oxígeno por medio de un par de electrones de enlace. De esta manera existen cuatro pares de electrones rodeando al átomo de oxígeno; dos pares formando parte de los enlaces covalentes con los átomos de hidrógeno y dos pares no compartidos en el lado opuesto. [3]

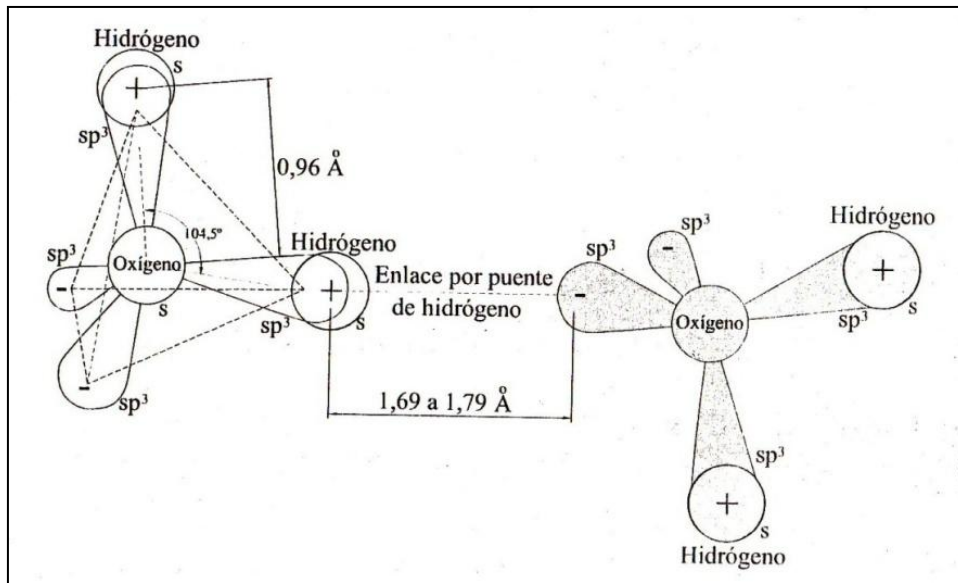


Figura 1. Estructura molecular del agua

La molécula de agua aunque tiene una carga total neutra, presenta una distribución asimétrica de sus electrones, lo que la convierte en una molécula polar. Por ello se dan interacciones dipolo-dipolo entre las propias moléculas de agua, formándose enlaces por puentes de hidrógeno, la carga parcial negativa del oxígeno de una molécula ejerce atracción electrostática sobre las cargas parciales positivas de los átomos de hidrógeno de otras moléculas adyacentes. [4]

1.1.2 Propiedades del agua. El agua, cualquiera que sea su estado, está caracterizada por ciertas propiedades que la distinguen de los demás líquidos. A continuación se describen las principales propiedades del agua.

1.1.2.1 Propiedades Físicas. El agua pura es un líquido inodoro, insípido, transparente y prácticamente incoloro, pues solo en grandes espesores presenta un tono débilmente azul-verdoso. Además, se trata probablemente del único compuesto que se puede encontrar en nuestro planeta en los tres estados físicos de agregación de la materia; líquido, sólido y gaseoso.

La densidad del agua aumenta anormalmente al elevar la temperatura de 0 a 4°C, en que alcanza su valor máximo de 1g/ml. A 100° C se produce su ebullición en condiciones normales de presión (760 mm de Hg) y solidifica a 0° C en forma de hielo. En estado químicamente puro, es mala conductora del calor y la electricidad. [5]

Las propiedades físicas del agua se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 1. Propiedades físicas del agua

Peso molecular	18,015
Punto de congelación	0,0°C
Punto de ebullición	100,0°C
Temperatura Crítica	374,2°C
Presión Crítica	218,4 atm
Calor de formación	-68,3Kcal/mol
Calor de fusión	79,7cal/g
Calor de vaporización a 20°C	585,5 cal/g
Calor de vaporización a 100°C	539,5 cal/g
Calor específico	1,0 cal/g

Fuente: GIL RODRÍGUEZ, Manuel. Procesos de descontaminación de aguas, cálculos avanzados informatizados. Editorial Copyright, Madrid, 2005. p. 9.

En el agua la viscosidad disminuye regularmente con la temperatura, cambia más rápidamente que la densidad. En la mayoría de los líquidos el calor específico aumenta con la temperatura, pero en el agua tiene su mínimo a 35°C. [6]

1.1.2.2 Propiedades Químicas. No posee propiedades ácidas ni básicas, por lo cual su pH es neutro (pH=7). Se une con ciertas sales formando hidratos. Los anhídridos u óxidos ácidos reaccionan con el agua y forman ácidos oxácidos. Los óxidos de los metales u óxidos básicos reaccionan con el agua para formar hidróxidos. El agua como reactivo químico funciona como ácido, álcali, ligando, agente oxidante y agente reductor. Se descompone por electrolisis en hidrógeno y oxígeno. Para descomponerse por otro procedimiento necesita temperaturas superiores a 27 ° C. [7]

1.2 Distribución del agua en la tierra

El agua es uno de los compuestos más abundantes en la naturaleza ya que cubre aproximadamente tres cuartas partes de la superficie total de la Tierra. Sin embargo, a pesar de esta aparente abundancia, existen diversos factores que limitan la cantidad de agua disponible para el consumo.

Como se puede observar en la tabla 2, cerca del 97% del total de agua disponible se encuentra en los océanos y otros cuerpos de agua salina y no se puede utilizar para diversos propósitos. Del restante 3%, casi el 2% se encuentra distribuida en los témpanos de hielo, glaciares, en la atmosfera o mezclada con el suelo, por lo que no es accesible. De tal forma que para el desarrollo y sustento de la vida humana con sus diversas actividades industriales y agrícolas, se dispone aproximadamente de 0,62% del agua restante, que se encuentra en lagos de agua fresca, ríos y mantos freáticos.

Tabla 2. Distribución del agua en la Tierra

LOCALIZACION	VOLUMEN x 1012m³	PORCENTAJE DEL TOTAL
Area Continental		
Lagos	125.00	0,0090
Lagos salados y mares continentales	104.00	0,0080
Ríos (volumen promedio instantáneo)	1.25	0,0001
Mezclada con el suelo	67.00	0,0050
Agua subterránea (profundidad cercana a los 4000m)	8350.00	0,6100
Témpanos de hielo y glaciares	29200.00	2,1400
Total de agua continental	37800.00	2,8000
Atmósfera		
Disuelta en la atmosfera (como vapor de agua)	13.00	0,0010
Océanos	1320000.00	97,3000
Total de agua en la tierra	1360000.00	100,000

Fuente: DÍAZ ARELLANO, Javier. Introducción a la Ingeniería Ambiental. Editorial Alfaomega, México, 2002. p. 28.

La provisión global de agua en la Tierra es invariante desde hace miles de millones de años, estando sometida al denominado “**ciclo hidrológico**”. Este consiste en una serie de cambios de fase, de características físicas, químicas y microbiológicas, e incluso de emplazamiento físico (mares, nubes, glaciares, ríos, aguas subterráneas) cuyo último efecto es la renovación periódica de la dotación de agua en las grandes acumulaciones o depósitos existentes en el planeta: océanos, ríos y lagos. [8]

1.2.1 Tipos de agua. Existen diferentes tipos de agua, de acuerdo a su procedencia y uso se pueden clasificar en: agua natural, agua potable y agua residual.

1.2.1.1 *El agua natural.* Es aquella que se encuentra en el ambiente, que no ha recibido ningún tratamiento o modificación en su estado natural.

1.2.1.2 *Agua potable.* Es aquella a la cual se le han variado sus características físicas, químicas y biológicas con el propósito de utilizarla en algún uso específico. La calidad del agua tratada depende del uso que se le vaya a asignar.

1.2.1.3 *Agua residual.* Son aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, domésticos y similares; así como la mezcla de ellas. [9]

1.3 Calidad del agua

Se define como la composición y el estado de la biota acuática presente en el cuerpo de agua. Su calidad presenta variaciones espaciales y temporales debido a factores internos y externos.

Al hablar de la calidad del agua sea para su vertido, tratamiento de depuración, potabilización o cualquier otro uso, es imprescindible determinar una serie de parámetros físico-químicos mediante métodos normalizados, con objeto de conocer si el valor de estos parámetros se encuentra dentro del intervalo que marca la legislación vigente. El análisis de los parámetros de calidad se debe realizar a todo tipo de aguas, independientemente de su origen. [10]

Los objetivos de calidad tienen en cuenta los siguientes usos:

- Agua destinada a la producción de agua potable
- Agua destinada al consumo y usos domésticos
- Agua destinada a fines industriales
- Agua destinada a fines agrícolas
- Agua para riego
- Agua para consumo de los animales
- Agua destinada a actividades recreativas

La calidad de un cuerpo de agua puede estar definida no sólo en términos de las características y requerimientos del sistema hídrico que suministra el agua, sino también de acuerdo con los requisitos exigidos a los efluentes que se descargan en el cuerpo receptor.

1.3.1 Norma de Calidad Ambiental. Los requerimientos de la calidad del agua varían de acuerdo al uso que se les vaya a dar, ya que algunas características del agua adecuadas para un fin pueden no serlo para otro. Es importante mencionar que no se deben confundir los requerimientos de la calidad del agua con los estándares o normas de su calidad. Los primeros están basados en la experiencia de uso y los segundos son cantidades establecidas por instituciones gubernamentales que regulan al respecto. [11]

Las normas de calidad del agua se definen como la aplicación, con efectos legales, de un criterio de calidad del agua para limitar determinada descarga o efluente. En el Ecuador existe la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes aplicada al Recurso Agua, contenida en el texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria (TULAS, Diciembre 2002). La referida norma técnica ambiental es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional; además establece:

- Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado.
- Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos.

1.3.1.1 Criterios de calidad en relación al uso del agua. La calidad del agua de un recurso hídrico depende del uso que se le quiera dar y está a su vez determinada por los diferentes parámetros que caracterizan su calidad. Es importante anotar que en relación al tipo de uso, varía la importancia de uno u otro parámetro de calidad. [12]

En relación con los usos del agua, los parámetros más típicamente utilizados son los siguientes:

Tabla 3. Criterios de calidad en relación al uso del agua

Uso doméstico	turbiedad, sólidos totales disueltos, tóxicos, coliformes
Industria	sólidos totales disueltos y en suspensión
Riego	sólidos totales disueltos, contenido de sodio
Recreo	turbiedad, tóxicos, coliformes
Vida acuática	oxígeno disuelto, compuestos organoclorados

Fuente: RESTREPO, Ana y TOBÓN, Olga. Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p. 16.

1.3.1.2 Criterios de calidad en relación a las fuentes de agua. El agua durante la condensación adquiere impurezas presentes en el aire. Contaminantes adicionales son agregados al agua líquida en su paso por la superficie terrestre. Adicionalmente las actividades humanas aportan contaminantes que alteran su calidad. Tanto la polución (alteración debida a causas naturales) como la contaminación alteran por lo tanto la calidad del agua de las diversas fuentes existentes, en la siguiente tabla se resumen estos efectos para cada fuente y el uso que se hace de ellas. [13]

Tabla 4. Efectos en la calidad del agua de acuerdo a cada fuente

FUENTE	USO	CALIDAD
Agua lluvia	Se emplea en regiones de escasas fuentes superficiales. O cuando es almacenado en embalses o lagunas para posterior uso.	Agua relativamente pura. Absorbe CO ₂ , vapores, polvos, bacterias y hongos. Es blanda, insípida, saturada en oxígeno, ligeramente corrosiva.
Agua superficiales ríos	Son afectados por el origen del agua que fluye, se sostienen por el flujo de aguas subterráneas y por aporte de precipitación.	Calidad variable Contaminadas por zonas urbanas y agrícolas. Material en suspensión y disuelto.
Aguas superficiales Lagunas y embalses	De características más estables que los ríos.	Agua sedimentada Aguas a veces coloreadas (lagos eutrificados) Producción de CO ₂ , H ₂ S, aporte de Fe y Mn.
Aguas subterráneas	Aguas de percolación que se infiltran y almacenan en el subsuelo y se extraen mediante bombeo.	Calidad bacteriológica buena. Alcalinidad, dureza, hierro, escaso oxígeno. Mineralizadas

Fuente: RESTREPO, Ana y TOBÓN, Olga. Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p. 18.

1.3.2 Contaminación del agua. Se define como la presencia de sustancias u organismos extraños en un cuerpo de agua en tal cantidad y con tales características que impiden su utilización con propósitos determinados. La contaminación puede ser natural o antropogénica.

Sin embargo, existen dos tipos de tratamiento de aguas: el tratamiento de agua para acondicionamiento al consumo humano y el tratamiento de aguas residuales; que se aboca a disminuir la gran cantidad de contaminantes del agua una vez que fue utilizada por el hombre en diversas actividades. [14]

Los contaminantes del agua se clasifican en:

- Agentes infecciosos que pueden transmitir enfermedades al hombre y/o animales.
- Desechos que demandan Oxígeno
- Material suspendido y/o flotante orgánico o inorgánico
- Material orgánico, sales metálicas, ácidos, álcalis, minerales
- Compuestos químicos sintéticos orgánicos
- Agentes nutrientes de material fotosintético, nitratos y fosfatos.
- Material radiactivo
- Temperatura

1.3.2.1 Alteraciones de la calidad del agua. Estas se pueden clasificar en:

Tabla 5. Tipos de alteraciones de la calidad del agua

ALTERACIONES FÍSICAS	Depósitos, lodos, sólidos suspendidos, espumas, olor, temperatura, caudal
ALTERACIONES QUÍMICAS	Cargas orgánicas biodegradables y no biodegradables, cargas inorgánicas como metales y minerales.
ALTERACIONES BIOLÓGICAS	Aumento de microorganismos patógenos y ausencia o destrucción de fauna y flora acuática.

Fuente: RESTREPO, Ana y TOBÓN, Olga. Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p. 22.

1.4 Clasificación de los Parámetros de Calidad del agua.

Para determinar que tan pura o que tan contaminada está el agua, es necesario estimar su calidad mediante la medida de ciertos parámetros en situación real. Los parámetros de calidad del agua están clasificados en físicos, químicos y microbiológicos.

Tabla 6. Clasificación de los parámetros de calidad del agua

HIDROLOGICOS		caudal, velocidad, mezcla
FISICOS		color, temperatura, turbiedad, olor, sabor
QUIMICOS	ESPECIFICOS	Nitrógeno, cloruros, detergentes, fenoles, pesticidas, material orgánico oxidable.
	NO ESPECIFICOS	Alcalinidad, pH, conductividad, dureza, oxígeno disuelto
MICROBIOLOGICOS	PATOGENOS	Coliformes fecales, virus, vibrio cólera, hepatitis.
	NO PATOGENOS	Zooplankton, algas, población mesófila.

Fuente: RESTREPO, Ana y TOBÓN, Olga. Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p. 14.

1.4.1 Parámetros físicos de la calidad del agua. Son los que definen las características del agua que responden a los sentidos de la vista, el tacto, gusto y olfato. No son índices absolutos de contaminación; sus valores normales pueden variar considerablemente y, por lo tanto, en cada caso se mide la desviación con respecto a la norma. Estos pueden ser sólidos suspendidos, turbiedad, color, olor, sabor y temperatura.

1.4.2 Parámetros químicos de la calidad del agua. Dadas las propiedades físico-químicas del agua, esta se comporta como un magnífico disolvente tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos, ya sean de naturaleza polar o apolar; de forma que podemos encontrarnos en su seno una gran cantidad de sustancias sólidas, líquidas y gaseosas diferentes que modifican sus propiedades; entre las que podemos mencionar a los sólidos totales disueltos, alcalinidad, dureza, fluoruros, metales, materias orgánicas y nutrientes.

1.4.3 Parámetros microbiológicos de la calidad del agua. A su comportamiento como disolvente hay que añadir su capacidad para que se desarrolle vida en su seno, lo que la convierte en un sistema complejo sobre el que hay que realizar análisis tanto cualitativos como cuantitativos con objeto de conocer el tipo y grado de alteración que ha sufrido, y consecuentemente como se encuentran modificadas sus propiedades para usos posteriores. [15]

1.5 Sólidos

Para un diagnóstico de la calidad del agua, es necesario determinar la cantidad de material sólido que contiene la muestra. El primer tipo de sólidos de importancia, en cuanto a calidad del agua,

son los sólidos totales. Estos son, los residuos de material que quedan en un recipiente después de la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en estufa a temperatura definida.

Los sólidos totales incluyen tanto las sales inorgánicas (carbonatos, bicarbonatos, cloruros, sulfatos, fosfatos y nitratos de sodio, potasio, calcio, magnesio y hierro) como la materia orgánica.

Pueden clasificarse de acuerdo con su tamaño y estado (sólidos en suspensión, sólidos coloidales y sólidos disueltos), por las características químicas (sólidos volátiles y fijos) y por la decantabilidad (sólidos en suspensión sedimentables y no sedimentables).

La clasificación de los diferentes tipos de sólidos identificados y la interrelación entre estas fracciones se ilustran en la Figura 2.

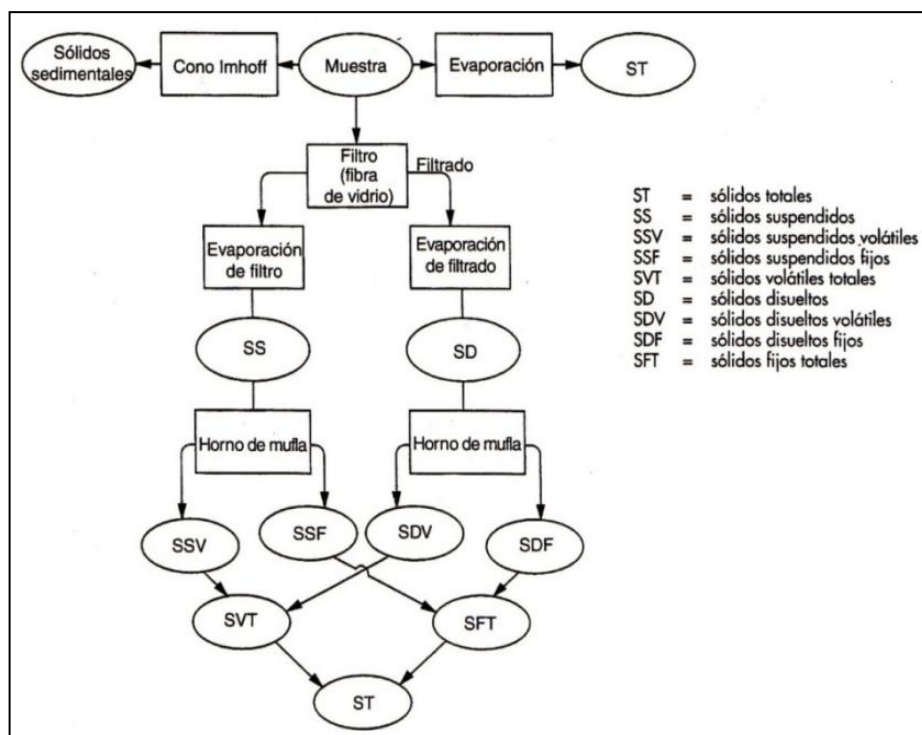


Figura 2. Interrelación de las fracciones de sólidos.

La división en cuanto al tamaño de partícula es un fraccionamiento convencional basado en el paso a través de un papel filtro con poros de un tamaño definido (generalmente 1,5 μm); los que pasan este filtro son los sólidos totales disueltos, los que el filtro retenga serán los sólidos totales en suspensión. Los sólidos coloidales están en una franja de tamaño intermedio entre los suspendidos y los disueltos, pero no es posible separarlos por el simple método de filtrado; por

ello, la mayor parte entra en los sólidos disueltos y la restante como sólidos totales en suspensión. [16]

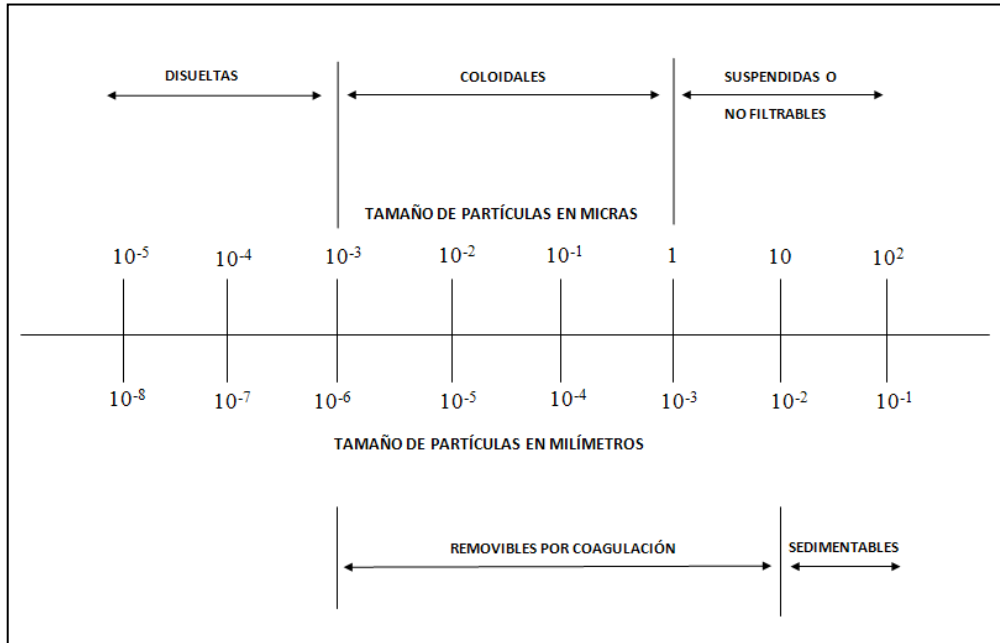


Figura 3. Clasificación de los sólidos de acuerdo al tamaño de partícula.

1.5.1 Sólidos Totales en Suspensión. Se encuentran constituidos por sólidos sedimentables, sólidos en suspensión y sólidos coloidales, cuyo tamaño de partícula no pase del filtro estándar de fibra de vidrio (1,5 µm).

Los sólidos sedimentables son sólidos suspendidos que se sedimentan por acción de la gravedad, dentro de un tiempo específico. Se determinan llenado un cono Imhoff de un litro de volumen y registrando el volumen del material sedimentado en el cono al cabo de una hora.

La materia en suspensión está compuesta por partículas orgánicas e inorgánicas inmiscibles que se encuentran en el agua. Dentro de las partículas orgánicas tenemos; fibras de plantas, células de algas, bacterias, protozoarios y sólidos biológicos. Por otra parte, arcilla, arena y sales son elementos considerados como partículas inorgánicas. [17]

En relación con su origen, pueden proceder de la superficie de la tierra por arrastres naturales o como consecuencia de la actividad del hombre.

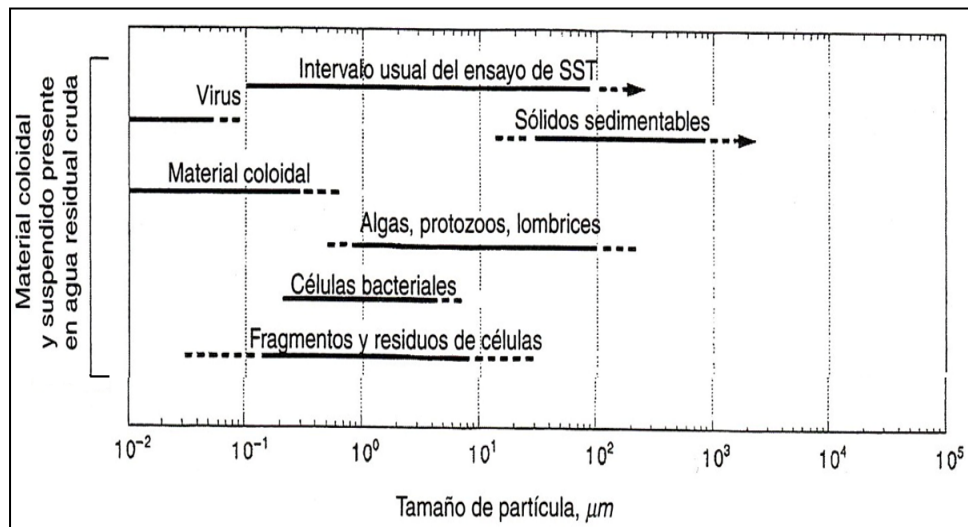


Figura 4. Intervalo usual del ensayo de sólidos totales en suspensión

Los sólidos en suspensión están formados por partículas que se mantienen dispersas en el agua en virtud de su naturaleza coloidal. Estos sólidos no sedimentan por gravedad cuando el agua está en reposo. Esto se debe a que las partículas coloidales poseen carga eléctrica semejante, propiedad que las mantiene en suspensión por repulsión electrocinética, merced a un movimiento constante y caótico que se conoce como “movimiento browniano”. [18]

En este tipo de coloides la estabilidad es predominantemente un fenómeno eléctrico, explicado por la **teoría de la doble capa**, o sea por la existencia de una carga opuesta envolvente a dicha superficie. La teoría establece que las partículas suspendidas en el agua transportan cargas eléctricas en su superficie. El grado de estabilidad de una partícula es determinada por un valor llamado potencial zeta, el cual está relacionado con la carga de la partícula y la distancia a través de la cual la carga es efectiva. El concepto de potencial zeta surge de la teoría de la doble capa que se ilustra a continuación.

La capa interna consiste tanto en cationes como en aniones, pero en general tiene una carga neta negativa. La capa externa contiene cationes intercambiables tales como Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , H^+ . Debido a su inmensa área superficial, los coloides adsorben iones en cantidades desiguales, originando la formación de una carga eléctrica que contribuye a su estabilidad.

La estabilidad de los coloides depende de la resultante de las fuerzas de atracción y repulsión que actúan sobre ellos. Las fuerzas de atracción, llamadas fuerzas de Vander Waals, son causadas por la interacción de dipolos de las partículas. La fuerza de repulsión se debe al potencial zeta. [19]

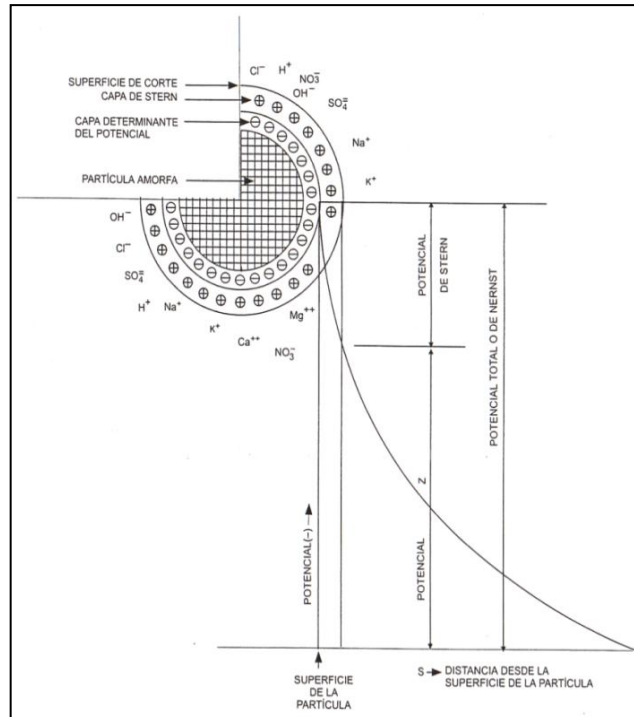


Figura 5. Coloide con carga neta negativa

1.5.1.1 Propiedades

a) **Movimiento Browniano.** Se debe a los choques no compensados de las moléculas del medio dispersante sobre las partículas coloidales y es independiente de todos los factores externos. Cuanto más pequeña sea la micela y menos viscoso el medio, mayor será el choque entre partículas. Además cabe resaltar que este movimiento:

- no depende de la dirección del rayo de luz, tiempo de iluminación o intensidad de la luz.
- no puede ser explicado por cambios en la concentración causados por evaporación.
- no cambia con el tiempo y permanece igual por meses y años.
- depende de la temperatura, y su aumento produce un aumento en la intensidad del movimiento.

b) **Efecto de Tyndall.** Es una propiedad óptica de los coloides y consiste en la difracción de los rayos de luz que pasan a través de un coloide.

c) **Adsorción.** Los coloides son excelentes adsorbentes debido al tamaño pequeño de las partículas y a la superficie grande. De ahí que gocen de la propiedad de adsorber los iones del medio que los rodean.

Tanto la propiedad del movimiento browniano y área superficial extremadamente grande; les permiten a las suspensiones coloidales desafiar la ley de la gravedad y, por tanto, impiden su remoción por sedimentación simple.

La determinación de sólidos totales en suspensión es importante para evaluar la concentración de aguas residuales y para determinar la eficiencia de las unidades de tratamiento.

1.5.2 Sólidos Totales Disueltos. Es una medida de las sustancias orgánicas e inorgánicas, en forma molecular, ionizada o micro-granular, que contiene el agua. Se componen de sólidos coloidales y disueltos. La fracción coloidal consiste de partículas con diámetro de 10^{-3} a $1\ \mu\text{m}$.

Los sólidos totales disueltos son moléculas e iones; que se encuentran diluidos en el agua. La concentración de sólidos disueltos en el agua se debe a la presencia de minerales, gases producto de descomposición de materia orgánica, metales y compuestos químicos orgánicos que dan olor, color, sabor y eventualmente toxicidad al agua que los contiene. [20]

El agua, con su carácter bipolar, tiene el poder de rodear a un ion de carga positiva con la parte negativa de su molécula (o a la inversa), aislando por tanto a este ion de los que le rodean y neutralizando las fuerzas de atracción que mantienen la integridad de la estructura cristalina. El ion, rodeado con moléculas de agua puede dejar el retículo cristalino y desplazarse hacia la solución, transformándose así en un ion disuelto.

Las sustancias disueltas pueden provenir de la naturaleza o de las que el hombre genera procedentes de su actividad. Estas últimas, en el sentido más amplio, dan lugar a la contaminación. En general, los factores que influyen en la disolución de las sales solubles son las siguientes:

- superficie de contacto,
- longitud del trayecto recorrido,
- concentración de sales en la roca,
- tiempo de contacto,
- temperatura y presión. [21]

Debido a que estos sólidos incrementan la capacidad del agua para conducir una corriente eléctrica y al hecho de que esta propiedad pueda medirse con mayor facilidad y rapidez que la determinación gravimétrica directa.

Frecuentemente se toma la conductividad eléctrica del agua como una medida indirecta de su contenido en sólidos disueltos. Sin embargo, se debe tener presente que esta hipótesis es aproximadamente válida solo para aguas naturales, ya que en aguas residuales los sólidos totales disueltos pueden estar asociados también a materia orgánica en solución. [22]

Se ha encontrado que existe una correlación directa entre conductividad y concentración de sólidos totales disueltos (TDS) para cuerpos de agua dulce y salobre. Dicha correlación no se extiende a ambientes "hipersalinos" (salinidad > 5%), donde la conductividad es afectada por la composición específica de iones presentes en el agua. [23]

1.6 Fenoles

1.6.1 Características generales y estructuras. Los fenoles son compuestos aromáticos que contienen grupos hidroxilo ligados directamente al anillo aromático y se clasifican en monohidroxílicos, dihidroxílicos, trihidroxílicos; según el número de grupos hidroxilo.

Generalmente los fenoles se nombran como derivados del miembro más sencillo de la familia, que es el fenol. Algunas veces, los fenoles se denominan hidroxicompuestos y los metilfenoles reciben el nombre especial de cresoles. [24]

1.6.2 Origen y propiedades. Se considera al fenol uno de los principales compuestos aromáticos sintéticos. A partir del alquitrán de hulla se obtienen fenol y metilfenoles, sin embargo, las reacciones de síntesis son la principal fuente de producción.

Estos métodos están siendo sustituidos por uno más moderno, cuyo procedimiento es el siguiente; el benceno se alquila con propileno para dar cumeno (isopropilbenceno), siendo el mismo oxidado con aire a hidroperóxido de cumeno; a su vez, éste se transforma en fenol y acetona con ácido acuoso.

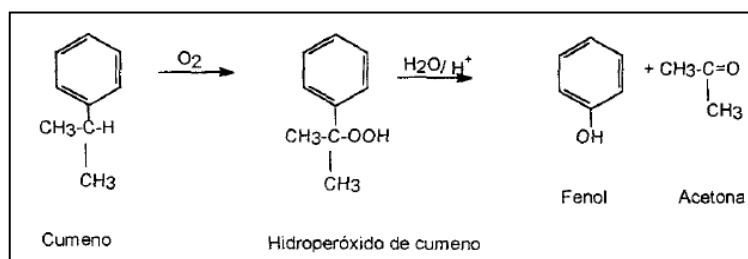


Figura 6. Obtención del fenol

1.6.2.1 Propiedades

- **Propiedades Físicas.** Ciertos fenoles y sus éteres también pueden encontrarse en la naturaleza y pueden aislarse de los aceites esenciales de varias plantas. Algunos de estos fenoles son responsables del olor del clavo, nuez moscada, anís, vainilla, tomillo y de la menta. Los fenoles más sencillos son líquidos o sólidos de bajo punto de fusión, pero con puntos de ebullición bastante elevados, debido a la formación de puentes de hidrógeno intermolecular.

La mayoría de los fenoles son poco solubles en agua, ya que aunque presentan puentes de hidrógeno la proporción de carbonos con respecto a la cantidad de -OH es muy baja; además la solubilidad disminuye cuando aumenta la fuerza iónica del medio. La mayoría de los otros fenoles son esencialmente insolubles.

- **Propiedades Químicas.** Los fenoles se oxidan con facilidad y es fácil encontrarlos coloreados. Los fenoles son compuestos con carácter ligeramente ácido, propiedad que los distingue de los alcoholes. Se puede ver el comportamiento del fenol como ácido, al reaccionar con el agua.

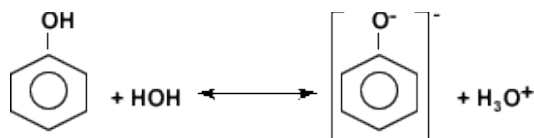


Figura 7. Propiedades químicas

La mayoría de los fenoles son más ácidos que el agua, lo que permite que hidróxidos alcalinos en disolución acuosa reaccionen con ellos formando sales o iones fenólicos, mientras que los ácidos minerales los transforman de nuevo en fenoles.

Tabla 7. Comparación de constantes de acidez del agua con otros compuestos

Agua	1×10^{-14}
Alcoholes	10^{-16} a 10^{-18}
Fenol	$1,1 \times 10^{-10}$
Ácidos carboxílicos	10^{-3}

Fuente: REQUENA, L. *Propiedades de los Fenoles* [en línea]. Puerto Rico: El portal educativo de América. 2001 [Fecha de consulta: 8 de Diciembre del 2011]. Disponible en: <http://www.salonhogar.net/quimica/nomenclatura_quimica/Propiedades_fenoles.html>.

A parte de la acidez, la propiedad química más notable de los fenoles es la reactividad, bastante elevada, del anillo en reacciones que implican sustitución electrofílica, siendo posible formar una gran variedad de complejos moleculares con bases orgánicas, con ácidos e iones orgánicos e inorgánicos.

El fenol presenta cinco estructuras contribuyentes, es decir que pueden ceder protones. Dos de estas estructuras corresponden a la resonancia del anillo bencénico.

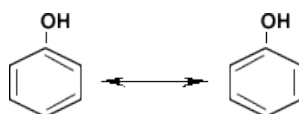


Figura 8. Resonancia del fenol

Las tres estructuras son posibles debido al carácter básico del oxígeno que le permiten compartir más de un par de electrones con el anillo.

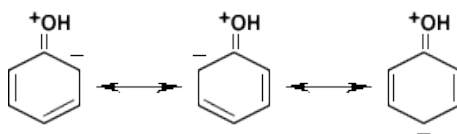


Figura 9. Reactividad del fenol

Los fenoles son ácidos débiles como resultado de la deslocalización y estabilización de la base conjugada. [25]

En general, los compuestos fenólicos pueden degradarse por diversos microorganismos, presentes en aguas naturales. En la tabla 8 se presentan las propiedades físicas del fenol.

Tabla 8. Propiedades físicas del fenol

Compuesto	Peso Molecular	Punto de fusión °C	Punto de ebullición °C	Densidad relativa	Solubilidad en agua %p/p
Fenol	94.11	43.0	181.7	1.0722(20°C)	6.6

Fuente: SILVA Vargas, María. Pre concentración selectiva de fenoles contaminantes prioritarios y determinación por espectrofotometría ultravioleta-visible, cromatografía líquida de alta eficacia y cromatografía de gases y espectrometría de masas. Tesis Doctoral. Químico Analítico. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Químicas. Madrid. 2000. p. 12.

1.6.3 Toxicidad. La toxicidad del fenol y sus derivados es conocida debido a su utilización como desinfectante.

Los fenoles con sustituyentes dadores de electrones, como los grupos alquilo, son menos tóxicos que aquellos con sustituyentes aceptores de electrones, como los halógenos.

El transporte de los pesticidas fenólicos ocurre en fase de vapor y como partículas en suspensión; este mecanismo es el responsable de la contaminación por estas sustancias de aguas superficiales y subterráneas. [26]

Los fenoles se pueden encontrar en aguas residuales de industrias, también pueden estar presentes en las aguas naturales, como resultado de la contaminación ambiental y de procesos naturales de descomposición de la materia orgánica. Los clorofenoles en el agua se producen por acción del cloro, sobre la materia orgánica presente en disolución, durante los procesos de cloración.

1.6.4 Aplicaciones. Los fenoles son compuestos de gran interés industrial debido a la diversidad de aplicaciones y por ende el incremento del riesgo de que estos compuestos se dispersen en el medio ambiente. Los principales usos de los fenoles y derivados son como conservantes, plásticos, colorantes, detergentes, desinfectantes, medicamentos y explosivos.

1.7 Detergentes

Los detergentes además de ser sustancias usadas para limpieza, son compuestos de materiales orgánicos superficialmente activos en soluciones acuosas. No forman precipitados con la dureza del agua.

Los detergentes se fabrican con aproximadamente 20-30% de agente superficial activo y 70-80% de blanqueadores, azulantes ópticos y algunos aditivos para mejorar su acción.

Tabla 9. Composición de los detergentes

Agentes de superficie	Catiónicos, aniónicos, no iónicos y anfipróticos
Adyuvantes	Polifosfatos, carbonatos, derivados del ácido nitrilotriacético
Reforzadores	Alcalinoamidas, óxidos de aminas.

Continuación Tabla 9

Aditivos	Perboratos secuestrantes, colorantes, perfumes, agentes de blanqueo, inhibidores de corrosión, agentes bactericidas.
Cargas	Agua, alcohol, sulfato sódico.
Enzimas	

Fuente: MANZANARES, Sonia. *Los detergentes y el medio ambiente* [en línea]. EUETIB-UPC. 2004 [Fecha de consulta: 15 Octubre 2011]. Disponible en: <[ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20\(OPT%20antiga%20\)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf](ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20(OPT%20antiga%20)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf)>.

1.7.1 Tensoactivos. Los tensoactivos, o agentes de actividad superficial, son moléculas orgánicas grandes. Su presencia en las aguas residuales proviene de la descarga de detergentes domésticos, lavanderías industriales y otras operaciones de limpieza.

Además son compuestos químicos que, disueltos en otro solvente, se orientan hacia la interface liquido-sólido, liquido-liquido o liquido-gas, modificando las propiedades de la interface. La modificación de la interface puede estar acompañada por la formación de coloides, emulsiones, suspensiones, dispersiones, aerosoles o espumas.

En medio acuoso las moléculas tensoactivas forman "soluciones coloidales". En la superficie los grupos hidrofílicos están debidamente solvatados en el agua, mientras que los grupos hidrofóbicos están ordenados perfectamente, lado a lado, sobre la superficie formando una monocapa. [27]

1.7.1.1 Composición típica. Tienen una parte soluble en agua o afín por el agua, con enlaces altamente polares, llamada hidrofílica, y otra parte no soluble en agua denominada hidrofóbica pero soluble en aceites, es decir lipofílica.

Esta estructura permite la modificación de ciertas propiedades fisicoquímicas a nivel de contacto sólido-líquido y la disminución de tensiones superficiales. Esta acción constituye el factor esencial en las operaciones de limpieza. [28]

Tabla 10. Estructura química de un agente tensoactivo

PARTE SOLUBLE EN ACEITE (LIPOFILICA)	PARTE SOLUBLE EN AGUA (HIDROFILICA)	
Grupo orgánico	Carboxilo	$-\text{COO}^- \text{Na}^+$
	Sulfato	$-\text{SO}_4^- \text{Na}^+$
	Hidróxido	$-\text{OH}$
	Sulfonato	$-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$

Fuente: RESTREPO, Ana y TOBÓN, Olga. Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p. 10.

El grupo polar es el componente tensoactivo responsable de disminuir la tensión superficial y de este modo facilitar el desprendimiento de los compuestos grasos.

El grupo hidrofóbico es, generalmente, un radical hidrocarburo de 10 a 20 átomos de carbono, no polar. El grupo hidrofílico, polar, es de dos tipos: el que se ioniza en el agua y el que no lo hace. El extremo hidrofílico es suficientemente afín al agua para conferir solubilidad en ella a todo el compuesto.

La formación de micelas se produce cuando la parte hidrofóbica del surfactante, al ser incapaz de formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, produce un aumento de la energía libre del sistema. Una manera de aliviar este aumento, es aislar la región hidrofóbica interaccionando con otras superficies, asociándose a otros compuestos hidrofóbicos o formando vesículas (micelas) en las que la región lipofílica se sitúa en el centro y la hidrofílica hacia fuera, formando los puentes de hidrógeno con las moléculas de agua. [29]

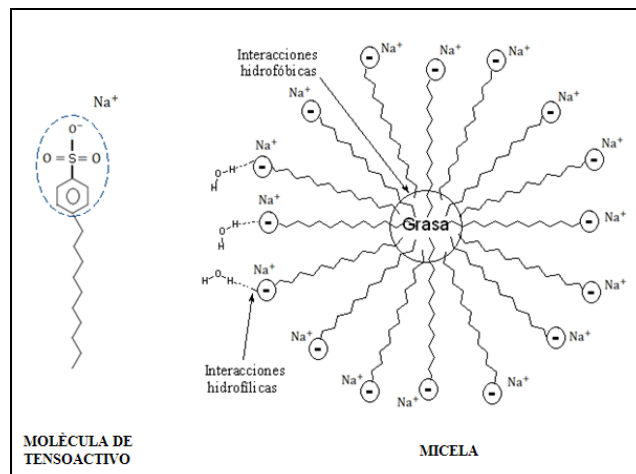


Figura 10. Formación de micelas de tensoactivo

Mediante estos arreglos, que causan la opacidad característica de las soluciones coloidales, las moléculas anfifílicas se auto-organizan para minimizar la interface agua-grupo no polar y al mismo tiempo maximizar las interfaces grupo no polar-grupo no polar y grupo polar-agua.

1.7.1.2 Clasificación

- **No iónicos.** Dependen de ciertos grupos moleculares como el oxido de etileno y ciertos polímeros para solubilizarse, puesto que no se ionizan. Los tensoactivos no iónicos están compuestos de un grupo de alquilo largo hidrófobo conectado a un grupo neutro altamente polar. El grupo polar debe ser suficientemente hidrófilo para llevar al grupo hidrófobo a solución acuosa.

- **Aniónicos.** Los surfactantes aniónicos contienen generalmente uno de cuatro grupos polares solubles (carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato) combinado con una cadena hidrocarbonada hidrófoba. Si esa cadena es corta son muy hidrosolubles, y en caso contrario tendrán baja hidrosolubilidad. Se ionizan para dar catión Na^+ y un anión activo superficialmente. En la actualidad el detergente aniónicos mas usado es el **LAS**.

El Sulfonato de alquil benceno lineal (LAS) no es un compuesto sencillo, ya que puede constar de algunos o todos los 26 isómeros y homólogos con estructura $\text{R}'\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3^- \text{Na}^+$ donde R' es un grupo alquilo secundario lineal de 10 a 14 átomos de carbono. El LAS se obtiene de parafinas de cadena recta con anillos bencénicos adheridos a los átomos de carbono primario y secundario, con una estructura no ramificada. [30]

- **Catiónicos.** Son aquellos que poseen uno o varios grupos funcionales que, en solución acuosa, suministran iones cargados positivamente. Estos agentes de superficie son en general los clorhidratos de amina o los derivados de amonio cuaternario.

