

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS
PARA LA DETERMINACIÓN DE FENOLES Y SURFACTANTES
ANIÓNICOS EN AGUAS, EN EL LABORATORIO DE AGUAS Y
SUELOS DE LA CDMB**

LUDY KATHERINE RAMÍREZ TRIANA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2013**

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS
PARA LA DETERMINACIÓN DE FENOLES Y SURFACTANTES
ANIÓNICOS EN AGUAS, EN EL LABORATORIO DE AGUAS Y
SUELOS DE LA CDMB**

LUDY KATHERINE RAMÍREZ TRIANA

**Proyecto de grado para optar el título de
Química**

DIRECTOR

**LUZ YOLANDA VARGAS FIALLO
QUÍMICA, M.Sc.**

CODIRECTOR

**ROSA MARIA HIGUERA ARDILA
QUÍMICA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres y hermanos por siempre haber estado conmigo en los buenos y malos momentos, por su ejemplo y respaldo en cada momento de mi vida

A la universidad industrial de Santander por haberme brindado todas las herramientas necesarias para formar en mí un profesional integro, al cuerpo de profesores, en especial a la profesora luz Yolanda Vargas por el inmenso apoyo que me presto en esta última y tan importante etapa

Un especial agradecimiento a la Doctora Rosa María Higuera Ardila por el inmenso apoyo y respaldo que me brindo, por compartir sus conocimientos y permitirme aprender de ellos.

Agradezco a mis amigos por siempre haber estado conmigo, y porque lo siguen estando, por los ratos alegres, por la compañía en los momentos amargos que terminaban convirtiéndose en buenos momentos.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	17
1. MARCO TEÓRICO.....	20
1.1. GENERALIDADES DEL AGUA.....	20
1.2. EL AGUA Y SUS CONTAMINANTES.....	23
1.3. CALIDAD DEL AGUA.....	25
1.4. CRITERIO DE CALIDAD DEL CUERPO DE AGUA SEGÚN LOS USOS PREVISTOS.	27
1.5. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS AGUAS.....	29
1.5.1. Compuesto fenólicos.....	29
1.5.1.1. Química del fenol	29
1.5.1.2. Usos del fenol en la industria	30
1.5.1.3. Efectos tóxicos de los compuestos fenólicos en el ambiente.....	31
1.5.1.4. Legislación sobre compuestos fenólicos.	32
1.5.2. Surfactantes aniónicos	33
1.5.2.1. Química de los surfactantes.....	33
1.5.2.2. Usos de los surfactantes aniónicos en la industria	34
1.5.2.3. Efectos tóxicos de lo surfactantes aniónicos en el ambiente.....	35
1.5.2.4. Legislación sobre surfactantes aniónicos.....	36
1.6. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO.....	37
1.6.1. Etapa preliminar a la estandarización	38
1.6.2. Etapa de prevalidación.....	38
1.6.3. Etapa de validación.....	39
2. METODOLOGÍA.....	43
2.1. ESTANDARIZACIÓN DE PARÁMETROS.....	43
2.1.1. Determinación de fenoles	43
2.1.1.1. Reactivos	45
2.1.1.2. Preparación de solución de reserva, Intermedia y de trabajo.....	47
2.1.1.3. Procedimiento	49
2.1.1.4. Preparación de la curva de calibración de fenoles	49

2.1.1.5.	Limpieza de vidriería	50
2.1.2.	DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS	50
2.1.2.1.	Reactivos	52
2.1.2.2.	Preparación de soluciones de reserva y de trabajo.....	53
2.1.2.3.	Procedimiento	54
2.1.2.4.	Preparación de curvas de calibración	55
2.1.2.5.	Limpieza de vidriería	56
2.1.3.	Muestras analizadas	56
2.1.4.	Tratamiento estadístico	57
2.1.4.1.	Límite de detección	57
2.1.4.2.	Límite de cuantificación.....	58
2.1.4.3.	Intervalo de trabajo o intervalo lineal.....	58
2.1.4.4.	Precisión	58
2.1.4.5.	Exactitud	59
2.1.4.6.	Cartas de control.....	59
2.1.4.7.	Incertidumbre	60
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	61
3.1.	COMPUESTOS FENÓLICOS	61
3.1.1.	Resultados etapa de prevalidación	61
3.1.1.1.	Curva de calibración y linealidad.....	61
3.1.1.2.	Límite de detección y cuantificación.....	65
3.1.2.	Resultados etapa de validación	67
3.1.2.1.	Rechazo de datos	68
3.1.2.2.	Verificación de límite de detección y cuantificación.....	69
3.1.2.3.	Recuperaciones	69
3.1.2.4.	Precisión	70
3.1.2.6.	Cartas de control.....	71
3.2.	SURFACTANTES ANIÓNICOS	72
3.2.1.	Resultados etapa de prevalidación	72
3.2.1.1.	Curva de calibración y linealidad.....	73
3.2.1.2.	Límite de detección y cuantificación.....	76

