

IMPLEMENTACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS AOX, CROMO TOTAL,
HIDROCARBUROS, Y TENSOACTIVOS EN AGUAS POTABLES, NATURALES Y
RESIDUALES (DOMÉSTICAS Y NO DOMESTICAS) EN EL LABORATORIO DE
CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES (CEIAM)

RONALD ANDRÉS SÁNCHEZ SUÁREZ

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA2018

IMPLEMENTACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS AOX, CROMO TOTAL,
HIDROCARBUROS, Y TENSOACTIVOS EN AGUAS POTABLES, NATURALES Y
RESIDUALES (DOMÉSTICAS Y NO DOMESTICAS) EN EL LABORATORIO DE
CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES (CEIAM)

RONALD ANDRÉS SÁNCHEZ SUÁREZ

Modalidad: Pasantía de Investigación

Directora:

Marianny Yajaira Combariza Montañez

Química, Ph. D

Codirectora:

Yaneth Quintero López

Química, Msc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA2018

Agradecimientos

Al laboratorio de aguas y suelos del CEIAM, por todo el apoyo proporcionado en este proyecto.

A la Dra. Mariannny Yajaira Combariza Montañez por su apoyo incondicional en la entrega de conocimiento y orientación.

A la Msc. Yaneth Quintero López, por toda la valiosa ayuda, los conocimientos entregados y la generación de una buena cantidad de canas en su rubia cabellera.

A la Química Claudia Patricia Pico, por su constante ánimo, por su apoyo incondicional, por ser una excelente maestra y por todas las colgadas al techo que tuvo que soportar por el autor de este texto.

A Tania Ceballos, Erika Tarazona, Daniela Báez, Mauricio Valencia, Laura Díaz, y Sheylla Reyes, por sus incontables fuentes de ánimo, risas, y bromas.

A Sebastián Ceballos por recordarme cada día que los amigos se cuidan la espalda y se dan apoyo en los momentos difíciles.

Y a todos aquellos que estuvieron involucrados en este libro, que sin ellos este logro jamás se hubiera realizado y necesitaría escribir un libro adicional para nombrarlos a todos.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. MARCO DE REFERENCIA	21
3.1 Calidad en el laboratorio	21
3.1.1 Procedimiento estándar de operación	24
3.1.2 Procedimiento de estandarización	24
3.1.3 Estandarización y validación de métodos analíticos	24
3.1.4 Análisis de blancos de reactivos	26
3.1.5 Análisis de muestras adicionadas	26
3.1.6 Linealidad del método	26
3.1.7 Carta control	26
3.1.8 Determinación de incertidumbre	27
3.1.9 Robustez.....	28
3.2 Cálculos estadísticos	29
3.2.1 Promedio.....	29
3.2.2 Desviación estándar	29
3.2.3 Coeficiente de varianza	30
3.2.4 Porcentaje de error	30
3.2.5 Porcentaje de recuperación	30
3.2.6 Límite de detección (LDM)	31
3.2.7 Límite de cuantificación (LCM).....	31
3.2.8 Curva de calibración	31
3.3 Contaminación ambiental	32
3.3.1 AOX (<i>Adsorbable Organic Halogens</i>)	32
3.3.2 Cromo total	34

3.3.3	Hidrocarburos	35
3.3.4	Tensoactivos	37
4.	OBJETIVOS	40
4.1	General	40
4.2	Específicos	40
5.	METODOLOGÍA	41
5.1	Elaboración de protocolos de trabajo para la validación o estandarización.	41
5.2	Análisis de parámetros de calidad de métodos	41
5.2.1	Linealidad del método	41
5.2.2	Análisis de blancos de reactivos	41
5.2.3	Carta control	42
5.2.4	Análisis del límite de detección del método	42
5.2.5	Análisis de muestras adicionadas.....	42
5.2.6	Incertidumbre	42
5.2.7	Robustez.....	43
5.3	Elaboración de reporte de estandarización o validación.	43
5.3.1	Titulo	44
5.3.2	Alcance	44
5.3.3	Curvas de calibración	44
5.3.4	Límites de detección y de cuantificación.....	44
5.3.5	Gráficos de control.....	44
5.3.6	Determinación de muestras reales y adicionadas.....	45
5.4	Equipos, materiales y reactivos	45
5.4.1	Equipos	45
5.4.2	Reactivos	45
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
6.1	Elaboración de protocolos de trabajo	47

6.2	Análisis de parámetros de calidad de métodos	48
6.2.1	Cromo total	48
6.2.2	Tensoactivos	62
6.2.3	Hidrocarburos	74
6.2.4	AOX	82
6.3	Reportes de estandarización y validación con los resultados obtenidos.	90
7.	CONCLUSIONES	96
8.	RECOMENDACIONES	98
9.	BIBLIOGRAFÍA	99

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Códigos de los procedimientos estándar de operación, encontrados en las instalaciones del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM.....	47
Tabla 2: Respuesta del equipo obtenida en el análisis de las curvas de cromo total	48
Tabla 3: Resultados obtenidos del análisis estadístico de los datos obtenidos en la Tabla 2	49
Tabla 5: Respuestas del instrumento al analizar blancos de método de cromo total.	52
Tabla 5: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de blancos	53
Tabla 6: Valores obtenidos del análisis de 14 patrones de Cr.....	54
Tabla 7: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de carta control	55
Tabla 8: valores obtenidos del análisis de 14 patrones de Cr	56
Tabla 9: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de carta control	57
Tabla 10: Datos obtenidos del análisis de muestras adicionadas	58
Tabla 12: factores de análisis tomados en cuenta en el diseño experimental.....	59
Tabla 13: Configuración de los factores de estudio en el diseño factorial fraccionado	60
Tabla 14: Datos de concentraciones obtenidas a partir de los análisis realizados en el análisis de la robustez.....	61
Tabla 15: Calculo de los efectos generados por cada uno de los factores	62
Tabla 16: Datos obtenidos a partir de las absorbancias obtenidas en el análisis de linealidad.....	63
Tabla 17: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el análisis de linealidad..	64
Tabla 18: datos obtenidos en la regresión lineal por mínimos cuadrados de los datos obtenidos en el análisis de linealidad	64
Tabla 19: datos obtenidos a partir del análisis de blancos del método.	67

Tabla 20: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenido en el análisis de blancos de método de tensoactivos.	68
Tabla 21: Datos obtenidos a partir del análisis del patrón de 1 mg SDS/L.....	69
Tabla 22: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en la carta control de tensoactivos.....	70
Tabla 24: verificación del LCM de tensoactivos	71
Tabla 25: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en la verificación del límite de detección.....	72
Tabla 26: Datos obtenidos a partir del análisis de muestras adicionada del método de tensoactivos.	73
Tabla 27: Datos obtenidos a partir de las curvas de calibración del método de Hidrocarburos.	74
Tabla 28: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de hidrocarburos.	75
Tabla 29: Datos obtenidos a partir de las regresiones lineales de los datos obtenidos en las curvas de calibración.	75
Tabla 30: Datos obtenidos en el análisis de blancos de reactivos del método de hidrocarburos.	77
Tabla 31: Datos obtenidos a partir del análisis de patrón control de hidrocarburos.	79
Tabla 33: Datos obtenidos a partir de la verificación del LCM.	81
Tabla 34: Datos obtenidos a partir del análisis estadístico de la verificación del límite de detección del método.	81
Tabla 35: Datos obtenidos a partir de las curvas de calibración del método de AOX.	82
Tabla 36: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de AOX.....	83
Tabla 37: Datos obtenidos a partir de las regresiones lineales de los datos obtenidos en las curvas de calibración.	84
Tabla 38: Datos obtenidos en el análisis de blancos de reactivos del método de AOX.	86

Tabla 39: Datos obtenidos a partir del análisis de patrón control de hidrocarburos.	87
Tabla 41: Datos obtenidos a partir de la verificación del LCM.	89
Tabla 42: Datos obtenidos a partir del análisis estadístico de la verificación del límite de detección del método.	90
Tabla 43: Codificación de los procedimientos de estandarización en el sistema de calidad del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM.	91

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Ejemplo de un compuesto orgánico halogenado, en este caso con Cl	33
Ilustración 2: Procedimiento seguido en la determinación de incertidumbre	43
Ilustración 3: gráfico de línea de tendencia de la curva de calibración escogida para el método de Cr	50
Ilustración 4: gráfico de línea de tendencia del promedio de los datos obtenidos en las 7 curvas de calibración de Cr	51
Ilustración 5: Gráfico de carta control del patrón de 0,5 mg Cr/l	55
Ilustración 6: Grafico de línea de tendencia de la curva de calibración escogida, se obtuvo a partir de la regresión lineal por mínimos cuadrados	66
Ilustración 7: Grafico de línea de tendencia de la curva promedio, con sus respectivas barras de errores, se obtuvo a partir de la regresión lineal por mínimos cuadrados	66
Ilustración 8: Carta control de patrón de 1 mg SDS/l	70
Ilustración 9: Gráfico promedio con sus respectivas barras de error, de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de hidrocarburos	76
Ilustración 10: Carta control del patrón de 150 mg/l del método de hidrocarburos	80
Ilustración 11: Gráfico promedio de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de AOX	85
Ilustración 12: Carta control del patrón de 150 mg/l del método de hidrocarburos	88

Resumen

Título: Implementación de los métodos analíticos AOX, Cromo Total, Hidrocarburos, y Tensoactivos en aguas potables, naturales y residuales (domésticas y no domésticas) en el laboratorio de centro de estudios e investigaciones ambientales (CEIAM).

Autor: Ronald Andres Sanchez Suarez¹

Palabras clave: Estandarización, validación, ISO 17025:2017, AOX, Cromo, Hidrocarburos, Tensoactivos, SAAM.

La calidad es una propiedad de los procesos, necesaria a través de la historia. Por ejemplo, En la cultura egipcia los inspectores revisaban continuamente el tamaño de los bloques de granito con cuerdas que poseían una longitud específica. Para la revolución industrial se revisaba el producto final catalogándolo de malo o bueno, de esta forma se decidía cómo debía comercializarse. En la segunda guerra mundial era necesario fabricar armas potentes, de bajo costo y de forma masiva, por tanto, la revisión de todo el producto final era imposible. Por tal motivo se empezaron a utilizar procesos de calidad estadísticos que garantizaran la calidad de los productos entregados. Para el año 2010 se formuló la norma ISO 9000, la cual es un conjunto de pautas sobre calidad y gestión, establecidas por la Organización Internacional de Normalización (ISO). La necesidad de obtener datos confiables, exactos y precisos ha llevado a los laboratorios de análisis a adoptar metodologías basadas en la calidad. Estos procedimientos se logran mediante la aplicación de la norma ISO 17025:2017. El presente trabajo muestra los resultados de la estandarización de los métodos de AOX, hidrocarburos, y tensoactivos, así como la validación del método de cromo total. Con los resultados obtenidos se puede afirmar que los métodos considerados están correctamente aplicados y poseen la exactitud, precisión, incertidumbre y robustez necesarias para ser adoptados como protocolos de trabajo en el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales - CEIAM.

¹ Facultad de ciencias, escuela de química, Directora: Marianny Yajaira Combariza Montañez
Química, Ph. D

ABSTRACT

Title: Implementation of analytical methods AOX, Total Chromium, Hydrocarbons, and Surfactants in drinking water, natural and residual in the laboratory of environmental studies and research (CEIAM).

Author: Ronald Andres Sanchez Suarez²

Keywords: Standardization, validation, ISO 17025: 2017, AOX, Chromium, Hydrocarbons, Surfactants, SAAM.

Quality is a property of processes, necessary throughout history. For example, in Egyptian culture inspectors continually checked the size of granite blocks with ropes that had a specific length. For the industrial revolution the final product was reviewed as bad or good, in this way it was decided how it should be marketed. In the Second World War it was necessary to manufacture powerful weapons, low cost and massive, therefore, the review of the entire final product was impossible. For this reason they began to use statistical quality processes that guarantee the quality of the products delivered. For the year 2010 the ISO 9000 standard was formulated, which is a set of guidelines on quality and management, established by the International Organization for Standardization (ISO). The need to obtain reliable, accurate and precise data has led analytical laboratories to adopt methodologies based on quality. These procedures are achieved through the application of ISO 17025: 2017. The present work shows the results of the standardization of the AOX, hydrocarbon, and surfactant methods, as well as the validation of the total chromium method. With the results obtained it can be said that the methods considered are correctly applied and have the accuracy, precision, uncertainty and robustness necessary to be adopted as work protocols in the laboratory of the Center for Environmental Studies and Research - CEIAM.

² Facultad de ciencias, escuela de química, Directora: Marianny Yajaira Combariza Montañez
Química, Ph. D

INTRODUCCIÓN

A medida que avanza en su camino por el planeta tierra, la especie humana se da cuenta de todas las consecuencias que trae el manejo inadecuado de los recursos naturales. Todos los compartimientos ambientales se han visto fuertemente afectados como consecuencia del aumento exponencial de la población del planeta y el uso incontrolado de recursos, dentro de estos la hidrosfera es uno de los que se encuentra en mayor riesgo. El agua es una molécula muy importante para la vida, fundamental en procesos biológicos, que se encuentra tanto en el interior de nuestras células como en los grandes mares y corresponde al 0.02 % de la masa total del planeta. Aunque la cantidad de agua en el planeta es muy pequeña, su cantidad disponible es aún menor. El 99.5 % del agua del planeta, se encuentra en mares, glaciares, acuíferos subterráneos, etc. Solo el 0.4% de la masa total del agua está en lagos, ríos, humedales y seres vivos. Se estima que el 70% del agua dulce se utiliza en agricultura, el 20% en trabajos industriales, y el 10% en servicio doméstico (WWAP, Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo, 2016).

La contaminación ambiental afecta dramáticamente la hidrósfera, por esta razón muchos los científicos ambientales concentran sus esfuerzos en la generación de tecnologías más limpias, así como en el tratamiento de aguas y en la eliminación del impacto generado por ciertos efectos contaminantes. Tecnologías como la fitorremediación, filtros para calderas, encapsulamiento y la separación de contaminantes, son algunas de las más utilizadas en la actualidad para ayudar en la preservación y regeneración del recurso hídrico (Gillespie & Philp, 2013). Para determinar el efecto de un contaminante en un ecosistema o para estudiar qué tan efectiva es una técnica de remediación es indispensable tener disponibles técnicas de análisis sensibles y robustas. El laboratorio del Centro de Investigaciones Ambientales - CEIAM, realiza análisis de aguas naturales, potables, residuales (domésticas y no domésticas) con el fin de proveer a la comunidad las herramientas necesarias para el análisis de sus cuerpos de aguas. El laboratorio se encuentra en proceso de acreditación, ante el IDEAM, de

los parámetros: AOX (compuestos orgánicos halogenados), cromo total, hidrocarburos y tensoactivos aniónicos con base en métodos establecidos por el (Association, American Public Health, 2017). El objetivo principal de estandarizar y validar estos métodos está en aumentar el portafolio de servicios del laboratorio y en responder a las necesidades del cliente, prestando servicios de utilidad en la toma de decisiones a nivel industrial y empresarial. El proceso de acreditación de mediciones analíticas en aguas requiere de la validación de parámetros experimentales, equipos e interferencias en las mediciones (CEIAM, Manual de calidad, 2008).

En el presente documento se expone el proceso de validación de las técnicas de medición de los parámetros: AOX (compuestos orgánicos Halogenados), cromo total, hidrocarburos y tensoactivos en la matriz agua, con el fin de certificar el apropiado desarrollo en cada uno de los ensayos y asegurar la calidad de los resultados obtenidos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las malas actividades de disposición final de residuos peligrosos en efluentes hídricos, consecuencia de la irresponsabilidad en actividades antropogénicas, han generado un gran impacto en los ecosistemas y por ende en el medio ambiente del planeta. Como consecuencia los recursos naturales de los compartimentos ambientales se han visto afectados enormemente, estos impactos son mucho más notorios en el compartimento hídrico dado la cantidad de especies que en éste habitan. Por lo tanto, se ven afectados ríos, quebradas, esteros, mantos acuíferos, arrecifes coralinos, además de la flora y fauna tanto acuática como terrestre. Por esa razón, se considera fundamental tener información sobre los principales contaminantes que se encuentran en los cuerpos de agua y establecer los efectos generados por su presencia.

Hay una gran cantidad de sustancias que afectan la estabilidad de los cuerpos de agua, los tensoactivos, los hidrocarburos, el cromo, y los compuestos orgánicos halogenados son algunos de estos. La presencia de tensoactivos en las fuentes de agua genera un problema significativo, dado que estos compuestos alteran la tensión superficial del agua lo que altera drásticamente el intercambio de oxígeno con la atmósfera, además, su degradación requiere grandes cantidades de oxígeno, lo cual provoca anoxia del cuerpo hídrico. Además, los tensoactivos pueden reducir la cantidad de radiación solar que interactúa con el medio acuático, y al ser consumidos y metabolizados por algunos microorganismos, pueden generar compuestos altamente tóxicos para la biota (Ivanković & Hrenović, 2010). Por otra parte, muchos hidrocarburos, particularmente aromáticos como el benceno y xileno, son tóxicos y su presencia en el agua causa alteraciones mutagénicas y carcinogénicas en la fauna acuática; además, alteran el intercambio de gases y afectan los microorganismos presentes en aguas (Almeda, Wambaugh, Wang, Hyatt, & Liu, 2013). El cromo trivalente es un oligoelemento en procesos biológicos, sin embargo, el aumento en su concentración en cuerpos

de agua lo hacen tóxico; el cromo hexavalente y tetravalente son altamente tóxicos para múltiples especies, aún en bajas concentraciones. (Parks, y otros, 2004). Finalmente, los compuestos orgánicos halogenados son altamente tóxicos para los seres vivos –biósfera- con grados de impacto dependientes del tipo de compuesto y además con fenómenos de bioacumulación y biomagnificación en cadenas tróficas (Riva & Lopez Ribas, 1996).