Como las bases de cadena larga llevan una carga positiva y la mayoría de las superficies están cargadas negativamente en contacto con soluciones acuosas, estos tensoactivos son apropiados para un gran conjunto de materiales. Su adsorción tiende a anular las repulsiones eléctricas que ayudan a la detergencia y, por ello, los surfactivos catiónicos no pueden normalmente emplearse con fines de limpieza. Sin embargo, la sustantividad produce una película protectora superficial y en algunos casos su acción bacteriostática y bactericida hace a los surfactivos catiónicos valiosos para un conjunto de aplicaciones especiales.

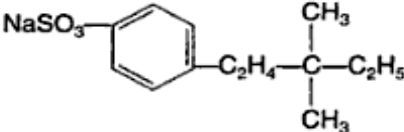
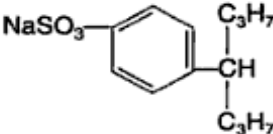
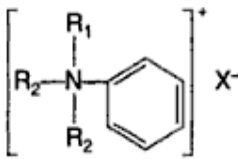
Detergentes comerciales	
ANIÓNICOS	
Alquisulfatos primarios	$R_1-SO_4-CH_3$
Alquisulfatos secundarios	$\begin{matrix} R_1 \\ R_2 \end{matrix} \left\{ CH-SO_4-CH_3 \right.$
Alquisulfonatos	$R_1-SO_3-CH_3$
Sulfatos de amidas grasas	$R_1-CO-NH-R_2-SO_4-CH_3$
Alquilbencilsulfonatos de cadena ramificada (ABS)	
Alquilbencilsulfonatos de cadena lineal (LAS)	
NO IÓNICOS	
Alcoholes polioxietilénicos	$R_1-O-(CH_2-CH_2O)_{n-1}-CH_2-CH_2OH$
CATIÓNICOS	
Derivados de amonio cuaternario halogenados	

Figura 11. Principales tipos de detergentes no iónicos y catiónicos

1.7.1.3 Propiedades. Las propiedades de un tensoactivo son caracterizadas principalmente por cuatro parámetros:

- **Concentración micelar crítica CMC.** La concentración de tensoactivos en la que se alcanza la mínima tensión superficial es denominada concentración micelar crítica (CMC); es también la concentración de tensoactivos por debajo de la cual las micelas se forman espontáneamente. La CMC es un parámetro característico para cada tensoactivo. Para valores inferiores a esta concentración, todo el tensoactivo presente en solución se encuentra en forma de monómeros ubicados en la interface agua-aire, mientras que a valores más altos, algunas moléculas de tensoactivo se encuentran en forma micelar.

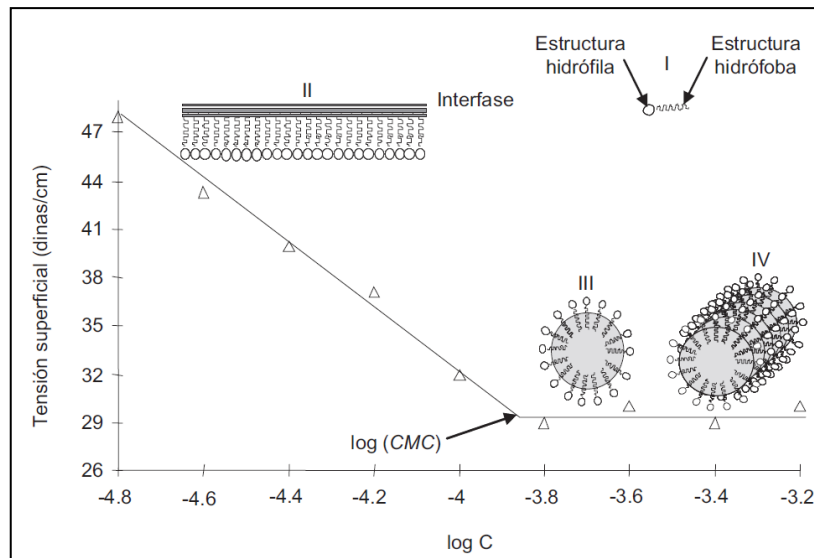


Figura 12. Concentración micelar crítica

- **Número de agregación (n_a).** Indica el promedio de moléculas de tensoactivo que se encuentran formando las micelas. Los agregados micelares están conformados generalmente de 20–100 monómeros, con un radio aproximado de 1.5–30 Å. El modelo físico más aceptado para la micela es el desarrollado por Hartley en 1936 y consiste en una configuración esférica con tres fases.

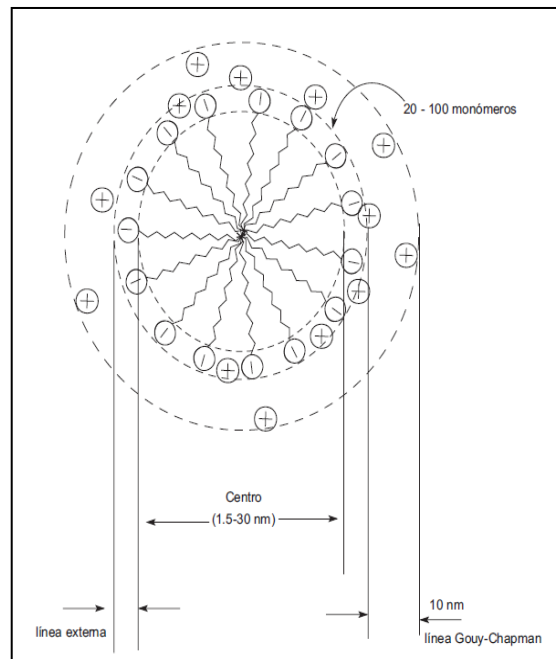


Figura 13. Estructura básica de una micela de tensoactivos aniónicos

- **Balance hidrofílico–lipofílico HLB.** Es un valor que representa la capacidad de un tensoactivo para formar emulsiones estables en sistemas agua–aceite o aceite–agua, al compararse con valores estándar establecidos de HBL.
- **Punto de nube (PN).** Se define como la temperatura a la cual el tensoactivo (generalmente no iónico) pierde su solubilidad en una solución acuosa, la cual a nivel macroscópico presenta una apariencia turbia, es decir, en forma de nube. [31]

1.7.2 Importancia de los detergentes. Los detergentes causan problemas de espumas en sitios de mezcla turbulenta de aguas residuales. Otro problema de contaminación que provocan es por los polifosfatos que contienen que se convierten en última instancia a ortofosfatos produciendo acelerado proceso de eutricación.

Los detergentes inhiben las oxidaciones biológicas y químicas que se producen en el seno de las aguas naturales.

Los agentes activos de superficie que forman los detergentes favorecen la acumulación de fenoles y otras sustancias olorosas, además al variar la tensión superficial, la presencia de detergentes dificulta la sedimentación primaria.

La biodegradabilidad de los detergentes es muy variable, dependiendo de su estructura química. Los fabricados con base en ABS son resistentes al ataque biológico por su composición molecular ramificada y por la adhesión de los anillos bencénicos a los átomos terciarios de carbono de los grupos de cadena ramificada. Los fabricados con base en LAS son biodegradables en condiciones aeróbicas.

Los surfactantes no solo son importantes como detergentes sino que son vitales en la estabilización de emulsiones, en el desmoldado de plásticos, aprestos en textiles, perforación de pozos petroleros y cientos de otras aplicaciones.

2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

2.1 Métodos analíticos

La química analítica se ocupa de los métodos de determinación de la composición química de la materia. Un método cualitativo informa sobre la identidad de las especies atómicas o moleculares de la muestra, o de los grupos funcionales que hay en ella; un método cuantitativo aporta información numérica de la cantidad relativa que hay de uno o varios de estos componentes. [32]

Los métodos analíticos se suelen clasificar en métodos clásicos e instrumentales. Esta clasificación es, en gran medida histórica, ya que los métodos clásicos precedieron en más de un siglo a los instrumentales.

2.1.1 Métodos clásicos. Se los realiza separando los componentes de interés (analitos) de una muestra. En los análisis cuantitativos, la cantidad de analito se determina mediante medidas gravimétricas o volumétricas; en los análisis gravimétricos se determina la masa del analito o la de algún compuesto generado a partir del mismo.

2.1.2 Métodos Instrumentales. Se basan en la medida de alguna propiedad físico-química. Su uso ha aumentado con el desarrollo de la electrónica, por la facilidad de detectar cambios en las propiedades físico-químicas y transformarlos a un lenguaje entendible por el ser humano.

2.1.2.1 Métodos instrumentales ópticos. Son aquellos que miden la radiación electromagnética que emana o interactúa con la materia. Teniendo en cuenta esto es posible clasificar los métodos ópticos en espectroscópicos y no espectroscópicos.

- **Métodos no espectroscópicos.** Se caracterizan porque en estos métodos no tiene lugar un intercambio de energía por la interacción materia–radiación electromagnética.

No se producen transiciones entre los diferentes estados energéticos, sino que lo que realmente ocurre son cambios en la dirección o en las propiedades físicas de la radiación electromagnética.

- **Métodos espectroscópicos.** Estos métodos de análisis que se basan en la medición de luz y otras formas de radiación electromagnética, son las que más se utilizan en la química analítica. Los métodos espectroscópicos de análisis miden la cantidad de radiación producida o absorbida por las especies atómicas o moleculares que se analizan. [33]

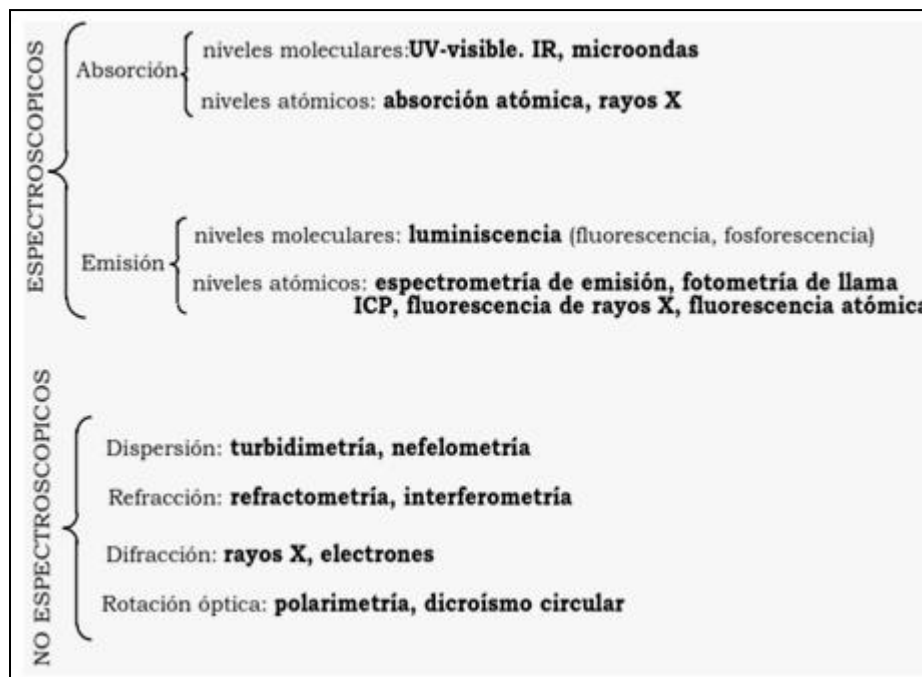


Figura 14. Clasificación de los métodos ópticos

2.2 Fundamentos de espectroscopia de absorción molecular

2.2.1 Radiación Electromagnética. Es una forma de energía que se transmite por el espacio a velocidades muy altas. A la radiación electromagnética de la región UV/VIS, la llamamos luz; aunque en sentido estricto, el término es apropiado solo para la radiación Visible. Desde el punto de vista teórico, es conveniente describir la luz en términos tanto de partículas como de ondas.

2.2.1.1 Propiedades ondulatorias de la radiación. La radiación electromagnética puede describirse como una onda que tiene propiedades de frecuencia, velocidad, longitud de onda y amplitud. A diferencia de las ondas sonoras, las ondas luminosas no necesitan de un medio para transmitirse y, por tanto, se propagan fácilmente en el vacío.

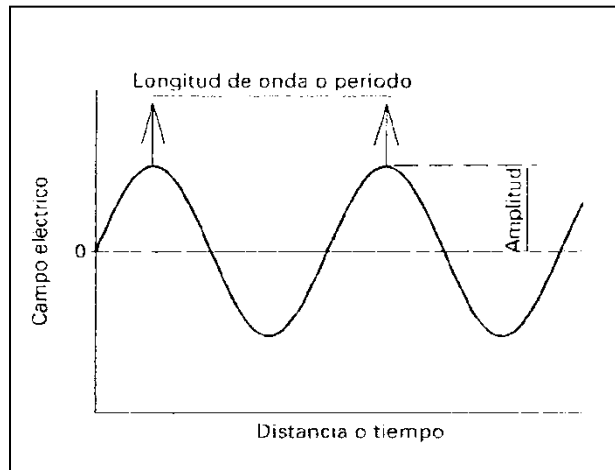


Figura 15. Parámetros de una onda electromagnética

Las radiaciones electromagnéticas se caracterizan por la existencia, en cada punto del espacio en que se transmiten; de un campo eléctrico y un campo magnético oscilantes, relacionados perpendicularmente entre sí.

Como se observa en la figura 16 el campo eléctrico oscila en el plano XY y el campo magnético en el plano XZ, lo cual origina una onda polarizada linealmente.

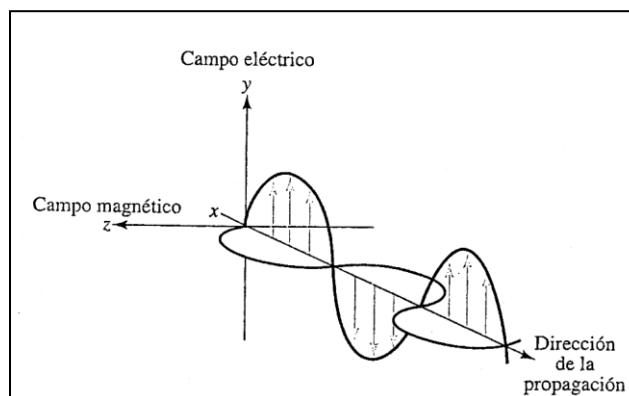


Figura 16. Campo eléctrico y magnético de una onda electromagnética

La ley de Faraday dice que si un campo magnético varia con el tiempo actúa como una fuente de campo eléctrico; y según la ley de Ampere, un campo eléctrico variable actúa como una fuente de campo magnético. De este modo, cuando uno de los dos campos varia con el tiempo, se induce un campo del otro tipo en las regiones adyacentes del espacio.

Se considera de forma especial el campo eléctrico ya que es el responsable de la mayoría de los fenómenos que interesan, como la transmisión, la reflexión, la refracción y la absorción. Sin embargo, cabe señalar que la componente magnética de la radiación es la responsable de la absorción de las ondas de radiofrecuencia en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

La radiación electromagnética es portadora de una cantidad de energía y presenta características específicas según la banda de frecuencias (o longitud de onda) en que se halle inscrita.

El modelo ondulatorio no explica satisfactoriamente los procesos asociados con la absorción y la emisión de la energía radiante. Para entender estos procesos es más conveniente considerar a la radiación electromagnética como ondas de partículas o paquetes discretos de energía llamados *fotones o cuantos*.

Estas dos concepciones de la radiación, como partícula y como onda, no son excluyentes entre sí; sino más bien complementarias, ya que la energía de un fotón es directamente proporcional a su frecuencia. [34]

2.2.1.2 Propiedades de partícula de luz: fotones. Desde el punto de vista energético, es más conveniente considerar a la luz constituida por partículas llamadas fotones. Cada fotón tiene una energía E , la cual está dada por:

$$E = h\nu \quad (1)$$

Donde:

h : es la constante de Plank ($6.6260755 \times 10^{-34}$ J.s)

ν : frecuencia

Esta ecuación establece que la energía de un haz de radiación es directamente proporcional al número de fotones por segundo.

Considerando que el producto de la frecuencia (ν) y la longitud de onda (λ), es la velocidad (c) de propagación de la onda:

$$c = \nu \cdot \lambda \tag{2}$$

Es posible escribir:

$$E = \frac{hc}{\lambda} = hc\nu \tag{3}$$

ν es igual a $1/\lambda$ y se denomina número de onda. Se observa que la energía es inversamente proporcional a la longitud de onda y directamente proporcional al número de onda.

No debe confundirse energía de los fotones con su luminosidad o intensidad de la radiación. El número de fotones es proporcional a la luminosidad, pero la energía del fotón está relacionada con el color (longitud de onda) de este.

2.2.1.3 El espectro de radiación electromagnética. Las ondas electromagnéticas cubren una amplia gama de frecuencias y longitudes de onda. La clasificación no tiene límites precisos, ya que fuentes diferentes pueden producir ondas en intervalos de frecuencia parcialmente superpuestos. La clasificación habitual del espectro electromagnético se muestra a continuación:

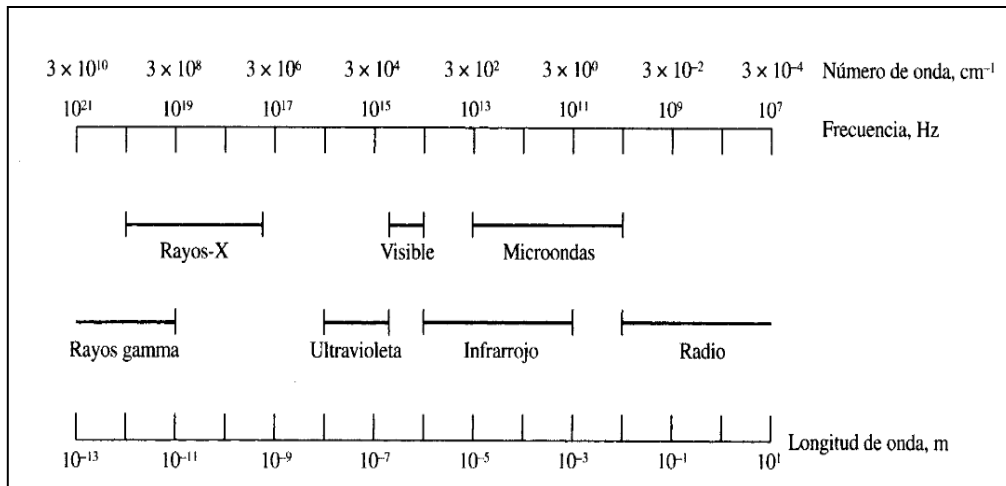


Figura 17. Regiones del espectro electromagnético

La Figura 17. muestra las regiones del espectro electromagnético que se utilizan para los análisis espectroscópicos.

Al pasar de una región a otra del espectro no se encuentran discontinuidades en las propiedades de las radiaciones.

- **Espectro Visible.**-Es una estrecha banda formada por las longitudes de onda a las cuales la retina humana es sensible. Se extiende entre 10^{-6} hasta 10^{-7} m, con frecuencias entre 10^{14} hasta 10^{15} Hz. Las diferentes sensaciones que la luz produce en el ojo, que se denominan colores, dependen de la longitud de onda y se corresponden aproximadamente con los intervalos mostrados en la siguiente tabla.

Tabla 11. División del espectro visible

Intervalo de longitudes de onda, (nm)	Color de la luz absorbida	Color complementario transmitido
400-435	Violeta	Amarillo-verdoso
435-480	Azul	Amarillo
480-490	Azul-verde	Anaranjado
490-500	Verde-azul	Rojo
500-560	Verde	Purpura
560-580	Amarillo-verdoso	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Anaranjado	Azul-verdoso
650-750	Rojo	Verde-azul

Fuente: HARRIS, Daniel. Análisis Químico Cuantitativo. Tercera Edición. Editorial Reverte, México, 2007. p. 499.

La luz visible se distingue de los demás tipos de radiación, tan solo en la energía de sus fotones.

- **Espectro Ultravioleta.**-Cubre desde 10^{-7} m hasta alrededor de 10^{-9} m, con frecuencias desde 10^{15} hasta 10^{17} Hz. Su energía es del orden de magnitud de la energía involucrada en muchas reacciones químicas, lo que explica muchos de sus efectos químicos.

2.2.2 Teoría de la absorción molecular. Todos los átomos o moléculas poseen un número discreto de niveles de energía. A temperatura ambiente, la mayoría de las especies se encuentran en su nivel energético más bajo denominado *estado fundamental*. Cuando una onda electromagnética interacciona con un átomo o molécula, la energía de dicha onda puede resultar absorbida si coincide exactamente con la energía necesaria para llevar a la especie química en

cuestión, desde el estado fundamental hasta alguno de los niveles energéticos superiores. En este caso, la energía de la onda se transfiere a la molécula, promoviéndola a un estado de energía más elevado o *estado excitado*. Después de un periodo de tiempo muy breve (pocos nanosegundos) la especie excitada se relaja a su estado original devolviendo energía al medio que le rodea. [35]

La excitación originada por radiaciones visibles o ultravioleta promueve transferencia de electrones que se hallan en niveles bajos de energía hasta orbitales de energía superior. La transición de un electrón entre diferentes niveles de energía se denomina transición electrónica y el proceso de absorción asociado es conocido como absorción electrónica.

La radiación ultravioleta y visible tiene la energía suficiente para producir transiciones únicamente de los electrones más externos o electrones enlazantes.

Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética. La absorción de radiación visible y ultravioleta de longitud de onda larga está restringida a un número limitado de grupos funcionales (llamados cromóforos) que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas.

2.2.2.1 Diagramas de niveles de energía. La siguiente figura es un diagrama parcial de los niveles de energía, que muestra lo que ocurre cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, visible y ultravioleta. Las líneas E_1 y E_2 representan las energías de los distintos niveles electrónicos excitados de una molécula de nivel energético fundamental E_0 . Las líneas de los números 1 a 4 representan energías de niveles vibracionales asociados a cada estado electrónico.

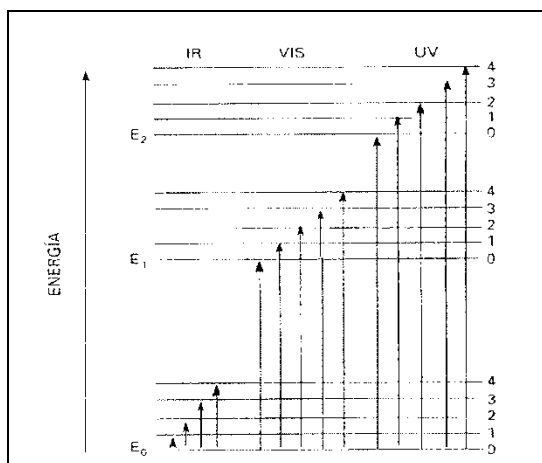


Figura 18. Niveles de energía de un átomo o molécula

Para la transición desde el estado fundamental E_0 al primer estado excitado E_1 son necesarios fotones de longitud de onda visible. Para la transición a un estado excitado superior al E_1 son necesarios fotones todavía más energéticos, en este caso hablamos de radiación ultravioleta.

2.2.2.2 Absorción de la luz. Cuando una muestra absorbe luz, la potencia radiante del haz disminuye a medida que la longitud del medio aumenta. La potencia radiante, P , se evalúa como energía por segundo por unidad de área del haz de luz.

Las longitudes de onda absorbidas y emitidas dependen de la identidad del compuesto. Estas longitudes de onda permanecen iguales pese a la cantidad del analito presente. Sin embargo, la cantidad de luz absorbida o emitida depende de la concentración del compuesto presente en el paso óptico.

En un experimento de espectrofotometría; la luz se hace pasar por un monocromador, para aislar una longitud de onda, esta última de potencia radiante P_0 incide sobre una muestra de espesor b . La potencia radiante del haz emergente es P ; la muestra puede absorber una fracción de la luz, de manera que $P \leq P_0$.

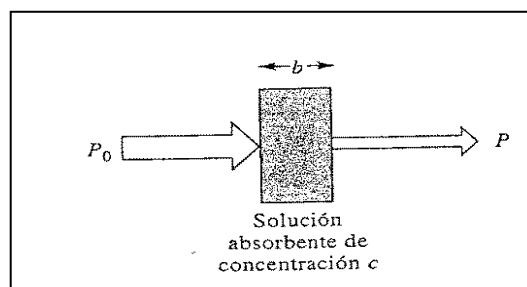


Figura 19. Transmitancia de una solución

La **transmitancia T**, se define como la fracción de la luz incidente que sale de la muestra.

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (4)$$

Por lo tanto, T varía de cero a uno. Una magnitud física más útil es la absorbancia que se define como:

$$A = \log_{10} \frac{P_0}{P} = -\log T \quad (5)$$

La importancia de la absorbancia reside en que es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente en la muestra.

2.2.3 Ley de Lambert-Beer. La ecuación fundamental para aplicar la espectrofotometría en química analítica se denomina ley de Beer-Lambert, o simplemente ley de Beer. Esta ley establece que la absorbancia está directamente relacionada con las propiedades intrínsecas del analito, con su concentración y con la longitud de la trayectoria del haz de radiación al atravesar la muestra. La expresión matemática es:

$$A = C \cdot \epsilon \cdot b \quad (6)$$

Donde:

A: Absorbancia de la muestra, es adimensional.

C: Concentración del cromóforo, expresado en moles/litro.

ϵ : Absortividad molar.

b: Longitud del paso óptico que contiene la muestra.

La absortividad es una función de diversas variables, tales como el cromóforo, el disolvente, la composición de la solución y las condiciones de medida (T, pH).

Los valores de A y ϵ dependen de la longitud de onda de la luz. La absortividad molar (ϵ) es simplemente un coeficiente de proporcionalidad entre la absorbancia y el producto bc.

La parte de la molécula a la que se debe la absorción de luz se llama cromóforo. Cualquier sustancia que absorba luz visible se verá coloreada cuando refleje la luz blanca o cuando esta se transmita por ella.

2.2.3.1 Motivos por los que falla la ley de Beer. A veces se observan desviaciones debidas a la forma en que se mide la absorbancia (desviaciones instrumentales) o como resultado de los cambios químicos asociados a las variaciones de concentración (desviaciones químicas).

- **Desviaciones químicas.** La ley de Beer establece que la absorbancia es proporcional a la concentración de las especies absorbentes. Esto se verifica muy bien en el caso de soluciones diluidas ($\leq 0,01M$) de la mayoría de las sustancias. Las fallas aparentes de esta ley en

soluciones con concentraciones más altas pueden atribuirse a cambios en las especies absorbentes o en las propiedades de la solución.

Conforme una solución se vuelve más concentrada, las moléculas de soluto interactúan entre sí debido a su proximidad, cambiando las propiedades eléctricas de ambas (incluyendo la absorción de luz). De ello resulta que la gráfica de absorbancia en función de la concentración deja de ser una línea recta.

Otras desviaciones se presentan cuando las especies absorbentes experimentan asociación, disociación o reaccionan con el disolvente formando productos que tienen una absorción distinta a la del analito. [36]

También hay que considerar la absorción o emisión de otros componentes de la matriz que se produce a la misma longitud de onda que la utilizada para el análisis.

- ***Desviaciones instrumentales originadas por la radiación policromática.*** El cumplimiento estricto de la ley de Beer solo se observa cuando la radiación es realmente monocromática. En la práctica esto es raro debido a que los dispositivos que aíslan porciones de la señal de salida de una fuente continua, generan una banda de longitudes de onda más o menos simétricas en torno a la deseada.
- ***Desviaciones instrumentales originadas por la radiación parasita.*** La radiación que emerge del monocromador suele estar contaminada con pequeñas cantidades de radiación dispersada o parasita, la cual alcanza la rendija de salida como resultado de dispersiones y reflexiones en varias superficies internas. La radiación parasita, con frecuencia difiere sustancialmente en su longitud de onda de la radiación principal y, además, puede no haber atravesado la muestra.
- ***Efecto de la anchura de la rendija.*** Para conseguir espectros complejos bien resueltos se requieren anchuras de rendija estrechas. Desafortunadamente, una disminución en la anchura de rendija va acompañada por una reducción exponencial de segundo orden en la energía radiante.
- ***Efectos de la radiación dispersada de longitudes de onda extremas de un instrumento.*** La radiación dispersada puede causar desviaciones instrumentales de la ley de Beer. Cuando las medidas se realizan a las longitudes de onda extremas de un instrumento, los efectos de la radiación parasita pueden ser más serios. [37]

2.3 Instrumentos ópticos en medidas de absorbancia

La Figura 20. muestra los componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción. Es decir, de un instrumento diseñado para cuantificar la absorción de radiación ultravioleta o visible por sustancias químicas.

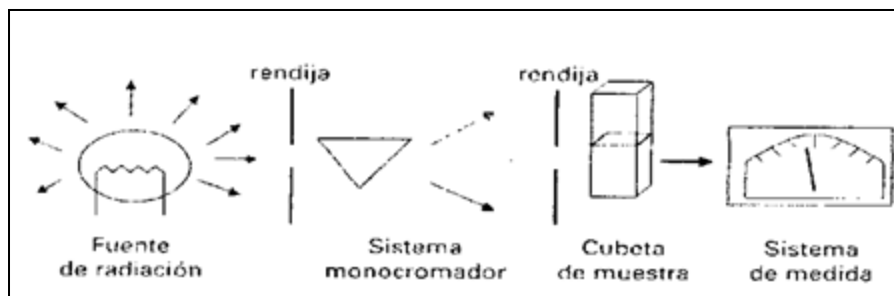


Figura 20. Partes básicas de un espectrofotómetro de absorción

Dichos componentes básicos son:

- La fuente, que emite la radiación que posteriormente interactúa con la muestra.
- Un sistema monocromador que permita separar bandas de luz estrechas, ya sea antes o después de la interacción de la luz con la muestra.
- Un compartimiento para colocar la muestra en celdas o cubetas adecuadas, dependiendo de la región del espectro utilizada. El compartimiento estará colocado de manera que el haz de luz de la fuente atraviese la muestra perpendicularmente.
- Un sistema para la detección de la radiación que ha atravesado la muestra.
- Sistemas electrónicos de amplificación, transformación y comparación de señal.
- Sistemas de registro de señal o almacenamiento de datos. [38]

La muestra (como solución coloreada) no emite luz por sí misma, por lo que se debe incluir una fuente de radiación.

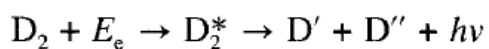
2.3.1 Fuentes de radiación. Una fuente debe generar un haz de radiación con potencia suficiente para que se detecte y se mida con facilidad. Además, su potencia de salida debe ser estable durante periodos de tiempos razonables. La potencia radiante de una fuente varía

exponencialmente con la tensión de su fuente de alimentación. Por ello, para proporcionar la estabilidad requerida se necesita a menudo una fuente de potencia regulada.

2.3.1.1 Fuentes de radiación visible. La fuente más común para la espectrometría de absorción visible es una lámpara de incandescencia. El filamento suele ser de tungsteno (wolframio) que, cuando se pone a unos 3000°C emite un espectro continuo de radiación electromagnética de longitud de onda entre 320 y 750nm.

2.3.1.2 Fuentes de radiación ultravioleta. Las llamadas lámparas de arco son las fuentes de radiación ultravioleta más utilizadas en espectroscopia de absorción (Figura 21). Estas lámparas son formadas por una ampolla hermética interna que contiene dos electrodos conectados a una fuente de energía. La ampolla se rellena con un gas, los electrodos aplican una descarga eléctrica que excita las partículas del gas. Cuando las partículas excitadas vuelven al estado fundamental, lo hacen emitiendo luz ultravioleta con un espectro continuo de 190 a 320nm.

- **Lámparas de deuterio.** La excitación eléctrica del deuterio a baja presión produce un espectro continuo en la región ultravioleta. El mecanismo por el cual se produce el espectro continuo requiere la formación inicial de una especie molecular excitada seguida de la disociación de la molécula excitada para dar dos especies atómicas más un fotón ultravioleta. Las reacciones para el deuterio son:



Donde E_e es la energía eléctrica absorbida por la molécula y D_2^* es la molécula de deuterio excitada.

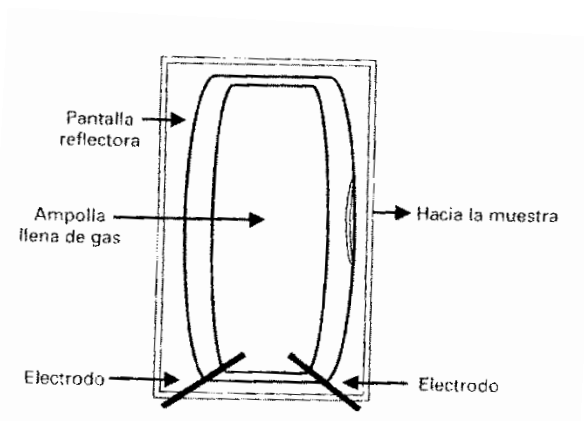


Figura 21. Lámpara de arco

2.3.2 Selectores de longitud de onda. Para los análisis, se necesita una radiación constituida por un grupo limitado, estrecho y continuo de longitudes de onda denominado banda.

No existe ningún selector de longitud de onda que separe la radiación de una única longitud. Existen dos clases de selectores de longitud de onda, los filtros y los monocromadores.

En el caso de los filtros se emplean dos tipos de filtros para la selección de la longitud de onda: los filtros de interferencia y los filtros de absorción. Los filtros de absorción se limitan a la región visible del espectro; mientras que los filtros de interferencia operan en la región ultravioleta, visible y buena parte del infrarrojo.

2.3.2.1 Sistemas monocromadores. La función principal de un monocromador es la de proporcionar un haz de energía radiante con una longitud de onda (λ) dada. La salida espectral de cualquier monocromador usado como fuente de radiación continua consiste en una gama de longitudes de onda con un valor medio de longitud que se ajusta orientando el monocromador. Un sistema monocromador consta de:

- Una rendija de entrada que proporciona una imagen óptica estrecha de la fuente de radiación.
- Una lente colimadora que hace paralela la radiación procedente de la rendija de entrada.
- Una red de difracción para dispersar la radiación incidente.
- Otra lente colimadora para reformar las imágenes de la rendija de entrada sobre la rendija de salida.
- Una rendija de salida para aislar la banda espectral deseada, bloqueando toda la radiación dispersada excepto la del intervalo deseado.

Toda luz monocromática tiene un ancho de banda espectral finito. Se puede cambiar la longitud de onda continuamente y sin problemas sobre algunos intervalos de longitudes de onda. Este último método se denomina, barrido de longitud de onda.

2.3.3 Celdas o cubetas. Son el compartimiento donde se deposita la muestra a analizar, pueden ser de plástico, vidrio o cuarzo en el caso de espectroscopia de absorción visible y necesariamente de cuarzo en el caso de espectroscopia de absorción ultravioleta. La necesidad de cuarzo en el último caso viene dada por la opacidad del plástico y el vidrio a la radiación ultravioleta.

Normalmente las cubetas utilizadas son de 1 cm de paso de luz; no obstante, si se desea ganar sensibilidad, se puede aumentar la longitud del paso óptico.

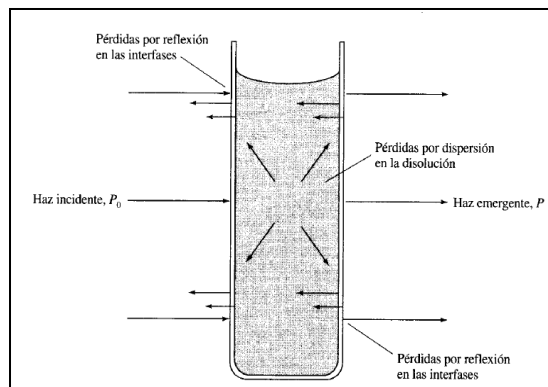


Figura 22. Pérdidas por reflexión y dispersión

Como se muestra en la figura 22, en las interfaces aire/pared de la celda, así como en las dos interfaces pared/disolución tienen lugar reflexiones. La atenuación del haz resultante es primordial ya que aproximadamente el 8,5% de un haz de luz amarilla se pierde por reflexión a través de una celda de vidrio llena de agua. Además la atenuación del haz puede ocurrir como consecuencia de la dispersión causada por moléculas grandes y, a veces, de la absorción por las paredes del recipiente. Para compensar estos efectos, la potencia del haz transmitido por la disolución del analito se compara, generalmente, con la potencia del haz transmitido por una cubeta idéntica que contiene el blanco.

La calidad de las medidas de absorbancia depende de forma crítica del uso y mantenimiento que se haga de las cubetas contrastadas. Por ello, es indispensable una limpieza completa antes y después de su uso.

Variaciones sin importancia en la geometría de las celdas, modifican el paso de la luz mediante ligeras diferencias en la reflexión y la refracción en cada superficie, encontrándose que una limitación en la precisión se debe al error de la posición de la cubeta.

2.3.4 Sistemas Detectores. Generalmente los detectores también son transductores, es decir, convierten la radiación electromagnética que atraviesa la muestra en una corriente o voltaje que se mide después de ser amplificado en el circuito electrónico de lectura.

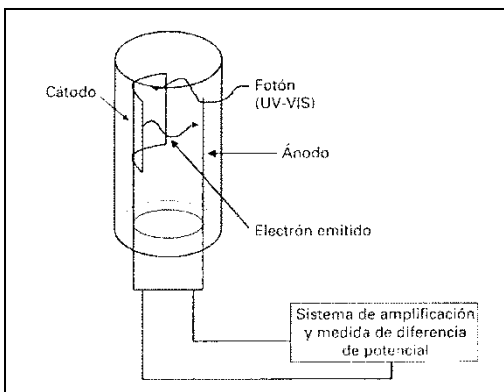


Figura 23. Fototubo empleado en la detección de luz UV-VIS

Se utilizan los fototubos de vacío, que contienen un cátodo sensible a la radiación. El fototubo basa su funcionamiento en el efecto fotoeléctrico, es decir, detecta los electrones que emiten determinados materiales cuando reciben el impacto de fotones de determinadas frecuencias. Los electrones emitidos por el material que cubre el cátodo son recogidos por el ánodo, generándose así una diferencia de potencial proporcional a la cantidad de fotones que inciden sobre el cátodo. Esta diferencia de potencial es amplificada, cuantificada y registrada.

Todos los componentes pueden ensamblarse de diversas maneras, dependiendo de varios factores. No obstante las dos configuraciones más empleadas son las de espectrofotómetro de haz sencillo y de doble haz.

2.3.5 Espectrofotómetros con configuración óptica de un solo haz. Los instrumentos de simple haz son aquellos en los que el haz de luz sigue una única trayectoria entre la fuente y el detector. La banda de luz atraviesa la muestra que se halla contenida en una celda y la luz transmitida por la muestra pasa al detector, originándose una corriente eléctrica que por medio de diferentes circuitos permite observar una señal. [39]

2.3.5.1 Espectrofotómetros de haz sencillo para la región ultravioleta/visible. El extremo inferior de longitudes de onda de estos instrumentos varía de 190 a 210nm y el superior de 800 a 1000nm. Está equipado con lámparas de tungsteno y deuterio. La mayoría utiliza tubos fotomultiplicadores como detectores y redes como elemento dispersante.

Está provisto de dispositivo de salida digital. La anchura de banda suele variar entre 2 a 8 nm; se han descrito exactitudes en la longitud de onda de $\pm 0,5$ a ± 2 nm. Los instrumentos de haz sencillo

tienen las ventajas inherentes de un mayor rendimiento energético, relaciones señal/ruido superiores y compartimientos de muestra menos llenos.

2.4 Señales y ruido

Cada medida analítica consta de dos componentes. La primera, la señal que lleva la información relativa al analito; la segunda, denominada ruido, está compuesta por información ajena que es indeseada porque degrada la exactitud y la precisión de un análisis y además establece un límite inferior en la cantidad de analito que se puede detectar.

La señal generalmente es un cambio en el potencial eléctrico que se monitoriza. El ruido es una fluctuación aleatoria indeseable que, dependiendo del tiempo, cambia el registro de la señal. Por desgracia, nunca se pueden obtener en el laboratorio datos sin ruido, ya que algunos tipos de ruido tienen su origen en efectos termodinámicos y cuánticos imposibles de evitar en una medida.

En la mayoría de las medidas, el valor promedio de la señal de ruido R es constante e independiente de la magnitud de la señal S . Así pues, el efecto del ruido en el error relativo de una medida aumenta conforme disminuye el valor de la cantidad medida. Por esta razón, la relación señal/ruido (S/R) es un parámetro de calidad mucho más útil que el ruido.

Para una señal de corriente continua, la magnitud de ruido se define como la desviación estándar S de numerosas medidas de la intensidad de la señal, la cual viene dada por la media de las medidas:

$$\frac{S}{R} = \frac{\text{media}}{\text{desviación estándar}} = \frac{\bar{x}}{s} \quad (7)$$

Como norma general, es imposible la detección de una señal cuando la relación señal/ruido es menor a 2 o 3.

Para explicar el efecto del ruido, se hace referencia a el ejemplo que muestra la Figura 24. La señal, que es la diferencia de los potenciales del blanco y la muestra, se distingue fácilmente

cuando se intercambian las dos. Aquí, como aparece a la derecha, el potencial de la señal se mide como la medida entre las mesetas.

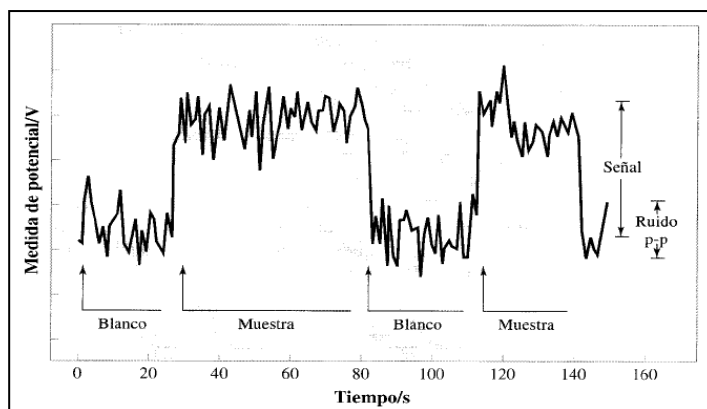


Figura 24. Representación de la señal y ruido

En conclusión, la precisión y la exactitud de un ensayo dependen sobre todo de tres factores: la magnitud de la señal del fondo, la magnitud de la señal del analito y el nivel de ruido.

A menudo, no es necesario en absoluto tener en cuenta la medida del ruido, porque se dispone de una gran cantidad de muestra llena de las señales de los analitos presentes, y la señal residual es casi imperceptible. Aun así, la presencia de ruido es inevitable en cierta medida durante el análisis.

2.4.1 Fuentes de ruido en los análisis instrumentales. Dos tipos de ruido afectan a los análisis químicos: el ruido químico y el ruido instrumental.

2.4.1.1 Ruido químico. Proviene de multitud de variables incontroladas que afectan a la química del sistema que se analiza. Entre estos pueden citarse variaciones no detectadas de temperatura o presión que afectan el equilibrio químico, fluctuaciones en la humedad relativa que cambian el contenido de humedad de las muestras.

2.4.1.2 Ruido instrumental. Este ruido se asocia a cada componente de un instrumento, es decir a todos los elementos que procesan la señal. Además, el ruido de cada uno de estos componentes puede ser de distintos tipos y provenir de distintas fuentes.

- **Ruido térmico o ruido Johnson.** Se debe a la agitación térmica de los electrones u otros transportadores de cargas en las resistencias, condensadores, detectores de radiación, celdas y otros elementos resistivos de un instrumento.

El ruido térmico está presente por igual en todas las frecuencias a lo ancho del paso de banda, por lo cual se lo conoce como ruido blanco, este ruido marca el límite inferior de ruido de cualquier detector que tenga resistencia eléctrica.

- **Ruido de disparo.** También se lo conoce como ruido cuántico o de Schottky. Ni la corriente eléctrica ni la luz se propagan como un flujo suave ya que las dos están cuantizadas; la corriente en unidades de electrones y la luz en unidades de fotones.