3.2.2.	Resultados etapa de validación	78
3.2.2.1.	Rechazo de datos	79
3.2.2.2.	Verificación de límite de detección y cuantificación	80
3.2.2.3.	Recuperaciones	80
3.2.2.4.	Precisión	81
3.2.2.6.	Cartas de control.....	82
4.	ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LOS MÉTODOS	84
4.1.	COMPUESTOS FENÓLICO	84
4.1.1.	Fuentes de incertidumbre	84
4.1.2.	Calculo de incertidumbre.....	85
4.1.2.1.	Concentración de masa (mg/L) de fenoles medidos en el instrumento a través de la curva de calibración $\gamma(x - B)$	85
4.1.2.2.	Incertidumbre asociada a los patrones preparados.....	89
4.1.2.3.	Combinación de las fuentes de incertidumbre, incertidumbre estándar y expandida	98
4.2.	Surfactantes aniónicos.....	99
4.2.1.	Fuentes de incertidumbre.....	99
4.2.2.	Calculo de incertidumbre.....	100
4.2.2.1.	Concentración de masa (mg/L) de surfactantes aniónicos medidos en el instrumento a través de la curva de calibración $\gamma(x - B)$	100
4.2.2.2.	Incertidumbre asociada a los patrones preparados.....	102
4.2.2.3.	Combinación de las fuentes de incertidumbre, incertidumbre estándar y expandida	110
	CONCLUSIONES	111
	RECOMENDACIONES.....	113
	BIBLIOGRAFÍA.....	115
	ANEXOS.....	118

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura y ángulo de enlace de la molécula de agua.....	20
Figura 2. Representación de aguas superficiales, subterráneas y meteorológicas.....	23
Figura 3. Diferentes fuentes de contaminación de agua.....	25
Figura 4. Relación de tratamiento de aguas residuales.	27
Figura 5. Estructura del fenol.....	30
Figura 6. Representación de la parte lipofílica e hidrofílica.....	33
Figura 7. Moléculas representativas de los surfactantes a) aniónicos, b) catiónicos, c).....	34
Figura 8. Reacción de derivatización para la determinación espectrofotométría de compuestos fenólicos.....	45
Figura 9. Estructura del azul de metileno.....	51
Figura 10. Sulfonato de alquilbenceno sódico lineal.....	51
Figura 11. Curva de calibración compuestos fenólicos.	63
Figura 12. Gráfico de valores residuales para curva de fenoles.	64
Figura 13. Carta de control compuestos fenólicos.....	72
Figura 14. Curva de calibración surfactantes aniónicos.....	74
Figura 15. Gráfico de valores residuales para curva surfactantes aniónicos.....	75
Figura 16. Carta de control surfactantes aniónicos.....	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones máximas admisibles de fenoles.....	32
Tabla 2. Concentraciones máximas admisibles de surfactantes aniónicos.....	36
Tabla 3. Preparación de patrones para curva de calibración de fenoles.	50
Tabla 4. Preparación de patrones para curva de calibración de surfactantes aniónicos.	55
Tabla 5. Datos de curvas de calibración para compuestos fenólicos.	61
Tabla 6. Coeficientes de correlación de curvas de calibración para fenoles.	62
Tabla 7. Valores residuales para fenoles.....	63
Tabla 8. Concentraciones de blancos y patrones para hallar LoD y LoQ en compuestos fenólicos.....	65
Tabla 9. Criterios estadísticos para determinar LoD y LoQ en compuestos fenólicos.	66
Tabla 10. Resultados definitivos en la validación de fenoles.....	68
Tabla 11. Valores calculados de T para rechazo de datos.	69
Tabla 12. Coeficientes de variación para fenoles.....	70
Tabla 13. Prueba de desempeño del IDEAM para fenoles.	71
Tabla 14. Parámetros estadísticos para carta de control de compuestos fenólicos.	72
Tabla 15. Datos de curvas de calibración para surfactantes aniónicos.....	73
Tabla 16. Coeficientes de correlación de curvas de calibración para fenoles.	73
Tabla 17. Valores residuales para surfactantes aniónicos.	75
Tabla 18. Concentraciones de blancos y patrones para hallar LoD y LoQ en surfactantes aniónicos.....	76