En la actualidad existen múltiples procedimientos analíticos para el estudio y determinación de contaminantes en aguas, basados en técnicas analíticas tradicionales como la cromatografía, titrimetría, potenciometría, espectrometría de absorción atómica y la espectrometría de absorción molecular (Association, American Public Health, 2017). Las técnicas de espectrometría de absorción molecular, en particular, se basan tratando la muestra con reactivos que interactúen específicamente con el analito, con el fin de obtener como producto una especie que absorba energía radiante en el rango de los 300 a 900 nm de longitud de onda. Los métodos analíticos basados en este tipo de espectrometría se caracterizan por su sencillez, lo que minimiza la propagación de errores y aumenta la precisión. En estos métodos se pueden observar típicamente resultados con errores experimentales alrededor del $\pm 2\%$ (Harris, 2001).

Con el fin de adoptar procedimientos estándar a nivel internacional, el laboratorio de aguas y suelos del CEIAM se encuentra en el programa de acreditación de la norma NTC-ISO/IEC 17025:2015. Para cumplir con los objetivos de calidad establecidos en la norma, en el laboratorio se realizan procesos de estandarización de métodos normalizados y validación de los no normalizados mediante la determinación de parámetros como: el intervalo de respuesta lineal, linealidad, sensibilidad, límites de detección (LDM), límites de cuantificación (LCM), precisión, exactitud e incertidumbre. De esta forma, se obtienen métodos de análisis confiables y debidamente documentados con resultados transparentes

y con un alto grado de calidad; garantizando la precisión y la exactitud en la medición (CEIAM, Manual de calidad, 2008).

2. JUSTIFICACIÓN

Los efectos negativos causados por la contaminación surgida del incorrecto manejo o mala gestión de residuos peligrosos requieren de estrategias cada vez más avanzadas para su control y mitigación. A su vez son necesarios procedimientos y métodos cada vez más sensibles, precisos y exactos que permitan el análisis de las cantidades y los efectos que tienen las sustancias contaminantes en el medio ambiente. Por tal motivo, el laboratorio del CEIAM mediante el programa ampliación del alcance de acreditación ante el IDEAM quiere poner a disposición de la comunidad el análisis confiable, preciso, exacto y con un alto grado de calidad de los parámetros: tensoactivos, hidrocarburos, cromo, y compuestos orgánicos halogenados.

Con este proyecto se realizará el proceso de estandarización de los métodos: AOX (compuestos orgánicos halogenados), hidrocarburos y tensoactivos; y la validación del método de cromo total. La matriz de los análisis es: agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica). El trabajo involucra además la determinación, para cada técnica analítica, de parámetros de calidad del laboratorio: análisis de blancos, determinación de límites de detección y de cuantificación, seguimiento de patrón control (gráficos control para observar el comportamiento de los datos en función del tiempo), análisis de muestras reales y fortificadas (para establecer la repetitividad y la influencia de la matriz sobre el analito) y se estimación de la incertidumbre del método (CEIAM, Manual de calidad, 2008).

3. MARCO DE REFERENCIA

A medida que los seres humanos entendemos que cada una de nuestras acciones puede afectar el medio en que nos encontramos, nos hacemos cada vez más responsables con las consecuencias que esto acarrea. La contaminación ambiental es un factor muy importante, dada la cantidad de seres vivos que pueden ser afectados. Se estima que más del 80% de las aguas residuales se vierten al medio ambiente sin ningún tipo de tratamiento. Es por esto por lo que en el año 2012 se reportaron más de 800.000 muertes por consumo de agua contaminada (WWAP, Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo, 2016). Cada vez son más las zonas desoxigenadas en mares y océanos a causa del vertido de aguas residuales sin tratar, lo cual afecta a los ecosistemas marinos en una superficie de aproximadamente 245.000 km², con repercusiones dramáticas en la industria y en las cadenas alimenticias (WWAP, Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo, 2016). Otro problema radica en la poca disponibilidad de la información, pues es imposible dar pasos acertados sobre una solución rápida y eficiente al problema ambiental si no se cuenta con información veraz; por ejemplo, en 2017 solo 55, de 193 países en el mundo, poseían información relevante sobre el tratamiento de aguas residuales (WWAP, 2017). Se espera que, en los próximos años, la demanda mundial de agua aumente considerablemente, y la humanidad no está preparada para analizar y tratar toda esta cantidad de aguas residuales (WWAP, 2017).

3.1 Calidad en el laboratorio

Un laboratorio, es un lugar con los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos, prácticas y trabajos científicos, tecnológicos o

técnicos, donde se experimenta, observa y practica con el fin de conocer el entorno. Sin embargo, para lograr estos objetivos, es necesario garantizar la validez, exactitud, y precisión de las mediciones que se realizan. Por este motivo, actualmente se utilizan sistemas de calidad en los laboratorios, que garantizan las tareas que en ellos se llevan a cabo y la calidad en los resultados emitidos.

Con el paso del tiempo se le asigna mayor importancia a la calidad de los diferentes procesos y productos que puedan llegar al cliente. En la cultura egipcia los inspectores revisaban continuamente el tamaño de los bloques de granito con cuerdas que poseían una longitud específica. Para la revolución industrial se revisaba el producto final catalogándolo de malo o bueno, de esta forma se decidía cómo debía comercializarse. En la segunda guerra mundial era necesario fabricar armas potentes de bajo costo y de forma masiva, por tanto, la revisión de todo el producto final era imposible. Por tal motivo se empezó a utilizar procesos de calidad estadísticos que garantizaran la calidad de los productos entregados. Para el año 2010 se formuló la norma ISO 9000, la cual es un conjunto de pautas sobre calidad y gestión, establecidas por la Organización Internacional de Normalización (ISO) que se pueden aplicar en cualquier tipo de organización o actividad, orientada a la producción de bienes o servicios. En 2015 se genera la norma ISO 9001, la cual según el *Lloyd's Register Quality Assurance (LRQA)* genera la infraestructura, procedimientos, procesos, y recursos necesarios para ayudar a las organizaciones a controlar y mejorar su rendimiento y conducirles hacia la eficiencia, servicio al cliente y excelencia en el producto (LRQA, 2018).

En la actualidad la norma que rige en la calidad de los laboratorios es la NTC-ISO/IEC 17025:2017 (ISO/IEC, 2017), la cual tiene como base la familia de normas ISO 9000 (Normas ISO 9001:1994, ISO 9002:1994, ISO 9001:2000, e ISO/IEC 25), sin embargo, introduce una serie de requisitos técnicos imprescindibles para lograr la acreditación de los laboratorios de ensayo y calibración. El proceso de acreditación de agua y suelos del CEIAM le permite determinar la calidad del servicio de acuerdo con los ítems establecidos en la

norma NTC-ISO/IEC 17025:2017 (ISO/IEC, 2017), logrando así mantenerse altamente competitivos en el mercado asegurando resultados confiables según los criterios de valoración de la competencia técnica.

El numeral 5.9 “Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración”, establece que: “El laboratorio debe tener procedimientos de control de la calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y las calibraciones llevados a cabo. Los datos resultantes deben ser registrados en forma tal que se puedan detectar las tendencias y, cuando sea posible, se deben aplicar técnicas estadísticas para la revisión de los resultados. Dicho seguimiento debe ser planificado y revisado y puede incluir, entre otros, los elementos siguientes:

- El uso regular de materiales de referencia certificados y/o un control de la calidad interno utilizando materiales de referencia secundarios
- La participación en comparaciones interlaboratorios o programas de ensayos de aptitud;
- La repetición de ensayos o calibraciones utilizando el mismo método o métodos deferentes;
- La repetición del ensayo o de la calibración de los objetos retenidos;
- La correlación de los resultados para diferentes características de un ítem.”
(International Organization for Standardization, 2017)

En Colombia, el IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales) es el encargado de controlar los resultados emitidos por los laboratorios, en cuanto al análisis cuantitativo para el control de la calidad de los

recursos hídricos; éste garantiza estas actividades mediante procesos de acreditación de los diferentes métodos analíticos con base en la norma NTC-ISO/IEC 17025:2005 que se considera indispensable para los procesos de acreditación (ISO/IEC, 2017). El Laboratorio de aguas y suelos del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM), se encuentra en proceso de acreditación de los métodos analíticos AOX, hidrocarburos, tensoactivos y validación de cromo total actualmente.

3.1.1 Procedimiento estándar de operación

Son los documentos establecidos en el sistema de calidad, los cuales son utilizados por los analistas para conocer el procedimiento y pautas a seguir en el desarrollo del análisis. La realización de este documento sigue el protocolo denominado “Procedimiento estándar de operación general”, el cual se encuentra dentro de la documentación de calidad del laboratorio con código PR-L-63.

3.1.2 Procedimiento de estandarización

Son los documentos establecidos en el sistema de calidad, los cuales son utilizados por los analistas para conocer el procedimiento de estandarización del método analítico y además guardar los datos de las futuras estandarizaciones para su posterior estudio. La realización de este documento sigue el protocolo denominado “Procedimiento para la estandarización de métodos analíticos”, el cual se encuentra dentro de la documentación de calidad del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM con código PR-L-11.

3.1.3 Estandarización y validación de métodos analíticos

Para poder hablar de una estandarización, debemos primero hablar de lo que es un método normalizado. Estos se caracterizan por haber sido estudiados profundamente por varios laboratorios, donde se verifican variables como exactitud, precisión y robustez; de tal forma que estos puedan ser utilizados alrededor del mundo para el análisis de muestras con toda seguridad. Los métodos normalizados son aquellos que son publicados en normas, donde se asegura que es reproducible; de esta forma se logra obtener bibliografía confiable para los análisis de laboratorio. El laboratorio del CEIAM se rige bajo los métodos proporcionados por el Standard Methods [American Public Health Association, 2017].

El laboratorio de análisis certifica variables pertenecientes a un proceso como tal, por ejemplo, la exactitud, las interferencias, la precisión, la precisión intermedia, el rango lineal del método, los límites de cuantificación, la realización de reactivos, etc. Es responsabilidad del laboratorio tomar un método normalizado y estandarizarlo; esto significa verificar cada una de las variables anteriormente contempladas, observar cómo y en qué se afecta cada una de éstas en el ambiente de desarrollo del procedimiento. Por tal motivo, el laboratorio que desea estandarizar un procedimiento de análisis debe determinar figuras de mérito como: límites de detección y cuantificación, controles de blancos, patrones, linealidad del método, además de determinar las posibles interferencias que presentan las matrices a estudiar.

El laboratorio de aguas y suelos del CEIAM, tiene establecido en su manual de calidad (CEIAM, Manual de calidad, 2008), los criterios específicos y válidos para que cada uno de los métodos sea catalogado como un método estandarizado o validado. Para ello cada método debe realizar una estandarización por cada analista que valla a realizar el procedimiento. El proceso de estandarización se realiza siguiendo los análisis reportados a continuación.

3.1.4 Análisis de blancos de reactivos

Un blanco del método está definido como cada sistema físico que sea sometido al procedimiento de análisis siguiendo el método que se está estandarizando y que no posea el analito en la matriz (IDEAM, 2006). Generalmente este tipo de análisis se realiza para determinar el límite de detección del método y el límite de cuantificación en función del promedio y la desviación estándar.

3.1.5 Análisis de muestras adicionadas

Una muestra adicionada es una muestra natural o real a la cual se le ha adicionado una cantidad conocida del analito que se estudia. Esta adición debe hacerse en la forma prevista en el diseño de las condiciones de estandarización para que sea reproducible (Harvey, 2000). Con este análisis se pretende encontrar la reproducibilidad del método, así como la precisión intermedia y las posibles interferencias de la matriz.

3.1.6 Linealidad del método

Se verifica si el método posee una linealidad confiable en todo el rango de la curva, para este fin se verifican la exactitud y precisión de cada uno de los patrones pertenecientes al dominio del gráfico.

3.1.7 Carta control

Está definida como un gráfico de los resultados de las pruebas realizadas a un patrón de concentración conocida con relación al tiempo o secuencia de las mediciones; en donde se establecen límites estadísticos, que pueden ser preventivos, de peligro o de acción (IDEAM, 2006). La finalidad de este

análisis es determinar la precisión y exactitud del método a una concentración conocida.

3.1.8 Determinación de incertidumbre

La incertidumbre se define como “parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando” (EURACHEM, 2012). A grandes rasgos es la duda sobre la validez del resultado, y muestra la imposibilidad de saber el valor exacto una medición. En la norma ISO/IEC 17025:2017, la incertidumbre es de vital importancia; en esta se establece que los laboratorios acreditados deben realizar la estimación de la incertidumbre.

Al realizar el cálculo de la incertidumbre global (incertidumbre estándar combinada), hay que tener en cuenta que se encuentra compuesta por diferentes tipos de incertidumbre como: estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por combinación de todos los componentes de la incertidumbre, sin importar cómo sea evaluada, utilizando la ley de propagación de la incertidumbre (International Organization for Standardization, Guide To The Expression Of Uncertainty In Measurement, 2008).

En el caso de que el laboratorio plantee la implementación de un análisis creado en las instalaciones, o que se deban realizar modificaciones a un método normalizado, los laboratorios deben realizar una validación de éste.

Una validación de método se realiza cuando un método no se encuentra normalizado. En este caso, la validación requiere realizar una estandarización

en la cual se tenga especial cuidado en el manejo estadístico de los datos, además de los posibles inconvenientes que se presenten en el transcurso del proceso. Requiere de procedimientos extra; Uno es el análisis de las matrices a los cuales se les va a realizar este análisis, una planificación de qué muestras el laboratorio está dispuesto a procesar, una definición del método analítico donde se determine cada uno de los pasos, los riesgos y las posibles interferencias a encontrar. Por último, un análisis de robustez, el cual permite saber si hay condiciones del sistema que puedan interferir en el análisis y nos dé información sobre los rangos permisibles de las concentraciones de las interferencias permitidas en la muestra.

3.1.9 Robustez

Un método robusto es aquel que es insensible o resistente a factores de ruido e interferencias, Para conseguir este objetivo se realizan diseños experimentos factoriales, en donde se puedan estudiar los efectos de cada uno de los factores. Los más populares son los experimentos ortogonales de robustez propuestos por Taguchi (Gutierrez & De la vara, 2008).

Un diseño robusto es un experimento en donde se estudian factores de ruido que no pueden ser controlados por el operario, y además pueden afectar el resultado del proceso en cuestión. El objetivo del experimento es encontrar una configuración en la cual la cantidad de ruido posible se pueda minimizar y aumentar considerablemente el control sobre aquellas variables que si se pueden controlar. Generalmente se escogen los diseños propuestos por Taguchi, dado que consisten en diseños experimentales factoriales fraccionados, que poseen la propiedad de ortogonalidad en donde las matrices de diseño se escogen con el fin de obtener una estructura alias tal, que

permita el análisis de todos los factores. Si se estudian siete factores equivale a un diseño factorial fraccionado 2^{7-4}_{III} (Gutierrez & De la vara, 2008).

Algunos ejemplos de este tipo de análisis son los presentados por la guía técnica del instituto de salud pública de Chile, en donde explican a los laboratorios como realizar un análisis de robustez mediante un experimento factorial fraccionado 2^{7-4}_{III} , el cual es conocido como la prueba de Robustez de Younden y Steiner (Instituto de salud pública, 2010). Esta misma prueba es utilizada para el análisis de la robustez en una técnica analítica de suelos marinos (Bedregal, Torres, Ubillús, & Mendoza, 2006), o en la determinación de isómeros de lactato (García, 2015).

3.2 Cálculos estadísticos

Los análisis anteriores requieren la utilización de algunos cálculos estadísticos como la desviación estándar, el promedio, coeficiente de varianza, y porcentaje de error.

3.2.1 Promedio

Es la media aritmética y se calcula mediante la sumatoria de un grupo de datos y se divide a continuación por la cantidad de ellos.

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

3.2.2 Desviación estándar

Es una medida de la dispersión que presentan los datos con respecto al promedio.

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

3.2.3 Coeficiente de varianza

Es la relación entre fracción del promedio correspondiente a la desviación estándar. Se expresa generalmente en porcentajes.

$$\%Cv = \frac{S^2}{\bar{x}} \cdot 100$$

3.2.4 Porcentaje de error

El porcentaje de error permite definir la exactitud con la cual esta reportado un valor experimental con respecto al real.

$$\%E = \frac{x_E - x_t}{x_t} * 100$$

3.2.5 Porcentaje de recuperación

Permite definir la exactitud en función de la relación entre el valor experimental y el real. Este parámetro se utiliza para el análisis de muestras adicionadas con patrón conocido.

$$\%Recup = \frac{valorexperimental}{valorteorico} * 100$$

Donde el valor experimental es el obtenido en el análisis y el valor teórico es el calculado en función del patrón adicionado.

Los análisis presentados anteriormente permiten hallar figuras de mérito muy importantes para la estandarización, estas son el límite de cuantificación y el límite de detección, y el análisis de linealidad permite la obtención de la curva de calibración del método.