Este ruido tiene su origen en la salida o entrada aleatoria de los cuantos (electrones o fotones). Estos fenómenos aleatorios ocurren cuando los electrones cruzan un nudo o llegan a una superficie. Similarmente, los fotones salen de una fuente de luz al azar, y su choque con una superficie también muestra un ruido de disparo. El ruido de disparo depende del valor de la corriente, solo puede minimizarse reduciendo el ancho de banda.

- **Ruido 1/f.** También conocido como ruido de parpadeo o ruido rosa. Este tipo de ruido cuantifica el exceso de ruido medido por encima del ruido blanco y el de disparo. El origen físico de este ruido no se comprende bien, pero empíricamente se comprueba que es proporcional al número de electrones o fotones que llegan a una superficie; por lo tanto el ruido es proporcional a la magnitud de la señal. Se ha determinado que el nivel de ruido 1/f depende de la manera de construir (incluidos materiales utilizados y formas) los componentes como resistencias y detectores de fotones.
- **Ruido ambiental.** Es una mezcla de distintos tipos de ruidos procedentes del entorno, gran parte se produce a causa de que cada conductor de un instrumento es una antena potencial capaz de captar radiación electromagnética y convertirla en una señal eléctrica. En el entorno existen numerosas fuentes de radiación electromagnética tales como líneas de alimentación de corriente alterna, emisoras de radio y televisión.

El ruido observado en cualquier señal proviene del ruido introducido por todas y cada una de las partes del instrumento electrónico. Pero, puede asegurarse que la mayoría del ruido presente en la espectrometría proviene de la fuente de luz (como ruido de parpadeo) o del ruido térmico del transductor de señal. [40]

2.5 Determinación cuantitativa de Fenoles

El método de la 4-aminoantipirina mide todos los fenoles *orto* y *meta* sustituidos; y bajo condiciones apropiadas de pH, los fenoles sustituidos en *para* en los que los sustituyentes son grupos carboxilo, halógeno, metoxilo o acid sulfónico. Este método no determina los fenoles *para*-sustituidos donde la sustitución es un grupo alquilo, arilo, nitro, benzoilo, nitroso o aldehído.

En general, los fenoles reaccionan con la 4-aminoantipirina en medio alcalino y en presencia de ferricianuro de potasio para formar un tinte de antipirina coloreada (colorante azo). El tinte es entonces extraído desde la fase acuosa con cloroformo y el color es medido a 460nm. La sensibilidad de este método varía con el tipo de componente fenólico. Ya que las muestras de aguas pueden contener varios tipos de componentes fenólicos, los resultados del ensayo pueden ser expresados como la concentración equivalente de fenol.

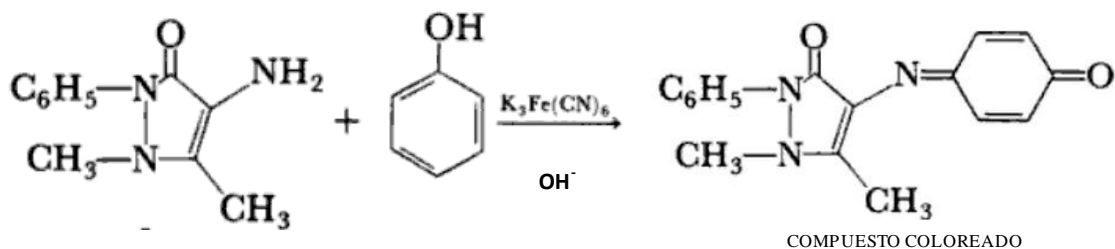


Figura 25. Reacción química del método de la 4-Aminoantipirina

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, sensibilidad, reactividad y la longitud de onda del máximo de absorción; dependen de factores tales como el pH, temperatura, disolvente, reactivo diazoado usado, naturaleza y posición de los sustituyentes en el anillo aromático.

2.5.1 Limitaciones de la determinación. Este método es insensible a aquellos fenoles sustituidos en la posición *para* del anillo aromático por tener desactivada la posición tanto para las reacciones de copulación, como para las de condensación.

2.5.1.1 Interferencias. Los agentes oxidantes y reductores así como los sulfuros o materia suspendida, pueden interferir provocando resultados erróneos.

2.6 Determinación cuantitativa de Detergentes Aniónicos

Los métodos de determinación de detergentes aniónicos tienen su origen en la formación de complejos extraíbles por un disolvente orgánico. El procedimiento consiste en agregar solución de cristal violeta (compuesto catiónico) a la muestra para que forme un ion complejo con la molécula polar de los detergentes aniónicos. La sal se extrae con benceno y la intensidad de color se mide con el espectrofotómetro a 605nm. [41]

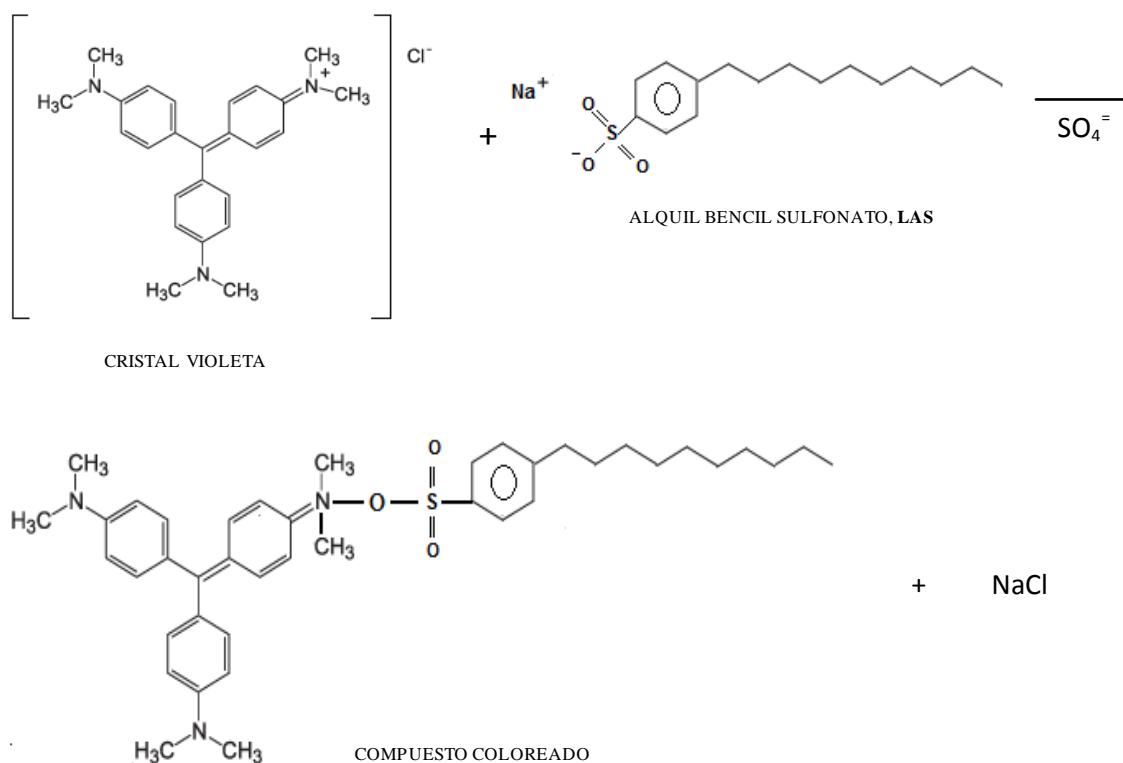


Figura 26. Reacción química del LAS con el cristal violeta

2.6.1 Limitaciones de la determinación. La degradación bacteriana comienza en la cadena hidrofóbica del detergente, por el cual, en productos biodegradables, si dichas cadenas poseen menos de 8 carbonos, la reacción con el colorante no se manifiesta.

2.6.1.1 Interferencias. Para este método los cloruros en concentraciones superiores a 20.000 mg/l así como los iones perclorato y peryodato presentes pueden interferir y dar errores.

2.7 Determinación cuantitativa de Sólidos Totales Disueltos

Las determinaciones fundadas en procedimientos de volatilización pueden ser de dos tipos; métodos directos e indirectos. Los métodos indirectos consisten principalmente en la medida de una pérdida de peso, el constituyente buscado queda en el residuo; como sucede en la determinación de sólidos no volátiles en el agua por evaporación de la misma y pesada del residuo.

2.7.1 Método gravimétrico. La técnica gravimétrica para la determinación de Sólidos Totales Disueltos, se basa en la evaporación de un volumen conocido de muestra a 180°C. Los residuos secados a esta temperatura pierden casi toda el agua ocluida, pero puede permanecer poca agua de cristalización, especialmente si hay sulfatos. La materia orgánica es reducida por volatilización, pero no es completamente destruida. Los bicarbonatos son convertidos a carbonatos y los carbonatos pueden ser descompuestos parcialmente a óxidos o a sales básicas. Algunos cloruros y sales nitradas pueden perderse. [42]

Tabla 12. Reacciones producidas durante el secado de la muestra a 180°C

IONES	REACCIONES
BICARBONATOS	$2\text{HCO}_3^- \xrightarrow{\text{calor}} \text{CO}_3^{=} + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
CARBONATOS	$\text{Ca}^{++} + \text{CO}_3^{=} \xrightarrow{\text{calor}} \text{CaO}_{(s)} + \text{CO}_{2(g)}$
SULFATOS	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{calor}} \text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$

Continuación Tabla 12

NITRATOS	$2\text{KNO}_3 \xrightarrow{\text{agua}} 2\text{K}^+ + 2\text{NO}_3^- \xrightarrow{\text{calor}} 2\text{KNO}_2(\text{s}) + \text{O}_2(\text{g})$ $2\text{NaNO}_3 \xrightarrow{\text{agua}} 2\text{Na}^+ + 2\text{NO}_3^- \xrightarrow{\text{calor}} 2\text{NaNO}_2(\text{s}) + \text{O}_2(\text{g})$
----------	--

Fuente: Facultad de Ciencias Médicas. *Reacciones Químicas* [en línea]. Portal Químico. 2005 [Fecha de consulta: 17 Febrero 2012]. Disponible en: <http://medicina.usac.edu.gt/quimica/reacciones/Reacciones_Qu_micas.htm#Reacciones_de_de_scomposici_n.htm>.

2.7.1.1 Limitaciones del procedimiento. La determinación a una temperatura diferente tiene su importancia, ya que varían mucho los resultados encontrados debido a que por efecto de la temperatura se producen modificaciones en la composición química de las sustancias que constituyen el residuo seco.

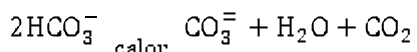
2.7.2 Método instrumental. El método directo para la determinación de conductividad electrolítica se basa en la propiedad que adquiere el agua de conducir la corriente eléctrica cuando tiene iones disueltos.

El principio de medición consiste en medir la intensidad de la corriente eléctrica recogida en los extremos de dos electrodos de forma conocida, introducidos en el agua y sometidos a una diferencia de potencial constante. Cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, su concentración total, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia así como en la temperatura, implica un cambio en la conductividad, y por ello el valor de la conductividad es solamente usado en el análisis de aguas para obtener un estimativo rápido del contenido de sólidos disueltos.

2.8 Determinación cuantitativa de Sólidos Totales en Suspensión

2.8.1 Método gravimétrico. Son determinados por filtración a través de un filtro de fibra de vidrio, previamente pesado. El filtro con su contenido se seca de 103 a 105°C; el incremento de peso, sobre el peso inicial, representa el contenido de sólidos totales en suspensión.

Los residuos secados a 103-105°C pueden retener no sólo el agua de cristalización, sino también algo de agua ocluida. Hay pérdida de dióxido de carbono por la conversión de bicarbonato a carbonato. La pérdida de materia orgánica por volatilización es muy poca a esta temperatura. Debido a que la expulsión del agua ocluida es marginal a 105°C, el logro de peso constante puede ser muy bajo. [43]



2.8.2 Método fotométrico. La dispersión de radiación es un fenómeno fisicoquímico; que se produce al incidir una radiación sobre una superficie y ser dispersa en diferentes direcciones debido a la difracción y reflexión de la radiación por la distribución y orientación de las moléculas sobre las cuales incide. [44]

La turbidimetría y la nefelometría son técnicas analíticas basadas en la dispersión de la luz por partículas en suspensión en el seno de una disolución. Como consecuencia de la interacción entre la radiación y las partículas, la radiación incidente induce un dipolo eléctrico oscilante, que actúa como una nueva fuente emisora de radiación. La intensidad de radiación que se presenta en cualquier ángulo depende del número de partículas, de su tamaño y forma, de los índices de refracción relativos de las partículas y del medio y de la longitud de onda de la radiación incidente.

Si la dispersión es lo suficientemente grande como para originar una disminución apreciable en la intensidad de la radiación incidente, puede observarse el rayo transmitido en el mismo sentido que el incidente, denominándose turbidimetría a la correspondiente técnica analítica. El modo de operar es esencialmente análogo al espectrofotométrico.

3. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN MÉTODO ANALÍTICO

3.1 Método de análisis

Un método de análisis se considera como una guía de operaciones a llevar a cabo, mientras que un procedimiento analítico constituye más bien “el modo” de hacerlo. Los métodos de análisis se clasifican según la normalización y estado de desarrollo del método, en:

3.1.1 *Métodos estándar o normalizados.* Son aquellos publicados por organizaciones internacionales, regionales o nacionales; por organizaciones técnicas respetables; referencias legales y que se ejecutan tal como se describen en la norma.

Se prefiere usar los métodos estándar, sin embargo es necesaria la verificación de la capacidad analítica dentro de los laboratorios en los cuales es usado. Aquellos métodos especificados por fabricantes de equipos de análisis también son considerados como métodos estándar.

3.1.2 *Métodos desarrollados por el laboratorio.* En ocasiones cada laboratorio elabora sus propios métodos, esto puede deberse a que el análisis es muy específico. El laboratorio, por consiguiente, debe evaluar la capacidad de los analistas, equipos y otros recursos relacionados con el método en cuestión. Los métodos deben estar debidamente validados, documentados y autorizados para su uso. [45]

3.2 Método de análisis cuantitativo

Un análisis típico cuantitativo comprende una secuencia de etapas que se muestran en el siguiente diagrama de flujo. En ciertos casos, se pueden omitir una o varias de estas etapas

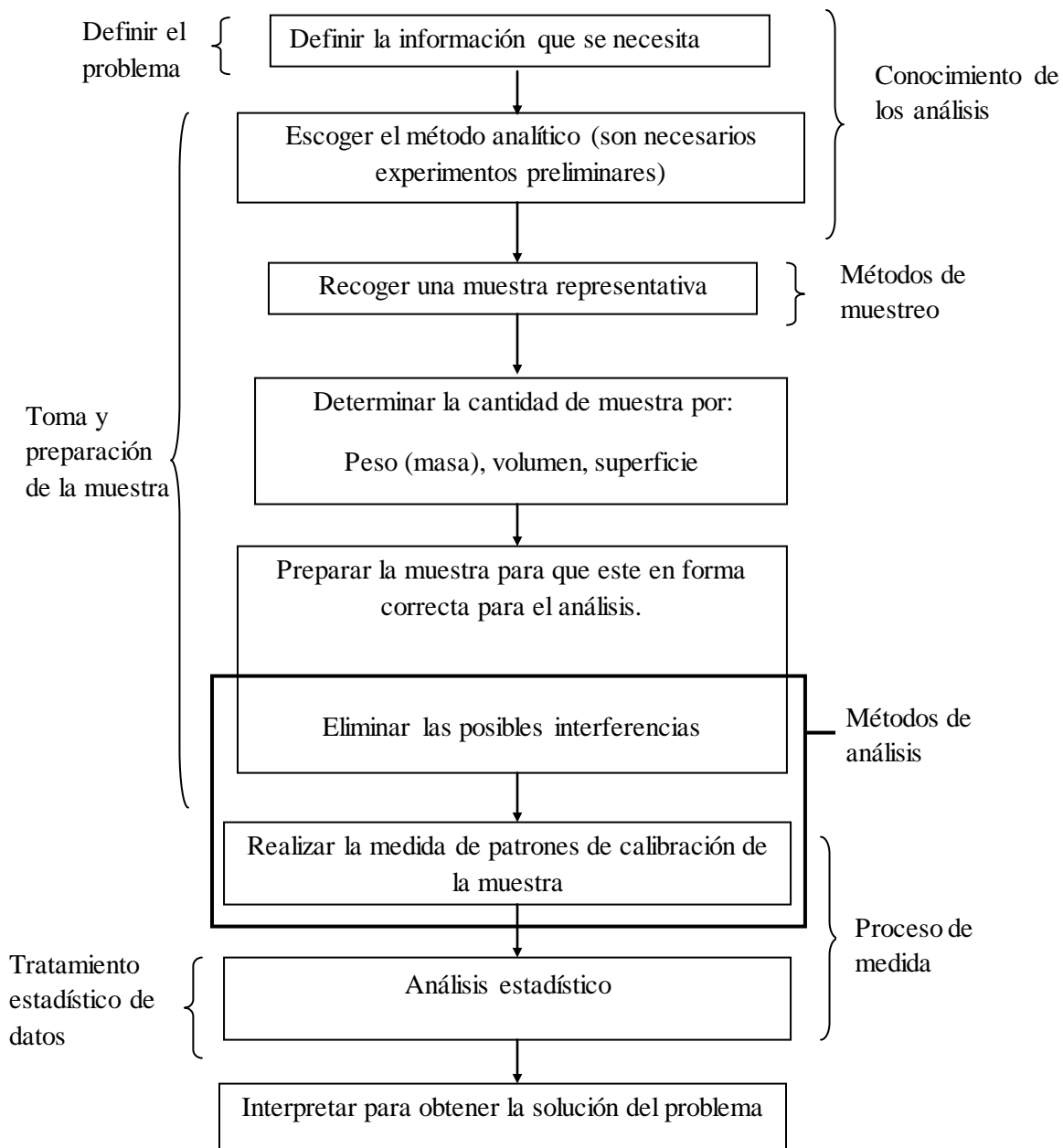


Figura 27. Diagrama de flujo de un análisis cuantitativo

3.2.1 Definición del problema analítico. La selección del método de análisis constituye una etapa crucial en la resolución de un problema analítico. En esta etapa se debe decidir el diseño y planificación del proceso analítico más adecuado para alcanzar los objetivos propuestos. El proceso analítico debe proyectarse en toda su extensión, es decir, diseñando todos y cada uno de los pasos que unen la muestra con la obtención de los resultados, puesto que todos afectan al resultado final.

3.2.2 Muestreo. Para que un análisis arroje información importante, debe efectuarse en una muestra que tenga una composición tal que sea representativa del lugar de donde se tomó. Cuando este es grande y heterogéneo, se requiere de un gran esfuerzo para obtener una muestra representativa. Con frecuencia, el muestreo es la etapa más difícil de un análisis y el que conduce a un mayor error. Los aspectos principales objeto de atención en la toma de muestras son:

3.2.2.1 Parámetros de estudio. Serán enumerados los parámetros físico-químicos, microbiológicos y toxicológicos objeto de estudio. Por otra parte, se establecerá cuáles de ellos serán determinados *in situ* y cuales en laboratorio, en función de los objetivos del estudio y las posibilidades técnicas en cada caso.

3.2.2.2 Tipo de muestras a recoger. Según los objetivos del estudio y los recursos con que se cuenta se pueden recoger y analizar muestras únicas (sencillas); muestras formadas por diferentes submuestras tomadas en un mismo punto en diferentes momentos, (muestras compuestas); muestras tomadas en diferentes puntos en un mismo momento, (muestras integradas).

3.2.2.3 Volumen de la muestra. Es esencial, en esta fase previa, la definición de la cantidad de muestra de agua a recoger. Esta debe ser suficiente para llevar a cabo todos los análisis y ensayos previstos y realización de repeticiones en caso necesario.

3.2.2.4 Conservación de la muestra. Diversos parámetros varían con el tiempo, por lo que si no pueden evaluarse *in situ*, deben preservarse mediante aditivos. Los aditivos varían según el compuesto específico a determinar por lo que puede ser necesario tomar varias muestras. La temperatura, el pH y los gases deben determinarse inmediatamente en el lugar de muestreo. El tiempo transcurrido entre el muestreo y el análisis ha de ser el mínimo posible.

Un método general de conservación es mantener la muestra a 4°C en la oscuridad. La tabla 13 recoge el tiempo máximo que debe transcurrir entre la toma de muestra y el análisis, así como el método de conservación para diversos compuestos. [46]

Tabla 13. Almacenamiento y conservación de muestra para la realización de diferentes análisis

DETERMINACION	CONSERVACION	TIEMPO MAXIMO
acidez-alcalinidad	Refrigeración a 4°C	24 horas
Amonio	Refrigeración a 4°C o H ₂ SO ₄ (pH=2)	24 horas
Carbón orgánico total	Refrigeración a 4°C o H ₂ SO ₄ (pH=2)	24 horas
Cianuros	Refrigeración a 4°C o NaOH (pH=12)	24 horas
Cloro		Inmediato
Cloruros		7 días
Color	Refrigeración a 4°C	24 horas
Conductividad	Refrigeración a 4°C	24 horas
DBO	Refrigeración a 4°C	6 horas
DQO	H ₂ SO ₄ (pH<2)	Lo antes posible
Detergentes	20mg/l HgCl ₂	24 horas
Dióxido de carbono		Inmediato
Fenoles	H ₃ PO ₄ (pH < 4 1g/L CuSO ₄)	24 horas
Fluoruros		7 días
Fosfatos disueltos	Filtrar in situ y refrigeración a 4°C	24 horas
Fosforo total	Refrigeración a 4°C o H ₂ SO ₄ (pH<2)	7 días
Grasas y aceites	Refrigeración a 4°C y H ₂ SO ₄ (pH<2)	24 horas
Metales	HNO ₃ (pH <2)	6 meses
Nitratos	Refrigeración a 4°C o H ₂ SO ₄ (pH<2)	24 horas
Nitritos	Refrigeración a 4°C y H ₂ SO ₄ (pH<2)	24 horas
Olor	Refrigeración a 4°C	Lo antes posible
Oxígeno disuelto		Inmediato
Ozono		Inmediato
pH		Inmediato
Residuos	Refrigeración a 4°C	7 días
Sabor		Inmediato
Sílice	Refrigeración a 4°C	7 días
Sulfatos	Refrigeración a 4°C	7 días
sulfuros	2 ml de acetato de Zinc 2N	24 horas
Temperatura		Inmediato
Turbidez	Refrigeración a 4°C	Lo antes posible

Fuente: RODRÍGUEZ, Luis. *Análisis de Aguas* [en línea]. Cartagena: Universidad Politécnica de Cartagena. 2008 [Fecha de consulta: 7 Mayo 2012]. Disponible en: <http://www.upct.es/~minaees/analisis_aguas.pdf>.

3.2.3 Preparación de la muestra. Es la etapa que implica someter a la muestra a procesos físicos y químicos con el fin de prepararla para el análisis.

Pocas técnicas para mediciones utilizadas en el análisis químico son específicas para una sola especie química; como consecuencia una parte importante de la mayoría de los análisis se relaciona con especies extrañas que pueden atenuar la señal del analito. Una sustancia que afecta una señal analítica se dice que es una interferencia o un interferente. A continuación se resumen todas aquellas herramientas que se encaminan a la preparación previa de la muestra.

Tabla 14. Operaciones previas de preparación de la muestra

ESTADO FISICO DE LA MUESTRA	TRATAMIENTO
Solido	Trituración Tamización Mineralización Lixiviación Extracción con disolventes
Liquida	Filtración Centrifugación Destilación Diálisis Eliminación de materia orgánica Cambio iónico Evaporación del disolvente Extracción liquido-liquido Extracción liquido-solido
Gas	Destilación Adsorción Desorción

Fuente: CÁMARA, Carmen. Toma y tratamiento de muestras. Editorial Síntesis, Madrid, 2004. p. 39.

3.2.4 Medición de una propiedad física del analito. Para finalizar el proceso analítico debemos aplicar el método seleccionado y previamente calibrado a la muestra problema. Como se ha indicado, el método se basara en la medida de una propiedad física del analito; la propiedad depende de la naturaleza del método.

El laboratorio que utiliza un método es responsable de asegurar que el método esté validado adecuadamente y, si es necesario, de llevar a cabo trabajo adicional para complementar los datos

ya existentes. Cuando un método ha sido validado por una organización de aprobación de normas, por lo general, el usuario necesitará únicamente establecer los datos de desempeño del método para su propio uso.

3.3 Norma internacional ISO/IEC 17025

La norma internacional ISO/IEC 17025: “Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, contiene todos los requisitos que los laboratorios de calibración y de ensayo deben cumplir en caso de que deseen demostrar que operan un sistema de gestión de calidad, tengan competencia técnica y sean capaces de generar resultados técnicamente válidos.

En esta norma internacional se especifican los requisitos generales de la competencia de llevar realizando calibraciones y/o ensayos incluyendo toma de muestras. La norma se refiere a calibración y ensayo utilizando métodos normalizados, no normalizados y métodos desarrollados en el laboratorio.

Además se aplica a todos los organismos que efectúan calibraciones y/o ensayos. Eso incluye, por ejemplo, laboratorios de primera, segunda o tercera generación e igualmente laboratorios en los cuales la calibración y/o ensayo forma parte de la inspección o de la verificación de productos.

El uso de esta norma facilita la cooperación entre los laboratorios y otros organismos y ayudará al intercambio de información y experiencia, así como a la armonización de normas y procedimientos.

3.4 Validación

La validación de un método analítico es el proceso que permite demostrar que los resultados producidos por el mismo son fiables y repetibles, y que el método es adecuado para su respectiva aplicación en el laboratorio.

Además implica la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

E ahí la importancia de una adecuada validación, ya que establece bajo qué circunstancias debe realizarse un análisis asegurando que los datos obtenidos cumplen en la totalidad la calidad deseada, brindando seguridad y respaldo. Además, proporciona criterios para el rechazo o reanálisis de lecturas anómalas. La validación se encuentra dentro de un proceso de mejoramiento de la calidad de los laboratorios, y hace parte de un ciclo que es renovado con cada modificación que se realiza a los métodos.

Este procedimiento es de aplicación, al menos, a los métodos no normalizados puestos a punto por primera vez en el laboratorio y a los métodos normalizados a los que se haya incorporado alguna modificación o mejora significativa, que pueda afectar su validación.

Se utilizará la sistemática descrita en este procedimiento para la verificación del cumplimiento de los requisitos analíticos aplicables de los parámetros que proceda. Los puntos relevantes dentro del proceso de validación son los siguientes:

3.4.1 *Requerimiento analítico.* Se deben tener en cuenta los requerimientos analíticos que debe afrontar el laboratorio para evaluar o medir cierta propiedad en una muestra. Este debe estar de acuerdo tanto con la necesidad del cliente como con los recursos disponibles.

Por esto inicialmente, los laboratorios deben realizar una investigación de los métodos normalizados existentes, y, si es necesario, desarrollar un nuevo método. Para poder seleccionar correctamente un método analítico, es esencial definir con claridad la naturaleza del problema analítico.

3.4.1.1 *Requerimientos analíticos y características de rendimiento relacionadas.* En la validación de un método no es necesaria la evaluación de todas las características de rendimiento, esto depende de la documentación y bibliografía existente, y de las necesidades como tal del laboratorio. A continuación, se exponen los criterios a tener en cuenta para elegir que características son necesarias a evaluar. [47]

Tabla 15. Parámetros de desempeño a evaluar según el nivel de normalización del método

Tipo de método	A comprobar	Determinar	Control
Método normalizado	<ul style="list-style-type: none"> - Exactitud - Repetibilidad - Incertidumbre - Límite de detección (si la norma lo indica) 	<ul style="list-style-type: none"> - Rango - Linealidad - Recuperación - Robustez - Selectividad - Estabilidad(resistencia) - Reproducibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> - Realizar protocolo de control de calidad - Controles intralaboratorio - Participar de interlaboratorios
Modificación de un método normalizado	<ul style="list-style-type: none"> - Exactitud. - Repetibilidad. -Reproducibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> - Rango - Linealidad - Recuperación - Robustez - Selectividad -Estabilidad (resistencia) - Reproducibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> - Realizar protocolo de control de calidad - Controles intralaboratorio. - Participar de interlaboratorios

Fuente: BEDOYA Lora, Franky. Homologación de métodos de análisis fisicoquímicos empleados en Postobón S.A. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de grados Brix. Informe de práctica profesional. Ingeniero Químico. Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Medellín. 2009. p. 19.

3.4.2 Puesta a punto. Es una actividad previa a la validación que debe realizar el laboratorio para llegar a tener un conocimiento general del método. Con esta actividad se consigue que el mismo “funcione” produciendo unas respuestas razonablemente aceptables y consistentes. Para ello, es necesario “afinar” el proceso del método en todos sus apartados, prestando una especial consideración a los diversos parámetros instrumentales de aplicación. [48]

3.4.3 Selección de parámetros de desempeño. Los parámetros de desempeño son características de validación que necesitan ser evaluadas y que definen el rendimiento de un método; típicamente corresponden a la siguiente lista: exactitud, precisión, especificidad, límite de Detección, límite de Cuantificación, intervalo de linealidad y robustez.

Los parámetros que es preciso determinar difieren según el alcance del método de ensayo a validar.

En la tabla 16 se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo. [49]

Tabla 16. Parámetros de desempeño según el tipo de método de ensayo

TIPO DE ENSAYO	PARÁMETRO
Identificación	Selectividad / Especificidad
Determinación cualitativa	Selectividad / Especificidad Límite de detección
Determinación cuantitativa de un componente	Intervalo de trabajo Linealidad / Función respuesta Selectividad / Especificidad Precisión Exactitud Límite de cuantificación Incertidumbre

Fuente: CURSO de Validación de métodos de ensayo (1º, 2010, Quito, Ecuador). Validación y Cálculo de incertidumbre de métodos de ensayo. ASECAL Internacional. Quito, 2010. p 6.

Los parámetros recomendados para la validación de un método de ensayo que incluye mediciones instrumentales y gravimétricas son los que se enlistan en la siguiente tabla:

Tabla 17. Parametros de desempeño para metodos instrumentales y gravimétricos

PARÁMETRO	M. INSTRUMENTALES		M. GRAVIMÉTRICOS	
	VALIDACION COMPLETA	VALIDACION PARCIAL	VALIDACION COMPLETA	VALIDACION PARCIAL
Recuperación	√	√	√	√
Sensibilidad	√			
Selectividad	√		√	
robustez	√		√	
Limite de detección	√	√		
Limite de cuantificación	√	√	√	√
Intervalo lineal y de trabajo	√	√	√	√
Reproducibilidad	√	√	√	√
Repetibilidad	√	√	√	√
sesgo	√	√	√	√
incertidumbre	√	√	√	√

Fuente: CONGRESO Nacional de Validación (2º, 2008, México, México D.F). Validación de Métodos de medición. Universidad Autónoma de México. México, 2008. p. 12.

3.4.3.1 Linealidad. Para los casos donde los resultados están en función de absorbancia y concentración, se interpreta la linealidad como la capacidad del método para obtener resultados de los análisis proporcionales a la concentración del analito, en un determinado rango. El extremo superior de este rango de concentración, es el valor hasta donde llega la respuesta lineal. En el extremo inferior del intervalo de concentración, el factor limitante para cualquier caso, es el valor del límite de cuantificación.

La linealidad se determina obteniendo las mediciones del procedimiento analítico de una serie de soluciones estándar de concentraciones diferentes. Se grafica la respuesta de la medición contra la concentración del estándar, y se calcula la línea de regresión o curva de calibración.

$$y = mx + b \quad (8)$$

Donde:

y: respuesta de la medición

x: concentración del analito

m : pendiente

b: intercepto

Si el coeficiente de determinación mínimo (r^2) no está especificado, un valor igual o mayor a 0.995 es recomendado.

Si los resultados están dados solo en valores de concentración, como en el caso de los métodos gravimétricos; no se genera linealidad, puesto que los resultados están en función de una sola variable. Por consiguiente, el extremo superior del rango de trabajo será el valor del estándar de mayor concentración del analito.

3.4.3.2 Límite de detección. Se define como la menor concentración de un analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, a un dado nivel de confianza (generalmente 95%), aplicando un determinado método de análisis. Es comúnmente expresado como concentración del analito.

Para una apropiada validación y selección de un procedimiento o método analítico, es importante tener la información del menor límite al cual el analito puede ser detectado o determinado con suficiente confianza.

La Guía Eurachem indica que normalmente, para propósitos de validación es suficiente proporcionar un indicativo del nivel al cual la detección resulta problemática. De esta forma el valor $X_{(LOD)}$ está dado por la siguiente ecuación:

$$X_{(LOD)} = X_{(B)} + 3S_{(B)} \quad (9)$$

Donde:

$X_{(B)}$: es el promedio de las mediciones de los blancos

$S_{(B)}$: es la desviación estándar de las mediciones de los blancos.

Mediante interpolación de la ecuación de regresión, se calcula el valor del Límite de Detección en valores de concentración (mg/l) de la siguiente manera:

$$LOD_{conc.} = \frac{X_{LOD} - b}{m} \quad (10)$$

Donde:

X_{LOD} : limite de detección en valores de absorbancia.

b : intercepto con el eje

m : pendiente de la ecuación de regresión.

3.4.3.3 Límite de cuantificación. Es un parámetro que nos informa acerca de la menor cantidad de analito que puede ser determinada, en una muestra con un nivel de incertidumbre aceptable, a un dado nivel de confianza (generalmente 95%). Se expresa como concentración del analito.

Donde k es un factor numérico elegido de acuerdo al nivel de confianza deseado. Por lo tanto el valor $X_{(LOQ)}$ está dado por la siguiente ecuación:

$$X_{(LOQ)} = X_{(B)} + 5S_{(B)} \quad (11)$$

Donde:

$X_{(B)}$: es el promedio de las mediciones de los blancos

$S_{(B)}$: es la desviación estándar de las mediciones de los blancos.

Mediante interpolación de la ecuación de regresión, se calculó el valor del Límite de Cuantificación en valores de concentración (mg/l) con la ecuación (10).

3.4.3.4 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”.

- **Veracidad.** 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 veracidad se constituye en una medida de error sistemático.

Adicionalmente, una expresión cada vez más común de exactitud es la “incertidumbre de medición”.

- **Sesgo.** Es la medida cuantitativa de la veracidad, y es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. Como pueden existir uno o más componentes del error sistemático que contribuyen al sesgo, una mayor diferencia sistemática con respecto al valor de referencia aceptado se refleja en un valor de sesgo mayor.

3.4.3.5 Precisión. Es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto a los otros y por lo general se expresa mediante medidas tales como la desviación estándar la cual describe la dispersión de los resultados. La precisión constituye una medida de error aleatorio. La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o “valor de referencia”. Puede considerarse a tres niveles:

- **Repetibilidad.** Es la cercanía entre sí de las medidas obtenidas con el mismo método, sobre idéntico material o muestra, en las mismas condiciones (operador, laboratorio, instrumentación.) y en un intervalo de tiempo pequeño, y puede medirse solamente dentro del laboratorio.
- **Precisión Intermedia.** Precisión obtenida dentro del laboratorio por diferentes analistas, diferentes equipos, días distintos con la misma muestra homogénea.
- **Reproducibilidad.** Es la cercanía entre sí de las medidas obtenidas por el mismo método sobre idéntico material, bajo condiciones diferentes, y sólo puede medirse en estudios interlaboratoriales.

Usualmente, las medidas cuantitativas de la precisión son la desviación estándar o la desviación estándar relativa.

Tabla 18. Parámetros de calidad para la precisión de métodos analíticos

Términos	Definición
Desviación estándar absoluta, S	$s = \frac{\sum_{j=1}^N (x_j - \bar{x})^2}{N - 1}$
Desviación estándar relativa (RSD)	$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$
Desviación estándar de la media, S _m	$S_m = \frac{s}{\bar{N}}$
Coefficiente de variación, CV	$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100$
Varianza	s^2

Fuente: SKOOG, Douglas y HOLLER, James. Principios de análisis instrumental. Quinta edición, Editorial Mc Graw Hill, Madrid, 2001. p. 243.

La precisión se estima haciendo un análisis de varianza ANOVA, con los resultados obtenidos luego del procesamiento de las muestras.

3.4.3.6 Especificidad. Habilidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se puede esperar que estén presentes. Típicamente éstos pueden incluir impurezas, productos de degradación, la matriz, etc.

3.4.3.7 Selectividad. Describe la habilidad de un procedimiento analítico para diferenciar entre varias sustancias en la muestra y es aplicable a métodos en los que dos o más componentes son separados y cuantificados en una matriz compleja.

3.4.3.8 Robustez. Se define la robustez como la habilidad de un procedimiento analítico para tolerar pequeñas variaciones de las condiciones del procedimiento, especialmente en variables como: volumen, temperatura, concentración, pH, tiempo de extracción y configuración del instrumento analítico. Generalmente la robustez es usada para estudiar el efecto de ciertas variables sobre la precisión y/o exactitud.

3.4.4 Fijación de objetivos. Como se dice en la norma 17025, los requisitos que deben cumplir los métodos (de sus parámetros de validación) deben ser especificados previamente a la validación. Estos requisitos establecidos “a priori” son los objetivos de validación.

En algunos casos, la fijación de estos objetivos está establecida por la propia demanda que ha originado la necesidad analítica. En otros casos no se dispone de requisitos “de obligado cumplimiento” y resulta más complicado establecer objetivos de validación. En estos casos, la fuente de información debe ser, además de las diferentes referencias bibliográficas, la propia experiencia adquirida en la puesta a punto del método.

3.4.5 Diseño experimental y estadístico. Se establece el diseño experimental que se va a seguir en la validación, así como el tratamiento estadístico que se va a realizar a los datos experimentales que se obtengan.

3.4.6 Procesamiento de muestras y tratamiento estadístico. El procesamiento de todas las submuestras previstas cada día, de acuerdo con el diseño experimental, se realizará en condiciones de repetibilidad y siguiendo el método completo.

Los datos, debidamente organizados y procesados según el diseño estadístico nos permiten seguir el árbol de decisión, para, si se cumplen los objetivos previamente definidos, pasar al siguiente apartado, o, en caso contrario, resolver las causas del incumplimiento.

3.4.7 Elaboración de la documentación. Terminado el trabajo experimental y estadístico se procede a la elaboración de la documentación pertinente.

3.4.8 Declaración de método validado. Si los objetivos predefinidos se han cumplido, se procede a aprobar el procedimiento y a declarar el método validado.

3.4.9 Difusión, distribución. La documentación obtenida se difunde y distribuye al personal inherente al método validado. [50]

3.5 Incertidumbre de medida

Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Así, el

desempeño del método debe validarse y debe estimarse la incertidumbre del resultado a un nivel de confianza dado. La incertidumbre debe ser evaluada y establecida de una forma que sea ampliamente reconocida, consistente de forma interna y fácil de interpretar. La mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método.

3.5.1 Incertidumbre. Es el parámetro asociado con el resultado de una medida que caracteriza la dispersión de los valores que se pueden atribuir razonablemente al mesurando.

Según el VIM (Vocabulario Internacional de Metrología), el mesurando, es “la magnitud sujeta a medida”. Por tanto se refiere al analito o a la propiedad fisicoquímica que se va a determinar. Sin embargo, el mesurando debe interpretarse correctamente para considerar todas las fuentes de incertidumbre.

3.5.2 Estimación de la incertidumbre. Su estimación por procedimientos adecuados toma en cuenta todos los efectos reconocidos que afectan el resultado. Para la estimación de la incertidumbre de un método se debe tomar en cuenta la precisión general de largo plazo, el sesgo, la incertidumbre del material de referencia, la incertidumbre de calibración, y cualquier otro efecto significativo, como pueden ser la temperatura o tiempo de análisis, si aplican. Para llevar a cabo su determinación hay que seguir los siguientes pasos:

3.5.2.1 Especificar el mesurando. Para realizar una estimación de incertidumbre de medida lo primero que hay que hacer es modelar el *mensurando*, es decir, identificarlo y expresar matemáticamente la relación existente entre la magnitud que se desea medir (magnitud de salida Y) y todas las magnitudes de entrada X_i (se deben incluir, al menos aquellas que se miden directamente y a partir de las cuales se calcula el resultado final). [51]

Este paso pudiera ser el más difícil de todos, ya que no es simple encontrar un modelo que represente adecuadamente lo que queremos determinar, entre mejor representado sea, un mejor estimado se podrá obtener.

En algunos casos la magnitud que se desea medir se obtiene directamente mediante un patrón o un instrumento (medida directa):

$$Y = f(X) \quad (12)$$

En otros, la magnitud de salida no se mide directamente, sino que se determina a partir de otras magnitudes, mediante una relación funcional:

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N) \quad (13)$$

3.5.2.2 Identificar las fuentes de incertidumbre. En la práctica la incertidumbre puede ser el resultado de varias fuentes, como por ejemplo interferencias, muestreo, condiciones de almacenamiento, efectos instrumentales, pureza de los reactivos, condiciones ambientales, incertidumbre en el peso y volumen de reactivos, aproximaciones y suposiciones incorporadas al método de análisis y a procedimientos, y variaciones aleatorias.

- **Componentes de la Incertidumbre.** En la estimación de la incertidumbre puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarla por separado para obtenerla contribución de esa fuente. Cada una de estas contribuciones a la incertidumbre, se entiende como un componente de la incertidumbre. Este componente está expresado como una desviación estándar.

3.5.2.3 Cuantificar los componentes de la incertidumbre. Cada componente de la incertidumbre se representan con la letra u minúscula y un subíndice que hace referencia a la fuente de incertidumbre, u_{xi} .

Se debe establecer tan detalladamente como sea posible las causas o fuentes de incertidumbre que afectan a cada x_i . Normalmente se determinan muchas fuentes de incertidumbre las cuales se pueden agrupar en dos categorías en función del método utilizado para estimar su valor numérico:

a) Las componentes de tipo A. Son estimadas aplicando métodos estadísticos, para lo cual:

- Se realizan una serie de n medidas de la magnitud de entrada que estamos analizando, identificada como Q bajo las mismas condiciones, obteniéndose q_k valores.
- Se calcula la media aritmética, q como mejor estimador del valor verdadero de la magnitud Q .
- Se calcula la desviación estándar experimental (s) que viene dada por la siguiente expresión:

$$s(q) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (q_k - \bar{q})^2}{n-1}} \quad (14)$$

- La incertidumbre asociada a esta estimación es:

$$u_A(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} \quad (15)$$

Si el número de mediciones n es pequeño ($n < 10$), la evaluación de tipo A expresada por la ecuación anterior puede no ser fiable. Si no se puede aumentar el número de observaciones deberían calcularse los grados efectivos de libertad.

En ocasiones, cuando la medición está correctamente caracterizada y bajo control estadístico es posible que se disponga de una estimación de la desviación típica fiable (por ejemplo repetibilidad, s_r). En este caso, si el valor de la magnitud de entrada se calcula como la media aritmética de un número pequeño de observaciones (m), la incertidumbre asociada se puede calcular:

$$u(\bar{q}) = \frac{s_r}{\sqrt{m}} \quad (16)$$

b) Las componentes de tipo B. Son estimadas por otros medios, su evaluación se basa en distribuciones supuestas a priori. Estos otros medios pueden ser:

- datos de mediciones anteriores
- experiencia con el conocimiento general de las características, el comportamiento y las propiedades de los instrumentos
- especificaciones de los fabricantes
- datos obtenidos de los certificados de calibración o de otro tipo de certificados
- incertidumbres asociadas a datos de referencia tomados de manuales

Lo que hay que conocer es la distribución estadística que siguen estas distribuciones y para ello se pueden plantear los siguientes casos:

- **Distribución normal.** Los resultados de una medición repetida afectada por magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen en buena aproximación una distribución normal. En la Tabla 19 se resumen las características de la distribución normal.

Tabla 19. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución normal

Usar cuando:	Incertidumbre
Se estima u a partir de observaciones repetidas de un proceso aleatorio.	$u(x) = x$
Una incertidumbre se da bajo la forma de desviación estándar, desviación estándar relativa o coeficiente de variación $\%CV$, sin especificar la distribución.	$u(x) = x$ $u(x) = x \cdot (s/x)$ $u(x) = (\%CV/100)x$
Una incertidumbre está dada en la forma de $x \pm c$ con un intervalo de confianza del 95% (u otro) sin especificar la distribución.	$u(x) = c/2$ (para c al 95%) $u(x) = c/3$ (para c al 99,7%)

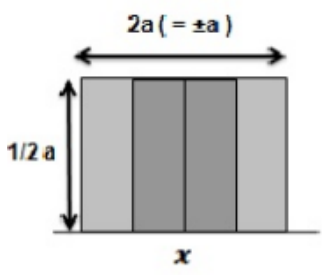
Fuente: VALAREZO, María. Implementación de un sistema de validación de métodos fisicoquímicos. Trabajo de Grado. Ingeniera Química. Universidad Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito. 2009. p. 32.