Tabla 19. Criterios estadísticos para determinar LoD y LoQ en Surfactantes aniónicos.....	77
Tabla 20. Resultados definitivos en la validación de surfactantes aniónicos.....	79
Tabla 21. Valores calculados de T para rechazo de datos.	80
Tabla 22. Coeficientes de variación en surfactantes aniónicos.	81
Tabla 23. Pruebas de desempeño del IDEAM para surfactantes aniónicos.....	82
Tabla 24. Parámetros estadísticos para carta de control de surfactantes aniónicos.	82
Tabla 25. Datos para el cálculo de incertidumbre estándar de la concentración de fenoles.	88
Tabla 26. Incertidumbre estándar de la concentración de fenoles. ...	88
Tabla 27. Incertidumbre estándar relativa de la concentración de fenoles.	88
Tabla 28. Incertidumbre estándar para cada elemento del Fenol. ...	90
Tabla 29. Contribución a la incertidumbre de cada elemento del fenol.	90
Tabla 30. Datos de incertidumbre para la dilución 1, 2, 5.	95
Tabla 31. Datos de incertidumbre para la dilución 6.	96
Tabla 32. Datos de incertidumbre para la dilución 3.	97
Tabla 33. Resumen de incertidumbre para concentración alta media y baja de compuestos fenólicos.	99
Tabla 34. Datos para el cálculo de incertidumbre por calibración de surfactantes aniónicos.	101
Tabla 35. Incertidumbre estándar por calibración de surfactantes aniónicos.....	101
Tabla 36. Incertidumbre estándar relativa por calibración de surfactantes aniónicos.	101
Tabla 37. Incertidumbre debida a la pureza del LAS.....	102

Tabla 38. Incertidumbre debida a la pesada del LAS.....	102
Tabla 39. Incertidumbre estándar para cada elemento del LAS.....	103
Tabla 40. Contribución a la incertidumbre de cada elemento del LAS.	103
Tabla 41. Incertidumbre debida a la masa molar del LAS.....	103
Tabla 42. Incertidumbre asociada al volumen de LAS.	104
Tabla 43. Datos de incertidumbre para la dilución 1 y 2 de LAS.	106
Tabla 44. Datos de incertidumbre para la dilución 4 de LAS.....	107
Tabla 45. Datos de incertidumbre para la dilución 5 de LAS.....	108
Tabla 46. Incertidumbre por dilución patrón 0,2	109
Tabla 47. Resumen de incertidumbres para concentración alta media y baja de LAS.....	110

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Incertidumbre estándar de los pesos atómicos 118

LISTA DE ABREVIATURAS

CDMB : Corporación Autónoma para la Defensa de la Meseta Bucaramanga

ISO : Organización Internacional de Estandarización

IEC : Comisión Electrotécnica Internacional

FDA : Food and Drug Administration

EPA : Environmental Protection Agency

LoD : Límite de detección

LoQ : Límite de cuantificación

LAS : Sulfonato de dodecilbenceno sódico

RESUMEN

TITULO: ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE FENOLES Y SURFACTANTES ANIÓNICOS EN AGUAS, EN EL LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS DE LA CDMB*

AUTOR: LUDY KATHERINE RAMÍREZ TRIANA**

PALABRAS CLAVES

Parámetros fisicoquímicos, estandarización, validación.

DESCRIPCIÓN

El rápido y acelerado aumento de la industria ha ocasionado que los sistemas acuíferos se contaminan exponencialmente, debido a la presencia inevitable de aguas residuales, que ocasionan un gran impacto ambiental cuando no reciben un tratamiento previo al vertido. Razón por la cual, ha sido de interés general controlar el grado de contaminación de agua, mediante el establecimiento de parámetros fisicoquímicos que permiten establecer su calidad y sus posibles usos.