3.2.6 Límite de detección (LDM)

Determinación mínima del analito en la cual se puede asegurar la presencia de este y sin embargo, este no puede cuantificado.

3.2.7 Límite de cuantificación (LCM)

Determinación mínima del analito en el cual se puede asegurar la presencia de este y además puede ser cuantificable con un grado de precisión y exactitud aprobadas por el laboratorio.

3.2.8 Curva de calibración

Se define como curva de calibración a la línea de tendencia obtenida en el análisis de la linealidad del método, la cual posee el mayor coeficiente de correlación de Pearson.

3.3 Contaminación ambiental

Las malas actividades de disposición final de residuos peligrosos en efluentes hídricos debido a la irresponsabilidad de la actividad industrial y doméstica han generado un gran impacto en los ecosistemas y por ende en el medio ambiente. Como consecuencia los recursos naturales de los diversos compartimentos ambientales se han visto afectados enormemente (WWAP, 2017). Estos impactos son mucho más notorios en el compartimento hídrico dado la cantidad de especies que en éste habitan. Por tanto, se ven afectados ríos, quebradas, esteros, mantos acuíferos, arrecifes coralinos, además de la flora y fauna tanto acuática como terrestre. Por esa razón, se considera fundamental obtener conocimiento acerca de los principales contaminantes que se encuentran en los cuerpos de agua y establecer los efectos generados por su presencia. Hay una gran cantidad de sustancias que afectan la estabilidad de un entorno hídrico entre las que se encuentran los tensoactivos, los hidrocarburos, el cromo, y los compuestos orgánicos halogenados.

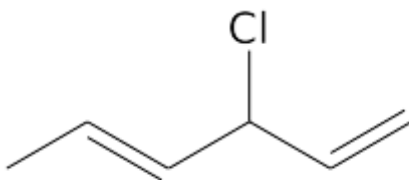
3.3.1 AOX (*Adsorbable Organic Halogens*)

Los compuestos orgánicos halogenados son sustancias químicas orgánicas que contienen uno o varios átomos de un elemento halógeno (generalmente cloro, aunque existen compuestos formados con Bromo e Iodo). Pueden ser sustancias simples y volátiles como es el caso del triclorometano (cloroformo), o moléculas orgánicas complejas como las dioxinas y los furanos; un ejemplo de estos se encuentra en la ilustración 1, la cual nos muestra la estructura química del compuesto 3-cloro-1,4-hexadieno. Estas sustancias pueden presentar gran variedad de propiedades físicas.

Los compuestos orgánicos halogenados pueden provenir de fuentes naturales: a partir de ciertos microorganismos o por erupciones volcánicas, entre otras (Gribble, 2003). Sin embargo, la atmósfera es la principal fuente de

compuestos orgánicos halogenados, que son muy utilizados por la industria debido a sus propiedades químicas como baja inflamabilidad, buena solubilidad y alta reactividad. Por estas razones, son usados en muchas áreas de la industria como desengrasantes, insecticidas, en procesos de lavado en seco, etc. Además, si no se manejan con cuidado, pueden reaccionar en el ambiente y formar nuevos compuestos orgánicos halogenados, en muchos casos más tóxicos que los originales, como la cloramina T, y la cal clórica, entre otros (Riva & Lopez, 1996).

Ilustración 1: Ejemplo de un compuesto orgánico halogenado, en este caso con Cl



3-cloro-1,4-hexadieno

La presencia en el medio ambiente de los compuestos orgánicos halogenados los hace potencialmente peligrosos, dado que se pueden metabolizar por organismos vivos y generar productos altamente tóxicos. En los últimos años se han desarrollado varios métodos analíticos como lo son el TOX (Total Organic Halogens), TOCl (organoclorados totales), AOX (Adsorbable organic halogen) la detección por cromatografía de gases, y detección por cromatografía líquida; siendo desde finales de los 80 los AOX uno de los parámetros sobre los que se han realizado más estudios, debido a su poca complejidad. En muchos países de la unión europea y en estados unidos de América, la presencia de compuestos organohalogenados en aguas continentales y suelos, está legislada, indicándose valores límites permisibles de AOX.

3.3.2 Cromo total

El cromo es un metal de transición con número atómico 24, masa atómica 51,996 y símbolo Cr. Es un metal del grupo de los elementos de transición, gris, muy duro e inoxidable. Gracias a sus propiedades se utiliza en el cromado de objetos, en la fabricación de acero, en objetos refractarios, la galvanoplastia, en la creación de aleaciones de hierro, níquel y cobalto, en la fabricación de herramientas de corte y en el acabado de vehículos. El cromo se puede encontrar fácilmente en la naturaleza en forma de crocoita, que es PbCrO_4 . Sin embargo, la mala gestión de los residuos de actividades asociadas con el uso de cromo causa afectaciones dramáticas al medio ambiente. Por ejemplo, el cromo(IV) es altamente contaminante, mutagénico y tóxico; su aspiración conduce a daños del tabique nasal, asma, bronquitis, neumonitis, e inflamación de la laringe e hígado (Dayan & Paine, 2001). A diferencia de la especie tetravalente, el cromo trivalente es considerado un oligoelemento, indispensable para procesos bioquímicos y fisiológicos necesarios para la vida, específicamente tiene acciones en el metabolismo de la glucosa, el colesterol y los ácidos grasos, además de desempeñar un papel muy importante en diferentes reacciones enzimáticas (Dayan & Paine, 2001). Por otra parte, el cromo (VI) es un elemento altamente tóxico para el ser humano y está clasificado por la IARC (*International Agency for Research on Cancer*) en el grupo I (cancerígeno comprobado en humanos) ya que en exposición ocupacional produce cáncer en el sistema respiratorio (Téllez , Carvajal , & Gaitán, 2004). Además, estudios han encontrado que la exposición al cromo hexavalente puede resultar en problemas clínicos graves.

En la actualidad se han desarrollado numerosos métodos de análisis de cromo dependiendo de su estado de oxidación. Métodos de colorimetría, técnicas de separación por membrana, métodos cromatográficos, métodos

potenciométricos, técnicas de coprecipitación iónica; son algunos de los que se han ideado en el transcurso del tiempo para el análisis de cromo (Parks, y otros, 2004). El método para el análisis de cromo en este documento será el propuesto en el libro *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Association, American Public Health, 2017), particularmente la norma 3500-Cr D “Cromo total por espectrometría de absorción molecular”. El método consiste en una digestión mediante ácido sulfúrico-nítrico de muestras de aguas para posteriormente oxidar todo el cromo presente a Cr (VI) con permanganato de potasio. Finalmente se desarrolla un complejo con difenilcarbazida, la cual genera una coloración rojo-violeta que puede ser medida en un espectrofotómetro UV-vis a 540 nm.

3.3.3 Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos en donde predomina el carbono y el hidrogeno. Debido a su origen existen como mezclas complejas y son analizados como hidrocarburos totales; en muchos casos se pueden usar como un indicador del grado de contaminación de un ecosistema. Todos los compuestos pertenecientes a esta familia poseen características similares como baja solubilidad en agua, alta inflamabilidad y alto potencial de contaminación de aguas y suelos. A esta familia pertenecen los componentes de las gasolinas, los combustibles y la gran mayoría de los derivados del petróleo. La presencia de hidrocarburos en los diferentes compartimientos ambientales demuestra una mala gestión de recursos y residuos de procesos asociados a su extracción y uso. Adicionalmente, actividades bélicas o terroristas cercanas a refinerías u oleoductos pueden agravar el problema de liberación de estos compuestos al medio ambiente. Los hidrocarburos alifáticos no son tóxicos; sin embargo, los hidrocarburos aromáticos simples y condensados son altamente cancerígenos y mutagénicos (Perez, Morales, &

Haza, 2016). En aguas, los hidrocarburos bloquean el intercambio de gases entre el cuerpo hídrico y el aire (ITOPF, 2014). Por tal motivo, existen métodos de análisis de hidrocarburos orientados a determinar estos compuestos y cuantitativamente con el fin de obtener la información necesaria para su gestión como contaminantes. Algunos de estos métodos de análisis incluyen espectroscopía infrarroja, gravimetría, espectroscopía ultravioleta, cromatografía, etc. (Association, American Public Health, 2017).

El análisis de hidrocarburos totales indica la cantidad del contaminante en la muestra y permite establecer relaciones con los impactos negativos a los ecosistemas. Las consecuencias para los seres vivos que entran en contacto con estos contaminantes varían según el grado de exposición, y pueden ir desde síntomas neurotóxicos leves hasta daño permanente en la médula ósea (Heiselman & L, 1990).

En análisis de hidrocarburos mediante el método de extracción soxhlet o por partición, los hidrocarburos se extraen en conjunto con las grasas y aceites; por lo tanto, su análisis implica separación y determinación de la porción correspondiente. Para determinarlos se emplea el gel de sílice que tiene la capacidad de separar los hidrocarburos del petróleo desde el total de grasas y aceites, gracias a que este gel posee una base polar que atrae los compuestos que posean carga eléctrica, los cuales en este caso son los ácidos grasos. Si se mezcla una solución de hidrocarburos y materiales grasos en n-hexano con gel de sílice, los ácidos grasos son extraídos de forma selectiva de la solución. Los materiales no eliminados por absorción al gel de sílice y son considerados hidrocarburos (Association, American Public Health, 2017).

3.3.4 Tensoactivos

En la actualidad uno de los factores que determina la salud de una población es la capacidad de mantener la limpieza, sin riesgos de contagios por enfermedades. Los sumerios en 3000 a.c, ya usaban el jabón para mantener los sitios limpios y con fines medicinales para el tratamiento de la piel. En el siglo VI en Europa los jabones dejaron de considerarse artículos de lujo, su uso contribuyó al aumento de la población gracias al mejoramiento de las condiciones de higiene. En el siglo XVIII Nicolás Leblanc logró la industrialización de la producción de jabón, permitiendo así un gran avance en este campo. En 1917 los científicos Harkins y Lagmuir, descubrieron casi simultáneamente un grupo nuevo de sustancias que trabajaban de forma muy parecida a los jabones, esto se debía a que poseían una parte de su estructura hidrofóbica y otra hidrofílica, ellos denominaron a estas sustancias, tensoactivos. En 1928 Bertsch y colaboradores utilizando alcohol sintético y un alcohol graso como materia prima, y mediante sulfatación, consiguieron la primera sustancia detergente sintética. En 1950 comienza la fabricación de mesolatos y da comienzo a la fisicoquímica intersticial (Cortés, Blanco, Matos, Chávez, Olivera, & Hamad, 2017) . En la actualidad se intenta obtener tensoactivos cada vez más biodegradables, que no alteren el medio ambiente. Para cumplir con este propósito, es indispensable el desarrollo de técnicas analíticas que permitan el análisis de tensoactivos en aguas.

Los tensoactivos son compuestos orgánicos que poseen en su estructura un grupo hidrofóbico y un grupo hidrofílico, por tal motivo, son considerados compuestos anfifílicos. En disolución acuosa estos compuestos se desplazan a la interfase de tal forma que la parte hidrofílica quede en contacto con el solvente, mientras la parte hidrofóbica queda expuesta en la superficie. Este tipo de comportamiento permite que la tensión superficial del líquido disminuye considerablemente, dándole características diferentes. Debido a este

comportamiento en disolución acuosa, estos compuestos son nombrados como tensoactivos y se clasifican en catiónicos y aniónicos dependiendo de la carga de su parte (Regla, Vásquez, Humberto, & Neri, 2014).

Los tensoactivos iónicos son los más consumidos a nivel mundial. Se caracterizan por tener, en su parte hidrofílica, grupos funcionales que se ionizan en disolución acuosa, que pueden ser de naturaleza aniónica, catiónica y no iónica. Los aniónicos tienen iones orgánicos con carga negativa, responsables de la actividad superficial, como sulfatos o sulfonatos de sodio; aunque, tradicionalmente consistían en grupos carboxilatos como los presentes en jabones sólidos. Algunos de estos compuestos son los sulfonatos de alquílsenos, difeniléterdisulfonato de hexadecano lineal, y los carboxilatos de alquilo (Regla, Vásquez, Humberto, & Neri, 2014). Los tensoactivos catiónicos son normalmente sales de amonio cuaternarias, aminas o sales de fosfonio unidas a cadenas alifáticas de distinta naturaleza. En el tercer caso los tensoactivos no iónicos están constituidos por unidades etoxiladas o propoxiladas, siendo utilizados principalmente en la industria textil, como ablandadores de fibras, actuando sobre la fibra de algodón, adhiriéndose a ella y confiriéndole cierta lubricidad y suavidad; de aquí que su principal aplicación sea en formulaciones de productos suavizantes. A este tipo de compuestos se les atribuyen propiedades antibacterianas; además, se usan como inhibidor de la corrosión, en procesos de oxidación y son muy utilizados en procesos de síntesis, como agente transferente entre fases (Ivanković & Hrenović, 2010).

Los tensoactivos se usan ampliamente, en todo el planeta, en productos de limpieza, cosméticos, tratamiento de metales, aditivos de aceites, lubricantes, aditivos en gasolinas, gas-oil, otros combustibles, inhibidores de corrosión, agentes de mojado, auxiliares de proceso en industria textil, dispersión de colorantes, flotación de minerales, plásticos, lacas y pinturas, entre muchas

otras aplicaciones (Ivanković & Hrenović, 2010). Los impactos generados a cuerpos de agua como consecuencia de la descarga de tensoactivos a ecosistemas acuáticos son los siguientes: variaciones en el pH, eutrofización del agua, aumento de metales pesados por solubilización facilitada por tensoactivos, efectos tóxicos sobre el metabolismo de especies acuáticas, anoxia y muerte de especies animales y vegetales, entre otros (Salager, 2002).

Con el fin de determinar las concentraciones de tensoactivos es importante su análisis en aguas, para lo cual el Laboratorio de Aguas y Suelos del CEIAM realiza el análisis por el método colorimétrico del azul de metileno que se encuentra contemplado en la guía de métodos estándar 5530-D (Association, American Public Health, 2017). El método, exclusivo para la determinación de tensoactivos aniónicos, consiste en la reacción del tensoactivo con el azul de metileno para generar un par iónico (sal) entre el anión del surfactante y el catión azul de metileno. La sal resultante es soluble en cloroformo y la intensidad del color producida es proporcional a la concentración de surfactantes aniónicos presentes en la muestra. Este método mide los surfactantes aniónicos presentes habitualmente en la formulación de surfactantes comerciales, no detecta surfactantes catiónicos, ni los no iónicos. Incluye sobre todo surfactantes del tipo sulfonato $[\text{RSO}_3]\text{-Na}^+$, del tipo éster de sulfato $[\text{ROSO}_3]\text{-Na}^+$, y no iónicos sulfatados $[\text{RE}_n\text{OSO}_3]\text{-Na}^+$.

4. OBJETIVOS

4.1 General

- Estandarizar métodos analíticos para la determinación de AOX, hidrocarburos, tensoactivos, y validar el método de cromo total en aguas potables, naturales y residuales (domésticas y no domésticas) en el Laboratorio de Centro de Estudios en Investigaciones Ambientales (CEIAM).

4.2 Específicos

- Elaborar protocolos de trabajo para la validación de AOX, hidrocarburos, cromo total, y tensoactivos en aguas.
- Analizar parámetros de calidad del método tales como exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y porcentajes de recuperación e Interpretar los resultados en cada uno a través de técnicas estadísticas que permitan establecer el cumplimiento de los criterios de aceptación.
- Definir el alcance de los métodos y analizar los posibles factores que pueden llegar a influir cualitativa y/o cuantitativamente en los métodos validados.
- Elaborar un reporte de estandarización y validación con los resultados obtenidos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Elaboración de protocolos de trabajo para la validación o estandarización.

La realización de procedimientos estándar de operación se realizó siguiendo los lineamientos establecidos en el documento denominado “Procedimiento estándar de operación general” (CEIAM, 2012) El cual se encuentra incluido en el sistema de calidad del laboratorio del CEIAM con código PR-L-63.

5.2 Análisis de parámetros de calidad de métodos

5.2.1 Linealidad del método

Se realizó el análisis de 7 curvas de calibración, con el fin de determinar precisión, curvas de tendencia y coeficientes de correlación de Pearson. Con estos datos se calcula la ecuación de la curva de calibración que se utilizara en los análisis posteriores, y la precisión del método.

5.2.2 Análisis de blancos de reactivos

Se analizaron 30 patrones en 30 días, con el fin de determinar promedio, desviación estándar, LDM, y LCM.

5.2.3 Carta control

Se realizó el análisis a 14 patrones de una misma concentración conocida, se calculó precisión y exactitud del método mediante coeficiente de variación y error experimental.

5.2.4 Análisis del límite de detección del método

Se realizó el análisis a 14 patrones de concentración correspondiente al LCM, se determinó la precisión y exactitud del método mediante coeficiente de variación y error experimental.

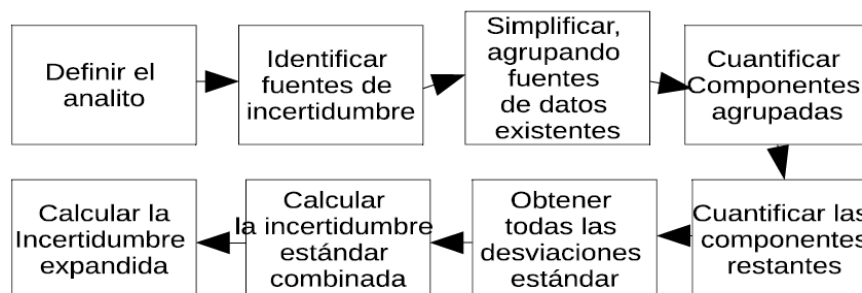
5.2.5 Análisis de muestras adicionadas.