En particular, la distribución de la media de una serie de mediciones repetidas se aproxima a una normal independientemente de la distribución de las lecturas individuales. También la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal [52]

- **Distribución rectangular.** En una distribución rectangular cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, o sea la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo. Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica sobre tolerancias de un instrumento.

En general, cuando exclusivamente hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada, lo más conservador es suponer una distribución rectangular.

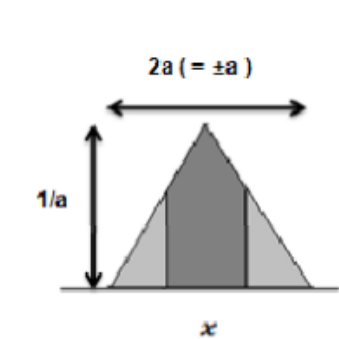
Tabla 20. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución rectangular

Representación	Usar cuando:	Incertidumbre
	<p>Un certificado da límites sin especificar el nivel de confianza.</p> <p>Una estimación se hace en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) sin conocimiento de la forma de la distribución.</p>	$u_{(x)} = \frac{a}{3}$

Fuente: VALAREZO, María. Implementación de un sistema de validación de métodos fisicoquímicos. Trabajo de Grado. Ingeniera Química. Universidad Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito. 2009. p. 33.

- **Distribución triangular.** Si además del conocimiento de los límites superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular. [53]

Tabla 21. Lineamientos para determinar la incertidumbre en el caso de una distribución triangular

Representación	Usar cuando:	Incertidumbre
	<p>La información disponible referente a x es menos limitada que para una distribución rectangular. Los valores cerca de x son más probables que cerca de los límites.</p> <p>Una estimación en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) descrito por una distribución simétrica.</p>	$u_{(x)} = \frac{a}{6}$

Fuente: VALAREZO, María. Implementación de un sistema de validación de métodos fisicoquímicos. Trabajo de Grado. Ingeniera Química. Universidad Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito. 2009. p. 34.

Es importante no contar dos veces las componentes de la incertidumbre. Y finalmente componer todas las contribuciones, tanto de Tipo A como de Tipo B, cuadráticamente:

$$u^2(y) = \sum c_i^2 \cdot u^2(x_i) \quad (17)$$

En el caso de que alguna de las magnitudes de entrada a su vez sea función de otras, se volvería a aplicar a esta el proceso anterior.

La incertidumbre típica $u(y)$, calculada puede no haber tenido en cuenta otro tipo de contribuciones que hay que añadir al final, con lo que la expresión de la incertidumbre total queda expresada de la siguiente manera:

$$u^2(y)_{\text{TOTAL}} = u^2(y) + \sum (\text{otras contribuciones}) \quad (18)$$

Estas otras contribuciones están asociadas directamente a la estimación de la magnitud de salida. En este caso, se deben revisar las contribuciones asociadas con las estimaciones de las magnitudes de entrada para no considerar dos veces la misma contribución.

3.5.2.4 Cálculo la incertidumbre estándar combinada. Es una estimación de la desviación estándar igual a la raíz cuadrada positiva del total de la varianza obtenida por la combinación de todos los componentes de la incertidumbre. Obtenida como resultado de la ley de propagación de las incertidumbres.

Si las magnitudes de entrada son independientes entre sí, la incertidumbre típica combinada se calcula según la siguiente expresión:

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i) \quad (19)$$

Siendo:

$c_i = \left[\frac{\partial y}{\partial x_i} \right]$ Coeficiente de sensibilidad, que describe cómo varía la estimación de la magnitud de salida, y , en función de las variaciones de las estimaciones de las magnitudes de entrada, x_i .

En el caso de medidas directas, $c_i = 1$

$u(x_i)$ es la incertidumbre típica asociada a cada una de las estimaciones de las magnitudes de entrada.

3.5.2.5 Cálculo de la incertidumbre expandida. La incertidumbre expandida provee un intervalo dentro del cual el valor del analito es dado con un alto nivel de confianza. La incertidumbre expandida se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor k . La elección del factor k es en el nivel de confianza deseado (para un nivel de confianza del 95%, k es igual a 2).

Este factor será, usualmente, $k=2$, si podemos atribuir al mensurando una distribución normal y la estimación de salida tiene la suficiente fiabilidad (se considera fiabilidad suficiente si la contribución a la incertidumbre a partir de una evaluación tipo A se ha obtenido con 10 o más observaciones).

Por tanto, la incertidumbre expandida se expresará:

$$U = k \times u(y)_{\text{TOTAL}} \quad (k = 2) \quad (20)$$

En el caso de que sobre alguna de las magnitudes de entrada no se haya realizado alguna corrección conocida (por ejemplo certificado de calibración), el valor de la incertidumbre final se calculará:

$$U = k \times u(y)_{\text{TOTAL}} + b_{\text{máx}} \quad (21)$$

Siendo $b_{\text{máx}}$ un límite máximo de la corrección no realizada sobre y . Se calcula según la siguiente expresión:

$$b_{\text{máx}} = |y_{\text{corregida}} - y| \quad (22)$$

$b_{\text{máx}}$ debe tener las mismas unidades que la estimación de la magnitud de salida y .

Se entiende por corrección, la cantidad que hay que sumar al valor obtenido, x_i , para obtener el valor convencionalmente verdadero.

$$b_{\text{máxima}} = X_{\text{patrón}} - X_{\text{lectura equipo}} \quad (23)$$

3.5.2.6 Expresión del resultado final. El resultado final de una medida se expresa por la estimación de la magnitud salida, y , con el intervalo de incertidumbre para un factor de cobertura, k , dado (usualmente $=2$ para una probabilidad de cobertura del 95%); mediante la expresión:

$$y \pm U \text{ (indicando siempre el valor } k) \quad (24)$$

3.6 Calidad

Los resultados generados por el laboratorio analítico son parte de la información que se considera hoy un aspecto clave. Nadie puede dudar de la trascendencia de la información químico-analítica. Es entonces un objetivo prioritario el que los análisis se efectúen de manera correcta y eficaz, lo que inmediatamente implica el concepto de calidad.

La ISO define la calidad como “La totalidad de los rasgos y características de un producto, proceso o servicio que inciden en su capacidad de satisfacer necesidades reguladas o implícitas”. [54]

Por una parte debe considerarse la calidad externa, referida a los productos o sistemas que son los objetivos del ente público o privado del cual depende el laboratorio. Este, como servicio, es imprescindible para evaluar la bondad de los productos elaborados, las características del sistema o para monitorizar los procesos productivos o correctivos.

En cuanto a la calidad interna del laboratorio, debe hacerse distinción entre la calidad del trabajo que se realiza y la calidad de los resultados que se generan. Esta última acepción se basa en la calidad de los procesos de determinación de los diferentes parámetros.

3.6.1 Intercomparación. Los ejercicios de intercomparación ayudan a los laboratorios a mejorar la calidad de sus servicios al incidir en los aspectos básicos de su competencia técnica como son sus recursos humanos, sus equipos y sus métodos de trabajo.

Proporcionan una valoración independiente de los datos del laboratorio, comparados con valores de referencia o con el desempeño de laboratorios similares, aportando a la dirección la confirmación de que los aspectos técnicos de sus servicios son satisfactorios o alertando sobre la necesidad de investigar problemas potenciales dentro del laboratorio.

Permite además probar el desempeño en nuevos ensayos o mediciones, en aquellas que se llevan a cabo con poca regularidad y comparar los resultados obtenidos utilizando métodos diferentes, ayudando así a seleccionar la metodología que mejor se adecúa a sus características y a las necesidades de sus clientes.

Esta herramienta tiene un *alto potencial* para los laboratorios, al permitirles, entre otros:

- Aportar resultados a los estudios de exactitud y cálculo de incertidumbre necesarios para realizar la correspondiente validación de los métodos.
- Verificar la calidad de los métodos de ensayo empleados.
- Detectar sesgos que pueden no detectarse con los programas de control de calidad intralaboratorio.
- Identificar los métodos de análisis que presentan menores sesgos en matrices complejas y conocer los sesgos asociados a las distintas técnicas
- Monitorizar la evolución de los métodos de ensayo a lo largo del tiempo.
- Comparar su "calidad técnica" con otros laboratorios.
- Identificar errores en el funcionamiento de sus equipos.
- Supervisar la formación, cualificación y competencia técnica de su personal. [55]

3.6.2 Tipos de Ensayos de Aptitud

- Programas de Comparación de Mediciones
- Programas de Ensayos Interlaboratorios
- Programas de Ensayos de Muestras Divididas
- Programas Cualitativos
- Programas de Valores Conocidos
- Programas de Procesos Parciales

3.6.2.1 Programas de Comparación de Mediciones. Los valores asignados al material de ensayo son proporcionados por un Laboratorio de Referencia, el cual podría ser la máxima autoridad de un país para la medición concerniente. Se caracterizan por:

- Un material de ensayo es distribuido secuencialmente a través de los laboratorios participantes para ser medido o calibrado.
- Estos programas a menudo son utilizados cuando el material de ensayo es único y el tiempo no es crucial.
- Este tipo de programas es comúnmente utilizado para comparar patrones de calibración.

Aspectos a tomar en cuenta:

- Instrucciones a los participantes
- Manejo del material de ensayo
- Homogeneidad de la muestra
- Estabilidad de la muestra
- Empacado y envío
- Informe de resultados
- Confidencialidad y colusión
- Análisis de los datos
- Estadística del desempeño
- Evaluación del desempeño
- Informes y comunicaciones

3.6.2.2 *Evaluación del Desempeño*

$$Z = \frac{(x - \bar{x})}{s} \quad (25)$$

Donde:

x = resultado del laboratorio participante

X = Valor Asignado

s = Desviación estándar del ensayo de aptitud

Z = estadístico que indica que tan lejos está una medida puntual de la desviación estándar.

Criterios de aceptación:

$|Z| \leq 2$ = Satisfactorio

$2 < |Z| < 3$ = Cuestionable

$|Z| \geq 3$ = No satisfactorio [56]

3.7 Acreditación

La acreditación de laboratorios es una manera de determinar la competencia técnica de los laboratorios para efectuar tipos específicos de ensayos o calibraciones. Al lograr la acreditación el laboratorio obtiene un reconocimiento formal de su competencia, proporcionando a los

clientes una manera de identificar y seleccionar servicios de ensayos o calibración confiables y capaces de cumplir con sus necesidades.

La acreditación ha sido adoptada ampliamente como elemento esencial en la evaluación de la conformidad, ya que los ensayos penetran todas las áreas de la industria y la tecnología y los informes de ensayos proporcionan información objetiva imposible de obtener de otras fuentes.

Sin duda, beneficia a los laboratorios permitiéndoles determinar si están efectuando su trabajo correctamente y de acuerdo a las normas apropiadas, y les provee un punto de referencia para mantener la competencia.

Además, es una herramienta de mercadeo muy efectiva para los laboratorios de ensayo y calibración, y una tarjeta de presentación para realizar ofertas a clientes que requieren de laboratorios que hayan sido evaluados independientemente por un organismo competente.

3.8 Esquema general del proceso de validación e intercomparación.

Para resumir lo anteriormente expuesto, la figura 28 muestra el proceso de validación que se sigue para cada uno de los métodos, en forma general.

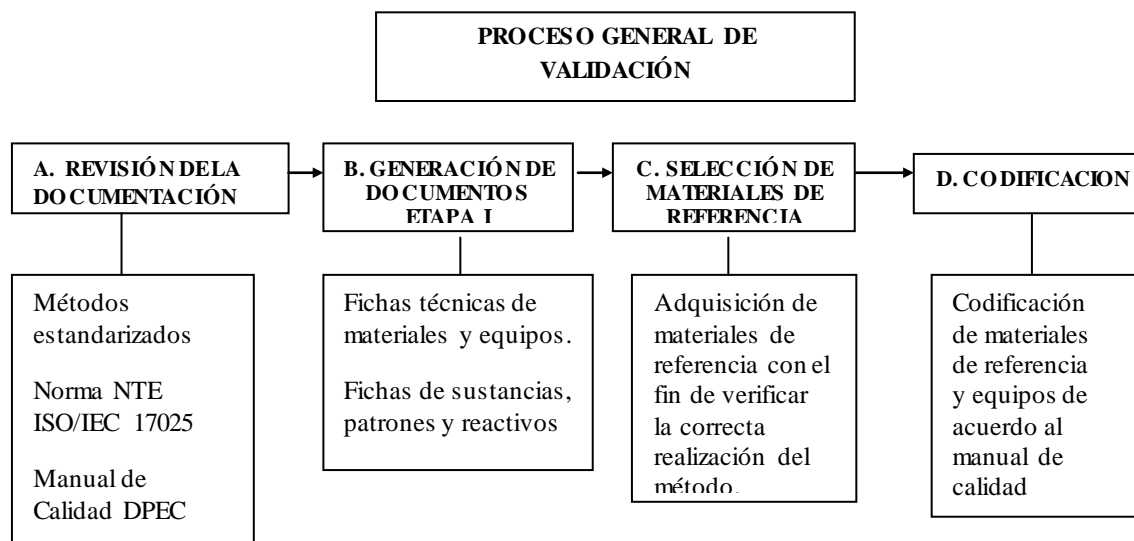


Figura 28. Procedimiento para la validación de métodos de ensayo, primera etapa.

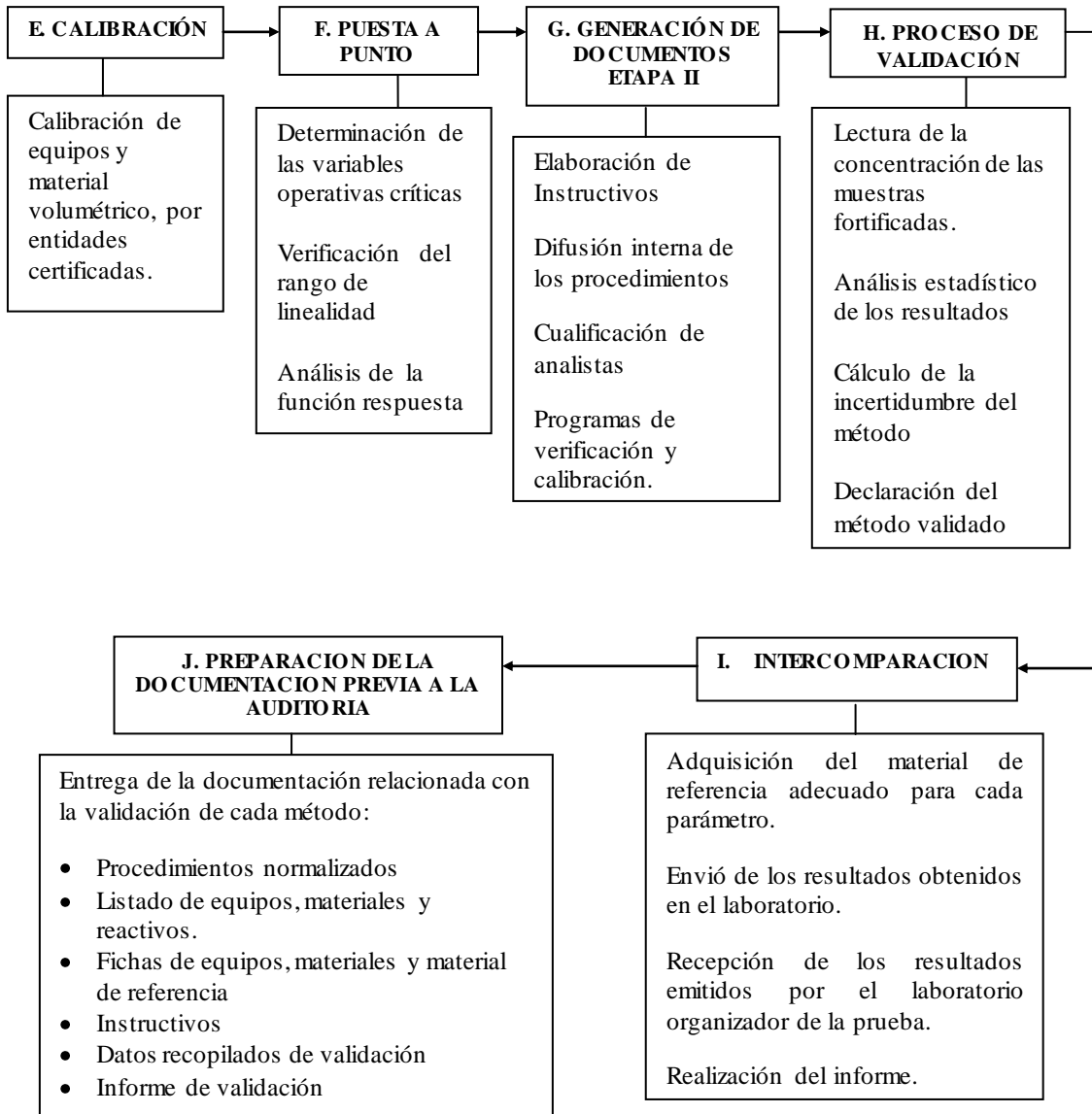


Figura 29. Procedimiento para la validación de métodos de ensayo, segunda etapa.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO

4.1 Diseño experimental

Es necesario resaltar que a la hora de determinar los parámetros de validación, éstos no se conseguirán, normalmente, de un modo secuencial, sino que se obtendrán como resultado final del diseño experimental.

En el siguiente esquema se representan las principales etapas del procesamiento de las muestras durante la validación de un método instrumental:

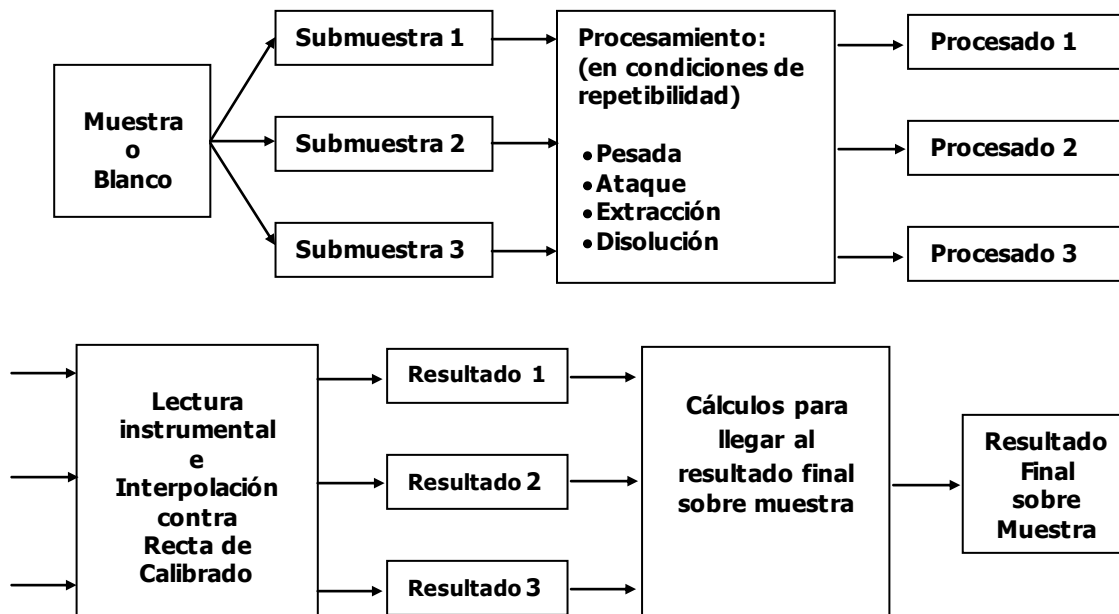


Figura 30. Diseño experimental para la validación de métodos instrumentales.

En el caso de los métodos gravimétricos, se sigue el mismo diseño experimental omitiendo la etapa de la interpolación contra la recta de calibración ya que éstos no son métodos instrumentales.

Los datos que se obtienen cada día, de la función respuesta, pueden ser organizados en tablas de acuerdo con el siguiente modelo:

Tabla 22. Tabla modelo para registrar los datos obtenidos diariamente, de las rectas de calibración

NIVEL	Días (lecturas obtenidas -Li-)		
	1	2	3
0 (Blanco)			
P1			
Pn			

* Li: Absorbancia leída de cada solución patrón

* Pi: Concentración de la solución patrón

Tabla 23. Tabla modelo para registrar los parámetros de linealidad de las rectas de calibración

	FUNCIÓN DE RESPUESTA		
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
r²			
m			
S_m			
Lo			
S_{Lo}			
S_{P,L}			

Las concentraciones obtenidas por interpolación en la recta de calibración, se organizaran en la siguiente tabla:

Tabla 24. Tabla modelo para registrar las concentraciones leídas durante la validación de los diferentes métodos.

	Días (Concentraciones obtenidas, Ci)		
NIVEL	1	2	3
MF₁			
MF_n			
MRC			

Para los métodos gravimétricos, se registran las concentraciones obtenidas de cada submuestra, según el modelo de la Tabla 24.

A continuación, se presentan los esquemas de diseño experimental y una serie de criterios elementales para la determinación de los diversos parámetros de validación correspondientes a cada método de ensayo:

Tabla 25. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Sólidos Totales en Suspensión

DISEÑO EXPERIMENTAL	<ul style="list-style-type: none"> ● Condiciones de Repetibilidad: Determinación de los Sólidos Totales en Suspensión a diez Niveles de Concentración (Diez Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel. ● Condiciones de Reproducibilidad: Determinación de los Sólidos Totales en Suspensión a diez Niveles de Concentración (diez Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel en tres días distintos. ● Veracidad Determinación del % Recuperación utilizando Material de Referencia Certificado, diariamente por triplicado; tomando como valor verdadero el proporcionado en el certificado de análisis y como valor experimental, la media de todos los valores obtenidos, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
--------------------------------	--

Continuación Tabla 25

<p>“MUESTRAS” disponibles para la validación</p>	<p>Se escoge muestras diferentes a las cuales se les añade Material de Referencia Interno, en los niveles de concentración determinados dentro del rango de trabajo.</p> <p>Muestras Fortificadas a diez niveles de concentración: Los niveles de concentración se determinaron de acuerdo a los datos históricos de los requerimientos del cliente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 5 Bajos, cercanos al menor valor del Intervalo de Trabajo • 3 Medios, cercanos al valor medio del Intervalo de Trabajo • 2 Altos, cercanos al mayor valor del Intervalo de Trabajo
<p>SUBMUESTRAS</p>	<p>De cada muestra se obtiene tres submuestras, que se analizan por tres días diferentes cambiando diariamente de analista. Obteniéndose un total de 90 datos.</p>
<p>LECTURA</p>	<p>Peso del filtro Peso de la muestra + peso del filtro</p>
<p>PROCESAMIENTO</p>	<p>Se calcula la concentración (mg/l) de la muestra a partir del modelo matemático. Se procesaran todo el conjunto de datos obtenidos tanto en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, para cada nivel de concentración.</p>
<p>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</p>	<p>Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para obtención de la precisión por niveles de concentración. Obtención del Intervalo de Trabajo y de la Incertidumbre asociada a cada nivel.</p>

Tabla 26. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Sólidos Totales Disueltos

<p style="text-align: center;">DISEÑO EXPERIMENTAL</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Condiciones de Repetibilidad: Determinación de los Sólidos Totales Disueltos a diez Niveles de Concentración (Diez Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel. ● Condiciones de Reproducibilidad: Determinación de los Sólidos Totales Disueltos a diez Niveles de Concentración (diez Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel en tres días distintos. ● Veracidad Determinación del %Recuperación utilizando Material de Referencia Certificado, diariamente por triplicado; tomando como valor verdadero el proporcionado en el certificado de análisis y como valor experimental, la media de todos los valores obtenidos, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
<p style="text-align: center;">“MUESTRAS” disponibles para la validación</p>	<p>Se escoge muestras diferentes a las cuales se les añade Material de referencia Interno, en los niveles de concentración determinados dentro del rango de trabajo.</p> <p>Muestras Fortificadas a diez niveles de concentración: Los niveles de concentración se determinaron de acuerdo a los datos históricos de los requerimientos del cliente:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 4 Bajos, cercanos al menor valor del Intervalo de Trabajo ● 4 Medios, cercanos al valor medio del Intervalo de Trabajo ● 2 Altos, cercanos al mayor valor del Intervalo de Trabajo
<p style="text-align: center;">SUBMUESTRAS</p>	<p>De cada muestra se obtiene tres submuestras, que se analizaran por tres días diferentes cambiando diariamente de analista. Obteniéndose un total de 90 datos.</p>
<p style="text-align: center;">LECTURA</p>	<p>Peso del crisol Peso de la muestra + peso del crisol</p>
<p style="text-align: center;">PROCESAMIENTO</p>	<p>Se calcula la concentración (mg/l) de la muestra a partir del modelo matemático. Se procesaran todo el conjunto de datos obtenidos tanto en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, para cada nivel de concentración.</p>
<p style="text-align: center;">TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</p>	<p>Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para la determinación de la precisión a los diferentes niveles de concentración. Obtención del Intervalo de Trabajo y de la Incertidumbre asociada a cada nivel.</p>

Tabla 27. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método de Fenoles

<p style="text-align: center;">DISEÑO EXPERIMENTAL</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Condiciones de Repetibilidad: Determinación de los Fenoles a diez Niveles de Concentración (Nueve Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel. ● Condiciones de Reproducibilidad: Determinación de los Fenoles a diez Niveles de Concentración (Nueve Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel en tres días distintos. ● Veracidad Determinación del %Recuperación utilizando Material de Referencia Certificado, diariamente por triplicado; tomando como valor verdadero el proporcionado en el certificado de análisis y como valor experimental, la media de todos los valores obtenidos, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
<p style="text-align: center;">“MUESTRAS” disponibles para la validación</p>	<p>Se escoge muestras diferentes a las cuales se les añade Material de referencia Interno, en los niveles de concentración adecuados para el rango de trabajo.</p> <p>Muestras Fortificadas a nueve niveles de concentración: Los niveles de concentración se determinaron de acuerdo a los datos históricos de los requerimientos del cliente y a la normativa correspondiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 2 Bajo, cercano al límite de cuantificación. ● 4 Medios, cercanos al valor medio del Intervalo de Trabajo ● 3 Altos, cercanos al mayor valor del Intervalo de Trabajo <p>Material de Referencia Certificado a un nivel de concentración, que se procesa cada día.</p>
<p style="text-align: center;">SUBMUESTRAS</p>	<p>De cada muestra se obtiene tres submuestras, que se analizarán por tres días diferentes cambiando diariamente de analista. Obteniéndose un total de 90 datos. Las submuestras siguen el procedimiento completo.</p>
<p style="text-align: center;">LECTURA</p>	<p>Concentración de la muestra, mg/l</p>
<p style="text-align: center;">FUNCIÓN DE RESPUESTA</p>	<p>Obtenida cada día en condiciones de repetibilidad, por regresión lineal con las cinco parejas de concentración y absorbancia. Determinación cada día, del grado de ajuste (r^2) y de los intervalos de confianza de los coeficientes de regresión y la región de confianza de la función respuesta.</p>
<p style="text-align: center;">PROCESAMIENTO</p>	<p>Se procesarán todo el conjunto de datos obtenidos tanto en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, para cada nivel de concentración.</p>

Continuación Tabla 27

TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	<p>Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para la determinación de la precisión a los diferentes niveles de concentración.</p> <p>Obtención del Intervalo de Trabajo y de la Incertidumbre asociada a cada nivel.</p>
--------------------------------	--

Tabla 28. Diseño experimental para la determinación de los diferentes parámetros de desempeño del método Detergentes Aniónicos

DISEÑO EXPERIMENTAL	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones de Repetibilidad: Determinación de los Fenoles a diez Niveles de Concentración (Nueve Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel. • Condiciones de Reproducibilidad: Determinación de los Fenoles a diez Niveles de Concentración (Nueve Muestras Fortificadas), por triplicado en cada nivel en tres días distintos. • Veracidad Determinación del %Recuperación utilizando Material de Referencia Certificado, diariamente por triplicado; tomando como valor verdadero el proporcionado en el certificado de análisis y como valor experimental, la media de todos los valores obtenidos, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
“MUESTRAS” disponibles para la validación	<p>Se escoge muestras diferentes a las cuales se les añade Material de referencia Interno, en los niveles de concentración adecuados para el rango de trabajo.</p> <p>Muestras Fortificadas a nueve niveles de concentración: Los niveles de concentración se determinaron de acuerdo a los datos históricos de los requerimientos del cliente y a la normativa correspondiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2 Bajo, cercano al límite de cuantificación. • 4 Medios, cercanos al valor medio del Intervalo de Trabajo • 3 Altos, cercanos al mayor valor del Intervalo de Trabajo <p>Material de Referencia Certificado a un nivel de concentración, que se procesa cada día.</p>
SUBMUESTRAS	<p>De cada muestra se obtiene tres submuestras, que se analizaran por tres días diferentes cambiando diariamente de analista. Obteniéndose un total de 90 datos.</p> <p>Las submuestras siguen el procedimiento completo.</p>
LECTURA	<p>Concentración de la muestra, mg/l</p>

Continuación Tabla 28

FUNCIÓN DE RESPUESTA	Obtenida cada día en condiciones de repetibilidad, por regresión lineal con las cinco parejas de concentración y absorbancia. Determinación cada día, del grado de ajuste (r^2) y de los intervalos de confianza de los coeficientes de regresión y la región de confianza de la función respuesta.
PROCESAMIENTO	Se procesaran todo el conjunto de datos obtenidos tanto en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, para cada nivel de concentración.
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para la determinación de la precisión a los diferentes niveles de concentración. Obtención del Intervalo de Trabajo y de la Incertidumbre asociada a cada nivel.

4.2 Diseño Estadístico

La precisión del método se puede obtener calculando, a través del análisis simple de varianza (ANOVA de factores totalmente anidados y homogéneos), las desviaciones estándar de repetibilidad (S_r) y de reproducibilidad (S_R) para cada uno de los niveles de ensayo.

Tabla 29. Tabla de datos para el análisis simple de varianza

NIVEL i	Días de determinación		
Observaciones	1	2	3
1	C_{11}	C_{21}	C_{31}
2	C_{12}	C_{22}	C_{32}
3	C_{13}	C_{23}	C_{33}

Las medias de cada día están definidas por:

$$\bar{C}_i = \frac{\sum_{j=1}^3 C_{ij}}{3} \quad (26)$$

La media general es:

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 C_{ij}}{9} = \frac{\sum_{i=1}^3 3\bar{C}_i}{9} = \frac{\sum_{i=1}^3 \bar{C}_i}{3} \quad (27)$$

Tabla 30. Modelo general para el Análisis Simple de la Varianza

Origen de la varianza	Grados de libertad (v)	Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)	Diferencias cuadráticas medias (DCM = SDC/v) (varianzas)
Entre grupos (Between)	$v_1 = 3-1=2$	$SDC_B = \sum_{i=1}^3 3(\bar{C}_i - \bar{C})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{2}$
Dentro del grupo (Within)	$v_2 = 9-3=6$	$SDC_W = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (C_{ij} - \bar{C}_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{6}$
Total	$v = 9-1=8$ (= 2 + 6)	$SDC_T = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (C_{ij} - \bar{C})^2$ (= $SDC_B + SDC_W$)	$DCM_T = \frac{SDC_T}{8}$

4.3 Puesta a punto

4.3.1 Sólidos Totales en Suspensión

- Se adquirieron desecadores y desecante con indicador de coloración para cada uno de ellos.
- Se verificó el correcto funcionamiento del equipo de filtración, el cual se armó con filtros magnéticos, a los cuales se los acopló un matraz de succión respectivamente, el mismo que se conectó mediante mangueras a una bomba de vacío.
- Se determinó que para el tarado de los filtros de fibra de vidrio, el tiempo de secado es de 1 hora así como el tiempo de enfriamiento es de 1 hora y 30 minutos.
- Se estableció que el tiempo óptimo de secado de la muestra en la estufa, es de 1 hora con 30 minutos.
- Se determinó la influencia de la temperatura de secado en la determinación de Sólidos Totales en Suspensión.

- f. Para determinar el tiempo adecuado de enfriamiento de los filtros en el desecador, se sacaron los filtros de la estufa y se colocaron en el desecador; se tomaron los pesos de los filtros cada 15 minutos de enfriamiento hasta la estabilización en el peso del filtro. A partir de lo cual se determinó que el tiempo óptimo es de 1 hora con 45 minutos.
- g. Se trató las interferencias en los diferentes tipos de aguas.

4.3.2 Sólidos Totales Disueltos

- a. Se adquirieron desecadores y desecante con indicador de coloración para cada uno de ellos.
- b. Se verificó el correcto funcionamiento del equipo de filtración, el cual se armó con filtros magnéticos a los cuales se los acopló un matraz de succión respectivamente el mismo que se conecto mediante mangueras a una bomba de vacío.
- c. Se determino que para el tarado de los crisoles el tiempo de secado es de 1 hora y 30 minutos así como el tiempo de enfriamiento es de 1 hora y 30 minutos.
- d. Se estableció que el tiempo óptimo de secado de la muestra en el crisol colocado en la estufa, es de al menos 6 horas. Y para niveles altos (≥ 2000 mg/l) de hasta 8 horas.
- e. Se determinó la influencia de la temperatura de secado en la determinación de Sólidos Totales Disueltos. Ya que al disminuir la temperatura en la estufa se obtienen diferentes resultados.
- f. Para determinar el tiempo adecuado de enfriamiento de los crisoles con muestra, en el desecador, se sacaron los crisoles de la estufa y se colocaron en el desecador; se tomaron los pesos de los crisoles cada media hora de enfriamiento hasta la estabilización en el peso del crisol. A partir de lo cual se determinó que el tiempo óptimo es de 2 horas con 45 minutos.
- g. Se trataron las interferencias en las diferentes muestras de agua.

4.3.3 Fenoles

- a. Se preparó diferentes concentraciones de material de referencia interno y se identificó rango de linealidad del método, por construcción de una gráfica de función respuesta instrumental.
- b. Se realizó el replicado de la recta de calibración lineal en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
- c. Se determinó el grado de ajuste de la recta lineal así como los intervalos de confianza de los coeficientes de la recta.
- d. Se estableció el límite de cuantificación y detección a partir de la recta de calibración lineal; así como el error típico.
- e. Se determinó los intervalos de confianza de la recta de calibración.
- f. Se verificó la estabilidad del blanco diariamente.
- g. Se determinó la influencia de las condiciones ambientales en el ensayo.

- h. Se identificaron los puntos críticos dentro de la realización del ensayo.
- i. Se trataron las interferencias en las diferentes muestras de agua.

4.3.4 Detergentes Aniónicos

- a. Se preparó diferentes concentraciones de material de referencia interno y se identificó rango de linealidad del método, por construcción de una gráfica de función respuesta instrumental.
- b. Se realizó el replicado de la recta de calibración lineal en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.
- c. Se determinó el grado de ajuste de la recta lineal así como los intervalos de confianza de los coeficientes de la recta.
- d. Se estableció el límite de cuantificación y detección a partir de la recta de calibración lineal; así como el error típico.
- e. Se determinó los intervalos de confianza de la recta de calibración.
- f. Se verificó la estabilidad del blanco diariamente.
- g. Se determinó la influencia de las condiciones ambientales en el ensayo.
- h. Se identificaron los puntos críticos dentro de la realización del ensayo.
- i. Se trataron las interferencias en las diferentes muestras de agua.

4.4 Descripción de equipos y material volumétrico

A los equipos instrumentales y material volumétrico se les debe asignar un código con la siguiente estructura:

XX/YY/ZZ-AA/TT

Donde:

XX puede ser:

EI: Equipo Instrumental

MV: Material Volumétrico


YY: Indica una característica del equipo o material volumétrico.

ZZ: Número correlativo dentro del área en el que se utiliza.

AA: Área en el que se utiliza (P, A, G)

TT: Dos dígitos para indicar el número de accesorios o elementos que tiene el equipo. El equipo principal lleva 00.

4.4.1 Identificación. El código asignado a un equipo debe ir marcado sobre él, de forma indeleble o a través de una etiqueta que indique su descripción y el código asignado. Las etiquetas de identificación deben contener:

	CÓDIGO:
NOMBRE DEL EQUIPO	
Descripción:	
Estado:	
Limitaciones de uso:	
Fecha de calibración: Próxima calibración:	

4.5 Descripción del material de referencia, reactivos, muestra fortificada y material de referencia interno.

A los Materiales de Referencia, Patrones químicos y reactivos se les debe asignar un código con la siguiente estructura:

XX/YYYY/ZZ/A

Donde:

XX será:

MR: Material de Referencia

MRI: Material de Referencia Interno

MF: Muestra Fortificada

RE: Reactivo


YYY: Descripción del material de referencia, material de referencia interno o reactivo.

ZZZ: Número de lote del material de referencia, material de referencia interno o reactivo.

Concentración preparada de la muestra fortificada.

A: Indica el área en la que se encuentra (A, G, P)

4.5.1 Identificación. Los Materiales de Referencia, Materiales de Referencia Interno y reactivos se identifican a través de una etiqueta con el siguiente contenido:

	CÓDIGO:
Sustancia	Concentración/unidades
Fecha de preparación:	
Fecha de caducidad:	
Conservación:	
Restricciones de uso:	
Precauciones:	
Preparado por:	

4.6 Elección de los parámetros de validación y fijación de objetivos

Tabla 31. Fijación de objetivos de validación para Sólidos Totales en Suspensión

PARÁMETROS	OBJETIVO DE VALIDACIÓN
Especificidad	<p>La interferencia por altas concentraciones de sólidos disueltos, se elimina lavando adicionalmente el disco de filtrado con tres volúmenes sucesivos de 50ml de agua destilada.</p> <p>La interferencia por partículas gruesas flotantes o aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos; se controla retirándolas directamente de la muestra.</p> <p>La interferencia por aceites sobrenadantes y otros líquidos orgánicos no miscibles se elimina lavando con 10ml de etanol y posteriormente con 20 ml de hexano, el residuo retenido en el filtro después del lavado con agua; antes de proceder al secado.</p>
Limite de cuantificación	30 mg/l
Repetibilidad	$CV_r \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Reproducibilidad	$CV_R \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Veracidad (% Recuperación)	$80 < \% R < 120$ en todos los niveles de concentración
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ (K=2) en todos los niveles de concentración
Intervalo de Trabajo	10 – 4000 mg/l

Tabla 32. Fijación de objetivos de validación para Sólidos Totales Disueltos

PARÁMETROS	OBJETIVO DE VALIDACIÓN
Especificidad	<p>Para muestras con alcalinidad por bicarbonatos se debe llevar a cabo un secado cuidadoso y prolongado (aproximadamente 9 horas) para asegurar la conversión completa de bicarbonato a carbonato.</p> <p>Las aguas excesivamente mineralizadas con un contenido considerable de calcio, magnesio, cloruros y/o sulfatos exigen un secado prolongado (aproximadamente 11 horas), un grado de desecación adecuado (3 horas) y un pesado rápido.</p> <p>Para evitar un residuo excesivo que puede formar una costra hidrófila en el crisol, debe limitarse el tamaño de la muestra a un volumen de 30ml para que proporcione un residuo no mayor de 200mg</p>
Limite de cuantificación	100 mg/l
Repetibilidad	$CV_r \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Reproducibilidad	$CV_R \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Veracidad (% Recuperación)	$80 < \%R < 120$ en todos los niveles de concentración
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ (K=2) en todos los niveles de concentración
Intervalo de Trabajo	50 – 5000 mg/l

Tabla 33. Fijación de objetivos de validación para Fenoles

PARÁMETROS	OBJETIVO DE VALIDACIÓN
Especificidad	<p>Si el pH de la muestra no está entre 3 y 11,5; se puede ajustar el pH con ácido fosfórico al 10%, para obtener mejores resultados.</p> <p>Si la muestra contiene agentes oxidantes y reductores, se debe destilar la muestra como se indica en el punto 5.4.1.2 del Procedimiento Normalizado PNE/DPEC/A/HACH 8047</p> <p>Para tratar la interferencia por materia suspendida o sulfuros, se puede destilar la muestra o tratar con inhibidor de sulfuro y filtración.</p>
Límite de Cuantificación	0,035 mg/l
Límite de Detección	0,011 mg/l

Continuación Tabla 33

Linealidad/ Función de Respuesta Instrumental	<ul style="list-style-type: none"> • Regresión Lineal. Grado de Ajuste $r^2 \geq 0,995$ • Se determinarán los coeficientes de regresión y sus intervalos de confianza, Lo y m. • Se determinará la contribución de la Función de Respuesta a la incertidumbre en cada nivel. • Se establecerá si se puede mantener la Función de Respuesta fija durante un mes.
Repetibilidad	$CV_r \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Reproducibilidad	$CV_R \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Veracidad (% Recuperación)	$80 < \% R < 120$ en todos los niveles de concentración
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ (K=2) en todos los niveles de concentración
Intervalo de Trabajo	0,01 – 2,5 mg/l

Tabla 34. Fijación de objetivos de validación para Detergentes Aniónicos

PARÁMETROS	OBJETIVO DE VALIDACIÓN
Especificidad	<p>Este método es adecuado para la determinación de Detergentes, presentes en aguas naturales y residuales.</p> <p>En caso de alto contenido en cloruros, se puede disminuir su concentración por evaporación.</p> <p>El perclorato puede reducirse al correspondiente haluro por tratamiento con sulfato o nitrito. Además, su acción oxidante puede interrumpirse por dilución o enfriamiento.</p> <p>El peryodato puede eliminarse por precipitación con exceso de cloruro de mercurio II.</p>
Límite de Cuantificación	0,023 mg/l
Límite de Detección	0,005 mg/l
Linealidad/ Función de Respuesta Instrumental	<ul style="list-style-type: none"> • Regresión Lineal. Grado de Ajuste $r^2 \geq 0,995$ • Se determinarán los coeficientes de regresión y sus intervalos de confianza, Lo y m. • Se determinará la contribución de la Función de Respuesta a la incertidumbre en cada nivel. • Se establecerá si se puede mantener la Función de Respuesta fija durante un mes.
Repetibilidad	$CV_r \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Reproducibilidad	$CV_R \leq 10\%$ en todos los niveles de concentración
Veracidad (% Recuperación)	$80 < \% R < 120$ en todos los niveles de concentración
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ (K=2) en todos los niveles de concentración
Intervalo de Trabajo	0,01 – 2,5 mg/l

4.7 Preparación de las soluciones/suspensiones patrón y material de referencia interno, para cada método

4.7.1 Suspensión patrón de Sólidos Totales en Suspensión (500mg/l de suspensión de celulosa microcristalina)

- a. Secar por separado la celulosa microcristalina en una estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por dos horas.
- b. Sacar de la estufa y enfriar en el desecador por aproximadamente una hora.
- c. Pesar 0,5000 g de la celulosa microcristalina previamente secada.
- d. Transferir cuantitativamente a un balón aforado de 1000ml de capacidad y aforar con agua tipo II.
- e. Agitar bien la suspensión antes de usarla.

4.7.2 Solución patrón de Sólidos Totales Disueltos (500mg/l de solución de cloruro de potasio)

- a. Secar el cloruro de potasio en una estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por dos horas.
- b. Sacar de la estufa y enfriar en el desecador por aproximadamente una hora.
- c. Pesar 0,5005 g de la sal de cloruro de potasio previamente secada.
- d. Transferir cuantitativamente a un balón aforado de 1000ml de capacidad y aforar con agua tipo II.
- e. Agitar bien la solución antes de usarla.

4.7.3 Solución patrón de Fenoles (10mg/l de solución de Fenol)

- a. Preparar una solución de fenol de 1000mg/l como sigue:
 - Pesar 1,002g de fenol grado ACS
 - Pasar el fenol al Balón aforado de 1000ml
 - Aforar con agua tipo II recién hervida y enfriada.
 - Mezclar para disolver.
- b. Preparar solución de fenol de 10mg/l, como sigue:
 - Pipetear 10ml de la solución de 1000mg/l en un Balón aforado de 1000ml.
 - Aforar con agua tipo II.