Dentro de los parámetros utilizados para determinar la calidad del agua, se encuentran los compuestos fenólicos y los surfactantes aniónicos. Los métodos para la determinación de estos parámetros son colorimétricos; los cuales se estandarizaron y validaron en el laboratorio de aguas y suelos de la Corporación Autónoma para la Defensa de la Bucaramanga (CDMB), como parte de los requisitos para la acreditación del laboratorio en la norma ISO/IEC 17025:2005, Requerimientos generales para la competencia de los laboratorio de calibración y ensayo, el cumplimiento de esta norma, respalda que los procedimientos efectuados en el laboratorio conlleven a resultados confiables.

Finalmente, la estandarización de los parámetros, junto con un estudio estadístico de los resultados obtenidos, permitió establecer criterios de calidad tales como cartas de control de los procesos, límite de detección tanto del método como del equipo, exactitud, incertidumbre, entre otros, que permitan la generación de resultados técnicamente válidos.

* Proyecto de investigación

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directores: M.Sc. Luz Yolanda Vargas Fiallo.

ABSTRACT

TITLE: STANDARDIZATION AND VALIDACION OF ANALYTICAL TECHNIQUES FOR THE DETERMINATION OF FHENOLS AND ANIONIC SURFACTANTS IN WATER LABORATORY WATER AND SOIL OF CDMB*

AUTHOR: LUDY KATHERINE RAMIREZ TRIANA**

KEY WORDS

Physicochemical paramters, standardization, validation.

DESCRIPTION

The fast and rapid growth of the industry has caused the contamination of the aquifer systems, exponentially due to the unavoidable presence of sewage, causing a major environmental impact when those are not treated prior to discharge. Reason, It has been of interest to control the contamination degree of water by establishing physicochemical parameters. That establish its quality and its possible uses.

Within the parameters used to determine the water quality, there are phenolic compounds and anionic surfactants. The methods for determining these parameters are colorimetric, which were standardized and validated in the laboratory of soil and water of Corporación Autónoma para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB), as part of the requirements for laboratory accreditation in ISO / IEC 17025:2005; General requirements for the competence of calibration and testing laboratory, compliance with this standard, supports that the procedures conducted in the laboratory lead to reliable results.

Finally, standardization of parameters, together with a statistical study of obtained results, allowed to establish quality criteria such as letters of process control, detection limit both the method and the equipment, accuracy, uncertainty, among others, that help generate technically valid results

* Research Project

** Faculty of Science. School of Chemistry. directors: M.Sc. Luz Yolanda Vargas Fiallo.

INTRODUCCIÓN

Cuando desde el espacio vemos una imagen del planeta Tierra, destaca su color azul. Esto se debe a que el 70% de su superficie se encuentra cubierta por agua, mientras que el resto corresponde a los continentes. De acuerdo con estos datos, uno podría pensar que la disponibilidad de agua en el planeta es infinita, es decir que alcanzaría de manera ilimitada para las necesidades humanas y para el funcionamiento de los ecosistemas. Sin embargo, hoy sabemos que esta idea es completamente errónea.

Una altísima proporción (97.5%) es agua salada y únicamente 2.5% es agua dulce. A su vez, de esta pequeña fracción la mayor parte no puede ser utilizada por que está congelada con las casquetes polares y las nieves perpetuas de las montañas o bien se encuentran en profundidades inaccesibles. Esto significa que el agua disponible en el planeta para abastecer a los ecosistemas y a la población humana, entre aguas subterráneas accesibles y superficiales, corresponde a 0,55% del total de agua dulce y a tan solo 0,01% del agua total de planeta^[1], este pequeño porcentaje es amenazado ya que es una práctica acostumbrada el ubicar industrias y asentamientos humanos a la orilla de las corrientes de agua, para utilizarse dicho líquido y, al mismo tiempo, verter los residuos del proceso industrial y de la actividad humana. Esto trae como consecuencia la contaminación de las fuentes de agua y, por consiguiente, la pérdida de grandes volúmenes de este recurso, esta contaminación genera aguas negras y residuales, que son perjudiciales para los seres que entren en contacto con ellas.

La importancia de estas aguas negras y residuales radica en su potencial si reciben un tratamiento previo al vertimiento sobre los cuerpos de aguas natural para volver a ser utilizadas directamente

en a la industria y en la agricultura, y para ciertas aplicaciones municipales limitadas. Dentro de este tratamiento previo se establecen múltiples y variados parámetros que garantizan la calidad del agua y así determinar su adecuado uso.