Se realizaron análisis a 14 muestras de las matrices de agua potable, natural y residual. Posteriormente se realizaron análisis a las mismas muestras, pero esta vez con una adición de patrón conocido. Se determina promedio, coeficiente de variación, y porcentaje de recuperación.

5.2.6 Incertidumbre

El siguiente esquema muestra cómo se realizó el procedimiento de determinación de la incertidumbre.

Ilustración 2: Procedimiento seguido en la determinación de incertidumbre



El procedimiento que seguir fue tomado de la guía EURACHEM de incertidumbre (EURACHEM, 2012).

5.2.7 Robustez

En el caso de la validación de métodos analíticos, se debe determinar la robustez. Para ello se realizó un análisis donde se determinaron factores que pueden interferir con la medición del analito. Posteriormente se procedió a realizar un experimento Taguchi (Gutierrez & De la vara, 2008), el cual consistió en un diseño factorial 2^{7-4} , en donde el diseño experimental se realizó 4 veces, con el fin de observar la mayor cantidad de datos y realizar un cálculo de sus efectos. Al obtener los resultados del análisis de robustez, se determinó, un valor de los efectos de cada uno de los factores estudiados.

5.3 Elaboración de reporte de estandarización o validación.

En la elaboración de reporte de estandarización o validación, se realizaron 2 documentos, el primero corresponde al documento que exige el sistema de calidad del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM, en el cual se explican cada una de las pruebas y se dan los resultados obtenidos en el proceso de estandarización. El segundo documento se construyó con la siguiente estructura.

5.3.1 Título

El título hace referencia al nombre de la técnica como tal.

5.3.2 Alcance

Debe determinar el ámbito de aplicación del procedimiento; Las matrices a las cuales se les realizarán el análisis.

5.3.3 Curvas de calibración

Se deben presentar las observancias de cada una de las curvas presentadas, así como su ecuación de la recta, obtenida mediante regresión lineal por mínimos cuadrados y su coeficiente de correlación de Pearson, la cual no debe ser inferior a 0,99.

5.3.4 Límites de detección y de cuantificación

Se realizó el análisis a 30 blancos de reactivos, con su respectivo promedio, desviación estándar y los cálculos para hallar el valor de los límites de detección y cuantificación teóricos.

5.3.5 Gráficos de control

Se realizó el análisis de 14 patrones de concentración idéntica y conocida, con lo cual se construyó una carta control del patrón seleccionado para el estudio. Se determinó promedio, porcentaje de error, desviación estándar, y coeficiente de varianza.

5.3.6 Determinación de muestras reales y adicionadas

Se analizaron 14 muestras de las siguientes matrices, agua potable, agua natural, y agua residual, Asimismo se analizaron 14 muestras adicionadas con patrón conocido, para cada una de las matrices antes mencionadas, se reportaron los porcentajes de recuperación, promedio, y coeficiente de variación.

5.4 Equipos, materiales y reactivos

Los equipos y reactivos utilizados durante todos los procedimientos de validación son suministrados por el laboratorio CEIAM como parte del proceso de acreditación.

5.4.1 Equipos

- Material de vidrio
- Espectrofotómetro
- Balanzas analíticas
- Cabina de extracción
- Planchas de calentamiento
- Equipo de extracción soxhleth
- Horno de secado

5.4.2 Reactivos

- | | |
|--------------------|---------------|
| – Azul de metileno | – Cloroformo |
| – Ácido fosfórico | – Isopropanol |

- Fosfato de sodio monobásico
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio
- Hexano
- Tierras diatomáceas
- Muselina
- Sílice seca malla 100-200
- Sulfito de sodio
- Azida de sodio
- Ácido sulfúrico
- Ácido nítrico
- Difenilcarbocida
- Permanganato de potasio
- Carbón activo
- Ácido nítrico
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico
- Tiosulfato de sodio
- Solución patrón de AOX
- Solución Patrón de Cromo
- Dodesilsulfato de sodio
- Acido esteárico
- Hexadecano

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Elaboración de protocolos de trabajo

Para la elaboración de los protocolos de trabajos PSO se siguieron los lineamientos establecidos en el documento “Procedimiento estándar de operación general”, el cual se puede encontrar en el listado maestro de documentos perteneciente al laboratorio con código PR-L-63 [CEIAM, 2012]. Los códigos de los protocolos de trabajo generados se encuentran en la siguiente tabla.

Tabla 1: Códigos de los procedimientos estándar de operación, encontrados en las instalaciones del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM.

Técnica	Nombre	Código
AOX	PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE AOX	PSO-L-54
Cromo	PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE CROMO TOTAL	PSO-L-52
Hidrocarburos	PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS	PSO-L-42
Tensoactivos	PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE TENSOACTIVOS	PSO-L-51

Además, se generó toda la documentación necesaria para la implementación de cada una de las técnicas, como son los formatos de: cartas control, blancos de

métodos, muestras fortificadas, y almacenamiento de datos; los cuales se pueden consultar en las instalaciones del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM.

6.2 Análisis de parámetros de calidad de métodos

6.2.1 Cromo total

Análisis de Linealidad del método

Este análisis se realiza con base en los datos obtenidos de 7 curvas de calibración entre 0,05 y 1 mg/ de concentración de Cr (III), donde se analizan la reproducibilidad mediante coeficiente de variación, exactitud mediante porcentaje de error, y linealidad mediante el coeficiente correlación de Pearson. Los datos observados se encuentran a continuación (Tabla 2).

Tabla 2: Respuesta del equipo obtenida en el análisis de las curvas de cromo total

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (absorbancia)			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
0,05	0,025	0,024	0,022	0,023
0,07	0,031	0,034	0,033	0,034
0,1	0,038	0,046	0,041	0,043
0,2	0,088	0,081	0,084	0,087
0,3	0,118	0,122	0,122	0,113
0,4	0,159	0,156	0,153	0,171
0,5	0,200	0,199	0,194	0,214
0,7	0,293	0,268	0,266	0,271
0,9	0,340	0,341	0,362	0,379
1	0,381	0,392	0,386	0,405

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (absorbancia)		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
0,05	0,022	0,023	0,024
0,07	0,032	0,034	0,034
0,1	0,039	0,038	0,045
0,2	0,085	0,079	0,083
0,3	0,124	0,117	0,122
0,4	0,161	0,151	0,156
0,5	0,185	0,188	0,200
0,7	0,268	0,270	0,268
0,9	0,369	0,359	0,340
1	0,395	0,376	0,392

El análisis estadístico determina promedio, desviación estándar, y coeficiente de variación para cada una de las concentraciones usadas en la construcción de la curva de calibración. Los resultados se encuentran en la Tabla 3.

Tabla 3: Resultados obtenidos del análisis estadístico de los datos obtenidos en la Tabla 2

Concentración [mg/L]	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación	Factores de respuesta
0,05	0,023	0,001	4,778	0,466
0,07	0,033	0,001	3,666	0,473
0,1	0,041	0,003	7,988	0,414
0,2	0,084	0,003	3,836	0,419
0,3	0,120	0,004	3,158	0,399
0,4	0,158	0,007	4,117	0,395
0,5	0,197	0,010	4,855	0,394
0,7	0,272	0,009	3,479	0,389
0,9	0,356	0,016	4,432	0,395
1	0,390	0,010	2,495	0,390

Como se puede observar en la tabla anterior a cada uno de valores del dominio del gráfico poseen una respuesta precisa, esto se puede observar en el bajo coeficiente de variación (<10%) (Harris, 2001). Posteriormente, para cada curva de

calibración se realiza una regresión lineal con el fin de determinar el coeficiente de correlación de Pearson, mediante una regresión lineal por mínimos cuadrados.

Se escoge la curva 2 ($Y=0,379X+0,006$) en donde Y corresponde a la absorbancia obtenida en el análisis y X a la concentración del patrón analizado; esta curva es seleccionada como la curva de calibración del método, con la cual se calcularán todas las concentraciones de todos los posteriores análisis. La selección de la curva de calibración se realizó comparando los coeficientes de correlación de Pearson, en donde la curva 2 obtiene el valor más alto. Sin embargo, se puede observar que las 7 curvas realizadas poseen un coeficiente de correlación superior a 0,99, por tal motivo, podemos determinar que todas las curvas son lineales en el rango de trabajo. En la ilustración 4 y 5 podemos observar la curva de calibración, y la curva promedio.

Ilustración 3: gráfico de línea de tendencia de la curva de calibración escogida para el método de Cr

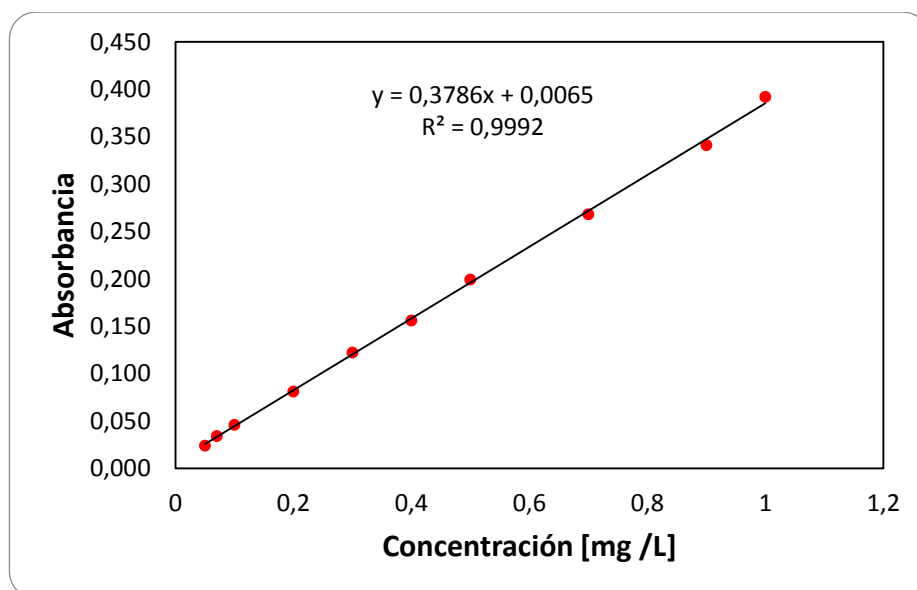
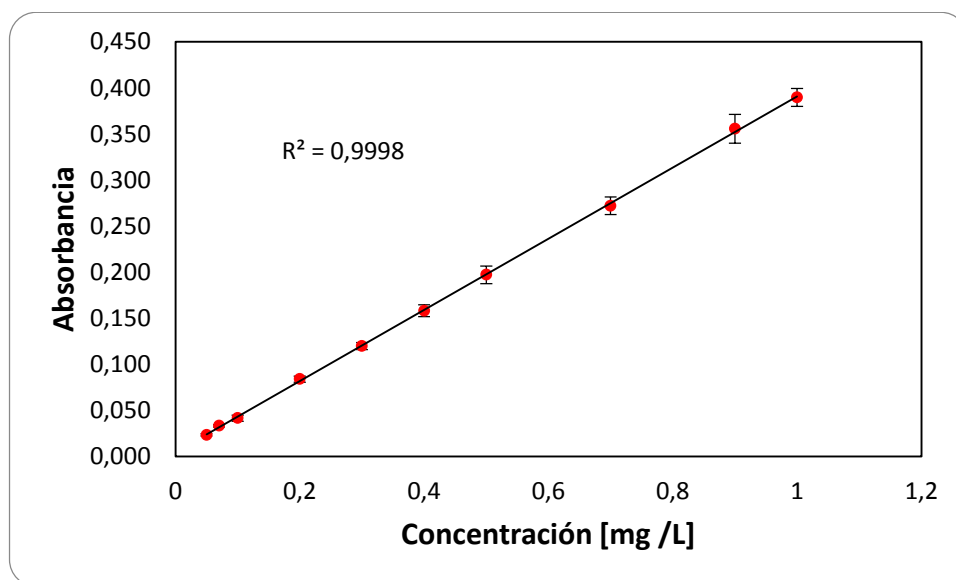


Ilustración 4: gráfico de línea de tendencia del promedio de los datos obtenidos en las 7 curvas de calibración de Cr



Análisis de Blancos de reactivos

Este estudio se basa en la preparación de 30 blancos de reactivos, realizados durante 30 días consecutivos. Este tipo de análisis se utiliza para determinar el límite de cuantificación (LCM), y el límite de detección (LDM), en función de la desviación estándar del blanco. Los resultados de este estudio se encuentran en la tabla 5.

Tabla 4: Respuestas del instrumento al analizar blancos de método de cromo total.

ESTIMACIÓN MINIMA CONCENTRACIÓN					
Dia	BLANCOS DE REACTIVOS		Dia	BLANCOS DE REACTIVOS	
	Absorbancia	[mg/L]		Absorbancia	[mg/L]
1	0,002	-0,012	16	0,001	-0,015
2	0,002	-0,012	17	0,001	-0,015
3	0,003	-0,009	18	0,000	-0,017
4	0,002	-0,012	19	0,001	-0,015
5	0,000	-0,017	20	0,002	-0,012
6	0,003	-0,009	21	0,003	-0,009
7	0,003	-0,009	22	0,000	-0,017
8	0,000	-0,017	23	0,001	-0,015
9	0,002	-0,012	24	0,002	-0,012
10	0,001	-0,015	25	0,000	-0,017
11	0,001	-0,015	26	0,001	-0,015
12	0,000	-0,017	27	0,003	-0,009
13	0,001	-0,015	28	0,000	68,655
14	0,002	-0,012	29	0,000	71,297
15	0,000	-0,017	30	0,001	73,938

Realizando una prueba de T de Suden, para identificación de datos anómalos ($T(30) = 2,37$) (IDEAM, 2006), se evidencia que no existen datos anómalos. Se determinó la desviación estándar, el promedio de concentración de los blancos, estos datos se pueden observar en la siguiente tabla (tabla 5).

Tabla 5: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de blancos

Parámetro	[mg/L]
Promedio	-0,014
Desviación E (s)	0,003
X Mínimo	-0,017
X Máximo	-0,009
T alto	1,604
T bajo	1,172
T Tabulado	2,370

La determinación del límite de detección y límite de cuantificación se realiza de la siguiente forma:

$$LDM = 3 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

$$LCM = 10 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

Con lo anterior, podemos definir que el límite de detección para cromo total corresponde a un valor de 0,005 mg Cr/L, y el límite de cuantificación teórico corresponde a un valor de 0,01 mg Cr/L. Sin embargo, el rango de trabajo seleccionado para el método será de 0,05 a 1 mg Cr/L, dado que en el análisis de límite de detección la determinación a 0.05 mg Cr/l fue la concentración mínima a la cual los resultados estadísticos fueron aceptables.

Carta control

Para realizar este estudio, se analizaron 14 patrones de la misma concentración. Con base en los resultados se calculó la exactitud mediante análisis del porcentaje de error, y la precisión mediante análisis del coeficiente de variación. A continuación, se presentan los resultados (Tabla 6):

Tabla 6: Valores obtenidos del análisis de 14 patrones de Cr

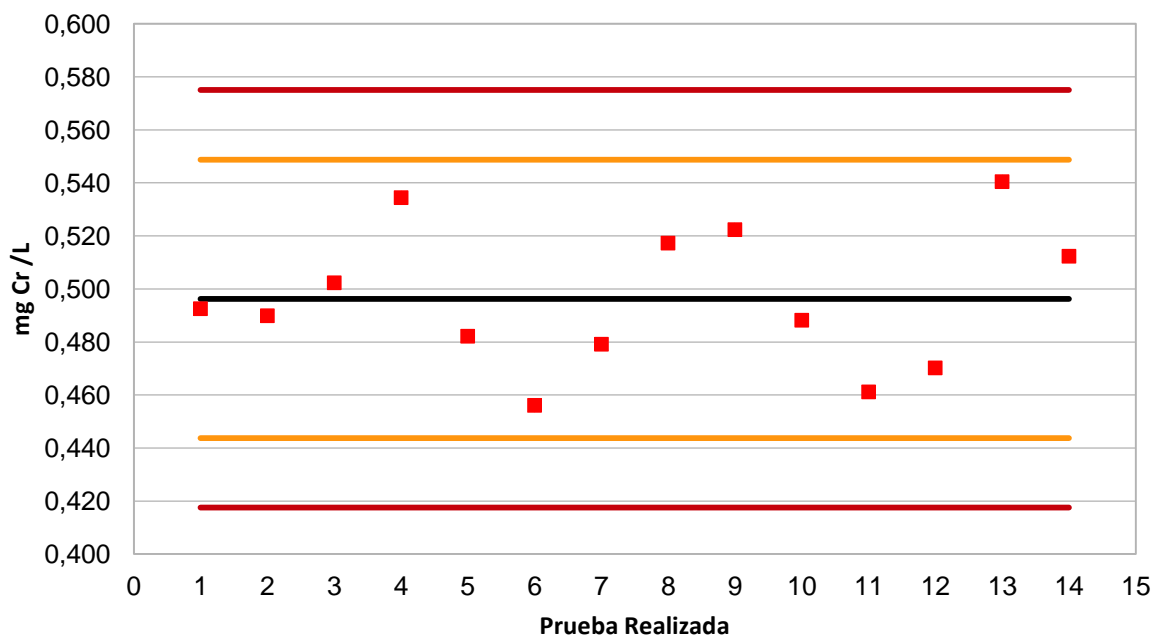
ESTIMACIÓN MINIMA CONCENTRACIÓN		
Dia	PATRÓN 0,5 mg/l	
	Absorbancia	[mg/L]
1	0,193	0,493
2	0,192	0,490
3	0,197	0,502
4	0,209	0,534
5	0,189	0,482
6	0,179	0,456
7	0,188	0,479
8	0,202	0,517
9	0,204	0,522
10	0,191	0,488
11	0,181	0,461
12	0,185	0,470
13	0,211	0,540
14	0,200	0,512

Según los datos recolectados se realizó un gráfico de control (ilustración 5), donde se observa que ningún valor de los patrones superó el valor de 2 veces la desviación estándar (línea amarilla), además el porcentaje de error teórico de todos los datos no supera el 10% por lo que podemos determinar que el método el análisis es exacto y preciso (IDEAM, 2006), el análisis estadístico se puede observar en la siguiente tabla (tabla 7).