4.7.4 Material de referencia interno de Detergentes Aniónicos, 60 mg/l como LAS

A partir de la solución madre de 60mg/l como LAS, se pueden preparar diferentes concentraciones por dilución.

4.8 Preparación de las muestras fortificadas utilizadas en la validación.

4.8.1 Muestras Fortificadas de Sólidos Totales en Suspensión

Para preparar las muestras fortificadas que se utilizarán en la validación de este parámetro, se debe:

- a. Medir la concentración inicial de la muestra a fortificar
- b. Definir la concentración de muestra fortificada que se desea preparar
- c. Preparar la concentración que se va añadir a la muestra inicial, por dilución de la suspensión patrón preparada según el numeral 4.7.1.
- d. Aforar con la muestra inicial
- e. Se sigue el mismo procedimiento para preparar las muestras fortificadas a los demás niveles.

4.8.2 Muestras Fortificadas de Sólidos Totales Disueltos

Para preparar las muestras fortificadas que se utilizarán en la validación de este parámetro, se debe:

- a. Medir la concentración inicial de la muestra a fortificar
- b. Definir la concentración de muestra fortificada que se desea preparar
- c. Preparar la concentración que se va añadir a la muestra inicial, por dilución de la solución patrón preparada según el numeral 4.7.2.
- d. Aforar con la muestra inicial
- e. Se sigue el mismo procedimiento para preparar las muestras fortificadas a los demás niveles.

4.8.3 Muestras Fortificadas de Fenoles

Para preparar las muestras fortificadas que se utilizarán en la validación de este parámetro, se debe:

- a. Medir la concentración inicial de la muestra a fortificar
- b. Definir la concentración de muestra fortificada que se desea preparar

- c. Preparar la concentración que se va añadir a la muestra inicial, por dilución de la solución patrón preparada según el numeral 4.7.3.
- d. Aforar con la muestra inicial
- e. Se sigue el mismo procedimiento para preparar las muestras fortificadas a los demás niveles.

4.8.4 Muestras Fortificadas de Detergentes Aniónicos

Para preparar las muestras fortificadas que se utilizarán en la validación de este parámetro, se debe:

- a. Medir la concentración inicial de la muestra a fortificar
- b. Definir la concentración de muestra fortificada que se desea preparar
- c. Preparar la concentración que se va añadir a la muestra inicial, por dilución de la suspensión patrón preparada según el numeral 4.7.4.
- d. Aforar con la muestra inicial
- e. Se sigue el mismo procedimiento para preparar las muestras fortificadas a los demás niveles.

Las muestras fortificadas que han sido preparadas, siguen el procedimiento de ensayo según el numeral 4.9 de acuerdo a cada parámetro.

4.9 Realización de los ensayos normalizados de acuerdo con el procedimiento

Antes de llevar a cabo la realización de los ensayos en cada una de las muestras, se procedió de la siguiente manera:

- Se seleccionó el equipo de analistas para realizar la validación del Método de Ensayo.
- Se difundió los procedimientos Normalizados, Instructivos y demás documentos correspondientes, al equipo designado.
- Se calificó al grupo de técnicos mediante un examen teórico.
- Se llevó a cabo cada uno de los ensayos, de acuerdo a los procedimientos correspondientes, que se detallan a continuación:

4.9.1 Sólidos Totales en Suspensión

- a. Montar el aparato de filtrado y el filtro e iniciar la succión. Para ajustar el filtro, humedecer este con una pequeña cantidad de agua tipo II.

- b. Filtrar un volumen de 100ml de muestra bien mezclada por el filtro de fibra de vidrio.
- c. Lavar con tres volúmenes sucesivos de 10ml de agua tipo II, permitiendo el drenaje completo del filtro entre los lavados, y continuar succionando durante unos tres minutos después de terminar el filtrado.
- d. Separar cuidadosamente el filtro del aparato y trasladarlo a una caja de aluminio.
- e. Secar en la estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante una hora y 30 minutos, enfriar en un desecador por una hora para equilibrar la temperatura. Luego pesar cada 15 minutos hasta obtener un peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor del cuatro por ciento del peso previo o menor de 0,5mg (aproximadamente en 45 minutos)

4.9.2 Sólidos Totales Disueltos

- a. Homogenizar completamente la muestra.
- b. Filtrar un volumen de 50ml de muestra por el filtro de fibra de vidrio.
- c. Lavar con tres volúmenes sucesivos de 10ml de agua tipo II, permitiendo el drenaje completo del filtro entre los lavados, y continuar succionando durante unos tres minutos después de terminar el filtrado.
- d. Transferir el producto al crisol previamente tarado.
- e. Secar en la estufa a $180 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante al menos 6 horas, posteriormente sacar de la estufa y enfriar al ambiente durante 3 minutos.
- f. Enfriar en un desecador por dos horas para equilibrar la temperatura.
- g. Pesar cada 15 minutos hasta obtener un peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor del cuatro por ciento del peso previo o menor de 0,5mg (aproximadamente en 45 minutos)

4.9.3 Fenoles

- a. Medir 300ml de muestra en una probeta de 500ml. Poner la muestra medida en un embudo de separación.
- b. Adicionar 5ml de buffer de dureza (pH=10) en el embudo de separación. Tapar y agitar para mezclar.
- c. Adicionar el contenido de una pillow de fenol en polvo, en el embudo de separación. Tapar y agitar para disolver.
- d. Adicionar el contenido de una pillow de fenol 2 en polvo, en el embudo de separación. Tapar y agitar para disolver.
- e. Adicionar 30ml de cloroformo en el embudo de separación y taparlo.

- f. Invertir el embudo y ventearlo temporalmente. Agitar el embudo brevemente y ventearlo. Entonces agitarlo fuertemente por 30 segundos (ventear si es necesario).
- g. Quitar el tapón. Dejar en reposo el embudo hasta que el cloroformo se asiente en el fondo del mismo. La capa de cloroformo puede ser amarilla o ámbar si hay benceno presente.
- h. Insertar un algodón de pequeño tamaño en el tubo del embudo.
- i. Filtrar la capa de cloroformo a través del algodón ya que remueve agua en suspensión o partículas. El volumen exacto de cloroformo puede ser de 25ml.
- j. Drenar la capa de cloroformo dentro de la celda de referencia.
- k. Tapar la celda. La fase acuosa contiene cloroformo, la cual es peligrosa. Desechar adecuadamente.
- l. Seleccionar el número de ensayo en el espectrofotómetro.
- m. Limpiar la celda que contiene el blanco preparado anteriormente e insertar en el equipo.
- n. Encerar el equipo, el display muestra 0,000 mg/l fenol.
- o. Limpiar la celda que contiene la muestra preparada e insertar en el equipo. LEER los resultados en mg/l fenol.

4.9.4 Detergentes Aniónicos

- a. Medir 300ml de muestra en una probeta de 500ml. Poner la muestra medida en un embudo de separación.
- b. Adicionar 10ml de buffer de sulfato en el embudo de separación. Tapar y agitar por 5 segundos para mezclar.
- c. Adicionar el contenido de una pillow de detergente en polvo, en el embudo de separación.
- d. Tapar el embudo y agitarlo hasta que el polvo se disuelva completamente.
- e. Adicionar 30ml de benceno en el embudo de separación. Tapar el embudo y agitarlo suavemente por un minuto.
- f. Colocar el embudo de separación en un soporte.
- g. En un periodo de 30 minutos la reacción se iniciará.
- h. Después que el tiempo termine, quitar el tapón y drenar la capa de agua que está en el fondo. Descartar esta capa.
- i. Drenar la capa de benceno dentro de una celda de referencia de 25ml. Tapar la celda. No filtrar la capa de benceno antes de la medición del color. La filtración quita el color azul.
- j. Limpiar e insertar la celda del blanco dentro del equipo.
- k. Encerar el equipo, el display muestra 0,000 mg/l fenol.
- l. Limpiar la celda que contiene la muestra e insertar en el equipo. LEER los resultados en mg/l LAS.

4.10 Datos Experimentales

4.10.1 Sólidos Totales en Suspensión

Tabla 35. Datos de pesos obtenidos diariamente, durante la determinación de diferentes concentraciones de los Sólidos Totales en Suspensión.

Nivel	Concentración mg/l	N° de Lectura	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3	
			A(g)*	B(g)*	A(g)	B(g)	A(g)	B(g)
1	10	1	0,1071	0,1063	0,1072	0,1064	0,1116	0,1106
		2	0,1073	0,1063	0,1059	0,1050	0,1156	0,1146
		3	0,1074	0,1065	0,1078	0,1069	0,1128	0,1119
2	30	1	0,1157	0,1127	0,1167	0,1135	0,1163	0,1129
		2	0,1151	0,1123	0,1165	0,1127	0,1165	0,1135
		3	0,1158	0,1126	0,1158	0,1128	0,1172	0,1142
3	50	1	0,1114	0,1064	0,1125	0,1079	0,1187	0,1138
		2	0,1102	0,1055	0,1103	0,1054	0,1168	0,1119
		3	0,1107	0,1059	0,1112	0,1065	0,1160	0,1112
4	100	1	0,1151	0,1059	0,1155	0,1058	0,1220	0,1123
		2	0,1153	0,1059	0,1170	0,1073	0,1212	0,1113
		3	0,1164	0,1066	0,1171	0,1075	0,1215	0,1116
5	250	1	0,1292	0,1072	0,1295	0,1072	0,1322	0,1106
		2	0,1302	0,1074	0,1286	0,1061	0,1328	0,1101
		3	0,1286	0,1067	0,1285	0,1066	0,1356	0,1128
6	500	1	0,1495	0,1066	0,1513	0,1114	0,1554	0,1121
		2	0,1461	0,1051	0,1546	0,1112	0,1550	0,1134
		3	0,1491	0,1083	0,1541	0,1105	0,1556	0,1127
7	1000	1	0,2086	0,1071	0,2094	0,1108	0,2111	0,1130
		2	0,2026	0,1085	0,2115	0,1122	0,2103	0,1131
		3	0,2089	0,1086	0,2163	0,1119	0,2166	0,1120
8	2000	1	0,3032	0,1085	0,3125	0,1121	0,3170	0,1137
		2	0,3050	0,1084	0,3072	0,1110	0,2975	0,1150
		3	0,3011	0,1079	0,3084	0,1099	0,3097	0,1116
9	3000	1	0,4060	0,1069	0,4174	0,1123	0,4092	0,1117
		2	0,4042	0,1053	0,4109	0,1123	0,4043	0,1094
		3	0,4048	0,1058	0,4132	0,1114	0,4067	0,1134
10	4000	1	0,4940	0,1065	0,5046	0,1110	0,5159	0,1141
		2	0,5059	0,1063	0,5139	0,1106	0,5085	0,1120
		3	0,4994	0,1061	0,5125	0,1125	0,5049	0,1151

Continuación Tabla 35

MRC	96	1	0,1119	0,1070	0,1162	0,1114	0,1157	0,1106
		2	0,1119	0,1071	0,1112	0,1065	0,1173	0,1123
		3	0,1132	0,1081	0,1175	0,1129	0,1172	0,1126

* A (g): peso del filtro + residuo seco (gramos)

* B (g): peso del filtro (gramos)

4.10.2 Sólidos Totales Disueltos

Tabla 36. Datos de pesos obtenidos diariamente, durante la determinación de diferentes concentraciones de Sólidos Totales Disueltos

Nivel	Concentración mg/l	Nº de Lectura	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3	
			A(g)*	B(g)*	A (g)	B (g)	A (g)	B (g)
1	50	1	52,5617	52,5587	62,8754	62,8727	52,5610	52,5577
		2	60,3304	60,3280	60,3318	60,3285	60,3286	60,3257
		3	55,1946	55,1919	58,1711	58,1681	55,1942	55,1910
2	100	1	51,4980	51,4935	51,4987	51,4931	51,4978	51,4919
		2	52,5637	52,5578	50,7048	50,6993	50,7030	50,6972
		3	57,5113	57,5063	57,3266	57,3212	57,3256	57,3197
3	250	1	47,8786	47,8677	47,8787	47,8666	47,8779	47,8662
		2	50,9445	50,9329	50,9446	50,9338	50,9440	50,9325
		3	50,9463	50,9349	50,9464	50,9345	50,9460	50,9336
4	500	1	50,5724	50,5516	50,5715	50,5518	50,5715	50,5506
		2	52,7517	52,7317	52,7529	52,7319	52,7515	52,7304
		3	56,6809	56,6604	56,6806	56,6600	56,6808	56,6594
5	750	1	47,9035	47,8672	60,3658	60,3285	56,5309	56,4936
		2	56,6982	56,6602	52,8874	52,8471	48,3387	48,3012
		3	51,8031	51,7652	52,2347	52,1953	58,9029	58,8639
6	1000	1	58,4645	58,4163	58,4666	58,4187	58,4651	58,4160
		2	56,3880	56,3384	56,3882	56,3390	56,3866	56,3378
		3	57,5556	57,5056	57,5559	57,5061	57,5542	57,5055
7	2000	1	57,3719	57,2672	57,3667	57,2674	57,3636	57,2676
		2	52,2974	52,1965	52,2982	52,1965	52,2958	52,1970
		3	58,2697	58,1679	55,2888	55,1919	58,2686	58,1683
8	3000	1	51,6425	51,4925	52,1055	51,9527	57,4161	57,2676
		2	50,7017	50,5517	58,3181	58,1671	59,9320	59,7801
		3	52,8781	52,7319	61,5415	61,3931	63,0239	62,8723

Continuación Tabla 36

9	4000	1	58,5694	58,3775	53,0911	52,8872	63,5459	63,3506
		2	63,0714	62,8720	59,0645	58,8640	56,6887	56,4944
		3	48,5056	48,3006	51,9625	51,7657	59,9793	59,7802
10	5000	1	52,1990	51,9533	52,1936	51,9539	52,2040	51,9536
		2	61,6452	61,3947	61,6365	61,3947	61,6355	61,3945
		3	60,5730	60,3295	53,0980	52,8487	53,0978	52,8484
MRC	189	1	52,8580	52,8484	58,3871	58,3792	58,3873	58,3779
		2	59,7894	59,7799	52,5685	52,5596	62,8822	62,8725
		3	56,3481	56,3394	48,3104	48,3015	48,3106	48,3015

* A (g): peso del crisol + residuo seco (gramos)

* B (g): peso del crisol (gramos)

4.10.3 Fenoles

4.10.3.1 Datos obtenidos de la función respuesta durante la puesta a punto.

Tabla 37. Datos obtenidos de las rectas de calibración construidas durante la puesta a punto del método de Fenoles.

Concentración (P) mg/l	Nº de Lectura	DIA 1	DIA 2	DIA 3
		Absorbancia (L)	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)
0,00	1	0,000	0,000	0,000
	2	0,000	0,000	0,000
	3	0,000	0,000	0,000
0,02	1	0,132	0,126	0,119
	2	0,146	0,173	0,106
	3	0,152	0,158	0,129
0,05	1	0,282	0,310	0,237
	2	0,259	0,306	0,238
	3	0,302	0,328	0,257
0,25	1	1,221	1,289	1,229
	2	1,230	1,242	1,257
	3	1,243	1,339	1,248
0,50	1	2,510	2,502	2,376
	2	2,485	2,477	2,530
	3	2,608	2,615	2,510
0,80	1	3,647	3,686	3,653
	2	3,692	3,700	3,669
	3	3,718	3,717	3,676

4.10.3.2 Rectas de calibración utilizadas durante la validación.

Tabla 38. Datos de las rectas de calibración, utilizadas diariamente durante la validación de Fenoles

Concentración (P) mg/l	DIA 1	DIA 2	DIA 3
	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)
0,00	0,000	0,000	0,000
0,02	0,108	0,096	0,126
0,05	0,241	0,266	0,277
0,25	1,212	1,273	1,309
0,50	2,391	2,448	2,570
0,80	3,651	3,659	3,677

4.10.3.3 Concentraciones obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración

Tabla 39. Concentraciones de fenol obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.

Nivel	Concentración mg/l	Nº de Lectura	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
			mg/l	mg/l	mg/l
1	0,010	1	0,006	0,007	0,005
		2	0,009	0,009	0,007
		3	0,009	0,012	0,009
2	0,035	1	0,029	0,038	0,039
		2	0,032	0,039	0,036
		3	0,027	0,030	0,035
3	0,050	1	0,050	0,053	0,057
		2	0,057	0,053	0,050
		3	0,055	0,056	0,047
4	0,100	1	0,109	0,108	0,104
		2	0,105	0,118	0,105
		3	0,106	0,119	0,121
5	0,250	1	0,259	0,255	0,292
		2	0,258	0,257	0,252
		3	0,257	0,246	0,253
6	0,500	1	0,537	0,540	0,527
		2	0,529	0,575	0,518
		3	0,604	0,534	0,593

Continuación Tabla 39

7	0,800	1	0,931	0,874	0,862
		2	0,943	0,814	0,802
		3	0,945	0,890	0,803
88	1,200	1	1,327	1,302	1,287
		2	1,418	1,260	1,242
		3	1,369	1,254	1,230
9	1,600	1	1,769	1,784	1,756
		2	1,825	1,808	1,708
		3	1,826	1,740	1,748
10	2,500	1	2,775	2,841	2,725
		2	2,935	2,859	2,730
		3	2,790	2,917	2,875
MRC*	2,160	1	2,154	1,867	2,129
		2	2,169	2,085	2,145
		3	2,317	2,234	2,288

*Material de Referencia Certificado

4.10.4 Detergentes Aniónicos

4.10.4.1 Datos obtenidos de la función respuesta durante la puesta a punto.

Tabla 40. Datos obtenidos de las rectas de calibración construidas durante la puesta a punto del método de Detergentes Aniónicos.

Concentración (P) mg/l	Nº de Lectura	DIA 1	DIA 2	DIA 3
		Absorbancia (L)	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)
0,000	1	0,000	0,000	0,000
	2	0,000	0,000	0,000
	3	0,000	0,000	0,000
0,012	1	0,074	0,070	0,070
	2	0,089	0,071	0,071
	3	0,079	0,083	0,083
0,060	1	0,281	0,250	0,250
	2	0,361	0,308	0,308
	3	0,340	0,337	0,337
0,150	1	0,762	0,710	0,710
	2	0,879	0,821	0,821
	3	0,856	0,812	0,812

Continuación Tabla 40

0,300	1	1,565	1,582	1,582
	2	1,528	1,530	1,530
	3	1,424	1,558	1,558
0,600	1	3,168	3,050	3,050
	2	3,173	3,123	3,123
	3	3,059	3,154	3,154

4.10.4.2 Rectas de calibración utilizadas durante la validación.

Tabla 41. Datos de las rectas de calibración, utilizadas diariamente durante la validación de Detergentes Aniónicos

Concentración (P) mg/l	DIA 1	DIA 2	DIA 3
	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)	Absorbancia (L)
0,000	0,000	0,000	0,000
0,012	0,075	0,089	0,085
0,060	0,287	0,361	0,312
0,150	0,758	0,879	0,783
0,300	1,563	1,528	1,558
0,600	3,080	3,173	3,121

4.10.4.3 Concentraciones obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración

Tabla 42. Concentraciones de Detergente Aniónico obtenidas a diferentes niveles, por interpolación en la recta de calibración.

Nivel	Concentración, mg/l	Nº de	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
		Lectura	mg/l	mg/l	mg/l
1	0,010	1	0,014	0,004	0,017
		2	0,014	0,008	0,018
		3	0,014	0,006	0,015
2	0,020	1	0,023	0,021	0,021
		2	0,024	0,019	0,022
		3	0,021	0,020	0,019

Continuación Tabla 42

3	0,050	1	0,051	0,046	0,053
		2	0,049	0,043	0,050
		3	0,047	0,042	0,049
4	0,100	1	0,099	0,089	0,092
		2	0,097	0,088	0,094
		3	0,098	0,092	0,087
5	0,300	1	0,299	0,306	0,268
		2	0,293	0,301	0,287
		3	0,306	0,303	0,292
6	0,600	1	0,579	0,574	0,586
		2	0,576	0,554	0,589
		3	0,573	0,575	0,660
7	1,000	1	1,133	1,004	0,988
		2	1,112	0,965	1,000
		3	1,055	1,006	0,967
8	1,500	1	1,564	1,535	1,614
		2	1,568	1,485	1,623
		3	1,461	1,513	1,624
9	2,000	1	2,132	2,205	2,060
		2	2,050	2,022	2,179
		3	2,018	1,999	2,145
10	2,500	1	2,514	2,499	2,567
		2	2,551	2,551	2,580
		3	2,556	2,490	2,578
MRC*	0,571	1	0,534	0,527	0,543
		2	0,547	0,532	0,544
		3	0,533	0,527	0,542

*Material de Referencia Certificado

5. CÁLCULOS Y RESULTADOS

5.1 Cálculo de la concentración de Sólidos Totales en Suspensión

$$STS = \frac{(A - B) * 1000}{V_M} \quad (28)$$

Donde:

STS: concentración de Sólidos Totales en Suspensión, mg/l

A: peso del filtro + residuo seco, g

B: peso del filtro, g

V_M: volumen de muestra, l

Cálculo modelo de la concentración de Sólidos Totales en Suspensión para la muestra MF/STS/10/A. Según la ecuación (28)

$$STS = \frac{(0,1071 - 0,1063) * 1000}{0,1}$$

$$STS = 8 \text{ mg/l}$$

Tabla43. Resultados del cálculo de la concentración de Sólidos Totales en Suspensión, en todos los niveles

Nivel	Concentración, mg/l	Nº de	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
		Lectura	mg/l	mg/l	mg/l
1	10	1	8	8	10
		2	10	9	10
		3	9	9	9
2	30	1	30	32	34
		2	28	38	30
		3	32	30	30
3	50	1	50	46	49
		2	47	49	49
		3	48	47	48

Continuación de la Tabla 43

Nivel	Concentración mg/l	Nº de	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
		Lectura	mg/l	mg/l	mg/l
4	100	1	92	97	97
		2	94	97	99
		3	98	96	99
5	250	1	220	223	216
		2	228	225	227
		3	219	219	228
6	500	1	429	399	433
		2	410	434	416
		3	408	436	429
7	1000	1	1015	986	981
		2	941	993	972
		3	1003	1044	1046
8	2000	1	1947	2004	2033
		2	1966	1962	1825
		3	1932	1985	1981
9	3000	1	2991	3051	2975
		2	2989	2986	2949
		3	2990	3018	2933
10	4000	1	3875	3936	4018
		2	3996	4033	3965
		3	3933	4000	3898
MRC*	96	1	98	96	102
		2	96	94	100
		3	102	92	92

* Material de Referencia Certificado

5.2 Cálculo de la concentración de Sólidos Totales Disueltos

$$TDS = \frac{(A - B) \cdot 1000}{V_M} \quad (29)$$

Donde:

TDS: concentración de Sólidos Totales Disueltos, mg/l

A: peso del crisol + residuo seco, g

B: peso del crisol, g

V_M: volumen de muestra, l

Cálculo modelo de la concentración de Sólidos Totales Disueltos para la muestra MF/TDS/50/A.
Según la ecuación (29)

$$\text{TDS} = \frac{(52,5617 - 52,5587) * 1000}{0,05}$$

TDS = 60 mg/l

Tabla44. Resultados del cálculo de la concentración de Sólidos Totales Disueltos, en todos los niveles.

Nivel	Concentración mg/l	Nº de Lectura	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
			mg/l	mg/l	mg/l
1	50	1	60	54	66
		2	48	66	58
		3	54	60	64
2	100	1	90	112	118
		2	118	110	116
		3	100	108	118
3	250	1	218	242	234
		2	232	216	230
		3	228	238	248
4	500	1	416	394	418
		2	400	420	422
		3	410	412	428
5	750	1	726	746	746
		2	760	806	750
		3	758	788	780
6	1000	1	964	958	982
		2	992	984	976
		3	1000	996	974
7	2000	1	2094	1986	1920
		2	2018	2034	1976
		3	2036	1938	2006
8	3000	1	3000	3056	2970
		2	3000	3020	3038
		3	2924	2968	3032
9	4000	1	3838	4078	3906
		2	3988	4010	3886
		3	4100	3936	3982

Continuación Tabla 44

10	5000	1	4914	4794	5008
		2	5010	4836	4820
		3	4870	4986	4988
MRC	189	1	192	158	188
		2	190	178	194
		3	174	178	182

5.3 Tratamiento estadístico de los datos

Los cálculos que a continuación se describen son un cálculo modelo del parámetro Sólidos Totales en Suspensión para la muestra MF/STS/10/A

5.3.1 Precisión. La determinación de la precisión de un método se puede realizar calculando, a través del análisis simple de varianza (ANOVA de un factor), las desviaciones estándar de repetibilidad (S_r) y de reproducibilidad (S_R) para cada uno de los niveles de ensayo.

Tabla 45. Tabla resumen del cálculo del valor medio de las determinaciones, para el nivel de 10mg/l en Sólidos Totales en Suspensión

Número de Determinación	DIA 1 mg/l	DIA 2 mg/l	DIA 3 mg/l
1	8	8	10
2	10	9	10
3	9	9	9
Sumatoria	27	26	29
Valor medio	9	8,67	9,67
Media de Medias	27,33		

5.3.1.1 Cálculo del valor medio de las determinaciones diarias

Según la ecuación (26)

$$\bar{C}_i = \frac{8 + 10 + 9}{3}$$

$$\bar{C}_i = 9,00 \text{ mg/l}$$

5.3.1.2 Cálculo de la media de medias

Según la ecuación (27)

$$\bar{C} = \frac{9+8,67+9,67}{3}$$

$$\bar{C} = 9,11\text{mg/l}$$

5.3.1.3 Cálculo de la Suma de Diferencias Cuadráticas Dentro del Grupo “SDC_w”

$$SDC_w = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (C_{ij} - \bar{C}_i)^2 \quad (30)$$

$$SDC_w = (8-9)^2 + (10-9)^2 + (9-9)^2$$

$$SDC_w = 3,33$$

Tabla 46. Tabla resumen del cálculo de Varianzas para el nivel de 10mg/l en Sólidos Totales en Suspensión

Número de Determinación	DIA 1 mg/l	DIA 2 mg/l	DIA 3 mg/l
1	8	8	10
2	10	9	10
3	9	9	9
Valor Medio	9	8,67	9,67
Sumatoria de diferencias al cuadrado	2	0,67	0,67
Varianza	1	0,33	0,33

5.3.1.4 Cálculo del promedio de la Suma de Diferencias Cuadráticas Dentro del Grupo “DCM_w”

$$DCM_w = \frac{SDC_w}{\text{número de datos} - \text{número de grupos}} \quad (31)$$

$$DCM_w = \frac{3,333}{6}$$

$$DCM_w = 0,556$$

5.3.1.5 Cálculo de la Suma de Diferencias Cuadráticas Entre Grupos “SDC_B”

$$SDC_B = \sum_{i=1}^3 3(\bar{C}_i - \bar{C})^2$$

(32)

$$SDC_B = 3(9,00 - 9,11)^2 + 3(8,67 - 9,11)^2 + 3(9,67 - 9,11)^2$$

$$SDC_B = 1,556$$

5.3.1.6 Cálculo del promedio de la Suma de Diferencias Cuadráticas Entre Grupos “DCM_B”

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{\text{número de grupos} - 1} \quad (33)$$

$$DCM_B = \frac{1,556}{2}$$

$$DCM_B = 0,778$$

5.3.1.7 Cálculo de la Desviación Estándar por Repetibilidad “S_r”

$$s_r = \sqrt{DCM_w} \quad (34)$$

$$s_r = \sqrt{0,556}$$

$$s_r = 0,745$$

5.3.1.8 Cálculo de Precisión Intermedia “S_L”

$$s_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_w}{3} \quad (35)$$

$$s_L^2 = \frac{0,778 - 0,556}{3}$$

$$s_L^2 = 0,074$$

5.3.1.9 Cálculo de la Desviación Estándar por Reproducibilidad “S_R”

$$s_R = \sqrt{s_r^2 + s_L^2} \quad (36)$$

$$s_R = \sqrt{0,556 + 0,074}$$

$$s_R = 0,793$$

5.3.1.10 Cálculo del Coeficiente de Variación de Repetibilidad “CV_r”

$$\% CV_r = \frac{S_r}{C} * 100 \quad (37)$$

$$\% CV_r = \frac{0,745}{9,11} * 100$$

$$\% CV_r = 8,18$$

5.3.1.11 Cálculo del Coeficiente de Variación de Reproducibilidad “CV_R”

$$\% CV_R = \frac{S_R}{C} * 100 \quad (38)$$

$$\% CV_R = \frac{0,793}{9,11} * 100$$

$$\% CV_R = 8,71$$

Se sigue el mismo algoritmo de cálculo para el análisis de varianza de todos los métodos.

5.3.2 Determinación de la linealidad de la función respuesta

Cálculo modelo de la determinación de los criterios de linealidad para la recta de calibración del método de Detergentes Aniónicos. Los datos se ajustan a una recta cuya ecuación es del tipo:

$$L = mP + L_0 \quad (39)$$

Todos los parámetros relacionados se determinaron en una hoja de cálculo de Excel, en base a la siguiente tabla:

Tabla 47. Determinación de los parámetros de linealidad para la recta de calibración, obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.

VARIABLE	ECUACIÓN	FUNCION EXCEL	RESULTADO
Pendiente (m)	$m = \frac{P_i - P * L_i - L}{L_i - L^2}$	PENDIENTE	5,171
Intercepto (L ₀)			

	$L_o = \frac{\sum_{i=1}^N Li - m * \sum_{i=1}^N Pi}{n}$ <p>Donde n es el número de puntos de la recta</p>	INTERSECCIÓN. EJE	0,013
--	---	-------------------	-------

Continuación Tabla 47

Coefficiente de Determinación (r^2)	$r^2 = \frac{(Pi - P)(Li - L)}{(Pi - P)^2 * (Li - L)^2}$	Coefficiente r^2	0,998
Error Tipo de la Estimación de L ($S_{L,P}$)	$S_{L,P} = \frac{\sum_i (Li - L)^2}{n - 2}$	Error Típico L,P	0,055
Error Tipo de la Estimación de P ($S_{P,L}$)	$S_{P,L} = \frac{S_{L,P}}{m}$	N.A	0,011
Desviación Estándar de Pendiente (S_m)	$S_m = \frac{S_{L,P}}{(Pi - P)^2}$	$S_m = \frac{S_{L,P}}{\text{raiz}(\text{desviacion } 2 P)}$	0,061
Desviación Estándar de Intercepto (S_{L_o})	$S_{L_o} = S_{L,P} \frac{\sum_i Pi^2}{(Pi - P)^2}$	N.A	0,017
Grados de libertad	g.l= n-2	N.A	16
t de Student (t)	t (g.l; α)	DISTR. T. INV (α ,gl)	2,169

*L: Absorbancia estimada con la recta de regresión

*P: Concentración promedio

* L: Absorbancia promedio

* Pi: Concentración leída en un punto de calibración

* Li: Absorbancia leída en un punto de calibración

Tabla 48. Intervalos de confianza para la recta de calibración, obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.

VARIABLE	VALOR	ECUACIÓN	RESULTADO
Intervalos de confianza para Pendiente (ICm)	Mínimo	$ICm_{inferior} = m - S_m * t$	5,038
	Máximo	$ICm_{superior} = m + S_m * t$	5,304
Intervalos de confianza para Intercepto (ICLo)	Mínimo	$ICLo_{inferior} = L_o - S_{L_o} * t$	-0,024
	Máximo	$ICLo_{superior} = L_o + S_{L_o} * t$	0,050

Tabla 49. Residuales de la recta de calibración obtenida el primer día de la puesta a punto del método Detergentes Aniónicos.

Concentración (P) mg/l	Nº de Lectura	Absorbancia leída (L)	Absorbancia estimada (Li)	Li-L
0,000	1	0,000	0,013	0,013
	2	0,000		0,013
	3	0,000		0,013
0,012	1	0,074	0,075	0,001
	2	0,089		-0,014
	3	0,079		-0,004
0,060	1	0,281	0,323	0,042
	2	0,361		-0,038
	3	0,340		-0,017
0,150	1	0,762	0,789	0,027
	2	0,879		-0,090
	3	0,856		-0,067
0,300	1	1,565	1,564	-0,001
	2	1,528		0,036
	3	1,424		0,140
0,600	1	3,168	3,116	-0,052
	2	3,173		-0,057
	3	3,059		0,057

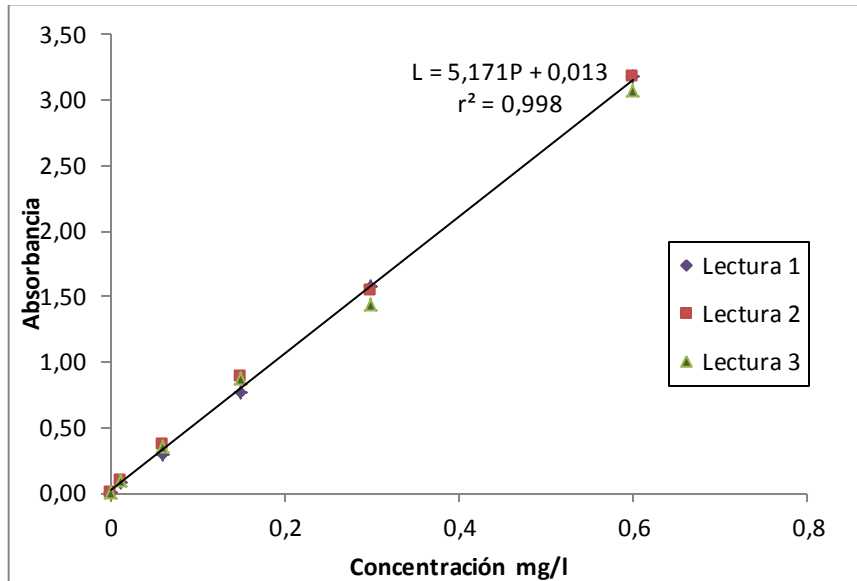


Gráfico 1. Recta de calibración del primer día para el método de Detergentes Aniónicos

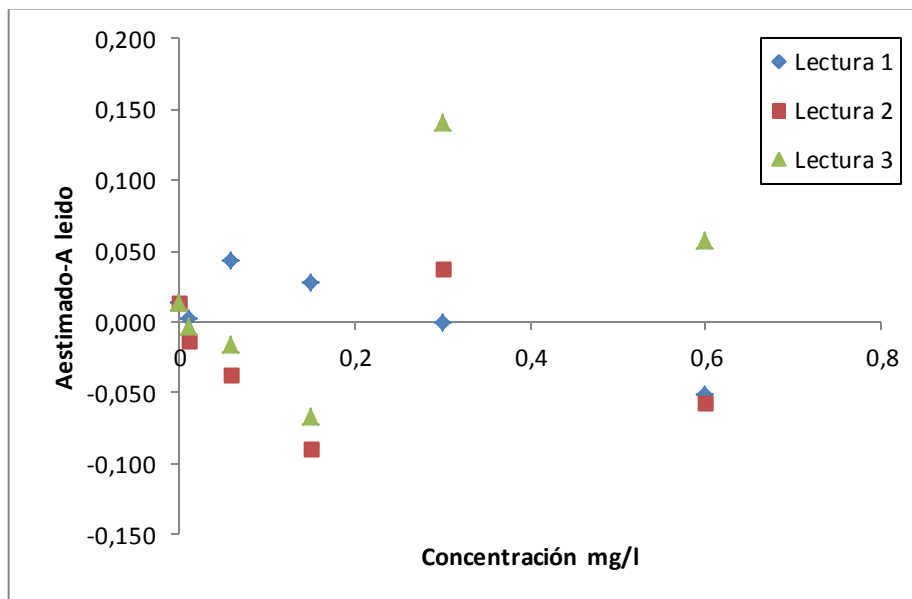


Gráfico 2. Residuales de la recta de calibración del primer día para el método de Detergentes Aniónicos

5.3.3 Cálculo de los parámetros de Validación

5.3.3.1 Límite de Detección. El límite de detección (LD) se calcula a partir de la recta de calibración del instrumento, obtenida durante la puesta a punto. Según la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{L_0 + t * s_{L_0} - L_0}{m} \quad (40)$$

$$LD = \frac{0,013 + 2,169 * 0,017 - 0,013}{5,171}$$

$$LD = 0,007 \text{ mg/l}$$

Para los métodos gravimétricos (Sólidos Totales en Suspensión y Sólidos Totales Disueltos) no aplica este parámetro.

5.3.3.2 Límite de Cuantificación. Para los métodos instrumentales, el límite de cuantificación (LC) se calcula a partir de la recta de calibración del instrumento, obtenida durante la puesta a punto. Según la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{L_0 + t^*s_{LP} - L_0}{m} \quad (41)$$

$$LC = \frac{0,013 + 2,169 * 0,055 - 0,013}{5,171}$$

$$LC = 0,023 \text{ mg/l}$$

Para los métodos gravimétricos, el límite de cuantificación (LC) es la concentración mínima del analito en una muestra y que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

5.3.3.3 Veracidad

- *Veracidad para muestras fortificadas*

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\bar{X}_{\text{obtenido}} - X_{\text{inicial}}}{X_{\text{adicionado}}} \times 100 \quad (42)$$

Siendo:

X_{obtenido} = Promedio de la concentración de analito medido en la muestra fortificada, mg/l

X_{inicial} = Concentración de la muestra sin fortificar, mg/l

$X_{\text{adicionado}}$ = Concentración adicionada a la muestra sin fortificar, mg/l

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{0,021 - 0,002}{0,018} \times 100$$

% Recuperación = 105,5

- **Veracidad para Material de Referencia Certificado**

$$\% \text{Recuperación} = \frac{\bar{X}_{\text{obtenido}}}{X_{\text{verdadero}}} \times 100 \quad (43)$$

Siendo:

X_{obtenido} = Promedio de la concentración de analito medido en la muestra, mg/l

$X_{\text{verdadero}}$ = Concentración verdadera del analito en la muestra, mg/l

$$\% \text{Recuperación} = \frac{0,537}{0,571} \times 100$$

% Recuperación = 93,97

5.4 Estimación de la Incertidumbre del Método.

5.4.1 Estimación de la incertidumbre del método de Sólidos Totales en Suspensión. Con referencia a los métodos gravimétricos, se presenta un cálculo modelo para el método de Sólidos Totales en Suspensión en la muestra MF/10/STS/A.

Con el fin de establecer todas las contribuciones a la incertidumbre de medida, se construye el siguiente Diagrama de Ishikawa:

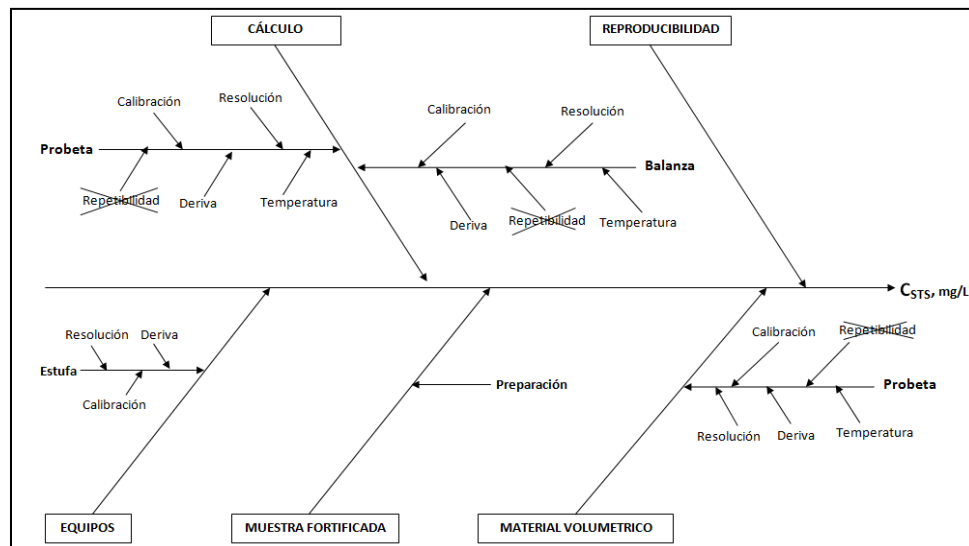


Figura 31. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método

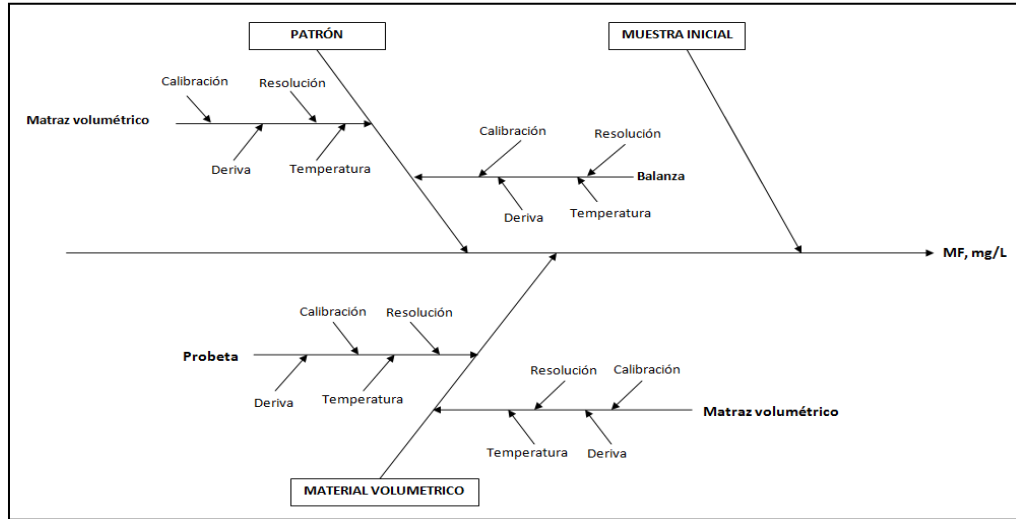


Figura 32. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre de la muestra fortificada

La siguiente ecuación define la forma de determinar la incertidumbre estándar de los sólidos totales en suspensión, aplicando **INCERTIDUMBRES RELATIVAS**, debido a que las variables que contribuyen a la incertidumbre tienen diferentes unidades:

$$\frac{u_{STS}}{STS} = \frac{u_{STS\text{ calculado}}^2}{STS^2} + \frac{u_{\text{material volumétrico}}^2}{V^2} + \frac{u_{\text{estufa}}^2}{T^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{MF^2} + \frac{u_{\text{reproducibilidad}}^2}{STS^2} \quad (44)$$

$$u_{STS} = STS \sqrt{\frac{u_{STS\text{ calculado}}^2}{STS^2} + \frac{u_{\text{material volumétrico}}^2}{V^2} + \frac{u_{\text{estufa}}^2}{T^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{MF^2} + \frac{u_{\text{reproducibilidad}}^2}{STS^2}} \quad (45)$$

Donde:

u_{STS} = Incertidumbre estándar de los Sólidos Totales en Suspensión, mg/l

STS = Promedio de concentración de Sólidos Totales en Suspensión en cada nivel, mg/l

$u_{STS\text{ calculado}}$ = Incertidumbre estándar de los Sólidos Totales en Suspensión calculados, mg/l

u_{estufa} = Incertidumbre estándar de la estufa, °C

T = Promedio de las Temperaturas registradas por la Estufa, °C

$u_{\text{material volumétrico}}$ = Incertidumbre estándar del material volumétrico, ml

V = Volumen del material volumétrico, ml

$u_{\text{Muestra fortificada}}$ = Incertidumbre estándar de la Muestra fortificada, mg/l

MF = Valor de concentración de la muestra fortificada, mg/l

$u_{\text{Reproducibilidad}}$ = Incertidumbre estándar de reproducibilidad, mg/l

La siguiente ecuación define la forma de determinar la **Incertidumbre Total Expandida de los Sólidos Totales en Suspensión:**

$$U = k u_{STS} + \text{Correcciones no Aplicadas} \quad (46)$$

$$U = 2u_{STS} + \text{Correcciones no Aplicadas}$$

$k = 2$, factor de cobertura a un nivel de confianza del 95,45%.

5.4.1.1 Incertidumbre debida al cálculo de la concentración de los Sólidos Totales en Suspensión. Para no considerar doble aporte por el pesaje, simplificamos la ecuación (28) por la siguiente:

$$STS = \frac{P}{V_M} \quad (47)$$

Hacer referencia a la ecuación (28)

Donde:

$$P = A - B$$

Debido a que la determinación de los Sólidos Totales en Suspensión es de forma indirecta hay que calcular los coeficientes de sensibilidad, de la siguiente manera:

$$u^2_{STS_{calculado}} = \sum_{i=1}^n C_i^2 u^2(x_i) \quad (48)$$

$$u_{STS_{calculado}} = \sqrt{C_P^2 u_{(balanza)}^2 + C_{V_M}^2 u_{(V_M)}^2} \quad (49)$$

C_P y C_{V_M} = Coeficientes de Sensibilidad

Coeficientes de Sensibilidad (C_i):

$$C_P = \frac{\partial STS}{\partial P} \frac{P}{V_M} = \frac{1}{V_M} \quad (50)$$

$$C_{V_M} = \frac{\partial STS}{\partial V_M} \frac{P}{V_M} = -\frac{P}{V_M^2} \quad (51)$$

Donde:

$\frac{\partial STS}{\partial P} V_M$ = Coeficiente de Sensibilidad de los Sólidos Totales Suspendedos con respecto a P.

$\frac{\partial STS}{\partial V_M} P$ = Coeficiente de Sensibilidad de los Sólidos Totales Suspendedos con respecto a V_M .

$$C_P = \frac{1}{0,1}$$

$$C_P = 10$$

$$C_{V_M} = -\frac{0,911}{(0,1)^2}$$

$$C_{V_M} = -91,11$$

- ***Cálculo de la incertidumbre estándar de la Balanza***

- ***Incertidumbre de Calibración***

$$u_{\text{calibración}} = \frac{U}{k} \tag{52}$$

Donde:

U = Se obtiene del Certificado de Calibración de la Balanza, g

k = 2, a un nivel de confianza del 95,45%.

$$u_{\text{calibración}} = \frac{0,0001}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,00005 \text{ g}$$

- ***Incertidumbre de Resolución***

$$u_{\text{resolución}} = \frac{\text{Especificación del Fabricante}}{3} \tag{53}$$

Donde:

Especificación del Fabricante: Se considera la Resolución de la Balanza, g

$$u_{\text{resolución}} = \frac{0,0001}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,00006 \text{ g}$$

- ***Incertidumbre de Deriva***

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{C_n - C_{n-1} \text{ max}}{\sqrt{3}} \quad (54)$$

Donde:

C_n = Corrección del certificado de calibración n, g

C_{n-1} = Corrección del certificado de calibración n-1, g

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{0,0003 - 0,0001 \text{ max}}{\sqrt{3}}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 0,0001 \text{ g}$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(T - T_{20}) * M * \alpha}{\sqrt{3}} \quad (55)$$

Donde:

T = Temperatura ambiental, °C

T_{20} = Temperatura de calibración de la balanza, °C

M = Valor pesado en la balanza, g

α = coeficiente de variación de temperatura ($2 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(23,4 - 20) * 0,4 * 0,000002}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,000002 \text{ g}$$

$$u_{\text{balanza}} = \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{resolución}}^2 + u_{\text{deriva}}^2 + u_{\text{temperatura}}^2} \quad (56)$$

$$u_{\text{balanza}} = \sqrt{(0,00005)^2 + (0,00006)^2 + (0,0012)^2 + (0,000002)^2}$$

$$u_{\text{balanza}} = 0,00014$$

$$U_{\text{balanza}} = k u_{\text{balanza}} + \text{Corrección no Aplicada Balanza} \quad (57)$$

$$U_{\text{balanza}} = 2 u_{\text{balanza}} + \text{Corrección no Aplicada Balanza}$$

$$U_{\text{balanza}} = 2(0,00014) + 0,0003 \text{ Balanza}$$

$$U_{\text{balanza}} = 0,00058 \text{ g}$$

$$u_{\text{balanza}} = \frac{U_{\text{balanza}}}{2} \quad (58)$$

$$u_{\text{balanza}} = \frac{0,00058}{2}$$

$$u_{\text{balanza}} = 0,00029 \text{ g} = 0,29 \text{ mg}$$

- ***Cálculo de la incertidumbre estándar del volumen de la muestra***

- ***Incertidumbre de Calibración***

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{0,037}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,0352 \text{ ml}$$

k= 2, a un nivel de confianza del 95,45%

- ***Incertidumbre de Resolución***

$$u_{\text{resolución}} = \frac{\text{Especificación del Fabricante}}{2 \sqrt{3}} \quad (59)$$

Donde:

Especificación del Fabricante: Se considera la Resolución de la probeta, ml

$$u_{\text{resolución}} = \frac{1}{2 \sqrt{3}}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,8660 \text{ ml}$$

- ***Incertidumbre de Deriva***

Según la ecuación (54)

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{0,458 - 0,519 \text{ max}}{\sqrt{3}}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 0,0352 \text{ ml}$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(T - T_{20}) * V * \alpha}{\sqrt{3}} \quad (60)$$

Donde:

T= Temperatura ambiental, °C

T₂₀ = Temperatura de calibración de la probeta, °C

V = Volumen medido, ml

α = coeficiente de dilatación del agua (0,00021 °C⁻¹)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(23,4 - 20) * 100 * 0,00021}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,0412 \text{ ml}$$

$$u_{V_M} = \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{resolución}}^2 + u_{\text{deriva}}^2 + u_{\text{temperatura}}^2} \quad (61)$$

$$u_{V_M} = \sqrt{(0,0185)^2 + (0,8660)^2 + (0,0352)^2 + (0,0412)^2}$$

$$u_{V_M} = 0,868 \text{ ml}$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{V_M} = 2(0,868) + 0,458 \text{ probeta}$$

$$U_{V_M} = 2,194$$

$$u_{V_M} = \frac{2,194}{2}$$

$$u_{V_M} = 1,097 \text{ ml} = 0,00111$$

Reemplazando los valores de los coeficientes de sensibilidad, C_p y C_{V_M} y las incertidumbres calculadas, en la ecuación (49) se tiene lo siguiente:

$$u_{\text{STS calculado}} = \sqrt{\left(\frac{1}{V_M}\right)^2 * u_{\text{(balanza)}}^2 + \left(-\frac{P}{V_M^2}\right)^2 * u_{(V_M)}^2} \quad (62)$$

$$u_{\text{STS calculado}} = \sqrt{(10 * 0,29)^2 + (-91,11)^2 * 0,0011^2}$$

$$u_{\text{STS calculado}} = 2,89 \text{ mg/l}$$

Tabla 50. Incertidumbre debida al cálculo de la concentración de los Sólidos Totales en Suspensión, determinado a todos los niveles.

Concentración (mg/l)	P _{medio} (mg)	C _P (1/l)	C _{VM} (mg/l ²)	(C _P *u _{balanza}) (mg/l)	(C _{VM} *u _{VM}) (mg/l)	u _{cálculo} (mg/l)	u _{cálculo}
9,11	0,91	10	-91,111	2,885	-0,100	2,89	0,317
31,56	3,16		-315,556		-0,346	2,91	0,092
48,11	4,81		-481,111		-0,528	2,93	0,061
96,56	9,66		-965,556		-1,059	3,07	0,032
222,78	22,28		-2227,778		-2,444	3,78	0,017
421,56	42,16		-4215,556		-4,624	5,45	0,013
997,89	99,79		-9978,889		-10,946	11,32	0,011
1959,44	195,94		-19594,444		-21,494	21,69	0,011
2986,89	298,69		-29868,889		-32,764	32,89	0,011
3961,56	396,16		-39615,556		-43,455	43,55	0,011

5.4.1.2 Cálculo de la Incertidumbre Estándar de la Estufa

- **Incertidumbre de Calibración**

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{1,1}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,550 \text{ } ^\circ\text{C}$$

k= 2, a un nivel de confianza del 95,45%

- **Incertidumbre de Resolución**

Según la ecuación (53)

$$u_{\text{resolución}} = \frac{1}{3}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,577 \text{ } ^\circ\text{C}$$

- **Incertidumbre de Deriva**

Según la ecuación (54)

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{1,1}{3}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 0,635$$

$$u_{\text{estufa}} = \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{resolución}}^2 + u_{\text{deriva}}^2} \quad (63)$$

$$u_{\text{estufa}} = \sqrt{(0,550)^2 + (0,577)^2 + (0,635)^2}$$

$$u_{\text{estufa}} = 1,019 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{\text{estufa}} = 2(1,019) + 2,3 u_{\text{estufa}}$$

$$U_{\text{estufa}} = 4,339 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$u_{\text{estufa}} = \frac{4,339}{2}$$

$$u_{\text{estufa}} = 2,169 \text{ } ^\circ\text{C}$$

5.4.1.3 Cálculo de la Incertidumbre Estándar del Material Volumétrico

Este aporte a la incertidumbre se debe a la probeta de 10ml utilizada para realizar el lavado del filtro, una vez que ha terminado la filtración de la muestra.

- ***Incertidumbre de Calibración***

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{0,032}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,016 \text{ ml}$$

k= 2, a un nivel de confianza del 95,45%

- ***Incertidumbre de Resolución***

Según la ecuación (59)

$$u_{\text{resolución}} = \frac{0,2}{2 \sqrt{3}}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,173 \text{ ml}$$

- ***Incertidumbre de Deriva***

Según la ecuación (54)

$$u_{\text{(deriva)}} = \frac{0,014 - 0,021 \text{ max}}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{(deriva)}} = 0,004$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

Según la ecuación (60)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(23,4 - 20) * 10 * 0,00021}{3}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,004 \text{ ml}$$

$$u_{\text{material volumétrico}} = \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{resolución}}^2 + u_{\text{derivada}}^2 + u_{\text{temperatura}}^2} \quad (64)$$

$$u_{\text{material volumétrico}} = \sqrt{(0,016)^2 + (0,173)^2 + (0,004)^2 + (0,004)^2}$$

$$u_{\text{material volumétrico}} = 0,174 \text{ ml}$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{\text{material volumétrico}} = 2(0,174) + 0,014 \text{ probeta}$$

$$U_{\text{material volumétrico}} = 0,362 \text{ ml}$$

$$u_{\text{material volumétrico}} = \frac{0,362}{2}$$

$$u_{\text{material volumétrico}} = 0,181 \text{ ml}$$

5.4.1.4 Cálculo de la Incertidumbre por Reproducibilidad

ANOVA → REPRODUCIBILIDAD → S_R

$$u_R = \frac{S_R}{\sqrt{n}} \quad (65)$$

Donde:

S_R = Desviación estándar por Reproducibilidad, mg/l

n = número de repeticiones

$$u_R = \frac{0,793}{\sqrt{9}}$$

$$u_R = 0,264 \text{ mg/l}$$

Tabla 51. Incertidumbre debida a la Reproducibilidad del método para la determinación de Sólidos Totales en Suspensión

Nivel	Concentración (Ci) mg/l	SR mg/l	$u = \frac{SR}{\sqrt{n}}$	u/Ci
1	9,11	0,793	0,264	0,029
2	31,56	2,981	0,994	0,031
3	48,11	1,291	0,430	0,009
4	96,56	2,411	0,804	0,008
5	222,78	5,099	1,700	0,008
6	421,56	14,678	4,893	0,012
7	997,89	37,461	12,487	0,013
8	1959,44	64,420	21,473	0,011
9	2986,89	37,830	12,610	0,004
10	3961,56	56,895	18,965	0,005

5.4.1.5 Cálculo de la Incertidumbre Estándar de la preparación de la muestra fortificada.

$$u_{MF} = \sqrt{u_{\text{dilución}}^2 + u_{Ci}^2} \quad (66)$$

Donde:

u_{Ci}^2 = Incertidumbre estándar de la concentración inicial de la muestra, mg/l

a. Cálculo de la incertidumbre estándar de la preparación de la suspensión patrón

$$Q_p = \frac{m_p}{V_{\text{aforo}}} \quad (67)$$

Donde:

Q_p = Concentración preparada del patrón, mg/l

m_p = Valor pesado del patrón, g

V_{aforo} = Volumen de aforo, ml

$$u_{\text{patrón}} = C_{\text{patrón}} \sqrt{\frac{u_{\text{(balanza)}}^2}{m_i} + \frac{u_{\text{(matraz)}}^2}{V_{\text{matraz}}}} \quad (68)$$

- **Incertidumbre de la balanza**

La Incertidumbre se calcula de acuerdo a lo descrito en el numeral 5.4.1.1.

- **Incertidumbre del balón aforado**

$$u_{\text{balón}} = \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{derivada}}^2 + u_{\text{temperatura}}^2} \quad (69)$$

- **Incertidumbre de Calibración**

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{0,087}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,044 \text{ ml}$$

k= 2, a un nivel de confianza del 95,45%

- ***Incertidumbre de Deriva***

Según la ecuación (54)

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{-0,292 - 1,054 \text{ max}}{3}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 0,777 \text{ ml}$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

Según la ecuación (60)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(23,4 - 20) * 1000 * 0,00021}{3}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,412 \text{ ml}$$

$$u_{\text{balón}} = \sqrt{(0,044)^2 + (0,777)^2 + (0,412)^2}$$

$$u_{\text{balón}} = 0,881 \text{ ml}$$

Según la ecuación (58) y (59)

$$U_{\text{balón}} = 2(0,881) + -0,292 \text{ balón}$$

$$U_{\text{balón}} = 2,054$$

$$u_{\text{balón}} = \frac{2,054}{2}$$

$$u_{\text{balón}} = 1,027 \text{ ml}$$

b. Cálculo de la incertidumbre estándar de la dilución de la suspensión patrón

$$Q_f = \frac{Q_i V_i}{V_f} \tag{70}$$

Donde:

Q_f = Concentración preparada, mg/l

Q_i = Concentración del patrón, mg/l

V_f = Volumen de aforo, ml

V_i = Volumen de la alícuota, ml

$$u^2_{\text{dilución}} = \sum_{i=1}^n C_i^2 u^2(x_i) \quad (71)$$

$$u_{\text{dilución}} = \sqrt{C_{Q_i} * u_{(\text{patrón})}^2 + C_{V_i} * u_{(\text{probeta})}^2 + C_{V_f} * u_{(\text{matraz})}^2} \quad (72)$$

C_{Q_i} , C_{V_i} y C_{V_f} = Coeficientes de Sensibilidad

Coeficientes de Sensibilidad (C_i):

$$C_{Q_i} = \frac{\partial Q_f}{\partial Q_i} \frac{V_i}{V_f} = \frac{V_i}{V_f} \quad (73)$$

$$C_{V_i} = \frac{\partial Q_f}{\partial V_i} \frac{Q_i}{V_f} = \frac{Q_i}{V_f} \quad (74)$$

$$C_{V_f} = \frac{\partial Q_f}{\partial V_f} \frac{Q_i}{V_i} = -\frac{Q_i * V_i}{V_f^2} \quad (75)$$

Donde:

$\frac{\partial Q_f}{\partial Q_i} \frac{V_i}{V_f}$ = Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a Q_i .

$\frac{\partial Q_f}{\partial V_i} \frac{Q_i}{V_f}$ = Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a V_i .

$\frac{\partial Q_f}{\partial V_f} \frac{Q_i}{V_i}$ = Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a V_f .

$$C_{Q_i} = \frac{0,014}{1}$$

$$C_{Q_i} = 0,014$$

$$C_{V_i} = \frac{500 \text{ mg/l}}{11}$$

$$C_{V_i} = 500 \text{ mg/l}^2$$

$$C_{V_f} = -\frac{500 * 0,014}{1^2}$$

$$C_{V_f} = -7 \text{ mg/l}^2$$

Reemplazando los valores de los coeficientes de sensibilidad, C_{Q_i} , C_{V_i} y C_{V_f} en la ecuación (72) se tiene lo siguiente:

$$u_{\text{dilución}} = \frac{\left(\frac{V_i}{V_f}\right)^2 * u_{(\text{patrón})}^2 + \left(\frac{Q_i}{V_f}\right)^2 * u_{(\text{probeta})}^2 + \left(-\frac{Q_i * V_i}{V_f^2}\right)^2 * u_{(\text{matraz})}^2}{2} \quad (76)$$

$$u_{\text{dilución}} = \frac{(0,014)^2 * 0,589^2 + (500)^2 * 0,0011^2 + (-7)^2 * 0,001^2}{2}$$

$$u_{\text{dilución}} = 0,550 \text{ mg/l}$$

c. Cálculo de la incertidumbre estándar de la concentración inicial de la muestra

$$u_{Q_i} = \frac{s_{Q_i}}{n} \quad (77)$$

Donde:

S_{Q_i} = Desviación estándar de la concentración inicial de la muestra, mg/l

n = Numero de determinaciones de la concentración inicial de la muestra.

$$u_{Q_i} = \frac{1,00}{3}$$

$$u_{Q_i} = 0,577 \text{ mg/l}$$

Tabla 52. Incertidumbre de bida a la concentración inicial de la muestra de Sólidos Totales en Suspensión

MUESTRA	1	2	3	4
Lectura 1 (mg/l)	3	12	13	75
Lectura 2 (mg/l)	4	8	9	87
Lectura 3 (mg/l)	2	11	11	82
Promedio	3,00	10,33	11,00	81,33
Desviación estándar	1,00	2,08	2,00	6,03
$u_{Q_i} = \frac{s_{Q_i}}{n}$	0,577	1,202	1,155	3,480

$$u_{MF} = \sqrt{(0,550)^2 + (0,577)^2}$$

$$u_{MF} = 0,798 \text{ mg/l}$$

5.4.1.6 Correcciones no Aplicadas. Las correcciones fueron aplicadas al inicio del cálculo, según cada caso. Por tanto, las correcciones no aplicadas solo estarían dadas por:

$$\text{Correcciones no Aplicadas} = C_{\text{obtenido}} - C_{\text{verdadero bias}} \quad (78)$$

Donde:

C_{obtenido} : Promedio de la concentración obtenida, mg/l

$C_{\text{verdadero}}$: Concentración verdadera, mg/l

$$\text{Correcciones no Aplicadas} = 96 - 97_{\text{bias}}$$

$$\text{Correcciones no Aplicadas} = 1 \text{ mg/l}$$

Finalmente se estima la incertidumbre del método, según la ecuación (44):

$$u_{STS} = STS \sqrt{\frac{u_{STS\text{calculado}}^2}{STS^2} + \frac{u_{\text{material volumétrico}}^2}{V^2} + \frac{u_{\text{estufa}}^2}{T^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{MF^2} + \frac{u_{\text{reproducibilidad}}^2}{STS^2}}$$

$$u_{STS} = 9,11 \text{ mg/l} \sqrt{\frac{(2,89 \text{ mg/l})^2}{(9,11 \text{ mg/l})^2} + \frac{(0,181 \text{ ml})^2}{(10 \text{ ml})^2} + \frac{(2,17^\circ\text{C})^2}{(104,66^\circ\text{C})^2} + \frac{(0,798 \text{ mg/l})^2}{(10 \text{ mg/l})^2} + \frac{(0,264 \text{ mg/l})^2}{(9,11 \text{ mg/l})^2}}$$

$$u_{STS} = 3,00 \text{ mg/l}$$

$$U_{STS} = 2(3,00) + 1$$

$$U_{STS} = 7,00 \text{ mg/l}$$

$$\%U_{STS} = \frac{7,00 \text{ mg/l}}{9,11 \text{ mg/l}} * 100$$

$$\%U_{STS} = 76,81$$

Tabla 53. Incertidumbre para la determinación de Sólidos Totales en Suspensión a todos los niveles

Nivel	Concentración, mg/l	u_c , mg/l	$U_{\text{expandida}}$ mg/l	%U
1	9,11	3,00	7,00	76,81
2	31,56	3,48	7,96	25,23
3	48,11	3,47	7,94	16,51
4	96,56	5,36	11,72	12,14
5	222,78	8,40	17,79	7,99
6	421,56	14,22	29,45	6,99
7	997,89	32,90	66,80	6,69
8	1959,44	63,05	127,11	6,49
9	2986,89	91,10	183,21	6,13
10	3961,56	121,10	243,20	6,14

5.4.2 Estimación de la incertidumbre del método de Detergentes Aniónicos. Con referencia a los métodos Instrumentales, se presenta un cálculo modelo para el método de Detergentes Aniónicos.

Con el fin de establecer todas las contribuciones a la incertidumbre de medida, se construyó el siguiente diagrama de Ishikawa:

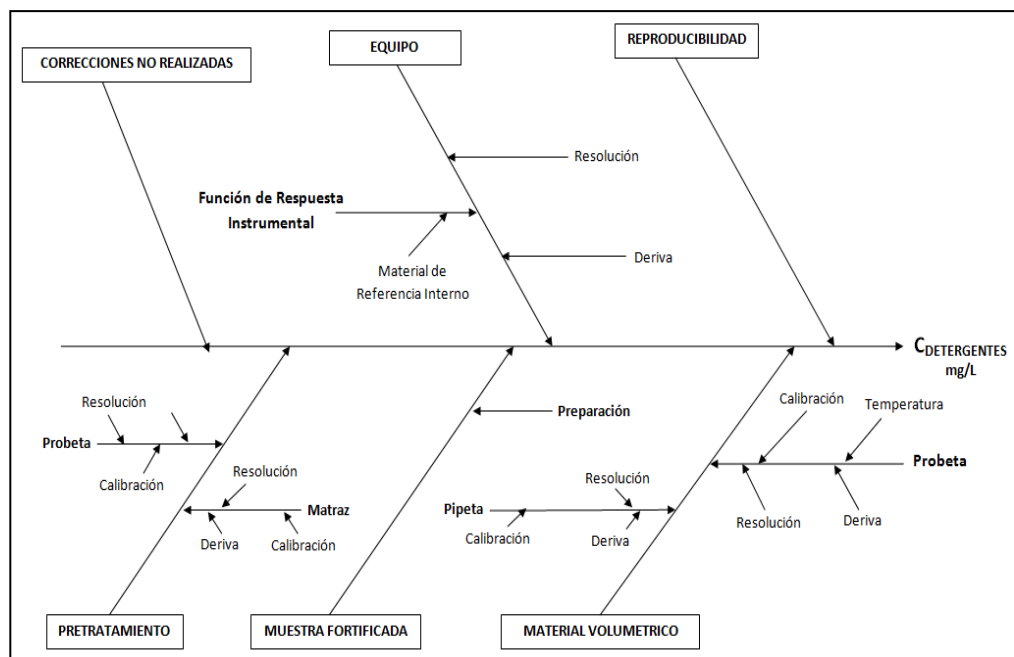


Figura 33. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método

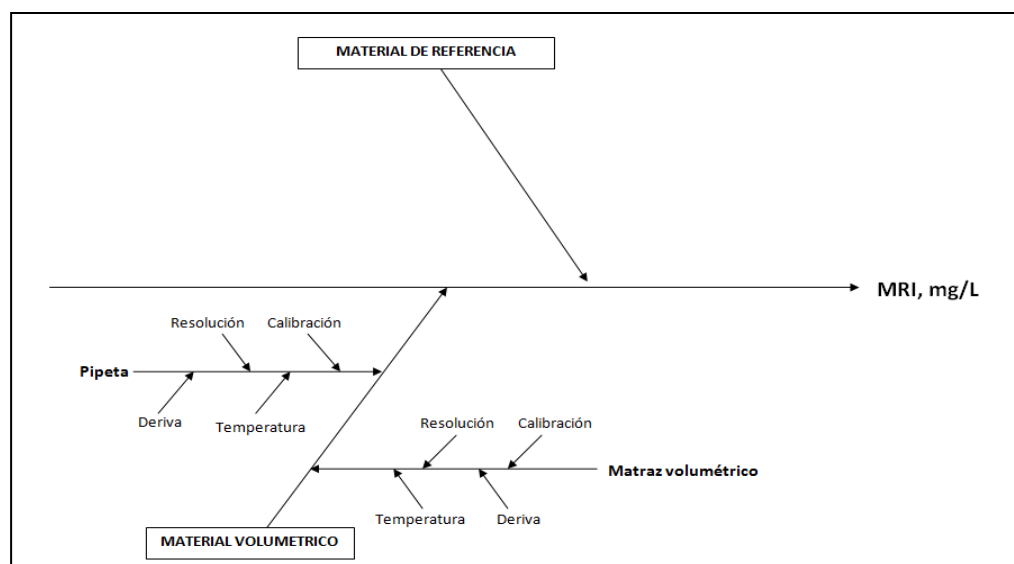


Figura 34. Diagrama de Ishikawa para la preparación del material de referencia interno

La siguiente ecuación define la forma de determinar la incertidumbre estándar de los Detergentes Aniónicos, aplicando **INCERTIDUMBRES RELATIVAS**, debido a que las variables que contribuyen a la incertidumbre tienen diferentes unidades:

$$\frac{u_{\text{Detergentes}}}{C_{\text{Detergentes}}} = \frac{u_{\text{espectrofotómetro}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{\text{Muestra fortificada}^2} + \frac{u_{\text{Reproducibilidad}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + u_{r, \text{ volumétrico}} + u_{r, \text{ pretratamiento}} \quad (79)$$

$$u_{\text{Detergentes}} = C_{\text{Detergentes}} \sqrt{\frac{u_{\text{espectrofotómetro}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{\text{Muestra fortificada}^2} + \frac{u_{\text{Reproducibilidad}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + u_{r, \text{ volumétrico}} + u_{r, \text{ pretratamiento}}} \quad (80)$$

Donde:

$u_{\text{Detergentes}}$ = Incertidumbre estándar del método de determinación de detergentes aniónicos, mg/l

$C_{\text{Detergentes}}$ = Promedio de la concentración de detergentes aniónicos en cada nivel, mg/l

$u_{\text{espectrofotómetro}}$ = Incertidumbre estándar de la lectura del espectrofotómetro, mg/l

$u_{\text{Muestra fortificada}}$ = Incertidumbre estándar de la muestra fortificada, mg/l

Muestra fortificada = Valor de concentración de la muestra fortificada, mg/l

$u_{\text{Reproducibilidad}}$ = Incertidumbre estándar de reproducibilidad, mg/l

$u_{r, \text{ volumétrico}}$ = Incertidumbre relativa del material volumétrico

$u_{r, \text{ pretratamiento}}$ = Incertidumbre relativa del pretratamiento

La siguiente ecuación define la forma de determinar la **Incertidumbre Total Expandida de detergentes aniónicos**:

$$U_{\text{Detergentes Aniónicos}} = k u_{\text{Detergentes Aniónicos}} + \text{Correcciones no Aplicadas} \quad (81)$$

$k = 2$, para un nivel de confianza del 95,45%

5.4.2.1 Cálculo de la Incertidumbre estándar de la lectura del espectrofotómetro.

Cálculo modelo para el punto de calibración de 0,01mg/l:

$$\frac{u_{\text{espectrofotómetro}}}{C_{Pn}} = \frac{u_{FR}^2}{C_{Pn}^2} + \frac{u_{\text{resolución}}^2}{A_{Pn}^2} + \frac{u_{\text{derivada}}^2}{A_{Pn}^2} + \frac{u_{MFI}^2}{C_{Pn}^2} \quad (82)$$

Donde:

u_{FR} = Incertidumbre estándar de la función de respuesta instrumental, mg/l

C_{Pn} = Concentración del punto de calibración a cada nivel, mg/l

$u_{\text{resolución}}$ = Incertidumbre estándar de la resolución del espectrofotómetro, Absorbancia.

A_{Pn} = Absorbancia del punto de calibración a cada nivel, Absorbancia

u_{deriva} = Incertidumbre estándar de la deriva del espectrofotómetro, Absorbancia.

u_{MRI} = Incertidumbre estándar del material de referencia interno, mg/l

a. Cálculo de la incertidumbre estándar de la preparación del material de referencia interno.

• **Incertidumbre del material de referencia certificado**

$$u_{\text{MRC}} = \frac{\pm a}{\sqrt{3}} \quad (83)$$

Donde:

a: Incertidumbre del material de referencia certificado.

$$u_{\text{MRC}} = \frac{3,6}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{MRC}} = 2,078 \text{ mg/l}$$

• **Incertidumbre de la dilución del material de referencia certificado**

$$Q_{\text{MRI}} = \frac{Q_{\text{MRC}} V_{\text{MRC}}}{V_{\text{MRI}}} \quad (84)$$

Donde:

Q_{MRI} = Concentración preparada del material de referencia interno, mg/l

Q_{MRC} = Concentración del material de referencia, mg/l

V_{MRI} = Volumen del material de referencia interno preparado, ml

V_{MRC} = Volumen del material de referencia, ml

$$u^2_{\text{MRI}} = \sum_{i=1}^n C_i^2 u^2(x_i) \quad (85)$$

$$u_{\text{MRI}} = \sqrt{C_{\text{QMRC}}^2 * u_{(\text{MR})}^2 + C_{\text{VMRC}}^2 * u_{(\text{micropipeta})}^2 + C_{\text{VMRI}}^2 * u_{(\text{balón})}^2} \quad (86)$$

C_{QMRC} , C_{VMRC} y C_{VMRI} = Coeficientes de Sensibilidad

Coeficientes de Sensibilidad (C_i):

$$C_{\text{QMRC}} = \frac{\partial Q_{\text{MRI}}}{\partial Q_{\text{MRC}}} = \frac{V_{\text{MRC}}}{V_{\text{MRI}}} \quad (87)$$

$$C_{V_{MRC}} = \frac{\partial Q_{MRI}}{\partial V_{MRC}} \frac{Q_{MRC} V_{MRI}}{Q_{MRC} V_{MRI}} = \frac{Q_{MRC}}{V_{MRI}} \quad (88)$$

$$C_{V_{MRI}} = \frac{\partial Q_{MRI}}{\partial V_{MRI}} \frac{Q_{MRC} V_{MRI}}{Q_{MRC} V_{MRI}} = -\frac{Q_{MRC} V_{MRC}}{V_{MRI}^2} \quad (89)$$

Donde:

$$\frac{\partial Q_{MRI}}{\partial Q_{MRC}} \frac{Q_{MRC} V_{MRI}}{Q_{MRC} V_{MRI}} = \text{Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a } Q_{MRC}.$$

$$\frac{\partial Q_{MRI}}{\partial V_{MRC}} \frac{Q_{MRC} V_{MRI}}{Q_{MRC} V_{MRI}} = \text{Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a } V_{MRC}.$$

$$\frac{\partial Q_{MRI}}{\partial V_{MRI}} \frac{Q_{MRC} V_{MRI}}{Q_{MRC} V_{MRI}} = \text{Coeficiente de Sensibilidad de la concentración preparada con respecto a } V_{MRI}.$$

$$C_{Q_{MRC}} = \frac{0,0001}{0,5} = 0,0002$$

$$C_{V_{MRC}} = \frac{60}{0,5} = 120 \text{ mg/l}^2$$

$$C_{V_{MRI}} = -\frac{60 * 0,0001}{(0,5)^2} = -0,02 \text{ mg/l}^2$$

➤ *Incertidumbre de la pipeta electrónica*

Cálculo modelo para la pipeta electrónica de 1000 µl

- *Incertidumbre de Calibración*

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{1,46}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,73 \text{ µl}$$

k= 2, a un nivel de confianza del 95,45%

- *Incertidumbre de Resolución*

Según la ecuación (53)

$$u_{\text{resolución}} = \frac{1}{3}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,577 \mu\text{l}$$

- ***Incertidumbre de Deriva***

Según la ecuación (54)

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{-3,84 - 1,02 \text{ max}}{3}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 1,628 \mu\text{l}$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

Según la ecuación (60)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(20,4 - 20) * 1000 * 0,00021}{3}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,0048 \mu\text{l}$$

$$u_{\text{pipeta electrónica}} = \sqrt{(0,730)^2 + (0,577)^2 + (1,628)^2 + (0,0048)^2} \quad (90)$$

$$u_{\text{pipeta electrónica}} = 1,875$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{\text{pipeta}} = 2(1,875) + 3,84_{\text{pipeta}}$$

$$U_{\text{pipeta}} = 7,591 \mu\text{l}$$

$$u_{\text{pipeta}} = \frac{7,591}{2}$$

$$u_{\text{pipeta}} = 3,795 \mu\text{l} = 3,795 \times 10^{-6} \text{l}$$

Para la estimación de la incertidumbre del balón aforado se hace referencia a la ecuación (69)

$$u_{\text{balón}} = 0,0006 \text{l}$$

Reemplazando los valores de los coeficientes de sensibilidad, C_{QMR} , C_{VMR} y C_{VMRI} y las incertidumbres relacionadas, en la ecuación (86) se tiene lo siguiente:

$$u_{MRI} = \sqrt{\frac{u_{MR} \cdot V_{MRC}}{V_{MRI}}^2 + \frac{u_{\text{micropipeta}} \cdot Q_{MRC}}{V_{MRI}}^2 + \frac{u_{(\text{balón})} \cdot Q_{MRC} \cdot V_{MRC}}{V_{MRI}^2}} \quad (91)$$

$$u_{MRI} = \sqrt{0,0002 * 2,078^2 + 120 * 3,795 \times 10^{-6}^2 + -0,024 * 0,0006^2}$$

$$u_{\text{MRI}} = 0,0006 \text{ mg/l}$$

Tabla 54. Incertidumbre debida a la preparación del material de referencia interno, utilizado para la calibración.

Q _{MR} (mg/l)	V _{MR} (l)	V _{MRI} (l)	C _{QMR}	C _{VMR} (mg/l ²)	C _{VMRI} (mg/l ²)	C _{QMR} *u _{MR} (mg/l)	C _{VMR} *u _{pipeta} (mg/l)	C _{VMRI} *u _{balón} (mg/l)	u _{MRI} (mg/l)
60	0,0001	0,5	0,0002	120	-0,02	0,0004	0,0005	-0,00001	0,0006
60	0,0005		0,0010	120	-0,12	0,0021	0,0005	-0,00007	0,0021
60	0,0013		0,0025	120	-0,30	0,0052	0,0045	-0,00017	0,0069
60	0,0025		0,0050	120	-0,60	0,0104	0,0045	-0,00035	0,0113
60	0,0050		0,0100	120	-1,20	0,0208	0,0045	-0,00070	0,0213

b. Cálculo de la incertidumbre estándar de la función respuesta

$$u_{\text{FR}} = \frac{C_{\text{estimada}} - C_{\text{verdadera máx}}}{\sqrt{3}} \quad (92)$$

Donde:

C_{estimada} = Concentración leída en cada punto de calibración, mg/l

C_{verdadera} = Concentración verdadera en cada punto de calibración, mg/l

$$u_{\text{FR}} = \frac{0,015 - 0,012 \text{ máx}}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{FR}} = 0,0018 \text{ mg/l}$$

• **Incertidumbre de Resolución del espectrofotómetro**

Según la ecuación (53)

$$u_{\text{resolución}} = \frac{0,001}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{resolución}} = 0,0006 \text{ Abs}$$

• **Incertidumbre de Deriva del espectrofotómetro**

Según la ecuación (54)

$$u_{\text{(deriva)}} = \frac{0,009}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{(deriva)}} = 0,0052 \text{ Abs}$$

$$u_{\text{espectrofotómetro}} = 0,012 \sqrt{\frac{0,0018^2}{0,012} + \frac{0,0006^2}{0,083} + \frac{0,0052^2}{0,083} + \frac{0,0006^2}{0,012}}$$

$$u_{\text{espectrofotómetro}} = 0,0021 \text{ mg/l}$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{\text{espectrofotómetro}} = 2(0,0021) + 0_{\text{espectrofotómetro}}$$

$$U_{\text{espectrofotómetro}} = 0,0041 \text{ mg/l}$$

$$u_{\text{espectrofotómetro}} = \frac{0,0041}{2}$$

$$u_{\text{espectrofotómetro}} = 0,0021 \text{ mg/l}$$

Tabla 55. Incertidumbre debida a la lectura de las concentraciones en el espectrofotómetro

Concentración mg/l	u_{FR}	$u_{\text{resolución}}$	u_{deriva}	u_{MRI}	$u_{\text{espectrofotómetro}}$ mg/l	$U_{\text{expandida}}$ +CNR	$u_{\text{espectrofotómetro}}$ mg/l
0,014	0,1276	0,0070	0,0626	0,0448	0,0021	0,0041	0,0021
0,059	0,0373	0,0018	0,0162	0,0358	0,0032	0,0064	0,0032
0,153	0,0483	0,0007	0,0315	0,0449	0,0112	0,0454	0,0227
0,297	0,0247	0,0004	0,0164	0,0382	0,0144	0,0517	0,0259
0,601	0,0027	0,0002	0,0020	0,0354	0,0214	0,0518	0,0259

5.4.2.2 Cálculo de la Incertidumbre Estándar del material volumétrico utilizado en el ensayo.

a. Incertidumbre estándar de la pipeta

- **Incertidumbre de Calibración**

Según la ecuación (52)

$$u_{\text{calibración}} = \frac{0,001}{2}$$

$$u_{\text{calibración}} = 0,0005 \text{ ml}$$

k=2, factor de cobertura a un nivel de confianza del 95,45%

- ***Incertidumbre de Deriva***

Según la ecuación (54)

$$u_{(\text{deriva})} = \frac{0,02 - 0,019 \text{ max}}{\sqrt{3}}$$

$$u_{(\text{deriva})} = 0,0006 \text{ ml}$$

- ***Incertidumbre por Temperatura***

Según la ecuación (60)

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{(20,4 - 20) * 10 * 0,0021}{\sqrt{3}}$$

$$u_{\text{temperatura}} = 0,005 \text{ ml}$$

$$u_{\text{pipeta}} = \sqrt{(0,0005)^2 + (0,0006)^2 + (0,0005)^2} \quad (93)$$

$$u_{\text{pipeta}} = 0,009 \text{ ml}$$

Según la ecuación (57) y (58)

$$U_{\text{pipeta}} = 2(0,009) + 0,02 \text{ pipeta}$$

$$U_{\text{pipeta}} = 0,0218 \text{ ml}$$

$$u_{\text{pipeta}} = \frac{0,0218 \text{ ml}}{2}$$

$$u_{\text{pipeta}} = 0,0109 \text{ ml}$$

Se sigue el mismo procedimiento para la estimación de la incertidumbre por el uso de la probeta de 50ml y 500ml.

$$u_{r_{\text{m. volumétrico}}} = \frac{u_{\text{pipeta}}^2}{V_{\text{pipeta}}^2} + \frac{u_{\text{probeta-500}}^2}{V_{\text{probeta-500}}^2} + \frac{u_{\text{probeta-50}}^2}{V_{\text{probeta-50}}^2} \quad (94)$$

$$u_{r_{\text{m. volumétrico}}} = \frac{0,0109^2}{10^2} + \frac{5,5184^2}{500^2} + \frac{1,0951^2}{50^2}$$

$$u_{r_{\text{m. volumétrico}}} = 0,0006$$

Tabla 56. Incertidumbre debida al aporte del material volumétrico utilizado en el ensayo de Detergentes Aniónicos

INCERTIDUMBRE			
Componente	Pipeta (10 ml)	Probeta (50 ml)	Probeta (500 ml)
Calibración	0,0005	0,020	0,086
Deriva	0,0006	0,082	0,611
Resolución	0,866	4,330
Temperatura	0,0005	0,002	0,024
uc, mg/l	0,0009	0,870	4,374
Uexp. + Cn	0,0218	2,190	11,037
uc, mg/l	0,0109	1,095	5,518
uc	0,0011	0,022	0,011

5.4.2.3 Cálculo de la Incertidumbre por Reproducibilidad

Según la ecuación (65)

$$u_R = \frac{0,0057}{\sqrt{9}}$$

$$u_R = 0,002\text{mg/l}$$

Tabla 57. Incertidumbre debida a la reproducibilidad del método de Detergentes Aniónicos

Nivel	Concentración (Ci) mg/l	SR mg/l	$u = \frac{S_R}{\sqrt{n}}$	u/Ci
1	0,012	0,0057	0,002	0,158
2	0,021	0,0018	0,001	0,029
3	0,048	0,0040	0,001	0,028
4	0,093	0,0049	0,002	0,018
5	0,295	0,0131	0,004	0,015
6	0,585	0,0311	0,010	0,018
7	1,026	0,0686	0,023	0,022
8	1,554	0,0660	0,022	0,014
9	2,090	0,0816	0,027	0,013
10	2,543	0,0364	0,012	0,005

5.4.2.3 Cálculo de la Incertidumbre estándar de la preparación de la muestra fortificada.

a. Cálculo de la incertidumbre estándar de la dilución del material de referencia interno

Se sigue el mismo procedimiento que el punto 5.4.2.1 según la ecuación (86)

$$U_{\text{dilución}} = 0,0004 \text{ mg/l}$$

b. Cálculo de la incertidumbre estándar de la concentración inicial de la muestra

Según la ecuación (77)

$$u_{Q_i} = \frac{0,001}{\sqrt{3}}$$

$$u_{Q_i} = 0,0006 \text{ mg/l}$$

Tabla 58. Incertidumbre debida a la concentración de la muestra inicial de Detergentes Aniónicos

MUESTRA	M1	M2	M3
Lectura 1 (mg/l)	0,002	0,026	0,329
Lectura 2 (mg/l)	0,003	0,018	0,336
Lectura 3 (mg/l)	0,001	0,021	0,417
Promedio	0,002	0,022	0,361
Desviación estándar	0,001	0,004	0,049
$u_{Q_i} = \frac{s_{Q_i}}{n}$	0,0006	0,0023	0,0282

$$u_{MF} = \sqrt{u_{\text{dilución}}^2 + u_{Q_i}^2} \tag{95}$$

$$u_{MF} = \sqrt{0,0004^2 + 0,0006^2}$$

$$u_{MF} = 0,001 \text{ mg/l}$$

5.4.2.5 Cálculo de la Incertidumbre estándar del pretratamiento de la muestra.

Para la estimación de la incertidumbre de la probeta y balón aforado se procede de la misma forma que en el punto 5.4.2.2.

$$u_{\text{pretratamiento}} = \frac{u_{\text{balón aforado}}^2}{V_{\text{balón aforado}}^2} + \frac{u_{\text{probeta}}^2}{V_{\text{probeta}}^2} \quad (96)$$

$$u_{\text{pretratamiento}} = \frac{0,5796^2}{500^2} + \frac{1,096^2}{100^2}$$

$$u_{\text{pretratamiento}} = 0,00012$$

Tabla 59. Incertidumbre debida al aporte del material volumétrico utilizado en el pretratamiento de Detergentes Aniónicos

INCERTIDUMBRE		
Componente	Balón aforado (500 ml)	Probeta (100 ml)
Calibración	0,0335	0,0185
Deriva	0,4879	0,0352
Resolución	0,8660
Temperatura	0,0242	0,0048
uc, mg/l	0,4896	0,8670
Uexp. + Cn	1,1592	2,1919
uc, mg/l	0,5796	1,0960
uc	0,0012	0,0110

5.4.2.6 Correcciones no Aplicadas. Las correcciones fueron aplicadas al inicio del cálculo, según cada caso. Por tanto, según la ecuación (78):

$$\text{Correcciones no Aplicadas} = 0,012 - 0,010_{\text{bias}}$$

$$\text{Correcciones no Aplicadas} = 0,002 \text{ mg/l}$$

Finalmente se estima la incertidumbre del método de acuerdo a la ecuación (79)

$$u_{\text{Detergentes}} = C_{\text{Detergentes}} \sqrt{\frac{u_{\text{espectrofotómetro}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + \frac{u_{\text{Muestra fortificada}}^2}{\text{Muestra fortificada}^2} + \frac{u_{\text{Reproducibilidad}}^2}{C_{\text{Detergentes}}^2} + u_{\text{m. volumétrico}} + u_{\text{pretratamiento}}}$$

$$u_{\text{Detergentes}} = 0,012 \text{ mg/l} \sqrt{\frac{0,002 \text{ mg/l}^2}{0,012 \text{ mg/l}^2} + \frac{0,001 \text{ mg/l}^2}{0,010 \text{ mg/l}^2} + \frac{0,002 \text{ mg/l}^2}{0,012 \text{ mg/l}^2} + 0,0006 + 0,0012}$$

$$u_{\text{Detergentes}} = 0,003 \text{ mg/l}$$

$$U_{\text{Detergentes}} = 2(0,003) + 0,002$$

$$U_{\text{Detergentes}} = 0,008 \text{ mg/l}$$

$$\%U_{\text{Detergentes}} = \frac{0,008 \text{ mg/l}}{0,012 \text{ mg/l}} * 100$$

$$\%U_{\text{Detergentes}} = 65,74$$

Tabla 60. Incertidumbre para la determinación de Detergentes Aniónicos a todos los niveles