Tabla 7: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de carta control

Parámetro	[mg/L]
Promedio	0,496
Desviación E (s)	0,026
CV%	5,289
Valor real	0,500
%Error	0,742
Mínimo	0,456
Máximo	0,540
Talto	1,680
Tbajo	1,532
T Tabulado 95%	2,370

Ilustración 5: Gráfico de carta control del patrón de 0,5 mg Cr/l



Verificación del límite de cuantificación

Se realizó un estudio de 14 patrones cuya concentración corresponde al límite de cuantificación del método (0,05 mg Cr/l). Con los datos obtenidos se determinó la precisión mediante cálculo de coeficiente de variación y exactitud mediante porcentaje de error. En la siguiente tabla (tabla 8 y 9) se pueden observar los datos obtenidos.

Tabla 8: valores obtenidos del análisis de 14 patrones de Cr

VERIFICACIÓN MINIMA CONCENTRACIÓN		
Muestra	sIn referencia 0,05 mg /L	
	Absorbancia	[mg/L]
1	0,025	0,049
1	0,025	0,049
2	0,024	0,046
2	0,025	0,049
3	0,023	0,044
3	0,025	0,049
4	0,023	0,044
4	0,025	0,049
5	0,024	0,046
5	0,025	0,049
6	0,025	0,049
6	0,025	0,049
7	0,025	0,049
7	0,024	0,046

Tabla 9: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el procedimiento de análisis de carta control

Parámetro	[mg/L]
Promedio	0,047
Desviación E (s)	0,002
CV	4,226
Valor real	0,050
%Error	5,060
Mínimo	0,044
Máximo	0,049
Talto	0,658
Tbajo	1,975
T Tabulado	2,370

Como se puede observar en la tabla anterior (tabla 9), se puede concluir que el análisis es preciso y exacto en el LCM, ya que se encontraron valores de coeficiente de variación y porcentajes de error teóricos inferiores al 10% (IDEAM, 2006).

Análisis de Muestras adicionadas

El análisis de muestras adicionadas se realizó sometiendo a análisis 14 muestras de aguas de matriz potable, natural y residual. Posteriormente, a estas muestras se les realizaron adicionados con el objetivo de determinar la reproducibilidad, y las posibles interferencias por matriz. Los datos encontrados se pueden observar en la tabla 10.

Tabla 10: Datos obtenidos del análisis de muestras adicionadas

Ensayo	MUESTRAS + ADICIONADOS		
	Potable	Natural	Residual
	% Recup	% Recup	% Recup
1	110,9	94,7	114,5
2	89,1	94,7	93,6
3	114,6	99,4	97,0
4	90,7	100,0	101,2
5	101,0	101,9	106,4
6	110,3	112,6	86,1
7	87,2	92,3	93,6
8	102,4	98,3	101,5
9	95,6	111,6	95,3
10	91,0	107,2	108,4
11	88,6	86,9	90,4
12	89,7	108,6	95,3
13	103,2	95,7	85,2
14	101,8	95,7	94,4

Ensayo	MUESTRAS + ADICIONADOS		
	Potable	Natural	Residual
Promedio	98,3	100,0	97,4
Desviación E (s)	9,3	7,6	8,3
CV%	9,5	7,6	8,5
Mínimo	87,2	86,9	85,2
Máximo	114,6	112,6	114,5
Talto	1,8	1,7	2,1
Tbajo	1,2	1,7	1,5
T Tabulado	2,4	2,4	2,4

Como se puede observar, las matrices no interfieren en el procedimiento de análisis, esto podemos determinarlo observando que los porcentajes de recuperación de las muestras adicionadas se encuentran en un rango de 80 – 120% (IDEAM, 2006).

Robustez

Para la determinación de robustez se determinó que el laboratorio de aguas y suelos del CEIAM estaba dispuesto a procesar muestras de matrices de agua potable, natural, y residual. Con la ayuda del *Standard Methods*, el cual define las posibles interferencias para el método publicado en la norma 3500 Cr-D (Association, American Public Health, 2017), se proponen las siguientes hipótesis:

μ (0) = la precisión del método de cromo total no se ve afectada por las concentraciones inferiores a 200 mg/l de molibdeno (VI), 200 mg/l de mercurio, 0,05 mg/l de vanadio, 1000 mg/l hierro, 1000 mg/l de DQO, 1000 mg/l de Cloruros, Y 1000 mg/l de sólidos.

De esta forma se determinó que las variables a tener en cuenta en el análisis de robustez, con sus respectivos niveles, serian (tabla 12):

Tabla 11: factores de análisis tomados en cuenta en el diseño experimental

Factor	Nombre	Nivel inferior (1) mg/l	Nivel superior (2) mg/l
A	Molibdeno 6	0	200
B	Mercurio	0	200
C	vanadio	0	0,05
D	Hierro	0	1000
E	DQO	0	1000
F	Cloruros	0	1000
G	Solidos	0	500

Teniendo definido los factores de estudio, se procede a seleccionar el diseño experimental. Para este fin se escoge el diseño factorial ortogonal 2^{7-4}_{III} propuesto por Taguchi (Gutierrez & De la vara, 2008). El cual se encuentra en la tabla 13.

Tabla 12: Configuración de los factores de estudio en el diseño factorial fraccionado

CONFIGURACION DE FACTORES							
Experimento	A	B	C	D	E	F	G
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2
4	1	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2
6	2	1	2	2	1	2	1
7	2	2	1	1	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2

En donde el experimento número 2, consiste en un patrón de 1 mg Cr/l, cuya matriz posee una concentración de 1000 mg Fe/l, 1000 mg de DQO/L, 1000 mg Cl⁻/l y 500 mg de sólidos suspendidos totales por litro. Como se puede observar la matriz del patrón está diseñada de acuerdo con la tabla anterior. Este experimento se realizó 4 veces en días distintos, con el fin de garantizar una buena reproducibilidad.

A continuación, se observan los datos obtenidos del estudio de robustez, se calculó el promedio y se anexa la notación de Yates para cada uno de los experimentos (tabla 14).

Tabla 13: Datos de concentraciones obtenidas a partir de los análisis realizados en el análisis de la robustez

Experimento	Resultados (mg/L)				Promedio	Desv est	Yates
	Ronda 1	Ronda 2	Ronda 3	Ronda 4			
1	1,01	0,98	1,03	0,98	1,00	0,02	-1
2	0,97	0,96	1,02	0,96	0,98	0,03	DEFG
3	1,02	0,95	1,02	1,02	1,00	0,03	BCFG
4	0,99	0,98	0,97	0,99	0,99	0,01	BCDE
5	0,99	1,00	0,98	0,98	0,99	0,01	ACEG
6	0,98	0,96	0,98	0,97	0,97	0,01	ACDF
7	0,99	0,98	0,97	0,98	0,98	0,01	ABEF
8	0,98	1,00	1,01	1,00	1,00	0,01	ABDG

Teniendo los datos de los análisis, se calculan los efectos de cada uno de los factores, el cálculo se realiza tomando los efectos aditivos y restándoles efectos sustractivos (Gutierrez & De la vara, 2008). Un ejemplo de este es el cálculo del efecto A, el cual se encuentra a continuación en notación de Yates:

$$EfectodeA = \frac{ACEG + ACDF + ABEF + ABDG}{4} - \frac{[-1] + DEFG + BCFG + BCDE}{4}$$

Donde ACEG corresponde al valor promedio de la concentración obtenida del experimento 5, los efectos se calculan dado que:

$$siEfecto(X) \geq \sqrt{2} \cdot S^2 \text{ (el factor afecta la precision)}$$

Donde X es cualquiera de los efectos estudiados. A continuación, se pueden observar los datos calculados de los efectos y su comparación con el criterio de aceptación (tabla 15).

Tabla 14: Calculo de los efectos generados por cada uno de los factores

Calculo de efectos					
Efecto	Adicion	Eliminacion	Promedio	Condicion	Aceptacion de la hipotesis
A	0,737	0,989	0,252	0,370	Si
B	0,742	0,984	0,241	0,370	Si
C	0,982	0,745	0,237	0,370	Si
D	0,743	0,983	0,240	0,370	Si
E	0,990	0,737	0,253	0,370	Si
F	0,991	0,735	0,256	0,370	Si
G	0,740	0,986	0,246	0,370	Si

Como se puede observar en la tabla anterior, ninguno de los factores afecta drásticamente la precisión del método analítico, por tanto la hipótesis $\mu(0)$ es aceptada, y se determina que el método de análisis de cromo total puede aplicarse a muestras que posean una concentración inferior o igual a 200 mg/l de molibdeno (VI), 200 mg/l de mercurio, 0,05 mg/l de vanadio, 1000 mg/l hierro, 1000 mg/l de DQO, 1000 mg/l de Cloruros, Y 1000 mg/l de sólidos suspendidos totales.

6.2.2 Tensoactivos

Análisis de la Linealidad del método

Este análisis se realiza con base en los datos obtenidos de 7 curvas de calibración, donde se analizan la reproducibilidad mediante coeficiente de variación, exactitud mediante porcentaje de error, y linealidad mediante el coeficiente correlación de Pearson. Los datos observados se encuentran a continuación (Tabla 16).

Tabla 15: Datos obtenidos a partir de las absorbancias obtenidas en el análisis de linealidad

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (absorbancia)			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
2	0,680	0,680	0,682	0,675
1,7	0,569	0,569	0,589	0,575
1,5	0,542	0,512	0,512	0,536
1,3	0,468	0,468	0,448	0,456
1	0,362	0,363	0,353	0,358
0,7	0,283	0,254	0,254	0,269
0,5	0,208	0,208	0,188	0,196
0,3	0,135	0,135	0,125	0,129
0,2	0,083	0,083	0,083	0,091

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (absorbancia)		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
2	0,684	0,680	0,684
1,7	0,571	0,569	0,571
1,5	0,528	0,542	0,528
1,3	0,451	0,468	0,456
1	0,355	0,363	0,358
0,7	0,259	0,254	0,269
0,5	0,191	0,188	0,188
0,3	0,131	0,125	0,125
0,2	0,092	0,083	0,083

El análisis estadístico determina promedio, desviación estándar, y coeficiente de variación para cada una de las concentraciones usadas en la construcción de la curva de calibración. Los resultados se encuentran en la siguiente tabla (tabla 17).

Tabla 16: Análisis estadístico de los datos obtenidos en el análisis de linealidad

Concentración [mg/L]	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente Variación (%)	Factor de respuesta
2	0,680	0,003	0,492	0,34
1,7	0,575	0,008	1,464	0,33
1,5	0,526	0,014	2,607	0,35
1,3	0,458	0,009	2,050	0,35
1	0,358	0,004	1,207	0,35
0,7	0,264	0,012	4,684	0,37
0,5	0,198	0,009	4,738	0,39
0,3	0,131	0,004	3,239	0,43
0,2	0,086	0,005	5,404	0,43
0,1	0,051	0,005	10,546	0,50
Promedio		0,008	3,643	0,38

Como se puede observar en la tabla anterior a cada uno de los valores del dominio del gráfico poseen una respuesta precisa, esto se puede observar en el bajo coeficiente de variación (<10%) (Harris, 2001). Posteriormente, para cada curva de calibración se realiza una regresión lineal con el fin de determinar el coeficiente de correlación de Pearson, mediante una regresión lineal por mínimos cuadrados. A continuación, se presentan los datos obtenidos en este procedimiento (Tabla 18).

Tabla 17: datos obtenidos en la regresión lineal por mínimos cuadrados de los datos obtenidos en el análisis de linealidad

	Regresión lineal por mínimos cuadrados			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
Pendiente	0,3281	0,3255	0,3293	0,3272
Intercepto	0,0328	0,0294	0,0232	0,0292
R Pearson	0,9977	0,9987	0,9998	0,9992

	Regresión lineal por mínimos cuadrados		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
Pendiente	0,3287	0,3332	0,3308
Intercepto	0,0252	0,0223	0,0234
R Pearson	0,9994	0,9987	0,9993

Se escoge la curva 3 ($Y=0,329X+0,023$) en donde Y corresponde a la absorbancia obtenida en el análisis y X a la concentración del patrón analizado; esta curva es seleccionada como la curva de calibración del método, con la cual se calcularán todas las concentraciones de todos los posteriores análisis. La selección de la curva de calibración se realizó comparando los coeficientes de correlación de Pearson, en donde la curva 3 obtiene el valor más alto. Sin embargo, se puede observar que las 7 curvas realizadas poseen un coeficiente de correlación superior a 0,99, por tal motivo, podemos determinar que todas las curvas son lineales en el rango de trabajo (Harris, 2001). En el siguiente gráfico podemos observar la curva de calibración, y la curva promedio.

Ilustración 6: Grafico de línea de tendencia de la curva de calibración escogida, se obtuvo a partir de la regresión lineal por mínimos cuadrados

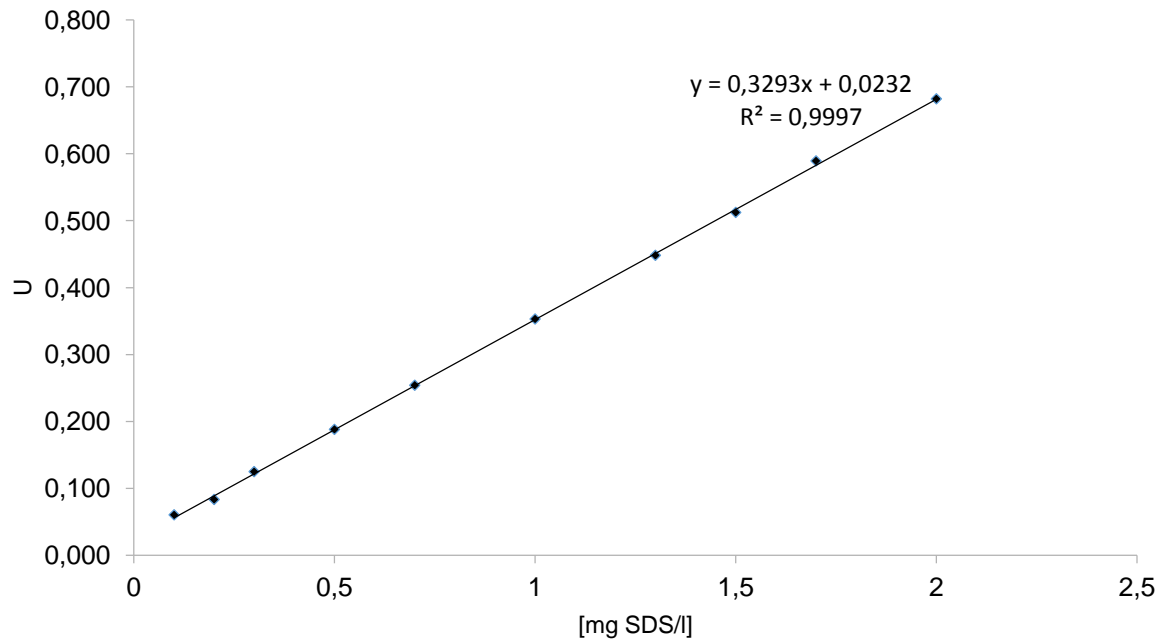
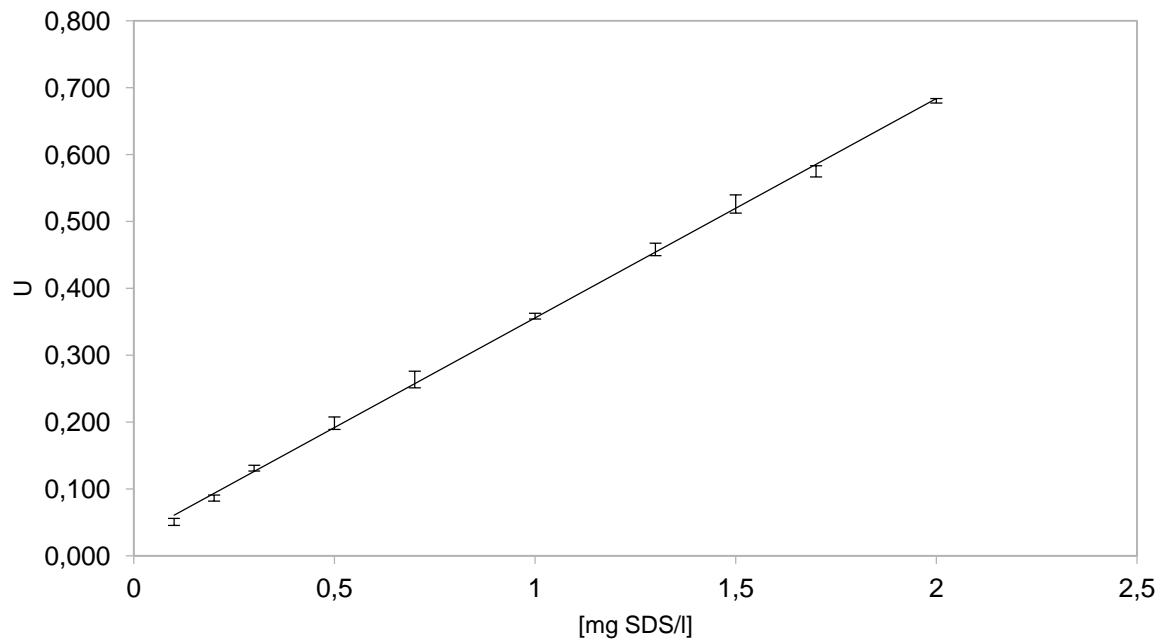


Ilustración 7: Grafico de línea de tendencia de la curva promedio, con sus respectivas barras de errores, se obtuvo a partir de la regresión lineal por mínimos cuadrados



Análisis de Blancos de reactivos

Este estudio se basa en la preparación de 30 blancos de reactivos, realizados durante 30 días. Este tipo de análisis se utiliza para determinar el límite de cuantificación (LCM), y el límite de detección (LDM), en función de la desviación estándar del blanco. Los resultados de este estudio se encuentran en la siguiente tabla (tabla 19):

Tabla 18: datos obtenidos a partir del análisis de blancos del método.

Estimación Mínima Concentración					
Blancos De Reactivos					
Día	Absorbancia	[mg/L]	Día	Absorbancia	[mg/L]
1	0,001	-0,097	16	0,002	-0,094
2	0,002	-0,094	17	0,000	-0,100
3	0,000	-0,100	18	0,001	-0,097
4	0,001	-0,097	19	0,002	-0,094
5	0,001	-0,097	20	0,001	-0,097
6	0,001	-0,097	21	0,000	-0,100
7	0,000	-0,100	22	0,001	-0,097
8	0,001	-0,097	23	0,000	-0,100
9	0,000	-0,100	24	0,001	-0,097
10	0,000	-0,100	25	0,000	-0,100
11	0,000	-0,100	26	0,000	-0,100
12	0,000	-0,100	27	0,001	-0,097
13	0,001	-0,097	28	0,002	-0,094
14	0,002	-0,094	29	0,001	-0,097
15	0,001	-0,097	30	0,001	-0,097

Realizando una prueba de T de Student, para identificación de datos anómalos ($T(30) = 2,37$) (ISO/IEC, 2017), se evidencia que no existen datos anómalos. Se determinó la desviación estándar, el promedio de concentración de los blancos, estos datos se pueden observar en la siguiente tabla (tabla 20).

Tabla 19: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenido en el análisis de blancos de método de tensoactivos.

Parámetro	[mg/l]
Promedio	-0,097
Desviación E (s)	0,002
Mínimo	-0,100
Máximo	-0,094
Talto	1,225
Tbajo	1,225
T Tabulado	2,370

La determinación del límite de detección y límite de cuantificación se realiza de la siguiente forma:

$$LDM = 3 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

$$LCM = 10 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

Con lo anterior, podemos definir que el límite de detección para el método de tensoactivos corresponde a un valor de 0,003 mg SDS/L, y el límite de cuantificación teórico corresponde a un valor de 0,008 mg SDS/L. Sin embargo, el rango de trabajo seleccionado para el método será de 0,2 a 2 mg SDS/l.

Carta control

Para realizar este estudio, se analizaron 14 patrones de la misma concentración. Con base en los resultados se halló la exactitud mediante el porcentaje de error y precisión mediante coeficiente de variación. A continuación, se presentan los resultados (tabla 21)

Tabla 20: Datos obtenidos a partir del análisis del patrón de 1 mg SDS/L

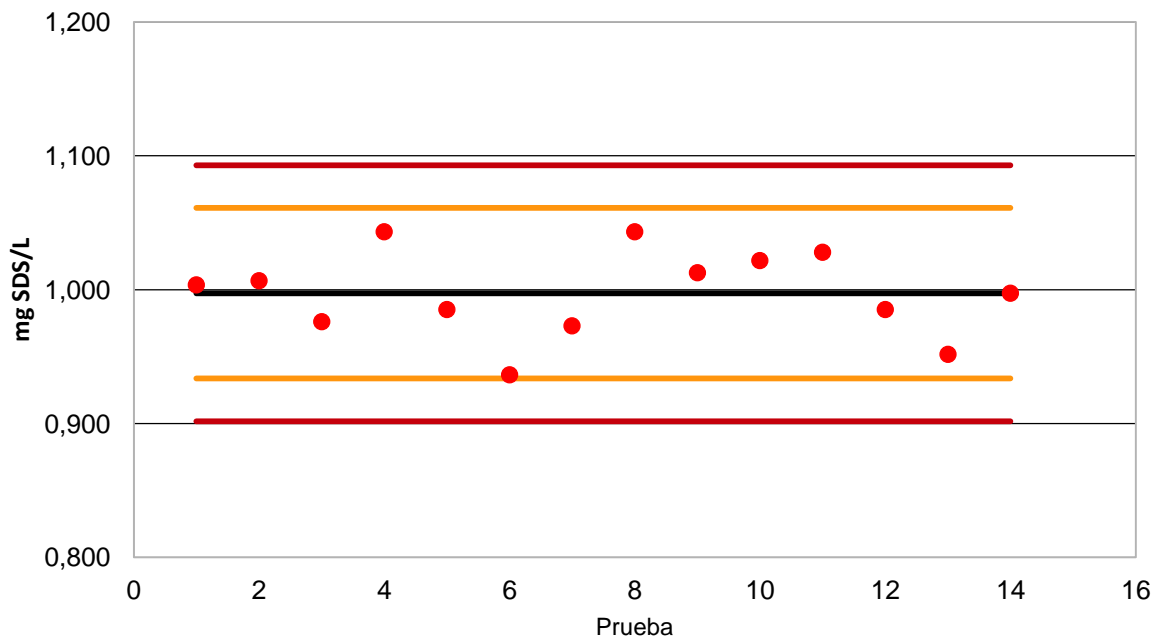
Dia	Patrón De 1 Mg/L	
	Absorbancia	Concentracion [mg/L]
1	0,362	1,003
2	0,363	1,007
3	0,353	0,976
4	0,375	1,043
5	0,356	0,985
6	0,340	0,936
7	0,352	0,973
8	0,375	1,043
9	0,365	1,013
10	0,368	1,022
11	0,370	1,028
12	0,356	0,985
13	0,345	0,952
14	0,360	0,997

Según los datos recolectados se realizó un gráfico de control (ilustración 8), donde se observa que ningún valor de los patrones superó el valor de 2 veces la desviación estándar (línea amarilla), además el porcentaje de error teórico de todos los datos no supera el 10% por lo que podemos determinar que el método el análisis es exacto y preciso (Harris, 2001).

Tabla 21: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en la carta control de tensoactivos.

Parametro	[mg/l]
Promedio	0,997
Desviación E (s)	0,032
CV	3,196
Valor real	1,000
%Error	0,264
Mínimo	0,936
Máximo	1,043
Talto	1,434
Tbajo	1,912
T Tabulado 95%	2,370

Ilustración 8: Carta control de patrón de 1 mg SDS/l



Verificación del límite de cuantificación

Se realizó un estudio de 14 patrones cuya concentración corresponde al límite de cuantificación del método (0,2 mg SDS/l). De los datos reportados se determinó precisión mediante coeficiente de variación y exactitud mediante porcentaje de error. En la siguiente tabla se pueden observar los datos obtenidos (tabla 24 y 25).

Tabla 22: verificación del LCM de tensoactivos

Verificación Mínima Concentración		
sln referencia 0,2 mg /L		
Muestra	Absorbancia	[mg/L]
1	0,095	0,205
1	0,089	0,186
2	0,086	0,177
2	0,087	0,180
3	0,085	0,174
3	0,090	0,189
4	0,091	0,192
4	0,085	0,174
5	0,089	0,186
5	0,089	0,186
6	0,089	0,186
6	0,089	0,186
7	0,085	0,174
7	0,089	0,186

Tabla 23: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en la verificación del límite de detección.

Parametro	[mg/l]
Promedio	0,185
Desviación E (s)	0,008
CV	4,525
Valor real	0,200
%Error	7,703
Mínimo	0,174
Máximo	0,205
Talto	2,400
Tbajo	1,252
T Tabulado	2,370

Como se puede observar en la tabla anterior, podemos determinar que el análisis es preciso y exacto en el LCM, ya que se encontraron valores de coeficiente de variación y porcentajes de error teóricos inferiores al 10% (Harris, 2001).

Análisis de Muestras adicionadas

El análisis de muestras adicionadas se realizó sometiendo a análisis 14 muestras de aguas de matriz potable, natural y residual. Las muestras fueron tomadas de la siguiente forma: el agua potable de la proporcionada por el acueducto de Piedecuesta, Santander. El agua natural de una quebrada, exactamente en la posición Latitud: 7.006252 y longitud: -73074786. El agua residual corresponde a la generada por parque tecnológico Guatiguara. Posteriormente, a estas muestras se les realizaron adicionados de patrón de concentraciones de 20 mg SDS/l, con el objetivo de determinar la reproducibilidad, y las posibles interferencias por matriz. Los datos encontrados se pueden observar en la tabla 26.

Tabla 24: Datos obtenidos a partir del análisis de muestras adicionada del método de tensoactivos.

Ensayo	Muestras + Adicionados		
	Potable	Natural	Residual
	% Recup	% Recup	% Recup
1	83,276	103,495	90,389
1	83,276	100,724	95,698
2	82,474	106,026	94,780
2	83,669	99,136	94,051
3	82,099	95,441	90,661
3	80,147	102,603	92,110
4	84,533	98,198	94,369
4	84,454	106,659	94,657
5	76,893	97,269	92,326
5	83,937	101,904	93,165
6	81,477	110,440	94,186
6	76,066	103,826	95,881
7	84,003	109,453	92,198
7	87,296	107,238	91,952

Ensayo	Muestras + Adicionados		
	Potable	Natural	Residual
	% Recup	% Recup	% Recup
Promedio	82,400	103,029	93,316
Desviación E (s)	3,004	4,582	1,749
CV	3,646	4,447	1,875
Mínimo	76,066	95,441	90,389
Máximo	87,296	110,440	95,881
Talto	1,630	1,617	1,466
Tbajo	2,109	1,656	1,673
T Tabulado	2,370	2,370	2,370

Como se puede observar, las matrices no interfieren en el procedimiento de análisis, esto podemos determinarlo observando que los porcentajes de recuperación de las muestras adicionadas se encuentran en un rango de 80 – 120% (IDEAM, 2006)

6.2.3 Hidrocarburos

Análisis de la Linealidad del método

Este análisis se realiza con base en los datos obtenidos de 7 curvas de calibración, donde se analizan la reproducibilidad mediante coeficiente de variación, exactitud mediante porcentaje de error, y linealidad mediante el coeficiente correlación de Pearson. Los datos observados se encuentran a continuación (tabla 27).

Tabla 25: Datos obtenidos a partir de las curvas de calibración del método de Hidrocarburos.

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (masa)			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
10	10,2	10,0	9,9	10,3
20	20,9	20,5	20,9	20,6
50	46,3	50,8	48,0	49,0
150	141,5	159,2	150,8	150,7
200	196,7	201,1	193,1	184,6

Concentración [mg/L]	Respuesta del instrumento (masa)		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
10	10,2	10,3	10,1
20	19,6	20,2	20,6
50	48,4	46,3	47,3
150	143,6	155,3	154,1
200	202,1	204,3	204,6

El análisis estadístico determina promedio, desviación estándar, y coeficiente de variación para cada una de las concentraciones usadas en la construcción de la curva de calibración. Los resultados se encuentran en la siguiente tabla.

Tabla 26: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de hidrocarburos.

Concentración [mg/L]	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente Variación (%)	Factores de respuesta
10	10,12	0,16	1,62	1,01
20	20,50	0,53	2,60	1,03
50	48,50	1,63	3,36	0,97
150	149,16	6,99	4,69	0,99
200	195,52	7,09	3,62	0,98
Promedio		3,28	3,18	1,00

Como se puede observar en la tabla anterior a cada uno de valores del dominio del gráfico poseen una respuesta precisa, esto se puede observar en el bajo coeficiente de variación (<10%) (Harris, 2001). Posteriormente, para cada curva de calibración se realiza una regresión lineal con el fin de determinar el coeficiente de correlación de Pearson, mediante una regresión lineal por mínimos cuadrados. A continuación, se presentan los datos obtenidos en este procedimiento (tabla 29).

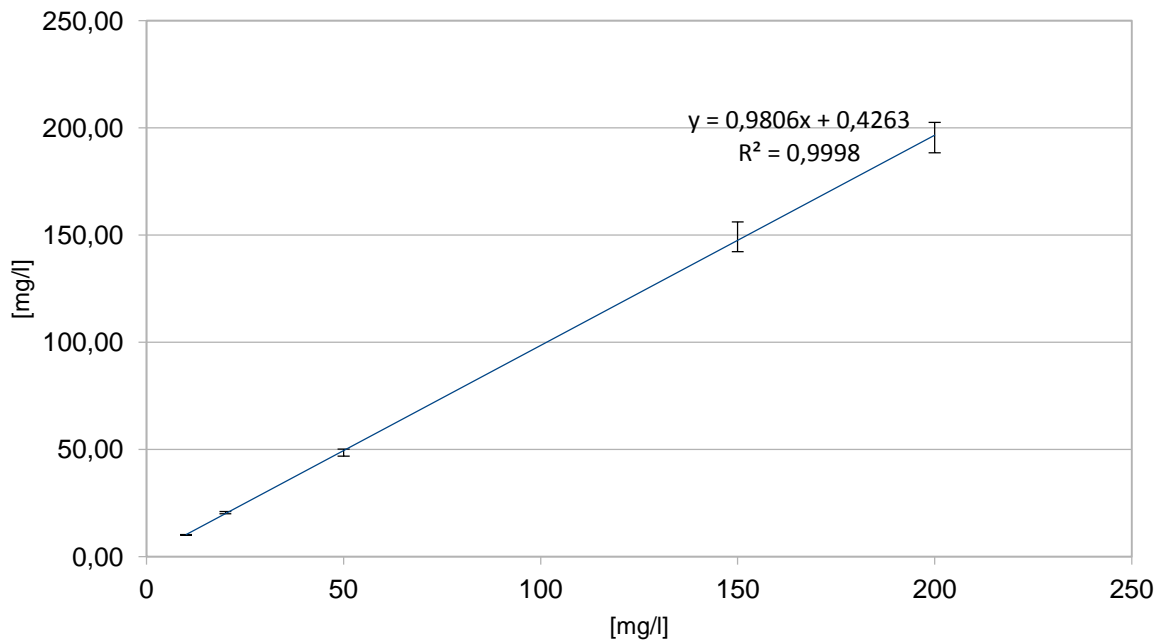
Tabla 27: Datos obtenidos a partir de las regresiones lineales de los datos obtenidos en las curvas de calibración.

	Regresión por mínimos cuadrados			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
Pendiente	0,9698	1,0229	0,9749	0,9391
Intercepto	-0,2819	0,3527	0,6966	2,2784
R Pearson	0,9994	0,9992	0,9995	0,9982

	Regresión por mínimos cuadrados		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
Pendiente	0,9964	1,0325	1,0293
Intercepto	-0,9142	-1,5141	-1,1833
R Pearson	0,9993	0,9996	0,9998

Se puede observar que las 7 curvas realizadas poseen un coeficiente de correlación superior a 0,99, por tal motivo, podemos determinar que todas las curvas son lineales en el rango de trabajo (Harvey, 2000). En el siguiente gráfico la curva promedio (ilustración 9).

Ilustración 9: Gráfico promedio con sus respectivas barras de error, de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de hidrocarburos



Análisis de Blancos de reactivos

Este estudio se basa en la preparación de 14 blancos de reactivos, realizados durante 7 días. Este tipo de análisis se utiliza para determinar el límite de cuantificación (LCM), y el límite de detección (LDM), en función de la desviación estándar del blanco. Los resultados de este estudio se encuentran en la siguiente tabla (tabla 30).

Tabla 28: Datos obtenidos en el análisis de blancos de reactivos del método de hidrocarburos.

BLANCOS DE REACTIVOS			
DÍA	Absorbancia	DÍA	Absorbancia
1	0,6	16	0,6
2	0,1	17	0,3
3	0,5	18	0,5
4	0,0	19	0,4
5	0,2	20	0,3
6	0,6	21	0,7
7	0,1	22	0,4
8	0,2	23	0,6
9	0,6	24	0,9
10	0,3	25	0,3
11	0,5	26	0,4
12	0,5	27	0,3
13	0,3	28	0,1
14	0,5	29	0,3
15	0,3	30	0,2

Parámetro	[mg/l]
Promedio	0,4
Desviación E (s)	0,2
CV	58,9
Mínimo	0,0
Máximo	0,6
Talto	1,2
Tbajo	1,7
T Tabulado	2,4
LDM	1,0
LCM	2,5

Realizando una prueba de T de Student, para identificación de datos anómalos ($T(30) = 2,37$) (IDEAM, 2006), se evidencia que no existen datos anómalos. Se determinó la desviación estándar, el promedio de concentración de los blancos, estos datos se pueden observar en la siguiente tabla.