Nivel	Concentración mg/l	uc mg/l	U _{expandida} mg/l	%U
1	0,012	0,003	0,008	65,74
2	0,021	0,002	0,006	27,78
3	0,048	0,004	0,011	22,70
4	0,093	0,006	0,019	20,21
5	0,295	0,029	0,063	21,45
6	0,585	0,043	0,101	17,28
7	1,026	0,073	0,172	16,76
8	1,554	0,104	0,254	16,33
9	2,090	0,138	0,365	17,47
10	2,543	0,168	0,379	14,90

5.5 Resultados

5.5.1 Resultados para el método de Sólidos Totales en Suspensión

5.5.1.1 Resultados de Validación

Tabla 61. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales en Suspensión, en un rango de 10 a 250mg/l

RESULTADOS	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5
S_r , mg/l	0,745	2,981	1,291	1,915	5,099
S_R , mg/l	0,793	2,981	1,291	2,411	5,099
CV_r , %	8,18	9,45	2,68	1,98	2,29
CV_R , %	8,71	9,45	2,68	2,50	2,29
%U, (K=2)	76,81	25,23	16,51	12,14	7,99
% Recuperación	87,29	107,8	95,15	81,89	83,89

Tabla 62. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales en Suspensión, en un rango de 500 a 4000mg/l

RESULTADOS	Nivel 6	Nivel 7	Nivel 8	Nivel 9	Nivel 10
S_r , mg/l	14,678	37,461	64,42	22,41	56,895
S_R , mg/l	14,678	37,461	64,42	37,83	56,895
CV_r , %	3,48	3,75	3,29	0,75	1,44
CV_R , %	3,48	3,75	3,29	1,27	1,44
%U, (k=2)	6,99	6,69	6,49	6,13	6,14
%Recuperación	81,28	99,79	97,89	99,56	99,02

5.5.2 Resultados para el método de Sólidos Totales Disueltos

5.5.2.1 Resultados de Validación

Tabla 63. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales Disueltos, en un rango de 50 a 750mg/l

RESULTADOS	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5
S_r , mg/l	5,457	8,3	10,604	9,452	23,504

Continuación Tabla 63

S_R, mg/l	6,289	9,985	10,604	11,175	25,175
CV_r, %	9,27	7,55	4,58	2,29	3,08
CV_R, %	10,68	9,08	4,58	2,70	3,30
%U, (K=2)	39,47	22,70	12,61	10,30	8,47
% Recuperación	119,76	111,24	81,41	80,12	102,98

Tabla 64. Resultados de validación obtenidos para Sólidos Totales Disueltos, en un rango de 1000 a 5000mg/l

RESULTADOS	Nivel 6	Nivel 7	Nivel 8	Nivel 9	Nivel 10
S_r, mg/l	15,832	43,919	42,032	91,087	93,05
S_R, mg/l	15,832	55,975	42,032	91,087	93,05
CV_r, %	1,61	2,19	1,40	2,29	1,89
CV_R, %	1,61	2,80	1,40	2,29	1,89
%U, (K=2)	7,45	7,10	6,77	6,80	6,71
% Recuperación	96,85	100,06	100,03	99,16	98,15

5.5.3 Resultados para el método de Fenoles

5.5.3.1 Resultados de la estimación lineal de la calibración para Fenoles-puesta a punto

Tabla 65. Resultados obtenidos para la estimación lineal de la calibración del método de Fenoles

ESTIMACIÓN LINEAL			
Variable	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
m	4,660	4,654	4,640
m_{máx}	4,809	4,805	4,769
m_{mín}	4,511	4,502	4,501
Lo	0,054	0,075	0,038
Lo_{máx}	0,114	0,136	0,090
Lo_{mín}	-0,005	0,015	-0,014
r²	0,997	0,996	0,997
S_{L,P}	0,086	0,087	0,074
S_m	0,069	0,070	0,060
S_{Lo}	0,027	0,028	0,024
S_{p,L}	0,018	0,019	0,016

Continuación Tabla 65

F	4599,29	4425,62	6029,96
g.l	16	16	16
t (95,45%)	2,169	2,169	2,169
$\sigma_{P,L}$ (∞ g.l.)	0,020	0,020	0,017
LC	0,040	0,041	0,035
LD	0,013	0,013	0,011

5.5.3.2 Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración

Tabla 66. Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración para el método de Fenoles

	m	m_{max}	m_{min}	Lo	Lo_{max}	Lo_{min}
DIA 1	4,660	4,809	4,511	0,054	0,114	-0,005
DIA 2	4,654	4,805	4,502	0,075	0,136	0,015
DIA 3	4,640	4,769	4,510	0,038	0,090	-0,014
CONJUNTO	4,651	4,809	4,502	0,056	0,136	-0,014

5.5.3.3 Resultados de las rectas de calibración utilizadas en la validación

- *Recta de calibración del primer día de validación*

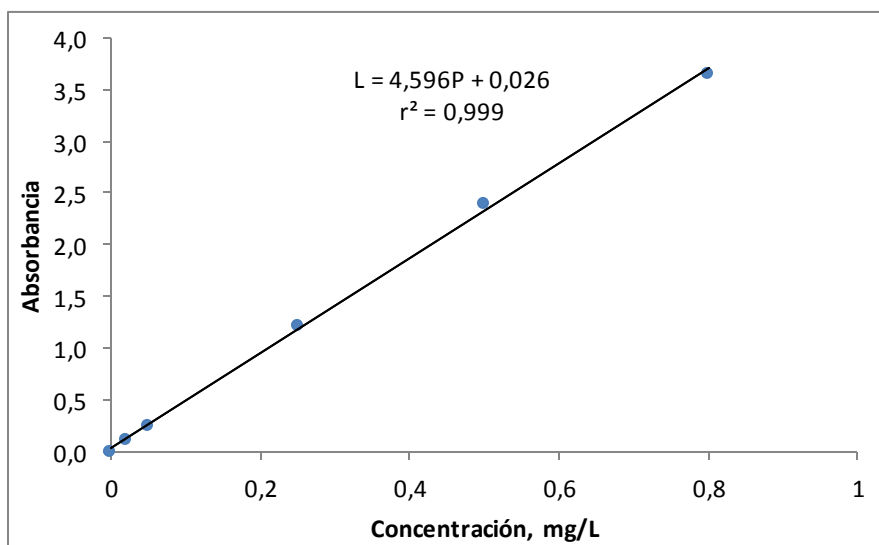


Gráfico 3. Recta de calibración del primer día de validación de Fenoles

- *Recta de calibración del segundo día de validación*

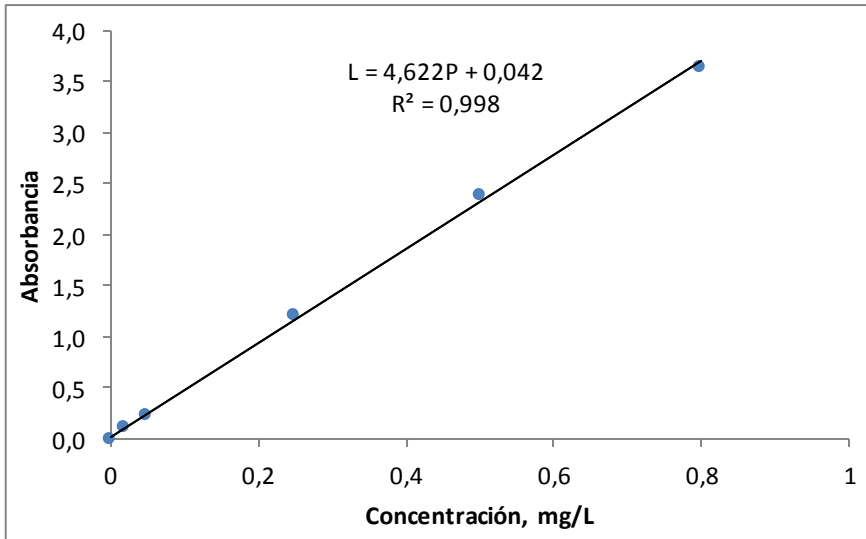


Gráfico 4. Recta de calibración del segundo día de validación de Fenoles

- *Recta de calibración tercero día-validación*

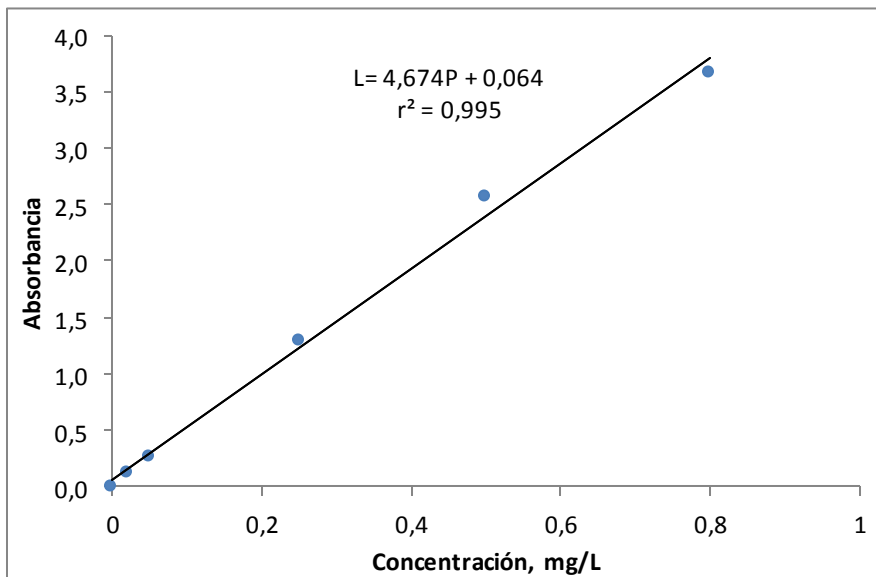


Gráfico 5. Recta de calibración del tercer día de validación de Fenoles

Tabla 67. Resultados de la verificación de las rectas de calibración utilizadas diariamente durante la validación de Fenoles

ESTIMACIÓN LINEAL			
Variable	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
m	4,596	4,622	4,674
Lo	0,026	0,042	0,064
r²	0,999	0,998	0,995
S_{L,P}	0,049	0,078	0,118
S_{P,L}	0,011	0,017	0,025
F	4590,39	1805,96	810,54
g.l	4	4	4
t (95,45%)	2,869	2,869	2,869
σ_{P,L} (∞ g.l.)	0,015	0,024	0,036

5.5.3.4 Resultados para la selección de la recta de calibración fija

Tabla 68. Resultados para la determinación de la recta de calibración fija para el método Fenoles

PRIMER DÍA			
Concentración (P) mg/l	Absorbancia (L)	Concentración estimada, mg/l	% Recuperación
0,02	0,108	0,018	89,21
0,02	0,096	0,015	76,15
0,02	0,126	0,022	108,79
0,05	0,241	0,047	93,56
0,05	0,266	0,052	104,44
0,05	0,277	0,055	109,23
0,25	1,212	0,258	103,22
0,25	1,273	0,271	108,53
0,25	1,309	0,279	111,66
0,5	2,391	0,515	102,92
0,5	2,448	0,527	105,40
0,5	2,570	0,554	110,70
0,8	3,651	0,789	98,59
0,8	3,659	0,790	98,81
0,8	3,677	0,794	99,30

5.5.3.5 Resultados de la validación

Tabla 69. Resultados de validación obtenidos para Fenoles, en un rango de 0,01 a 0,25mg/l

RESULTADOS	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5
S_r , mg/l	0,0021	0,0034	0,0038	0,0066	0,0136
S_R , mg/l	0,0021	0,0049	0,0038	0,0069	0,0136
CV_r , %	25,99	10,08	7,07	6,01	5,26
CV_R , %	25,99	14,33	7,07	6,2	5,26
%U, (K=2)	212,49	52,03	26,98	15,82	25,45
% Recuperación	77,77	97,06	107,69	113,48	104,13

Tabla 70. Resultados de validación obtenidos para Fenoles, en un rango de 0,5 a 2,5mg/l

RESULTADOS	Nivel 6	Nivel 7	Nivel 8	Nivel 9	Nivel 10
S_r , mg/l	0,0359	0,0308	0,0349	0,0312	0,0745
S_R , mg/l	0,0359	0,065	0,0697	0,0431	0,0775
CV_r , %	6,52	3,52	2,69	1,76	2,63
CV_R , %	6,52	7,44	5,36	2,43	2,74
%U, (K=2)	14,86	16,11	17,92	16,12	12,96
% Recuperación	110,9	109,63	108,48	111,1	113,25

5.5.4 Resultados de la validación del método de Detergentes Aniónicos

5.5.4.1 Resultados de la estimación lineal de las rectas de calibración-puesta a punto

Tabla 71. Resultados obtenidos para la estimación lineal de la calibración del método de Detergentes Aniónicos

ESTIMACIÓN LINEAL			
Variable	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
m	5,171	5,180	5,172
$m_{\text{máx}}$	5,304	5,265	5,331
$m_{\text{mín}}$	5,038	5,095	5,013
Lo	0,013	0,001	-0,009
$Lo_{\text{máx}}$	0,050	0,025	0,036

Continuación Tabla 71

Lo_{min}	-0,024	-0,023	-0,054
r²	0,998	0,999	0,997
S_{L,P}	0,055	0,035	0,065
S_m	0,061	0,039	0,073
S_{Lo}	0,017	0,011	0,021
S_{P,L}	0,011	0,007	0,013
F	7144,48	17447,79	4983,71
g.l	16	16	16
t (95,45%)	2,169	2,169	2,169
σ_{P,L} (∞ g.l.)	0,011	0,008	0,014
LC	0,023	0,015	0,027
LD	0,007	0,005	0,009

5.5.4.2 Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración

Tabla 72. Criterios establecidos para la verificación de la recta de calibración para el método de Detergentes Aniónicos

	m	m_{max}	m_{min}	Lo	Lo_{max}	Lo_{min}
DIA 1	5,171	5,304	5,038	0,013	0,050	-0,024
DIA 2	5,180	5,265	5,095	0,001	0,025	-0,023
DIA 3	5,172	5,331	5,013	-0,009	0,036	-0,054
CONJUNTO	5,174	5,331	5,013	0,002	0,050	-0,054

5.5.4.3 Resultados de las rectas de calibración utilizadas en la validación

- *Recta de calibración primer día-validación*

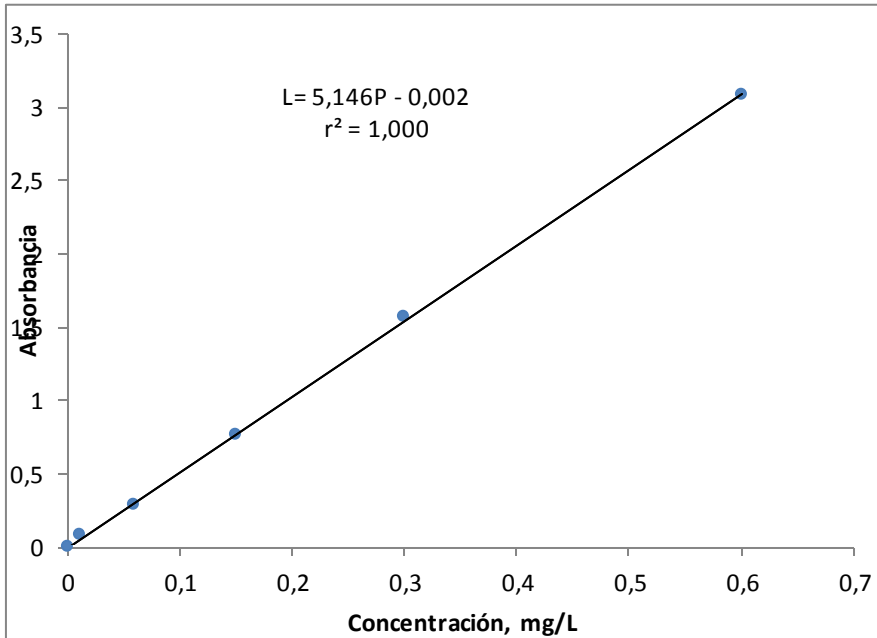


Gráfico 6. Recta de calibración del primer día de validación de Detergentes Aniónicos

- *Recta de calibración segundo día-validación*

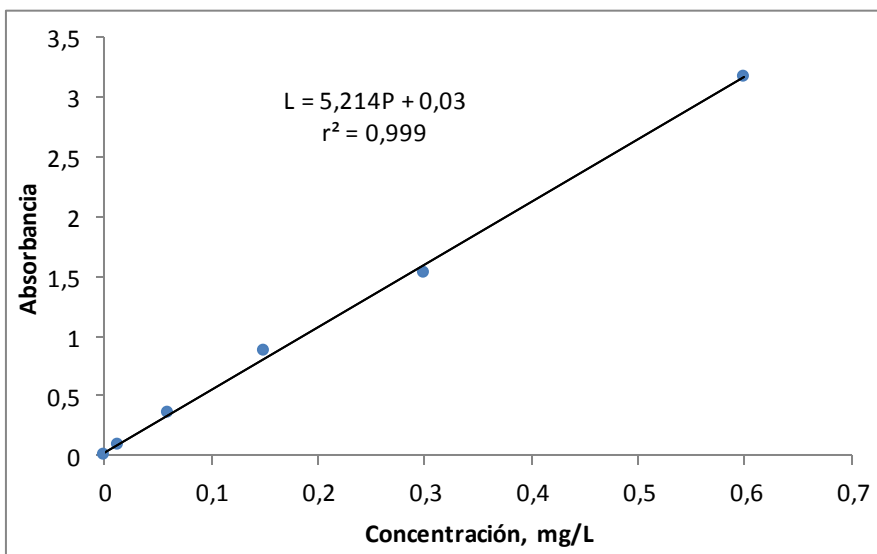


Gráfico 7. Recta de calibración del segundo día de validación de Detergentes Aniónicos

- **Recta de calibración tercer día-validación**

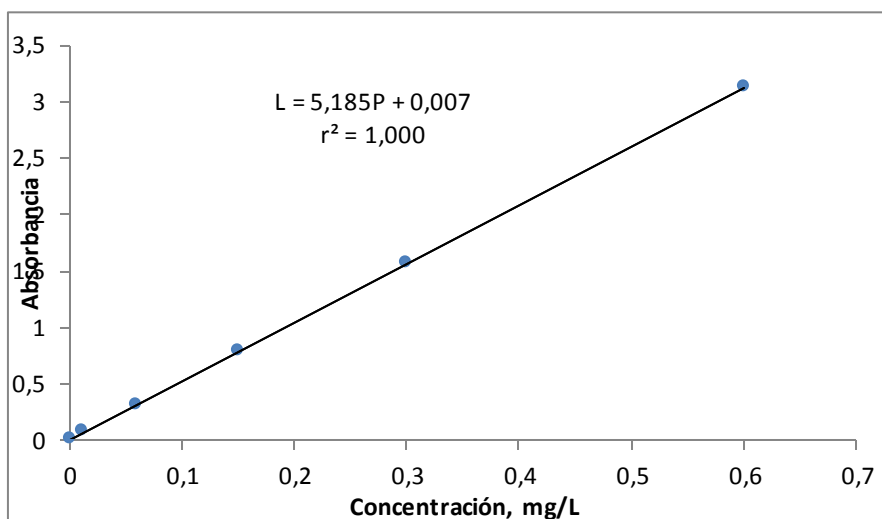


Gráfico 8. Recta de calibración del tercer día de validación de Detergentes Aniónicos

Tabla 73. Resultados de la verificación de las rectas de calibración utilizadas diariamente durante la validación de Detergentes Aniónicos

ESTIMACIÓN LINEAL			
Variable	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
m	5,146	5,214	5,185
Lo	-0,002	0,030	0,007
r²	1,000	0,999	1,000
S_{L,P}	0,018	0,051	0,010
S_{P,L}	0,003	0,010	0,002
F	22592,67	2809,12	77991,24
g.l	4	4	4
t (95,45%)	2,869	2,869	2,869
σ_{P,L} (∞ g.l.)	0,005	0,014	0,003

5.5.4.4 Resultados para la selección de la recta de calibración fija

Tabla 74. Resultados para la determinación de la recta de calibración fija para el método de Detergentes Aniónicos

SEGUNDO DÍA			
Concentración (P) mg/l	Absorbancia (L)	Concentración estimada, mg/l	% Recuperación
0,012	0,075	0,009	71,92
0,012	0,089	0,011	94,30
0,012	0,085	0,011	87,90
0,06	0,287	0,049	82,15
0,06	0,361	0,063	105,80
0,06	0,312	0,054	90,14
0,15	0,758	0,140	93,08
0,15	0,879	0,163	108,55
0,15	0,783	0,144	96,28
0,3	1,563	0,294	98,01
0,3	1,528	0,287	95,77
0,3	1,558	0,293	97,69
0,6	3,080	0,585	97,49
0,6	3,173	0,603	100,47
0,6	3,121	0,593	98,80

5.5.4.5 Resultados de la validación

Tabla 75. Resultados de Validación obtenidos para Detergentes Aniónicos, en un rango de 0,01 a 0,3 mg/l

RESULTADOS	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5
S_r, mg/l	0,0015	0,0014	0,0021	0,0025	0,0083
S_R, mg/l	0,0057	0,0018	0,004	0,0049	0,0131
CV_r, %	11,89	6,51	4,3	2,66	2,83
CV_R, %	46,44	8,45	8,42	5,29	4,43
%U, (K=2)	65,74	27,78	22,7	20,21	21,45
% Recuperación	120	105	92,86	91,03	98,2

Tabla 76. Resultados de Validación obtenidos para Detergentes Aniónicos, en un rango de 0,6 a 2,5 mg/l

RESULTADOS	Nivel 6	Nivel 7	Nivel 8	Nivel 9	Nivel 10
S_r, mg/l	0,0252	0,0285	0,038	0,0816	0,0235
S_R, mg/l	0,0311	0,0686	0,066	0,0816	0,0364
CV_r, %	4,31	2,78	2,45	3,9	0,92
CV_R, %	5,32	6,69	4,25	3,9	1,43
%U, (K=2)	17,28	16,76	16,33	17,47	14,9
% Recuperación	93,75	104,06	104,74	105,49	102,01

5.5.5 Resumen de los resultados de cada parámetro validado.

Tabla 77. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, referente a rango de validación.

PARÁMETRO	RANGO DE VALIDACIÓN	
	FIJADO	OBTENIDO
Sólidos Totales en Suspensión	10 – 4000 mg/l	30 – 4000 mg/l
Sólidos Totales Disueltos	50 – 5000 mg/l	100 – 5000 mg/l
Fenoles	0,010 – 2,5 mg/l	0,050 – 2,5 mg/l
Detergentes Aniónicos	0,010 – 2,5 mg/l	0,020 – 2,5 mg/l

Tabla 78. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, referente a límites de detección y cuantificación.

PARÁMETRO	LÍMITE DE DETECCIÓN		LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	
	FIJADO	OBTENIDO	FIJADO	OBTENIDO
Sólidos Totales en Suspensión	N.A	N.A	10 mg/l	30 mg/l
Sólidos Totales Disueltos	N.A	N.A	50 mg/l	100 mg/l
Fenoles	0,011 mg/l	0,011 mg/l	0,035 mg/l	0,050 mg/l
Detergentes Aniónicos	0,005 mg/l	0,005 mg/l	0,015 mg/l	0,020 mg/l

Tabla 79. Resumen de los resultados de validación obtenidos para cada método de ensayo, en cuanto a precisión e incertidumbre

PARÁMETRO	% CV _r		% CV _R		% U	
	FIJADO	MAYOR OBTENIDO	FIJADO	MAYOR OBTENIDO	FIJADO	MAYOR OBTENIDO
Sólidos Totales en Suspensión	10	9,45	10	9,45	30	25,23
Sólidos Totales Disueltos	10	7,55	10	9,08	30	22,70
Fenoles	10	7,07	10	7,44	30	26,93
Detergentes Aniónicos	10	6,51	10	8,45	30	27,78

5.5.6 Resultados de intercomparación.

Tabla 80. Datos proporcionados por el laboratorio organizador para las pruebas de intercomparación

PARÁMETRO	VALOR REPORTADO mg/l	VALOR VERDADERO mg/l	DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL ENSAYO mg/l
Sólidos Totales en Suspensión	32	31,7	2,54
Sólidos Totales Disueltos	194	181	13,2
Fenoles	2,628	2,350	0,518
Detergentes Aniónicos	0,802	0,739	0,179

Tabla 81. Resultados obtenidos de la participación en la intercomparación de cada método de ensayo.

PARÁMETRO	z	CRITERIO
Sólidos Totales en Suspensión	0,118	Satisfactorio
Sólidos Totales Disueltos	0,985	Satisfactorio
Fenoles	0,537	Satisfactorio
Detergentes Aniónicos	0,352	Satisfactorio

6. DISCUSIÓN

6.1 MÉTODOS GRAVIMÉTRICOS

- Dentro de estos métodos se encuentra la determinación de Sólidos Totales en Suspensión y Sólidos Totales Disueltos.
- En la Tabla 78 se puede ver los rangos de concentración fijados previamente y los rangos establecidos después de la validación. Los mismos que no concuerdan totalmente ya que los niveles de concentración más bajos han quedado fuera del rango de validación debido a que no cumplen con los demás parámetros de validación.
- Se planteó como criterio de aceptación en cuanto a precisión, que los coeficientes de variación en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad sean menores que el 10%, lo cuál se cumplió en todos los niveles del rango de trabajo, como se puede ver en los anexos A y B. Para los dos parámetros analizados, se obtuvo un mayor porcentaje en condiciones de reproducibilidad que en condiciones de repetibilidad.
- Según los resultados obtenidos para este tipo de métodos indirectos, la fuente que más aporta a la incertidumbre, es la debida al cálculo de la concentración de sólidos y a su vez ésta se ve principalmente influenciada por el aporte de la incertidumbre de la balanza.
- Sin embargo para estos métodos, el primer nivel del rango de validación correspondiente no cumple con el criterio de aceptación en cuanto a incertidumbre $\leq 30\%$, Esto se debe principalmente al aporte que se produce en el cálculo para concentraciones bajas. Es así que, para el caso de Sólidos Totales Disueltos en el nivel de 50 mg/l el valor medio calculado es de 58,89mg/l. En cuanto a los Sólidos Totales en Suspensión, para el nivel de 10 mg/l el valor medio calculado es de 9,11 mg/l.
- En cuanto a la veracidad de los métodos, definida como el grado de proximidad entre el valor promedio obtenido de una distribución de resultados y el valor verdadero de la muestra. Inicialmente se planteó como criterio de aceptación un %Recuperación de

100±20% lo cual se cumplió en todos los niveles de validación e inclusive el intervalo obtenido para el material de referencia certificado fue más estrecho, es decir 100±10%. Esto se debe a que las muestras fortificadas utilizadas en la validación están más expuestas a errores debido a la preparación de las mismas.

6.2 MÉTODOS INSTRUMENTALES

- La determinación de Fenoles y Detergentes Aniónicos, se realiza aplicando los métodos instrumentales en el campo ultravioleta-visible (UV-VIS) a 460 y 860nm respectivamente.
- En la etapa de la puesta a punto, se establecen las rectas de calibración, que una vez analizadas permiten determinar que los puntos más bajos de concentración son los más críticos ya que la concentración de los patrones discrepa considerablemente de la concentración leída por el equipo, lo cual se debe principalmente a la preparación de los estándares de calibración. Esto provoca un alto porcentaje de variación en los datos obtenidos. (ver los datos de las Tablas 39 y 42)
- Además, se observó que la recta de calibración pierde la linealidad en concentraciones altas (Desviación de la ley de Beer); esto se debe a que conforme una solución se vuelve mas concentrada, las moléculas de soluto interactúan entre si debido a su proximidad, cambiando mutuamente sus propiedades eléctricas (incluyendo la absorción de luz). Además la ley de Beer se cumple estrictamente cuando la radiación es monocromática, lo cual no sucede en la práctica ya que por lo general se genera una banda de longitudes de onda más o menos simétricas en torno a la deseada. Otro factor que incide en la desviación de esta ley, es la radiación dispersada. Esto se evidencia en las diferentes rectas de calibración construidas ya que en el caso del método de Fenoles la recta pierde su tendencia lineal en el punto de concentración de 0,8 mg/l. La recta de calibración para Detergentes Aniónicos, tiene su límite superior del rango de linealidad en el punto de concentración de 0,6 mg/l.
- El límite inferior del rango de linealidad está determinado por el límite de cuantificación obtenido para cada método. En el caso de Fenoles se planteó inicialmente un límite de cuantificación teórico de 0,035 mg/l, este límite se lo obtuvo a partir del análisis estadístico de las rectas de calibración generadas durante la puesta a punto. Luego de la validación se obtuvo un límite de 0,050 mg/l debido a que la concentración planteada inicialmente no cumple con el criterio máximo de incertidumbre, esto se dio por el alto aporte de la recta de calibración en este punto así como la incertidumbre debida a la reproducibilidad del método a esta

concentración. En cuanto a Detergentes el límite de cuantificación teórico fue de 0,02mg/l el cual cumplió experimentalmente con el criterio de incertidumbre establecido.

- En cuanto a la precisión, los coeficientes de variación que representan la dispersión del conjunto de datos obtenidos en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad son menores que el 10% en todos los niveles del rango de trabajo validado para el método de Fenoles y Detergentes Aniónicos. Estos coeficientes presentan un mayor porcentaje en condiciones de reproducibilidad que en condiciones de repetibilidad, debido a que bajo la primera condición el ensayo es evaluado en prolongados intervalos de tiempo. Para el caso de los dos métodos, el primer nivel de concentración tiene un porcentaje de variación fuera de lo establecido, debido a que concentraciones bajas son sensibles a cualquier variación en el procedimiento. Esto se puede ver en la Declaración de los métodos validados contenidos en los anexos C y D.
- Según los resultados obtenidos tanto para el método de Fenoles como Detergentes Aniónicos, la fuente que más aporta a la incertidumbre, es la debida a la construcción de la recta de calibración utilizada para cada método, esta a su vez tiene como principal aporte la incertidumbre de preparación del material de referencia interno. Esto se debe a que en estos métodos la lectura de cualquier muestra se hace por interpolación en la recta de calibración.
- En cuanto a la veracidad de los métodos, inicialmente se planteó como criterio de aceptación un %Recuperación de $100\pm 20\%$ lo cual se cumplió en todos los niveles de validación e inclusive el intervalo fue más estrecho en $100\pm 10\%$ para el material de referencia certificado. Esto se debe a que las muestras fortificadas utilizadas en la validación están más expuestas a errores debido a la preparación de las mismas. Además, estos métodos tienden a dar altas lecturas de concentración debido al uso de solventes que pueden evaporarse si el ensayo no se realiza rápidamente.

6.3 INTERCOMPARACIÓN

- El desempeño del laboratorio de aguas del DPEC, en los parámetros de Sólidos Totales en Suspensión, Sólidos Totales Disueltos, Fenoles y Detergentes Aniónicos en la matriz agua; es SATISFACTORIO ya que cumplen con el criterio de $z \leq 2$, lo cual representa que una medición puntual de un determinado analito está a dos o menos desviaciones estándar de la media muestral, cumpliendo así con las especificaciones de calidad. Esto se puede verificar en los anexos E, F, G y H donde se encuentran los informes emitidos por el laboratorio organizador de esta prueba de eficiencia.

7. CONCLUSIONES

En función del análisis de los resultados obtenidos, de los criterios de aceptación establecidos se plantean las siguientes conclusiones:

7.1 SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN

- El rango de concentraciones que cumple con los criterios de validación, está comprendido de 30 a 4000mg/l.
- En cuanto a la veracidad del método, el % Recuperación obtenido con las muestras fortificadas va desde 81,28 – 107,80%. Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, la veracidad que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia Certificado cuyo % Recuperación es del 100,93%.
- La Incertidumbre Total Expandida ($k=2$) es ≤ 30 %, para un intervalo de trabajo entre 30 a 4000 mg/l (ver los resultados contenidos en el anexo A). El mayor porcentaje de incertidumbre obtenido es de 25,23% para el nivel de concentración de 30mg/l. En función del análisis de resultados, se concluye que se cumple con este criterio de validación, en todo el rango de concentraciones evaluado.
- En cuanto a precisión, el mayor Coeficiente de Variación por repetibilidad y reproducibilidad es de 9,45% que corresponde a la concentración de 30 mg/l.
- Por lo tanto, se concluye que los parámetros de desempeño determinados cumplen con los requerimientos establecidos para la validación de este método.

7.2 SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS, STD

- El rango de concentraciones que cumple con los criterios de validación, está comprendido de 100 a 5000mg/l.

- En cuanto a la veracidad del método, el % Recuperación obtenido con muestras fortificadas va desde 80,12 – 111,24%. Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, la veracidad que caracteriza al método es la obtenida a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del 96%.
- La Incertidumbre Total Expandida ($k=2$) es ≤ 30 %, para un intervalo de trabajo entre 100 a 5000 mg/l (ver los resultados contenidos en el anexo B). El mayor porcentaje de incertidumbre obtenido es de 22,70% para el nivel de concentración de 100mg/l. En función del análisis de resultados, se concluye que se cumple con este criterio de validación, en todo el rango de concentraciones evaluado.
- En cuanto a precisión, el mayor Coeficiente de Variación por repetibilidad es de 7,55% que corresponde a la concentración de 100 mg/l y el mayor Coeficiente de Variación por reproducibilidad es de 9,08 % que corresponde a la concentración de 100 mg/l.
- Por lo tanto, se concluye que los parámetros de desempeño determinados cumplen con los requerimientos establecidos para la validación de este método.

7.3 FENOLES

- El rango de concentraciones que cumple con los criterios de validación, está comprendido de 0,050 a 2,500 mg/l
- En cuanto a la veracidad del método, el % Recuperación obtenido con muestras fortificadas va desde 104,13–113,25%. Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, la veracidad que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del 99,7%.
- La Incertidumbre Total Expandida ($k=2$) es ≤ 30 %, para un intervalo de trabajo entre 0,050 a 2,500 mg/l (ver los resultados contenidos en el anexo C). El mayor porcentaje de incertidumbre obtenido es de 26,93% para el nivel de concentración de 0,05 mg/l. En función del análisis de resultados, se concluye que se cumple con este criterio de validación, en todo el rango de concentraciones evaluado.

- En cuanto a precisión, el mayor Coeficiente de Variación por repetibilidad es de 7,07% que corresponde a la concentración de 0,050 mg/l y el mayor Coeficiente de Variación por reproducibilidad es de 7,44 % que corresponde a la concentración de 1,000 mg/l.
- El rango de linealidad, obtenido después de la validación, es de 0,05 a 0,8 mg/l. Los criterios de aceptación para la verificación de la recta de calibración, quedan establecidos de la siguiente manera: grado de ajuste $r^2 \geq 0,995$, $\sigma_{p,L}$ (para ∞ g.l) $\leq 0,036$, intervalo de confianza de la pendiente de 4,502 a 4,809 e intervalo de confianza del intercepto de -0,014 a 0,136.
- La función de respuesta instrumental se mantiene fija durante el mes de evaluación, es así que la recta de calibración que se establece para el uso rutinario, es la del primer día de validación.
- Por lo tanto, se concluye que los parámetros de desempeño determinados cumplen con los requerimientos establecidos para la validación de este método.

7.4 DETERGENTES ANIÓNICOS

- El rango de concentraciones que cumple con los criterios de validación, está comprendido de 0,02 a 2,5 mg/l.
- En cuanto a la veracidad del método, el % Recuperación obtenido con muestras fortificadas va desde 91,03–105,63%. Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, la veracidad que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del 93,97% .
- La Incertidumbre Total Expandida ($k=2$) es $\leq 30\%$, para un intervalo de trabajo entre 0,020 a 2,500 mg/l(ver los resultados contenidos en el anexo D). El mayor porcentaje de incertidumbre obtenido es de 27,78% para el nivel de concentración de 0,02 mg/l. En función del análisis de resultados, se concluye que se cumple con este criterio de validación, en todo el rango de concentraciones evaluado.
- En cuanto a precisión, el mayor coeficiente de variación por repetibilidad es de 6,51% que corresponde a la concentración de 0,020 mg/l. y el mayor Coeficiente de Variación por reproducibilidad es de 8,45% que corresponde a la concentración de 0,020 mg/l.

- El rango de linealidad, obtenido después de la validación, es de 0,02 a 0,6 mg/l. Los criterios de linealidad para la verificación de la recta de calibración, quedan establecidos de la siguiente manera: grado de ajuste $r^2 \geq 0,995$, $\sigma_{p,L}$ (para ∞ g.l) $\leq 0,014$, intervalo de confianza de la pendiente de 5,013 a 5,331 e intervalo de confianza del intercepto de -0,054 a 0,050.
- La función de respuesta instrumental se mantiene fija durante el mes de evaluación, es así que la recta de calibración que se establece para el uso rutinario, es la del segundo día de validación.
- Por lo tanto, se concluye que los parámetros de desempeño determinados cumplen con los requerimientos establecidos para la validación de este método.

7.5 INTERCOMPARACIÓN

- Al evaluar el desempeño del laboratorio de aguas del DPEC, en los parámetros de Sólidos Totales en Suspensión, Sólidos Totales Disueltos, Fenoles y Detergentes Aniónicos; se obtiene un desempeño SATISFACTORIO. Por lo tanto, queda demostrada la competencia técnica del personal que realiza los ensayos. Ofreciendo así a los clientes la confianza de los resultados reportados según los procedimientos establecidos.

8. RECOMENDACIONES

- Considerando que la validación es una actividad continúa, que se fundamenta en los datos obtenidos de control de calidad, se debe hacer esta actividad con frecuencia ya que permite detectar algún error en la realización del ensayo.
- Cumplir cada uno de los pasos que se establecen en los Procedimientos Normalizados de los métodos validados, a fin de garantizar los resultados obtenidos en los ensayos rutinarios, fortaleciendo así la confianza del cliente.
- Realizar una calibración externa de los equipos y materiales volumétricos utilizados, cada dos años. Con el fin de verificar las condiciones de los mismos.
- En los métodos instrumentales, se debe realizar una verificación interna y mensual de la recta de calibración fija. En caso de que no cumpla con las especificaciones se deberá realizar una verificación y mantenimiento externo del equipo.
- Cada cuatro meses, realizar una verificación con material de referencia certificado. Para determinar si el desempeño del método dentro del laboratorio, es el correcto.
- Semanalmente, se debe realizar un duplicado de la medición efectuada de cualquier muestra, si en el caso no existiera muestras se debe realizarlo con Material de Referencia Interno a fin de verificar que el Límite de Repetibilidad al 95,45%, que consta como criterio de aceptación en la Declaración del Método Validado, se cumple.
- Realizar anualmente los estudios de intercomparación de los métodos de ensayo validados. Con el fin de verificar el correcto desempeño del laboratorio.
- Se debe realizar mantenimiento preventivo (de preferencia una vez al año) de los diferentes equipos utilizados; recurriendo a personal técnico especializado en el área. Si no existe problema con los equipos indicados se extenderá la periodicidad de mantenimiento. Con el fin de garantizar el buen funcionamiento de los equipos durante la realización del método de ensayo

CITAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] GIL RODRÍGUEZ, Manuel. Procesos de descontaminación de aguas, cálculos avanzados informatizados. Editorial Copyright, Madrid, 2005. p.1.
- [2] FUENTES, Diana y TOAZA, Olga. *Calidad del agua* [en línea].Guayaquil: Escuela Politécnica del Litoral. 2010[Fecha de consulta: 13 Mayo 2012]. Disponible en: <<http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21310/1/D-92130.pdf>>.
- [3] Departamento de Bioquímica y Biofísica molecular. *La Química del Agua* [en línea]. Universidad de Arizona. 2004[Fecha de consulta: 5 Marzo 2012]. Disponible en: <<http://www.biologia.arizona.edu>>.
- [4] MUÑOZ DE LA PEÑA, Francisco. *El agua* [en línea]. Aula Tecnológica Siglo XXI: Departamento de Orientación del I.E.S. 2002 [Fecha de consulta: 8 Mayo 2012]. Disponible en: <<http://www.aula21.net/Nutriweb/minerales.htm>>.
- [5] GIL RODRÍGUEZ, Manuel. Procesos de descontaminación de aguas, cálculos avanzados informatizados. Editorial Copyright, Madrid, 2005. p.7.
- [6] SIERRA RAMÍREZ, Carlos. *Calidad del agua, evaluación y diagnóstico*. Ediciones de la Universidad de Medellín, Medellín, 2011. p.53.
- [7] CAMPO, Ángel et al. *Propiedades del agua* [en línea]. Mundo Agua. 2002 [Fecha de consulta: 15 Junio 2012]. Disponible en: <http://platea.pntic.mec.es/~aabadias/webs0506/mundo_agua/propiedades_del_agua.htm>
- [8] MARÍN GALVÍN Rafael, *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos, tratamiento y control de calidad de aguas*, Ediciones Díaz de Santos, Madrid, 2003. p. 24.
- [9] SIERRA RAMÍREZ, Carlos. *Calidad del agua, evaluación y diagnóstico*. Ediciones de la Universidad de Medellín, Medellín, 2011. p.50.

- [10] AZNAR, Antonio. *Determinación de parámetros físico-químicos de calidad del agua* [en línea]. Madrid: Universidad Calos III. 2000 [Fecha de consulta: 5 Enero 2012]. Disponible en: <<http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/ingenieria-ambiental/otros-recursos-1/OR-F-001.pdf>>.
- [11] DIAZ ARELLANO Javier, *Introducción a la Ingeniería Ambiental*, Editorial Alfaomega, México, 2002. p.29.
- [12] SIERRA RAMÍREZ, Carlos. *Calidad del agua, evaluación y diagnóstico*. Ediciones de la Universidad de Medellín, Medellín, 2011. p. 117.
- [13] RESTREPO ANA-TOBON OLGA, *Evaluación de la calidad del agua*. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p.18.
- [14] DIAZ ARELLANO Javier, *Introducción a la Ingeniería Ambiental*, Editorial Alfaomega, México, 2002. p. 29-30.
- [15] RESTREPO ANA-TOBON OLGA, *Evaluación de la calidad del agua*. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p.23.
- [16] ROLDAN, Gabriel y Ramírez John. *Fundamentos de limnología Neotropical* [en línea]. Colombia: Universidad de Antioquia. 2008 [Fecha de consulta: 5 Octubre 2011]. Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=FA5Jr7pXF1_UC&pg=PA157&lp_g=PA157&dq=tama%C3%B1os+de+s%C3%B2lidos+suspendidos&source=bl&ots=h_Sq5oTS3_&sig=Q50xUfQ8IEZez2eKeb10Wvsl0aI&hl=es&sa=X&ei=yIBwT6OOIbtwfdq qChDg&ved=0CDgQ6AEwBA#v=onepage&q=tama%C3%B1os%20de%20s%C3%B2lidos%20suspendidos&f=false>.
- [17] CAMPOS, Irene. *Saneamiento Ambiental* [en línea]. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia. 2003 [Fecha de consulta: 17 Noviembre 2011]. Disponible en:<http://books.google.com.ec/books?id=lsgrGBGIGeMC&pg=PA49&lp_g=PA49&dq=qu%C3%A9+son+los+s%C3%B2lidos+suspendidos&source=bl&ots=E_f4oEBIrT&sig=SPeb06d2iG7N5_a51mBuxqQIRY&hl=es#v=onepage&q=qu%C3%A9%20son%20los%20s%C3%B2lidos%20suspendidos&f=false>.