La determinación del límite de detección y límite de cuantificación se realiza de la siguiente forma:

$$LDM = 3 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

$$LCM = 10 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

Con lo anterior, podemos definir que el límite de detección para Hidrocarburos corresponde a un valor de 0,98 mg/L, y el límite de cuantificación teórico corresponde a un valor de 2,45 mg/L. Sin embargo, el rango de trabajo seleccionado para el método será de 10 a 200 mg/l.

Carta control

Para realizar este estudio, se analizaron 14 patrones de la misma concentración. Con base en los resultados se halló la exactitud mediante el porcentaje de error y

precisión mediante coeficiente de variación. A continuación, se presentan los resultados (tabla 31).

Tabla 29: Datos obtenidos a partir del análisis de patrón control de hidrocarburos.

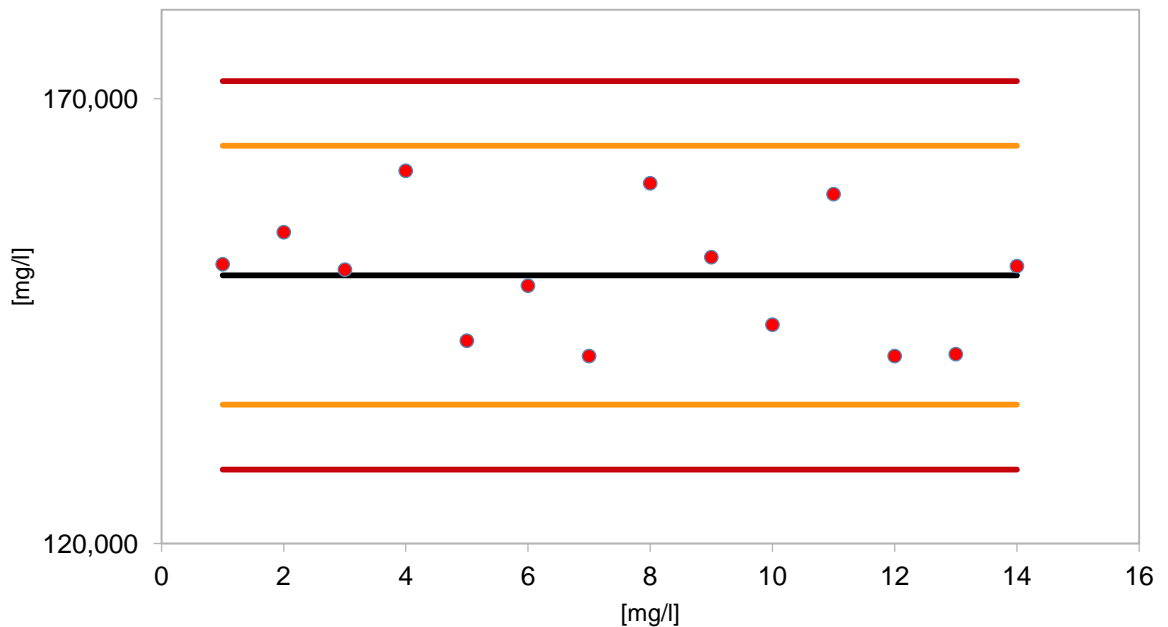
Patron de 150 mg/l	
DIA	CONCENTRACION [mg/L]
1	151,4
2	155,0
3	150,8
4	161,9
5	142,8
6	149,0
7	141,1
8	160,5
9	152,2
10	144,6
11	159,3
12	141,1
13	141,3
14	151,2

Parametro	mg/l
Promedio	150,16
Desviación E (s)	7,27
CV	4,84
Valor real	150,00
%Error	0,10
Mínimo	141,10
Máximo	161,90
Talto	1,61
Tbajo	1,25
T Tabulado	2,37

Según los datos recolectados se realizó un gráfico de control (ilustración 10), donde se observa que ningún valor de los patrones superó el valor de 2 veces la

desviación estándar (línea amarilla), además el porcentaje de error teórico de todos los datos no supera el 10% por lo que podemos determinar que el método el análisis es exacto y preciso (Harris, 2001).

Ilustración 10: Carta control del patrón de 150 mg/l del método de hidrocarburos



Verificación del límite de cuantificación

Se realizó un estudio de 14 patrones cuya concentración corresponde al límite de cuantificación del método (10 mg/l). De los datos reportados se determinó precisión mediante coeficiente de variación y exactitud mediante porcentaje de error. En la siguiente tabla se pueden observar los datos obtenidos (tabla 33 y 34).

Tabla 30: Datos obtenidos a partir de la verificación del LCM.

Verificación mínima	
sIn referencia 10 mg /L	
DÍA	Absorbancia
1	9,2
1	10,5
2	9,8
2	9,6
3	9,5
3	9,6
4	10,2
4	10,3
5	9,6
5	10,7
6	10,8
6	9,2
7	10,5
7	9,9

Tabla 31: Datos obtenidos a partir del análisis estadístico de la verificación del límite de detección del método.

Parámetro	mg/l
Promedio	9,957
Desviación E (s)	0,540
CV	5,4
Valor real	10,000
%Error	-0,4
Mínimo	9,200
Máximo	10,800
Talto	1,56
Tbajo	1,40
T Tabulado	2,37

Como se puede observar en la tabla anterior, podemos determinar que el análisis es preciso y exacto en el LCM, ya que se encontraron valores de coeficiente de variación y porcentajes de error teóricos inferiores al 10% (Harris, 2001).

6.2.4 AOX

Análisis de la Linealidad del método

Este análisis se realiza con base en los datos obtenidos de 7 curvas de calibración, donde se analizan la reproducibilidad mediante coeficiente de variación, exactitud mediante porcentaje de error, y linealidad mediante el coeficiente correlación de Pearson. Los datos observados se encuentran a continuación (tabla 35).

Tabla 32: Datos obtenidos a partir de las curvas de calibración del método de AOX.

Concentración	Respuesta del instrumento (absorbancia)			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
0,25	0,034	0,032	0,032	0,031
0,5	0,065	0,065	0,062	0,064
1	0,140	0,133	0,133	0,127
1,5	0,209	0,182	0,202	0,184
2	0,278	0,262	0,255	0,283
2,5	0,315	0,299	0,291	0,346

Concentración	Respuesta del instrumento (absorbancia)		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
0,25	0,030	0,030	0,030
0,5	0,062	0,059	0,060
1	0,120	0,124	0,135
1,5	0,177	0,196	0,193
2	0,253	0,267	0,250
2,5	0,327	0,340	0,317

El análisis estadístico determina promedio, desviación estándar, y coeficiente de variación para cada una de las concentraciones usadas en la construcción de la curva de calibración. Los resultados se encuentran en la siguiente tabla (tabla 36).

Tabla 33: datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de AOX.

Concentración	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente Variación (%)	Factores de respuesta
0,25	0,031	0,001	4,782	0,125
0,5	0,062	0,002	3,797	0,125
1	0,130	0,007	5,312	0,130
1,5	0,192	0,012	5,999	0,128
2,5	0,319	0,020	6,313	0,128
Promedio		0,0085	5,2406	0,1272

Como se puede observar en la tabla anterior a cada uno de valores del dominio del gráfico poseen una respuesta precisa, esto se puede observar en el bajo coeficiente de variación (<10%) (Harris, 2001). Posteriormente, para cada curva de calibración se realiza una regresión lineal con el fin de determinar el coeficiente de correlación de Pearson, mediante una regresión lineal por mínimos cuadrados. A continuación, se presentan los datos obtenidos en este procedimiento (tabla 37).

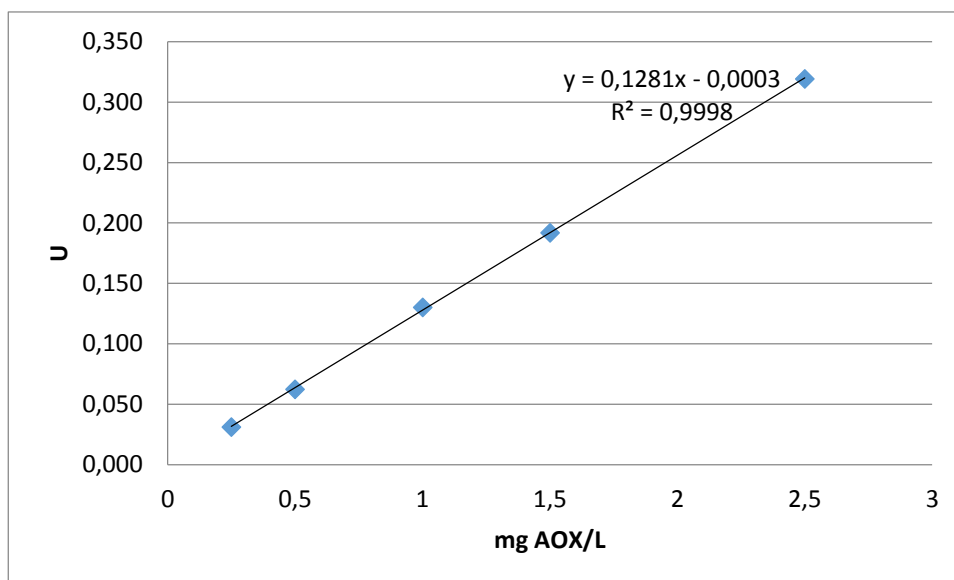
Tabla 34: Datos obtenidos a partir de las regresiones lineales de los datos obtenidos en las curvas de calibración.

	Regresión por mínimos cuadrados			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
Pendiente	0,1298	0,1213	0,1192	0,1412
Intercepto	0,0059	0,0055	0,0086	-0,0099
R Pearson	0,9958	0,9967	0,9942	0,9967

	Regresión por mínimos cuadrados		
	Curva 5	Curva 6	Curva 7
Pendiente	0,1304	0,1385	0,1268
Intercepto	-0,0070	-0,0096	0,0003
R Pearson	0,9981	0,9996	0,9992

Se escoge la curva 6 ($Y=0,1385X-0,0096$) en donde Y corresponde a la absorbancia obtenida en el análisis y X a la concentración del patrón analizado; esta curva es seleccionada como la curva de calibración del método, con la cual se calcularán todas las concentraciones de todos los posteriores análisis. La selección de la curva de calibración se realizó comparando los coeficientes de correlación de Pearson, en donde la curva 6 obtiene el valor más alto. Sin embargo, se puede observar que las 7 curvas realizadas poseen un coeficiente de correlación superior a 0,99, por tal motivo, podemos determinar que todas las curvas son lineales en el rango de trabajo (Harris, 2001). En el siguiente gráfico (ilustración 11) podemos observar la curva promedio.

Ilustración 11: Gráfico promedio de los datos obtenidos en las curvas de calibración del método de AOX



Análisis de Blancos de reactivos

Este estudio se basa en la preparación de 14 blancos de reactivos, realizados durante 7 días. Este tipo de análisis se utiliza para determinar el límite de cuantificación (LCM), y el límite de detección (LDM), en función de la desviación estándar del blanco. Los resultados de este estudio se encuentran en la siguiente tabla (tabla 38).

Tabla 35: Datos obtenidos en el análisis de blancos de reactivos del método de AOX.

ESTIMACIÓN MINIMA CONCENTRACIÓN					
BLANCOS DE REACTIVOS					
DÍA	Absorbancia	[mg/L]	DÍA	Absorbancia	[mg/L]
1	0,003	0,021	16	0,006	0,045
2	0,005	0,037	17	0,009	0,068
3	0,002	0,013	18	0,005	0,037
4	0,001	0,005	19	0,009	0,068
5	0,002	0,013	20	0,002	0,013
6	0,007	0,052	21	0,007	0,052
7	0,006	0,045	22	0,010	0,076
8	0,007	0,052	23	0,006	0,045
9	0,001	0,005	24	0,001	0,005
10	0,000	-0,003	25	0,009	0,068
11	0,002	0,013	26	0,002	0,013
12	0,007	0,052	27	0,005	0,037
13	0,009	0,068	28	0,008	0,060
14	0,006	0,045	29	0,004	0,029
15	0,009	0,068	30	0,005	0,037

Realizando una prueba de T de Student, para identificación de datos anómalos ($T(30)=2,37$) (IDEAM, 2006), se evidencia que no existen datos anómalos.

La determinación del límite de detección y límite de cuantificación se realiza de la siguiente forma:

$$LDM = 3 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

$$LCM = 10 \cdot S^2 \cdot \bar{X}$$

Con lo anterior, podemos definir que el límite de detección para AOX corresponde a un valor de 0,1 mg AOX/L, y el límite de cuantificación teórico corresponde a un valor de 0,25 mg AOX/L. Sin embargo el rango de trabajo seleccionado para el método será de 0,5 a 2,0 mg AOX/l.

Carta control

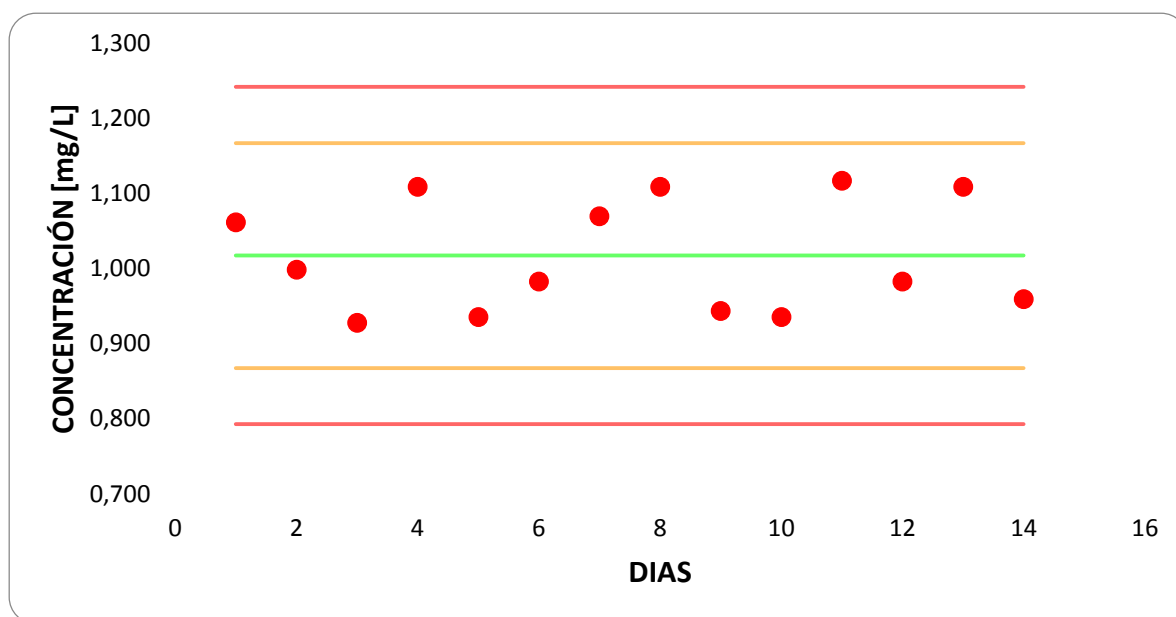
Para realizar este estudio, se analizaron 14 patrones de la misma concentración. Con base en los resultados se halló la exactitud mediante el porcentaje de error y precisión mediante coeficiente de variación. A continuación, se presentan los resultados (tabla 39).

Tabla 36: Datos obtenidos a partir del análisis de patrón control de hidrocarburos.

DIA	CONCENTRACION [mg/L]
1	1,062
2	0,999
3	0,928
4	1,109
5	0,936
6	0,983
7	1,070
8	1,109
9	0,943
10	0,936
11	1,117
12	0,983
13	1,109
14	0,959

Según los datos recolectados se realizó un gráfico de control (ilustración 12), donde se observa que ningún valor de los patrones superó el valor de 2 veces la desviación estándar (línea amarilla), además el porcentaje de error teórico de todos los datos no supera el 10% por lo que podemos determinar que el método el análisis es exacto y preciso (Harris, 2001).

Ilustración 12: Carta control del patrón de 150 mg/l del método de hidrocarburos



Verificación del límite de cuantificación

Se realizó un estudio de 14 patrones cuya concentración corresponde al límite de cuantificación del método (0,5 mg AOX/l). De los datos reportados se determinó precisión mediante coeficiente de variación y exactitud mediante porcentaje de error. En la siguiente tabla se pueden observar los datos obtenidos (tabla 41 y 42).

Tabla 37: Datos obtenidos a partir de la verificación del LCM.

VERIFICACIÓN MINIMA CONCENTRACIÓN		
sIn referencia 0,5 mg /L		
DÍA	Absorbancia	[mg/L]
1	0,061	0,478
2	0,070	0,549
3	0,060	0,470
4	0,058	0,455
5	0,061	0,478
6	0,059	0,462
7	0,066	0,518
8	0,066	0,518
9	0,064	0,502
10	0,058	0,455
11	0,060	0,470
12	0,066	0,518
13	0,067	0,526
14	0,064	0,502

Tabla 38: Datos obtenidos a partir del análisis estadístico de la verificación del límite de detección del método.