- [18] ATENEA. *Análisis Organoléptico y set de sólidos* [en línea]. Colombia: Universidad Distrital. 2004[Fecha de consulta: 17 Diciembre 2011]. Disponible en: <http://atenea.udistrital.edu.co/grupos/fluoreciencia/capitulos_fluoreciencia/calaguas_cap4.pdf>.
- [19] RÓMERO ROJAS, Jairo. *Calidad del Agua*. Tercera edición, Editorial Nuevas ediciones S.A, Medellín, 2009. p.237.
- [20] JIMÉNEZ, Blanca. *La contaminación ambiental en México* [en línea]. México: Colegio de Ingenieros Ambientales de México. 2001 [Fecha de consulta: 7 Enero 2012]. Disponible en:<http://books.google.com.ec/books?id=8MVxlyJGokIC&pg=PA126&lpg=PA126&dq=tama%C3%B1os+de+s%C3%B2lidos+suspendidos&source=bl&ots=lSyB_OHvzC&sig=8JkA0G32MhE6hA4mUrh0DMM0caI&hl=es&sa=X&ei=iIRwT7mC42TtwfXPXoDA&ved=0CDgQ6AEwBDgU#v=onepage&q=tama%C3%B1os%20de%20s%C3%B2lidos%20suspendidos&f=false>.
- [21] BAÉZ MUÑOZ, María. *Validación de Métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente*. Proyecto de Grado. Ingeniero. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente. Sangolquí. 2009. p.26.
- [22] ATENEA. *Análisis Organoléptico y set de sólidos* [en línea]. Colombia: Universidad Distrital. 2004[Fecha de consulta: 17 Diciembre 2011]. Disponible en: <http://atenea.udistrital.edu.co/grupos/fluoreciencia/capitulos_fluoreciencia/calaguas_cap4.pdf>.
- [23] Universidad de Puerto Rico. *Parámetros fisicoquímicos* [en línea]. Puerto Rico: Recinto Universitario de Mayagüez. 2000[Fecha de consulta: 21 Enero 2012]. Disponible en: <<http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p2-tds.pdf>>.
- [24] Departamento de Bioquímica y Biofísica molecular. *La Química del Agua* [en línea]. Universidad de Arizona. 2004[Fecha de consulta: 5 Marzo 2012]. Disponible en: <<http://www.biologia.arizona.edu>>.
- [25] ATKINS, Peter y JONES, Loretta. *Principios de química, los caminos del descubrimiento* [en línea]. Argentina: Editorial médica panamericana. 2006[Fecha de consulta: 21 Febrero 2012]. Disponible en: <<http://books.google.es/books?id=0JuUu1yWTisC&pg=P>>.

[A707&dq=fenoles&hl=es&sa=X&ei=sVg0T6LMJMuatwfZwIWIAg&ved=0CDgQ6AEwAQ#v=onepage&q=fenoles&f=false](#)>.

- [26] SILVA Vargas, María. Pre concentración selectiva de fenoles contaminantes prioritarios y determinación por espectrofotometría ultravioleta-visible, cromatografía líquida de alta eficacia y cromatografía de gases y espectrometría de masas. Tesis Doctoral. Químico Analítico. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Químicas. Madrid. 2000. p. 12.
- [27] Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas. *Agentes tensoactivos* [en línea]. Universidad Iberoamericana. 2000 [Fecha de consulta: 5 Noviembre 2011]. Disponible en: <http://www.bib.uia.mx/gsd/docdig/didactic/IngCienciasQuimicas/lqoa011.pdf>.
- [28] MANZANARES, Sonia. *Los detergentes y el medio ambiente* [en línea]. EUETIB- UPC. 2004 [Fecha de consulta: 15 Octubre 2011]. Disponible en: [ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20\(OPT%20antiga%20\)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf](ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20(OPT%20antiga%20)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf).
- [29] Universidad Autónoma de Madrid. *Jabones y Agentes tensoactivos* [en línea]. España: Unión de Editoriales Universitarias Españolas. 2007 [Fecha de consulta: 7 Junio 2012]. Disponible en: http://www.uam.es/departamentos/ciencias/qorg/docencia_red/qo/116/nota10.html.
- [30] RÓMERO ROJAS, Jairo. Calidad del Agua. Tercera edición, Editorial Nuevas ediciones S.A, Medellín, 2009. p.200.
- [31] JIMÉNEZ, Donaji et al. Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos. [Revista internacional de contaminación ambiental](#), 26(1): 12-29, febrero 2010.
- [32] SKOOG, Douglas y WEST, Donald. Química analítica. Séptima edición. Editorial Mc Graw Hill, México, 2003. p.5.
- [33] Ibid., p.568.
- [34] HARRIS, Daniel. Análisis Químico Cuantitativo. Tercera Edición. Editorial Reverte, México, 2007. p. 495-496.

- [35] SOGORB, Miguel y VILLANOVA Eugenio. Técnicas analíticas de contaminantes químicos, aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Ediciones Díaz de Santos S.A, Madrid, 2004. p. 73.
- [36] SKOOG, Douglas y WEST, Donald. Química analítica. Séptima edición. Editorial Mc Graw Hill, México, 2003. p.580.
- [37] Ibid., p. 143.
- [38] SOGORB, Miguel y VILLANOVA Eugenio. Técnicas analíticas de contaminantes químicos, aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Ediciones Díaz de Santos S.A, Madrid, 2004. p. 76.
- [39] Ibid., p. 80.
- [40] RUBINSON, Kenneth y RUBINSON, Judith. Análisis instrumental. Segunda edición. Editorial Prentice Hall, Madrid, 2001. p. 153.
- [41] MANZANARES, Sonia. *Los detergentes y el medio ambiente* [en línea]. EUETIB- UPC. 2004 [Fecha de consulta: 15 Octubre 2011]. Disponible en: [ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20\(OPT%20antiga%20\)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf](ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/E.Boada/Quimica_Analitica_Medi_Ambient%20(OPT%20antiga%20)/Los_Detergentes_y_el_Medio_Ambiente.pdf).
- [42] APHA-AWWA- AWWA CF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Quinta Edición. Editorial Díaz de Santos, Madrid, 2005. p. 5-45.
- [43] Ibid., 5-47.
- [44] VIEYRA, María. *Turbidimetría y nefelometría* [en línea]. México: Instituto Tecnológico de Morelia. 2011 [Fecha de consulta: 15 Mayo 2012]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/54885577/Turbidimetria-y-Nefelometria>.
- [45] BEDOYA Lora, Franky. Homologación de métodos de análisis fisicoquímicos empleados en Postobón S.A. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de grados Brix. Informe de práctica profesional. Ingeniero Químico. Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Medellín. 2009. p. 19.

- [46] RODRÍGUEZ, Luis. *Análisis de Aguas* [en línea]. Colombia: Universidad Politécnica de Cartagena. 2008 [Fecha de consulta: 7 Mayo 2012]. Disponible en: <http://www.upct.es/~minaees/analisis_aguas.pdf>.
- [47] BEDOYA Lora, Franky. Homologación de métodos de análisis fisicoquímicos empleados en Postobón S.A. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de grados Brix. Informe de práctica profesional. Ingeniero Químico. Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Medellín. 2009. p. 24.
- [48] Laboratorio del Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación, DPEC. Procedimiento General PG/DPEC/07: Validación de métodos analíticos. Cuarta edición. 2010. p.6-9.
- [49] CURSO de Validación de métodos de ensayo (1º, 2010, Quito, Ecuador). Validación y Cálculo de incertidumbre de métodos de ensayo. ASECAL Internacional. Quito, 2010. p.6.
- [50] Entidad Nacional de Acreditación. *Programas de Intercomparaciones* [en línea]. Madrid: Entidad Nacional de Acreditación. 2007 [Fecha de consulta: 17 Febrero 2012]. Disponible en: <<http://www.enac.es/web/enac/actividades-ProveedoresIntercomparaciones>>.
- [51] Ibid., p. 65.
- [52] BALAREZO Bastidas, María. Implementación de un sistema de validación de métodos físico-químicos para análisis de: alcalinidad total, conductividad, DBO5y sólidos totales disueltos en muestras de agua. Proyecto de Grado. Ingeniera Química. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito. 2009. p. 49.
- [53] Ibid., p. 51.
- [54] VALCÁRCEL, M Y RÍOS, A. *La calidad en los laboratorios analíticos* [en línea]. Argentina: Universidad de Córdoba. 2002 [Fecha de consulta: 7 Abril 2012]. Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=ZMiaCfjwascC&pg=PR3&source=gbs_selected_pages&cad=3#v=onepage&q&f=false>.

- [55] Entidad Nacional de Acreditación. *Programas de Intercomparaciones* [en línea]. Madrid: Entidad Nacional de Acreditación. 2007 [Fecha de consulta: 17 Febrero 2012]. Disponible en: <http://www.enac.es/web/enac/actividades-ProveedoresIntercomparaciones>.
- [56] CURSO de Intercomparaciones y Ensayos de aptitud (4º, 2003, El Salvador, Ecuador). Ensayos de aptitud. El Salvador, 2003. p.30.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA-AWWA- AWWA CF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Quinta Edición. Editorial Díaz de Santos, Madrid, 2005. p. 5-246.
- ATENEA. *Análisis Organoléptico y set de sólidos* [en línea]. Colombia: Universidad Distrital. 2004[Fecha de consulta: 17 Diciembre 2011]. Disponible en: <<http://atenea.udistrital.edu.co>>.
- ATKINS, Peter y JONES, Loretta. *Principios de química, los caminos del descubrimiento* [en línea]. Argentina: Editorial médica panamericana. 2006[Fecha de consulta: 21 Febrero 2012]. Disponible en: <<http://books.google.es/books?id=0JuUu1yWTisC&pg=PA707&dq=fenoles&hl=es&sa=X&ei=sVg0T6LMJMuatwfZwIWlAg&ved=0CDgQ6AEwAQ#v=onepage&q=fenoles&f=false>>.
- AZNAR, Antonio. *Determinación de parámetros físico-químicos de calidad del agua* [en línea]. Madrid: Universidad Calos III. 2000 [Fecha de consulta: 5 Enero 2012]. Disponible en: <<http://ocw.uc3m.es>>.
- BAÉZ MUÑOZ, María. Validación de Métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente. Proyecto de Grado. Ingeniero. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente. Sangolqui. 2009. p.143.
- BALAREZO Bastidas, María. Implementación de un sistema de validación de métodos físico-químicos para análisis de: alcalinidad total, conductividad, DBO5y sólidos totales disueltos en muestras de agua. Proyecto de Grado. Ingeniera Química. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito. 2009. p. 186.
- BEDOYA Lora, Franky. Homologación de métodos de análisis fisicoquímicos empleados en Postobón S.A. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de grados Brix. Informe de práctica profesional. Ingeniero Químico. Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Medellín. 2009. p. 144.


- CÁMARA, Carmen. Toma y tratamiento de muestras. Editorial Síntesis, Madrid, 2004. p. 153.
- CAMPO, Ángel et al. *Propiedades del agua* [en línea]. Mundo Agua. 2002 [Fecha de consulta: 15 Junio 2012]. Disponible en: <<http://platea.pntic.mec.es>>
- CAMPOS, Irene. *Saneamiento Ambiental* [en línea]. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia. 2003 [Fecha de consulta: 17 Noviembre 2011]. Disponible en:<<http://books.google.com.ec>>.
- CONGRESO Nacional de Validación (2º, 2008, México, México D.F). Validación de Métodos de medición. Universidad Autónoma de México. México, 2008. p. 43.
- CURSO de Intercomparaciones y Ensayos de aptitud (4º, 2003, El Salvador, Ecuador). Ensayos de aptitud. El Salvador, 2003. p.65.
- CURSO de Validación de métodos de ensayo (1º, 2010, Quito, Ecuador). Validación y Cálculo de incertidumbre de métodos de ensayo. ASECAL Internacional. Quito, 2010. p.98.
- Departamento de Bioquímica y Biofísica molecular. *La Química del Agua* [en línea]. Universidad de Arizona. 2004[Fecha de consulta: 5 Marzo 2012]. Disponible en: <<http://www.biologia.arizona.edu>>.
- Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas. *Agentes tensoactivos* [en línea]. Universidad Iberoamericana. 2000 [Fecha de consulta: 5 Noviembre 2011]. Disponible en: <<http://www.bib.uia.mx>>.
- DIAZ ARELLANO Javier, Introducción a la Ingeniería Ambiental, Editorial Alfaomega, México, 2002. p.289.
- Entidad Nacional de Acreditación. *Programas de Intercomparaciones*[en línea]. Madrid: Entidad Nacional de Acreditación. 2007 [Fecha de consulta: 17 Febrero 2012]. Disponible en: <<http://www.enac.es>>.
- Facultad de Ciencias Médicas. *Reacciones Químicas* [en línea]. Portal Químico. 2005 [Fecha de consulta: 17 Febrero 2012]. Disponible en: <<http://medicina.usac.edu.gt>>.

- FUENTES, Diana y TOAZA, Olga. *Calidad del agua* [en línea]. Ecuador: Escuela Politécnica del Litoral. 2010 [Fecha de consulta: 13 Mayo 2012]. Disponible en: <<http://www.dspace.espol.edu.ec>>.
- GIL RODRÍGUEZ, Manuel. Procesos de descontaminación de aguas, cálculos avanzados informatizados. Editorial Copyright, Madrid, 2005. p.158.
- HARRIS, Daniel. Análisis Químico Cuantitativo. Tercera Edición. Editorial Reverte, México, 2007. p. 790.
- JIMÉNEZ, Blanca. *La contaminación ambiental en México* [en línea]. México: Colegio de Ingenieros Ambientales de México. 2001 [Fecha de consulta: 7 Enero 2012]. Disponible en: <<http://books.google.com.ec>>.
- JIMÉNEZ, Donaji et al. Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos. Revista internacional de contaminación ambiental, 26(1): 12-29, febrero 2010.
- Laboratorio del Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación, DPEC. Procedimiento General PG/DPEC/07: Validación de métodos analíticos. Cuarta edición. 2010. p.45.
- MANZANARES, Sonia. *Los detergentes y el medio ambiente* [en línea]. EUETIB- UPC. 2004 [Fecha de consulta: 15 Octubre 2011]. Disponible en: <<ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica>>.
- MARÍN GALVÍN Rafael, Físicoquímica y microbiología de los medios acuáticos, tratamiento y control de calidad de aguas, Ediciones Díaz de Santos, Madrid, 2003. p. 456.
- MUÑOZ DE LA PEÑA, Francisco. *El agua* [en línea]. Aula Tecnológica Siglo XXI: Departamento de Orientación del I.E.S. 2002 [Fecha de consulta: 8 Mayo 2012]. Disponible en: <<http://www.aula21.net>>.
- REQUENA, L. *Propiedades de los Fenoles* [en línea]. Puerto Rico: El portal educativo de América. 2001 [Fecha de consulta: 8 de Diciembre del 2011]. Disponible en: <<http://www.salohogar.net>>.

- RESTREPO ANA-TOBON OLGA, Evaluación de la calidad del agua. Centro Nacional de producción más limpia y tecnologías ambientales, Bogotá, 2010. p.158.
- RODRÍGUEZ, Luis. *Análisis de Aguas* [en línea]. Colombia: Universidad Politécnica de Cartagena. 2008 [Fecha de consulta: 7 Mayo 2012]. Disponible en: <http://www.upct.es/~minaees/analisis_aguas.pdf>.
- ROLDAN, Gabriel y Ramírez John. *Fundamentos de limnología Neotropical* [en línea]. Colombia: Universidad de Antioquia. 2008 [Fecha de consulta: 5 Octubre 2011]. Disponible en: <<http://books.google.com>>.
- RÓMERO ROJAS, Jairo. Calidad del Agua. Tercera edición, Editorial Nuevas ediciones S.A, Medellín, 2009. p.351.
- RUBINSON, Kenneth y RUBINSON, Judith. Análisis instrumental. Segunda edición. Editorial Prentice Hall, Madtid, 2001. p. 839.
- SIERRA RAMÍREZ, Carlos. Calidad del agua, evaluación y diagnóstico. Ediciones de la Universidad de Medellín, Medellín, 2011. p.347.
- SILVA Vargas, María. Pre concentración selectiva de fenoles contaminantes prioritarios y determinación por espectrofotometría ultravioleta-visible, cromatografía líquida de alta eficacia y cromatografía de gases y espectrometría de masas. Tesis Doctoral. Químico Analítico. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Químicas. Madrid. 2000. p. 193.
- SKOOG, Douglas y HOLLER, James. Principios de análisis instrumental. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill, Madrid, 2001. p. 567.
- SOGORB, Miguel y VILLANOVA Eugenio. Técnicas analíticas de contaminantes químicos, aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Ediciones Díaz de Santos S.A, Madrid, 2004. p. 457.
- Universidad Autónoma de Madrid. *Jabones y Agentes tensoactivos* [en línea]. España: Unión de Editoriales Universitarias Españolas. 2007 [Fecha de consulta: 7 Junio 2012]. Disponible en: <<http://www.uam.es>>.

ANEXOS

ANEXO A. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN

	DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO	Validación (PNE/DPEC/A/SM 2540 D)
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC		

Método analítico: (Se Adjunta)

CUANTITATIVO	<input checked="" type="checkbox"/>	Analito: Sólidos Totales en Suspensión Unidades: mg/l Matriz: Agua natural, Potable y Residual.
CUALITATIVO	<input type="checkbox"/>	
DE IDENTIFICACIÓN	<input type="checkbox"/>	

FUNCIÓN DE RESPUESTA		INSTRUMENTAL		DEL MÉTODO		
NO APLICA		NO APLICA		NO APLICA		
PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE						
Nivel de Concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Veracidad	U expandida
	S _r	% CV _r	S _R	% CV _R	% Recuperación	% U (k=2)
10	0,745	8,18	0,793	8,71	87,29	76,81
30	2,981	9,45	2,981	9,45	107,80	25,23
50	1,291	2,68	1,291	2,68	95,15	16,51
100	1,915	1,98	2,411	2,5	81,89	12,14
250	5,099	2,29	5,099	2,29	83,89	7,99
500	14,678	3,48	14,678	3,48	81,28	6,99
1000	37,461	3,75	37,461	3,75	99,79	6,69
2000	64,42	3,29	64,42	3,29	97,89	6,49
3000	22,41	0,75	37,83	1,27	99,56	6,13
4000	56,895	1,44	56,895	1,44	99,02	6,14
Global	64,42	9,45	64,42	9,45	81,28 – 107,80	25,23

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	NO APLICA
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	30 mg/l

SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: <ul style="list-style-type: none"> • Sólidos Totales Disueltos en concentraciones mayores a 1000 mg/l • Partículas gruesas flotantes o aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos • Aceites sobrenadantes y otros líquidos orgánicos no miscibles
TIPO DE INTERFERENCIA: CORRECCIÓN: Para el tratamiento de cada una de las interferencias, referirse al numeral 5.4.1 del procedimiento normalizado PNE/DPEC/A/SM 2540 D.
INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 30 – 4000 mg/l



DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO

Validación
(PNE/DPEC/A/SM 2540 D)

DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO:

VERACIDAD: $80 < \%R < 120$

El % Recuperación obtenido con las Muestras Fortificadas va desde 81,28 – 107,80%.

Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, el % Recuperación que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del **100,93%**.

INCERTIDUMBRE $\leq 30 \%$ ($k=2$) → Sólidos Totales en Suspensión ≥ 30 mg/l

Las incertidumbres fueron obtenidas con un Nivel de Confianza ($K=2$), obteniéndose el mayor porcentaje de incertidumbre (25,23%) en el nivel 30mg/l.

El nivel de 10mg/l tiene una incertidumbre superior al criterio establecido, por lo cual queda fuera del rango validado.

Las incertidumbres que deberán reportarse en el Informe de Resultados serán:

Rango: 30 a 45 mg/l → $U = 8$ mg/l ($K=2$)

Rango: 46 a 116 mg/l → $U = 12$ mg/l ($K=2$)

Rango: 117 a 819 mg/l → $U = 35$ mg/l ($K=2$)

Rango: 820 a 4000 mg/l → $U = 246$ mg/l ($K=2$)

PRECISIÓN:

Repetibilidad: $CV_r \leq 10\%$ → Sólidos Totales en Suspensión ≥ 30 mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 9,45 % que corresponde a la concentración de 30 mg/l.

Los Límites de Repetibilidad para efectuar el Control de Calidad de Repetibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Repetibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Repetibilidad al 99,74 %, mg/L
30	≤ 10	≤ 15
31 a 60	≤ 4	≤ 7
61 a 173	≤ 17	≤ 26
174 a 764	≤ 49	≤ 74
765 a 4000	≤ 216	≤ 324

Reproducibilidad: $CV_R \leq 10\%$ → Sólidos Totales en Suspensión ≥ 30 mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 9,45% que corresponde a la concentración de 30 mg/l.


Los Límites de Reproducibilidad para efectuar el Control de Calidad de Reproducibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 99,74 %, mg/L
30	≤ 10	≤ 15
31 a 60	≤ 4	≤ 7
61 a 173	≤ 17	≤ 26
174 a 764	≤ 49	≤ 74
765 a 4000	≤ 216	≤ 324

Nota: Para obtener todos los valores calculados, se aplicó los criterios establecidos en el Procedimiento Normalizado de Ensayo PNE/DPEC/A /SM 2540 D.

CONCLUSIÓN: Al cumplirse todos los parámetros de desempeño, la Validación queda aceptada.

ANEXO B. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS

	DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO	Validación (PNE/DPEC/A/SM 2540 C)
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC		

Método analítico: (Se Adjunta)

CUANTITATIVO	<input checked="" type="checkbox"/>	Analito: Sólidos Totales Disueltos
CUALITATIVO	<input type="checkbox"/>	Unidades: mg/l
DE IDENTIFICACIÓN	<input type="checkbox"/>	Matriz: Agua natural, Potable y Residual.

FUNCIÓN DE RESPUESTA		INSTRUMENTAL		DEL MÉTODO		
NO APLICA		NO APLICA		NO APLICA		
PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE						
Nivel de Concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Veracidad	U expandida
	S _r	% CV _r	S _R	% CV _R	% Recuperación	% U (k=2)
50	5,457	9,27	6,289	10,68	119,76	39,47
100	8,3	7,55	9,985	9,08	111,24	22,70
250	10,604	4,58	10,604	4,58	81,41	12,61
500	9,452	2,29	11,175	2,7	80,12	10,3
750	23,504	3,08	25,175	3,3	102,98	8,47
1000	15,832	1,61	15,832	1,61	96,85	7,45
2000	43,919	2,19	55,975	2,8	100,06	7,10
3000	42,032	1,4	42,032	1,4	100,03	6,77
4000	91,087	2,29	91,087	2,29	99,16	6,80
5000	93,05	1,89	93,05	1,89	98,15	6,71
Global	93,05	7,55	93,05	9,08	80,12 – 111,24	22,70

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	NO APLICA
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	100 mg/l

SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: <ul style="list-style-type: none"> • Aguas excesivamente mineralizadas con un contenido considerable de calcio, magnesio, cloruros y/o sulfatos. • Muestras con alto contenido de alcalinidad por bicarbonatos.
TIPO DE INTERFERENCIA: CORRECCIÓN: Para el tratamiento de cada una de las interferencias, referirse al numeral 5.4.1 del procedimiento normalizado PNE/DPEC/A/SM 2540 C.
INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 100-5000 mg/l



DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO

Validación
(PNE/DPEC/A/SM 2540 C)

DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO:

VERACIDAD: $80 < \%R < 120$

El % Recuperación obtenido con Muestras Fortificadas va desde 80,12 – 111,24%.

Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, el % Recuperación que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del **96%**.

INCERTIDUMBRE $\leq 35\%$ ($k=2$) → Sólidos Totales Disueltos ≥ 100 mg/l

Las incertidumbres fueron obtenidas con un Nivel de Confianza ($K=2$), obteniéndose el mayor porcentaje de incertidumbre(22,70%) en el nivel de 100 mg/l. El nivel de 50 mg/l tiene incertidumbre superior al criterio establecido, por lo cual queda fuera del rango validado.

Las incertidumbres que deberán reportarse en el Informe de Resultados serán:

Rango: 100 a 175 mg/l → U = 23 mg/l ($K=2$)

Rango: 176 a 250 mg/l → U = 32 mg/l ($K=2$)

Rango: 251 a 1119 mg/l → U = 75 mg/l ($K=2$)

Rango: 1120 a 5000 mg/l → U = 336 mg/l ($K=2$)

PRECISIÓN:

Repetibilidad: $CV_r \leq 10\%$ → Sólidos Totales Disueltos ≥ 100 mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 9,27 % que corresponde a la concentración de 50 mg/l.

Los Límites de Repetibilidad para efectuar el Control de Calidad de Repetibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Repetibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Repetibilidad al 99,74 %, mg/L
100 a 125	≤ 28	≤ 42
126 a 278	≤ 36	≤ 53
279 a 1104	≤ 79	≤ 118
1105 a 5000	≤ 312	≤ 469

Reproducibilidad: $CV_R \leq 10\%$ → Sólidos Totales Disueltos ≥ 100 mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 9,08 % que corresponde a la concentración de 100 mg/l.


Los Límites de Reproducibilidad para efectuar el Control de Calidad de Reproducibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 99,74 %, mg/L
100 a 125	≤ 34	≤ 50
126 a 298	≤ 36	≤ 53
299 a 1104	≤ 85	≤ 127
1105 a 5000	≤ 312	≤ 469

Nota: Para obtener todos los valores calculados, se aplicó los criterios establecidos en el Procedimiento Normalizado de Ensayo PNE/DPEC/A /SM 2540 C.

CONCLUSIÓN: Al cumplirse todos los parámetros de desempeño, la Validación queda aceptada.

ANEXO C. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE FENOLES

	DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO	Validación (PNE/DPEC/A/HACH 8047)
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC		

Método analítico: (Se Adjunta)

CUANTITATIVO <input checked="" type="checkbox"/>	Analito: Fenoles
CUALITATIVO <input type="checkbox"/>	Unidades: mg/l
DE IDENTIFICACIÓN <input type="checkbox"/>	Matriz: Agua natural y Residual.

FUNCIÓN DE RESPUESTA	INSTRUMENTAL	DEL MÉTODO
r ²	≥ 0,995	NO APLICA (VER VERACIDAD)
m (pendiente)	4,651	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Intervalo estudiado de m	4,502 a 4,809	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Lo (intercepto)	0,056	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Intervalo estudiado de Lo	-0,014 a 0,136	NO APLICA (VER VERACIDAD)

PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE						
Nivel de Concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Veracidad	U expandida
	S _r	%CV _r	S _R	%CV _R	% Recuperación	%U (k=2)
0,01	0,0021	25,99	0,0021	25,99	77,77	212,48
0,035	0,0034	10,08	0,0049	14,33	97,06	52,01
0,05	0,0038	7,07	0,0038	7,07	107,69	26,93
0,1	0,0066	6,01	0,0069	6,20	113,48	15,75
0,25	0,0136	5,26	0,0136	5,26	104,13	25,42
0,5	0,0359	6,52	0,0359	6,52	110,90	14,81
0,8	0,0308	3,52	0,0650	7,44	109,63	16,07
1,2	0,0349	2,69	0,0697	5,36	108,48	17,88
1,6	0,0312	1,76	0,0431	2,43	111,10	16,07
2,5	0,0745	2,63	0,0775	2,74	113,25	12,90
Global	0,0745	7,07	0,0775	7,44	104,13-113,25	26,93

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	0,011 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	0,050 mg/l

SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: <ul style="list-style-type: none"> • Agentes oxidantes y reductores. • Sulfuros o materia Suspendida • El pH de la muestra.
TIPO DE INTERFERENCIA: <p>CORRECCIÓN: Para el tratamiento de cada una de las interferencias, referirse al numeral 5.4.1 del procedimiento normalizado PNE/DPEC/A/HACH 8047.</p>

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,050 – 2,500 mg/l
--



DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO

Validación
(PNE/DPEC/A/HACH 8047)

DEPARTAMENTO DE PETROLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO:

LINEALIDAD: $r^2 \geq 0,995$

σ_{PL} (e.g.l.) $\leq 0,036$

VERACIDAD: $80 < \%R < 120$

El % Recuperación obtenido con Muestras Fortificadas va desde 104,13 – 113,25%.

Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, el % Recuperación que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del **99,7%**.

INCERTIDUMBRE $\leq 30\%$ → **Fenoles** $\geq 0,050$ mg/l

Las incertidumbres fueron obtenidas con un Nivel de Confianza (K=2), obteniéndose el mayor porcentaje de incertidumbre (26,93%) en el nivel de 0,050 mg/l. Los niveles de 0,01 mg/l y 0,035 mg/l tienen incertidumbre superior al criterio establecido, por lo cual quedan fuera del rango validado.

Las incertidumbres que deberán reportarse en el Informe de Resultados serán:

Rango: 0,050 a 0,080 mg/l → U = 0,014 mg/l (K=2)

Rango: 0,081 a 0,219 mg/l → U = 0,016 mg/l (K=2)

Rango: 0,220 a 0,449 mg/l → U = 0,064 mg/l (K=2)

Rango: 0,450 a 1,000 mg/l → U = 0,129 mg/l (K=2)

Rango: 1,100 a 2,500 mg/l → U = 0,323 mg/l (K=2)

PRECISIÓN:

Repetibilidad: $CV_r \leq 10\%$ → **Fenoles** $\geq 0,050$ mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 7,07 % que corresponde a la concentración de 0,050 mg/l.

Los Límites de Repetibilidad para efectuar el Control de Calidad de Repetibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Repetibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Repetibilidad al 99,74 %, mg/L
0,050 a 0,077	$\leq 0,013$	$\leq 0,019$
0,078 a 0,160	$\leq 0,022$	$\leq 0,033$
0,161 a 0,365	$\leq 0,046$	$\leq 0,068$
0,366 a 0,883	$\leq 0,103$	$\leq 0,155$
0,884 a 2,500	$\leq 0,250$	$\leq 0,375$

Reproducibilidad: $CV_R \leq 10\%$ → **Fenoles** $\geq 0,050$ mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 7,44 % que corresponde a la concentración de 1,000 mg/l.


Los Límites de Reproducibilidad para efectuar el Control de Calidad de Reproducibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 99,74 %, mg/L
0,050 a 0,081	$\leq 0,013$	$\leq 0,019$
0,082 a 0,160	$\leq 0,023$	$\leq 0,035$
0,161 a 0,425	$\leq 0,046$	$\leq 0,068$
0,426 a 0,770	$\leq 0,121$	$\leq 0,181$
0,771 a 0,919	$\leq 0,218$	$\leq 0,327$
0,920 a 2,500	$\leq 0,260$	$\leq 0,390$

Nota: Para obtener todos los valores calculados, se aplicó los criterios establecidos en el Procedimiento Normalizado de Ensayo PNE/DPEC/A /HACH 8047

CONCLUSIÓN: Al cumplirse todos los parámetros de desempeño, la Validación queda aceptada.

ANEXO D. DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO DE DETERGENTES ANIÓNICOS

	DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO	Validación (PNE/DPEC/A/HACH 8028)
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC		

Método analítico: (Se Adjunta)

CUANTITATIVO <input checked="" type="checkbox"/>	Analito: Detergentes Aniónicos
CUALITATIVO <input type="checkbox"/>	Unidades: mg/l
DE IDENTIFICACIÓN <input type="checkbox"/>	Matriz: Agua natural y Residual.

FUNCIÓN DE RESPUESTA	INSTRUMENTAL	DEL MÉTODO
r^2	$\geq 0,995$	NO APLICA (VER VERACIDAD)
m (pendiente)	5,174	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Intervalo estudiado de m	5,013 a 5,331	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Lo (intercepto)	0,002	NO APLICA (VER VERACIDAD)
Intervalo estudiado de Lo	-0,054 a 0,050	NO APLICA (VER VERACIDAD)

PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE						
Nivel de Concentración mg/l	Repetibilidad		Reproducibilidad		Veracidad	U expandida
	S_r	%CV _r	S_R	%CV _R	% Recuperación	%U (k=2)
0,01	0,0015	11,89	0,0057	46,44	120	65,74
0,02	0,0014	6,51	0,0018	8,45	105	27,78
0,05	0,0021	4,30	0,004	8,42	92,86	22,7
0,1	0,0025	2,66	0,0049	5,29	91,03	20,21
0,3	0,0083	2,83	0,0131	4,43	98,2	21,45
0,6	0,0252	4,31	0,0311	5,32	93,75	17,28
1	0,0285	2,78	0,0686	6,69	104,06	16,76
1,5	0,0380	2,45	0,0660	4,25	104,74	16,33
2	0,0816	3,90	0,0816	3,90	105,49	17,47
2,5	0,0235	0,92	0,0364	1,43	102,01	14,9
Global	0,0816	6,51	0,0816	8,45	91,03 – 105,63	27,78

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	0,005 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	0,020 mg/l

SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: <ul style="list-style-type: none"> • Cloruros en concentraciones superiores a 20.000 mg/l • Iones Perclorato • Iones Peryodato
TIPO DE INTERFERENCIA: <p>CORRECCIÓN: Para el tratamiento de cada una de las interferencias, referirse al numeral 5.4.1 del procedimiento normalizado PNE/DPEC/A/HACH 8028</p>
INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,020 – 2,500 mg/l



**DECLARACIÓN DE MÉTODO
VALIDADO**

Validación
(PNE/DPEC/A/HACH 8028)

DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN. DPEC

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO:

LINEALIDAD: $r^2 \geq 0,995$

σ_{PL} (para ∞ g.l) $\leq 0,014$

VERACIDAD: $80\% < \%R < 120$

El % Recuperación obtenido con Muestras Fortificadas va desde 91,03 – 105,63%. Debido a que no se cuenta con Material de Referencia Certificado a todos los niveles, el % Recuperación que caracteriza al método es el obtenido a partir del Material de Referencia certificado cuyo % Recuperación es del **93,97%**.

INCERTIDUMBRE $\leq 30\%$ → **Detergentes Aniónicos** $\geq 0,020$ mg/l

Las incertidumbres fueron obtenidas con un Nivel de Confianza (K=2), obteniéndose el mayor porcentaje de incertidumbre (27,78%) en el nivel de 0,020 mg/l. El nivel de 0,010 mg/l tiene incertidumbre superior al criterio establecido, por lo cual queda fuera del rango validado.

Las incertidumbres que deberán reportarse en el Informe de Resultados serán:

Rango: 0,020 a 0,038 mg/l → U = 0,005 mg/l (K=2)

Rango: 0,037 a 0,066 mg/l → U = 0,011 mg/l (K=2)

Rango: 0,067 a 0,232 mg/l → U = 0,020 mg/l (K=2)

Rango: 0,233 a 0,332 mg/l → U = 0,070 mg/l (K=2)

Rango: 0,333 a 0,499 mg/l → U = 0,100 mg/l (K=2)

Rango: 0,500 a 0,666 mg/l → U = 0,150 mg/l (K=2)

Rango: 0,667 a 1,332 mg/l → U = 0,200 mg/l (K=2)

Rango: 1,333 a 2,500 mg/l → U = 0,400 mg/l (K=2)

PRECISIÓN:

Repetibilidad: $CV_r \leq 10\%$ → **Detergentes Aniónicos** $\geq 0,020$ mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 6,51% que corresponde a la concentración de 0,020 mg/l.

Los Límites de Repetibilidad para efectuar el Control de Calidad de Repetibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Repetibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Repetibilidad al 99,74 %, mg/L
0,020 a 0,029	$\leq 0,007$	$\leq 0,011$
0,030 a 0,099	$\leq 0,008$	$\leq 0,013$
0,100 a 0,339	$\leq 0,028$	$\leq 0,042$
0,340 a 0,969	$\leq 0,096$	$\leq 0,143$
0,970 a 2,500	$\leq 0,274$	$\leq 0,411$

Reproducibilidad: $CV_R \leq 10\%$ → **Detergentes Aniónicos** $\geq 0,020$ mg/l

El mayor Coeficiente de Variación obtenido es de 8,45% que corresponde a la concentración de 0,020 mg/l.

Los Límites de Reproducibilidad para efectuar el Control de Calidad de Reproducibilidad del Método son:

Rango de Trabajo, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 95,45 %, mg/L	Límite de Reproducibilidad al 99,74 %, mg/L
0,020 a 0,049	$\leq 0,006$	$\leq 0,009$
0,005 a 0,059	$\leq 0,013$	$\leq 0,020$
0,060 a 0,159	$\leq 0,016$	$\leq 0,025$
0,160 a 0,369	$\leq 0,044$	$\leq 0,066$
0,370 a 0,809	$\leq 0,104$	$\leq 0,157$
0,810 a 0,969	$\leq 0,230$	$\leq 0,345$
0,970 a 2,500	$\leq 0,274$	$\leq 0,411$

Nota: Para obtener todos los valores calculados, se aplicó los criterios establecidos en el Procedimiento Normalizado de Ensayo PNE/DPEC/A /HACH 8028

CONCLUSIÓN: Al cumplirse todos los parámetros de desempeño, la Validación queda aceptada.

ANEXO E. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÈTODO DE SÒLIDOS TOTALES EN SUSPENSÌÒN

0/08/12	Analyte Evaluation
Dataset Dataset 1 Study WP12-2-21 INTWP	RTC Labcode RT83786
Dataset Information Dataset analyst - Not Specified -	
Sample Item Residue - WP PE1050-1.5G	Lot Numbers Study 019848 Mfr 019848
Analyte Non-Filterable Residue (TSS)	Analyte Number 1960
Evaluation Information Reported value 32 mg/L Evaluation Acceptable Z 0,118 Rank 6 / 108	
Graph not available z Plot	
Analysis Information Analysis method SM 2540 D 21st ED (2005) (20051007) Analysis technology OTHER (OTHER)	
Criteria Information Gravimetric 32.2 ± 0.164 mg/L Recommended range 23.0 to 100 mg/L Proficiency value 31,7 mg/L Proficiency std. deviation 2,54 Acceptance limits 24.1 to 39.3 mg/L	
Statistical Information Mean 31,2 mg/L Standard deviation 3,78 Robust mean 31,7 mg/L Robust std. deviation 2,54 Robust std. dev. mean 0,258 95% confidence interval 31,2 to 32,2 mg/L 99% prediction interval 26,7 to 36,7 mg/L	
Evaluation Method Description Acceptance windows based on a number of standard deviations span from the study mean as study mean +/- (deviations * standard deviation). deviations 3	
www.rt-corp.com/reporting/data/results/analyteEvaluation.aspx	

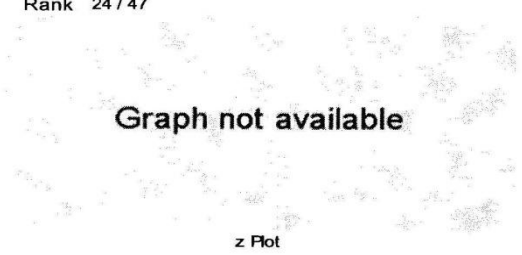
Fuente: Corporación de recursos tecnológicos, RTC. *Reporte de resultados de las pruebas de aptitud en Sólidos Totales en Suspensión* [en línea]. Denver: Laramie. 2008 [Fecha de consulta: 7 Septiembre 2012]. Disponible en: <<https://www.rt-corp.com>>.

ANEXO F. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÈTODO DE SÒLIDOS
 TOTALES DISUELTOS

0/08/12		Analyte Evaluation	
Dataset Dataset 1 Study WP 12-2-21 INTWP		RTC Labcode RT83786	
Dataset Information			
Dataset analyst - Not Specified -			
Sample Item Residue - WP PE1050-1.5G		Lot Numbers Study 019848 Mfr 019848	
Analyte Total Dissolved Solids at 180°C (TDS)		Analyte Number 1955	
Evaluation Information			
Reported value	194 mg/L		
Evaluation	Acceptable		
Z	0,985		
Rank	37 / 61		
Graph not available z Plot			
Analysis Information			
Analysis method	SM 2540 C 21st ED (2005) (20050208)		
Analysis technology	OTHER (OTHER)		
Criteria Information			
Gravimetric	186 ± 0.95 mg/L		
Recommended range	140 to 650 mg/L		
Proficiency value	181 mg/L		
Proficiency std. deviation	13,2		
Acceptance limits	141 to 220 mg/L		
Statistical Information			
Mean	180 mg/L		
Standard deviation	23,4		
Robust mean	181 mg/L		
Robust std. deviation	13,2		
Robust std. dev. mean	1,7		
95% confidence interval	178 to 184 mg/L		
99% prediction interval	155 to 207 mg/L		
Evaluation Method			
Description	Acceptance windows based on a number of standard deviations span from the study mean as study mean +/- (deviations * standard deviation).		
	deviations 3		
www.rt-corp.com/reporting/data/results/analyteEvaluation.aspx			

Fuente: Corporación de recursos tecnológicos, RTC. *Reporte de resultados de las pruebas de aptitud en Sólidos Totales Disueltos* [en línea]. Denver: Laramie. 2008 [Fecha de consulta: 7 Septiembre 2012]. Disponible en: <<https://www.rt-corp.com>>.

ANEXO G. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÈTODO DE FENOLES

0/08/12	Analyte Evaluation
Dataset Dataset 1 Study WP12-2-21 INTWP	RTC Labcode RT83786
Dataset Information Dataset analyst - Not Specified -	
Sample Item Phenolics, Total - WP PE1134-2ML	Lot Numbers Study 014186 Mfr 014186
Analyte Total phenolics	Analyte Number 1905
Evaluation Information	
Reported value	2.628 mg/L
Evaluation	Acceptable
Z	0,537
Rank	24 / 47
 <p>Graph not available</p> <p>z Plot</p>	
Analysis Information	
Analysis method	HACH 8047 (May 2008) (60003727)
Analysis technology	OTHER (OTHER)
Criteria Information	
Gravimetric	3.26 ± 0.017 mg/L
Recommended range	0.0600 to 5.00 mg/L
Proficiency value	2,35 mg/L
Proficiency std. deviation	0,518
Acceptance limits	0.792 to 3.90 mg/L
Statistical Information	
Mean	2,37 mg/L
Standard deviation	0,538
Robust mean	2,35 mg/L
Robust std. deviation	0,518
Robust std. dev. mean	0,0739
95% confidence interval	2,2 to 2,49 mg/L
99% prediction interval	1,32 to 3,37 mg/L
Evaluation Method	
Description	Acceptance windows based on a number of standard deviations span from the study mean as study mean +/- (deviations * standard deviation).
	deviations 3
www.rt-corp.com/reporting/data/results/analyteEvaluation.aspx	

Fuente: Corporación de recursos tecnológicos, RTC. *Reporte de resultados de las pruebas de aptitud en Fenoles* [en línea]. Denver: Laramie. 2008 [Fecha de consulta: 7 Septiembre 2012]. Disponible en: <<https://www.rt-corp.com>>.

ANEXO H. RESULTADO DE LA INTERCOMPARACION DEL MÈTOD DE
DETERGENTES ANIÒNICOS.

0/08/12		Analyte Evaluation	
Dataset Dataset 1 Study WP12-2-21 INTWP		RTC Labcode RT83786	
Dataset Information Dataset analyst - Not Specified -			
Sample Item Anionic Surfactant - WP PE1144-20ML		Lot Numbers Study 018706 Mfr 018706	
Analyte Surfactants - MBAS		Analyte Number 2025	
Evaluation Information			
Reported value	0.802 mg/L		
Evaluation	Acceptable		
Z	0,352		
Rank	5 / 22		
<p>Graph not available</p> <p>z Plot</p>			
Analysis Information			
Analysis method	HACH 8028 (0)		
Analysis technology	OTHER (OTHER)		
Criteria Information			
Gravimetric	0.698 ± 0.003 mg/L		
Recommended range	0.200 to 1.00 mg/L		
Proficiency value	0,739 mg/L		
Proficiency std. deviation	0,179		
Acceptance limits	0.203 to 1.28 mg/L		
Statistical Information			
Mean	0,772 mg/L		
Standard deviation	0,21		
Robust mean	0,739 mg/L		
Robust std. deviation	0,179		
Robust std. dev. mean	0,036		
95% confidence interval	0,666 to 0,813 mg/L		
99% prediction interval	0,365 to 1,11 mg/L		
Evaluation Method			
Description	Acceptance window s based on a number of standard deviations span from the study mean as study mean +/- (deviations * standard deviation).		
	deviations 3		
www.rt-corp.com/reporting/data/results/analyteEvaluation.aspx			

Fuente: Corporación de recursos tecnológicos, RTC. *Reporte de resultados de las pruebas de aptitud en Detergentes Aniònicos* [en línea]. Denver: Laramie. 2008 [Fecha de consulta: 7 Septiembre 2012]. Disponible en: <<https://www.rt-corp.com>>.