Parámetro	mg/L
Promedio	0,489
Desviación E (s)	0,027
CV	5,516
Valor real	0,500
%Error	2,121
Mínimo	0,455
Máximo	0,526
T alto	1,339
T bajo	1,290
T Tabulado	2,370

Como se puede observar en la tabla anterior, podemos determinar que el análisis es preciso y exacto en el LCM, ya que se encontraron valores de coeficiente de variación y porcentajes de error teóricos inferiores al 10% (Harris, 2001).

6.3 Reportes de estandarización y validación con los resultados obtenidos.

Para la elaboración de los informes de estandarizaciones, se siguieron los lineamientos establecidos en el documento “Procedimiento para la estandarización de métodos analíticos”, el cual se puede encontrar en el listado maestro de documentos perteneciente al laboratorio con código PR-L-11. Los códigos de los informes de estabilizaciones generados se encuentran en la siguiente tabla.

Tabla 39: Codificación de los procedimientos de estandarización en el sistema de calidad del laboratorio de aguas y suelos del CEIAM.

Técnica	Nombre	Código
AOX	Procedimiento de estandarización de AOX	PR-L-74
Cromo	Procedimiento de estandarización de Cromo total	PR-L-54
Hidrocarburos	Procedimiento de estandarización de hidrocarburos	PR-L-71
Tensoactivos	Procedimiento de estandarización de tensoactivos	PR-L-70

Además, se realizó un segundo reporte de estandarización, los cuales se encuentran a continuación.

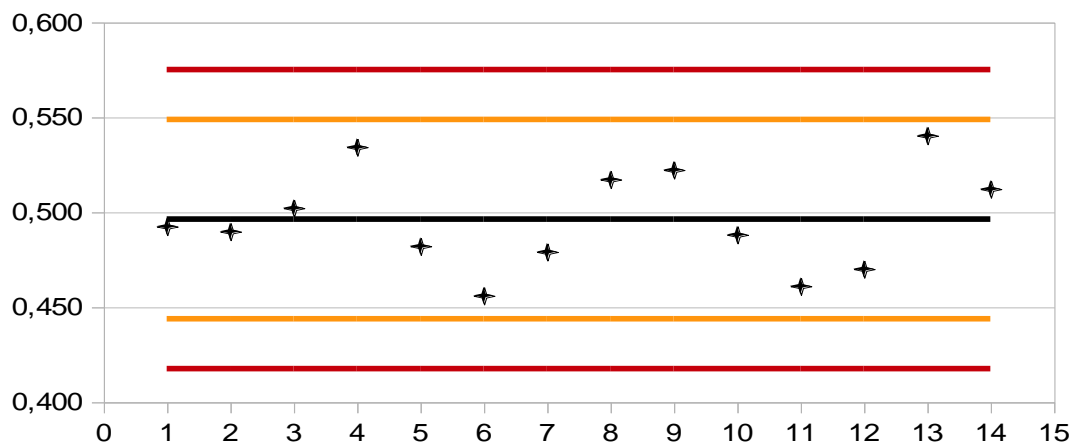
Titulo	TENSOACTIVOS ANIONICOS MEDIANTE METODO SAAM , Método Colorimétrico, Standard Methods 5540 D ed. 23 de 2017		
Alcances	Aguas naturales, potables y residuales, que posean concentraciones bajas de sulfonatos, carboxilatos, y tiocianatos		
Curvas de calibración			
Numero	Pendiente	Intercepto	Pearson
1	0,328	0,033	0,9989
2	0,326	0,029	0,9993
3	0,329	0,023	0,9999
4	0,327	0,029	0,9996
5	0,329	0,025	0,9997
6	0,333	0,022	0,9987
7	0,331	0,023	0,9993
LDM	LCM	Dominio de trabajo	Rango de Trabajo
0,05 mg SDS/L	0,2 mg SDS/L	0,2 a 2 mg SDS/L	0,040 a 0,700 U
Gráfico de control			
Ensayo	Muestras + Adicionados		
	Potable	Natural	Residual
	% Recup	% Recup	% Recup
Promedio	82,400	103,029	93,316
Desviación E (s)	3,004	4,582	1,749
CV	3,646	4,447	1,875

Titulo	PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE CROMO TOTAL, Método de la espectrometría de absorción molecular, Estándar methods 3500-Cr D
Alcances	Aguas naturales, potables, y residuales que posean concentraciones bajas de molibdeno, mercurio, vanadio, hierro, cloruros, DQO y soldios suspendidos

Curvas de calibracion			
Numero	Pendiente	Intercepto	Pearson
1	0,3806	0,0066	0,9993
2	0,3786	0,0065	0,9998
3	0,3856	0,0035	0,9997
4	0,4053	0,0031	0,9982
5	0,3937	0,0018	0,9992
6	0,3815	0,0025	0,9997
7	0,3781	0,0068	0,9998

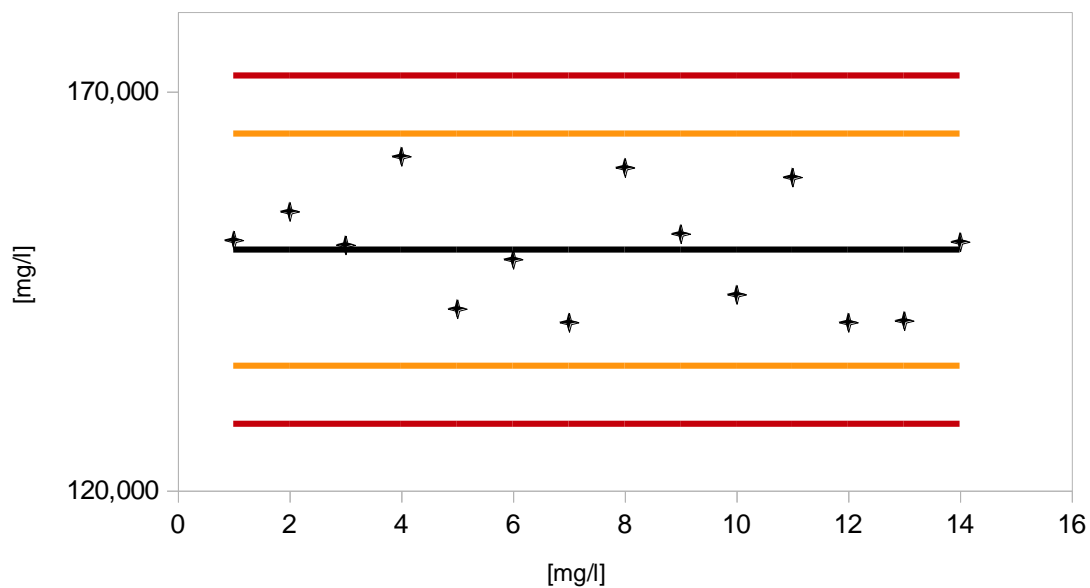
LDM	LCM	Dominio de trabajo	Rango de Trabajo
0,005 mg Cr/L	0,05 mg Cr/L	0,05 a 1 mg Cr/L	0,020 a 0,400 U

Grafico de control

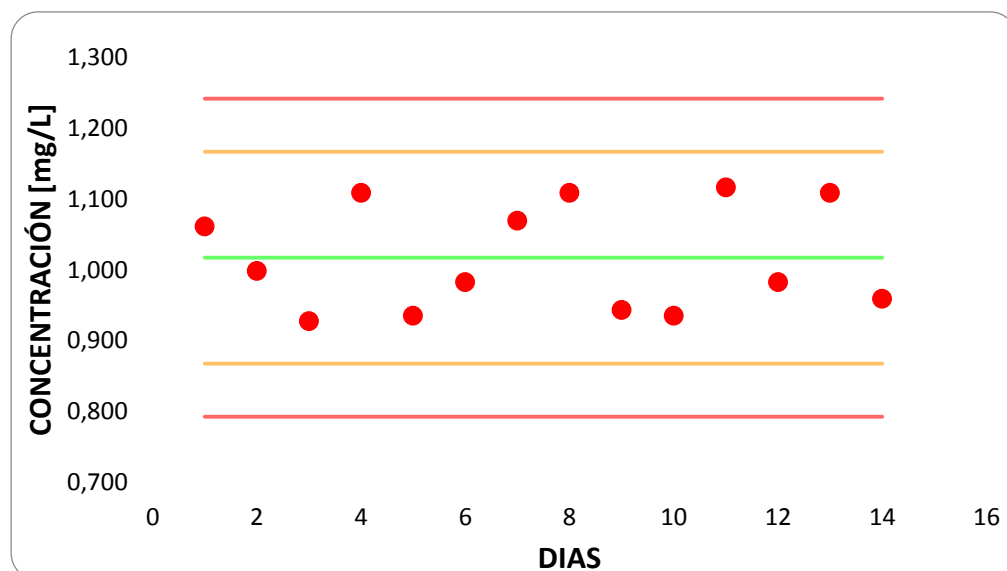


Ensayo	Muestras + Adicionados		
	Potable	Natural	Residual
	% Recup	% Recup	% Recup
Promedio	98,290	99,966	97,353
Desviación E (s)	9,293	7,580	8,299
CV	9,455	7,583	8,525

Titulo	PROCEDIMIENTO PARA LA ESTANDARIZACION DEL MÉTODO DE HIDROCARBUROS, analisis de hidrocarburos, Standard methods 5520 f		
Alcances	Aguas naturales, potables, y residuales		
Curvas de calibracion			
Numero	Pendiente	Intercepto	Pearson
1	1,0	-0,3	0,9997
2	1,0	0,4	0,9996
3	1,0	0,7	0,9998
4	0,9	2,3	0,9991
5	1,0	0,9	0,9996
6	1,0	-1,5	0,9996
7	1,0	-1,2	0,9998
LDM	LCM	Dominio de trabajo	Rango de Trabajo
0,98 mg Cr/L	2,85 mg Cr/L	10 a 200 mg/L	10 a 200 mg/L
Grafico de control			



Título	Procedimiento para la estandarización del método de AOX, análisis colorimétrico, Kit Merck		
Alcances	Aguas naturales, potables y residuales		
Curvas de calibración			
Numero	Pendiente	intercepto	Pearson
1	0,1298	0,0059	0,9958
2	0,1213	0,0055	0,9967
3	0,1192	0,0086	0,9942
4	0,1412	-0,0099	0,9967
5	0,1304	-0,0070	0,9981
6	0,1385	-0,0096	0,9996
7	0,1268	0,0003	0,9992
LDM	LCM	Dominio de trabajo	Rango de trabajo
0,1 mg AOX/L	0,25 mg AOX/L	0,5 - 2,0 mg AOX/L	0,030 - 0,350
Gráfico de control			



7. CONCLUSIONES

- Se estandarizó con ayuda un espectrofotómetro de absorción molecular UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300 los métodos analíticos colorimétricos: AOX, y tensoactivos, corroborando las variables establecidas por la literatura, determinando las cifras analíticas de mérito y estimando la incertidumbre en el Laboratorio de Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM).
- Se Valido con ayuda un espectrofotómetro de absorción molecular UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300 el método analítico colorimétrico cromo total, corroborando las variables establecidas por la literatura, determinando las cifras analíticas de mérito, estimando la incertidumbre, y demostrando la robustez frente a interferencias, en el Laboratorio de Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM).
- Se estandarizó con ayuda de una balanza analítica el método analítico gravimétrico de hidrocarburos, corroborando las variables establecidas por la literatura, determinando las cifras analíticas de mérito y estimando la incertidumbre en el Laboratorio de Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM).
- Se determinó que los métodos estandarizados y validados en este trabajo poseen un coeficiente de variación menor al 10%, un porcentaje de error con respecto a patrones trazables menores al 10%, un porcentaje de recuperación de muestras adicionadas inferior al 10%. Lo que nos indica que los métodos son exactos y precisos.

- Se concluyó que todos los métodos estandarizados o validados poseen una linealidad aceptable, con respecto al método de validación proporcionado por el IDEAM, el cual establece que el límite de aceptación de una linealidad corresponde a un coeficiente de variación de Pearson superior a 0,99.
- Se determinó que el método de cromo total puede ser usado en aguas residuales, siempre y cuando no supere los límites de concentración estipulados en la robustez.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar reproducibilidad de todos los métodos establecidos en este trabajo, realizando pruebas estadísticas con analistas diferentes, con el fin de obtener figuras de méritos ideales.
- Realización de pruebas Inter laboratorios, con el fin de aumentar la reproducibilidad obtenida en este trabajo.
- Realizar controles más estrictos en el método de AOX, con el fin de disminuir el límite de detección, de ser posible. Así mismo utilizar un patrón trazable distinto al proporcionado por Merck.
- Realizar una comparación entre diferentes métodos analíticos para la determinación de compuestos organohalogenados, para determinar la pérdida de información del método de AOX con respecto a métodos más completos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- ALMEDA, R., WAMBAUGH, Z., WANG, Z., HYATT, C., & LIU, Z. Interactions between Zooplankton and Crude Oil: Toxic Effects and Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. 2013. *PLoS ONE*, 8(6).
- ASSOCIATION, AMERICAN PUBLIC HEALTH. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Vol. 23. 2017. E.E.U.U.
- BEDREGAL, P., TORRES, B., UBILLÚS, M., & MENDOZA, P. *Aplicación de la prueba de Youden y Steiner para la evaluación de la robustez del método de determinación multielemental en sedimento marino usando el análisis por activación neutrónica instrumental*. Instituto Peruano de Energía Nuclear. 2006. Departamento de Química, Av. Canadá 1470, San Borja: Instituto Peruano de Energía Nuclear.
- CEIAM. *Manual de calidad*. 2008. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander.
- CEIAM. *Procedimiento estándar de operación general*. 2012. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander.
- CORTÉS, O. M., BLANCO, G. M., MATOS, F. N., CHÁVEZ, P. L., OLIVERA, D., & HAMAD, S. *Revisión bibliográfica sobre jabones*. 2017. Hospital Clínico Quirúrgico Docente "Celia Sánchez Manduley". Manzanillo: Universidad de Ciencias Médicas de Granma.
- DAYAN, A., & PAINE, A. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: Review of the literature from 1985 to 2000. 2001. *Hum Exp Toxicol*, 20(9).
- EURACHEM, C. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, p. Laboratory of the Government Chemist. London. 2012. EURACHEM.
- GARCÍA, M. *Validación de un método analítico por cromatografía líquida de intercambio de ligando para la cuantificación de los isómeros de lactato*. 2015. Mexico, D.F: UPIBI/IPN.
- GILLESPIE, L., & PHILP, J. Bioremediation, an environmental remediation technology for the bioeconomy. 2013. *ScienceDirect*, 31(6).
- Gribble, G. (2003). The diversity of naturally produced organohalogenes. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 3(1).

- GUTIERREZ, H., & DE LA VARA, R. *Análisis y diseño de experimentos*. 2008. México, D.F: McGraw-Hill.
- HARRIS, D. *Análisis químico cuantitativo*. 2001. Barcelona: Editorial Reverté.
- HARVEY, D. *Modern Analytical 2000. Chemistry*. DePauw University: McGraw-Hill.
- HEISELMAN, D. *Benzene and the aromatic hydrocarbons*. 1990. En: Haddad, L.M., Winchester J.F., *Clinical management of poisoning and drug overdose*. Philadelphia: W.B.Saunders.
- IDEAM. *Estandarización de métodos analíticos*. 2006. Subdirección de hidrología - programa de fisicoquímica: Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial - república de Colombia.
- INSTITUTO DE SALUD PUBLICA. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos*. 2010. Santiago: Gobierno de Chile.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Guide To The Expression Of Uncertainty In Measurement*. 2008. Geneva: ISO.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. 2017. Vernier, Geneva: International Organization for Standardization.
- ISO/IEC. *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de prueba y calibración*. 2017. República de Colombia: CASCO.
- ITOPF. *Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el medio ambiente*. 2014. Reino Unido: ITOPF.
- IVANKOVIĆ, T., & HRENOVIĆ, J. *Surfactants in the environment*. 2010. Croatia: University of Zagreb.
- LRQA. *ISO 9001 Sistemas de Gestión de la Calidad*. 2018.
- PARKS, J., MCNEILL, L., FREY, M., EATON, E., HAGHANI, A., RAMIREZ, L., y otros. *Determination of total chromium in environmental water samples*. 2004. Elsevier.
- PEREZ, G., MORALES, P., & HAZA, A. *Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (I) Toxicidad, exposición de la población y alimentos implicados*. 2016. *Revista Complutense de ciencias veterinarias*.

- PORTER, M. *Handbook of Surfactants*. 1994. Londres: lackie Academic and Professional.
- REGLA, I., VÁSQUEZ, E., HUMBERTO, D., & NERI, A. *La química del jabón y algunas aplicaciones*. 2014. UNAM: Departamento de Acervos Digitales: Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación.
- RIVA, C., & LOPEZ, D. AOX y medio ambiente. 1996. *Boletín Intexter*.
- RIVA, M., & LOPEZ RIBAS, D. AOX y medio ambiente. 1996. *Boletín Intexter*.
- RODIER, J., LEGUBE, B., & MERLET, N. *Análisis del agua*. 2010. Barcelona: Omega.
- SALAGER, J. *Surfactants types and uses*. 2002. Merida, Venezuela: Universidad de los Andes.
- SHOMA, B. Sources of adsorbable organic halogens (AOX) in sludge of Gaza. 2007. *Elsevier*, 69(7).
- TÉLLEZ, J., CARVAJAL, M., & GAITÁN, A. Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres. 2004. *Bdigital. Revista de la Facultad de Medicina*, 52(1).
- WWAP. *Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo*. 2016. París: UNESCO.
- WWAP. *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado*. 2017. París: UNESCO.