Las regulaciones sobre los parámetros que permiten el uso del agua son vigilados por cada país según sus necesidades y desarrollo, en el caso de Colombia, el IDEAM es el encargado de controlar los resultados que emitan los laboratorios en cuanto a los análisis realizados para el control de la calidad del agua; análisis que el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB realizó bajo la norma ISO/IEC 17025:2005 que es indispensable para mantener la acreditación con la que ya cuenta el laboratorio

La política de calidad del Laboratorio de aguas y suelos de la CDMB indica que todas las actividades se deben desarrollar bajo los lineamientos de un sistema de gestión de calidad conforme la norma NTC/ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales Para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”, teniendo como objetivo prestar servicios con criterios de calidad, lo cual se evidencia a través de la generación de datos confiables. Parte del trabajo involucrado en la recolección de datos confiables será usar métodos estandarizados y validados.

Dentro del extenso conjunto de parámetros fisicoquímicos utilizados para analizar la calidad del agua se encuentran los compuestos fenólicos y los surfactantes aniónicos motivo por el cual el laboratorio requiere ampliar sus posibilidades analíticas a través de la estandarización y validación de técnicas nuevas para el laboratorio.

Resulta importante realizar un estudio estadístico de los datos obtenidos para cada método, que permita garantizar una buena implementación y funcionamiento de cada método, mediante el

aporte de recomendaciones, con el fin de asegurar una mejora continua de los procedimientos.

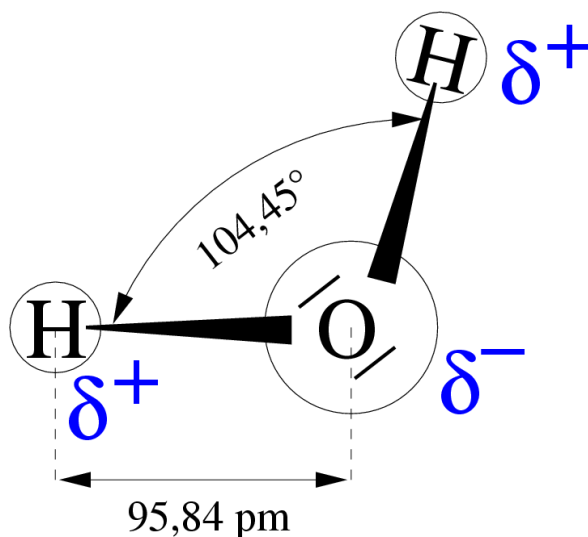
1. MARCO TEÓRICO

1.1. GENERALIDADES DEL AGUA

El agua, al mismo tiempo que constituye el líquido más abundante en la tierra, representa el recurso natural más importante y la base de toda forma de vida.

No es usual encontrar el agua en pura en forma natural, aunque en el laboratorio puede llegar a obtenerse o separarse en sus elementos constituyentes, que son el hidrógeno (H) y el oxígeno (O). Cada molécula de agua está formada por un átomo de oxígeno y dos de hidrógeno, unidos fuertemente en la forma H-O-H^[2]. Está dotada de una estructura tridimensional con un ángulo de enlace de 104,5°, que le confiere una elevada polaridad. Ver Figura 1.

Figura 1. Estructura y ángulo de enlace de la molécula de agua.



Fuente. <http://leidyjbcdc.blogspot.com/2010/09/fisicoquimica-del-agua.html>

Como propiedades del agua podemos mencionar que es un líquido inodoro e insípido. Tiene un cierto color azul cuando se concentra en

grandes masas. A la presión atmosférica, el punto de fusión del agua pura es de 0° C y el punto de ebullición es de 100°C, cristaliza en el sistema hexagonal, llamándose nieve o hielo según se presente de forma esponjosa o compacta, se expande al congelarse, es decir aumenta de volumen, de ahí que la densidad del hielo sea menor que la del agua y por ella el hielo flota en el agua líquida. El agua alcanza su densidad máxima a una temperatura de 4°C.

Su capacidad calorífica es superior a la de cualquier otro líquido o sólido, siendo su calor específico de 1 cal/g, esto significa que una masa de agua puede absorber o desprender grandes cantidades de calor, sin experimentar apenas cambios de temperatura, lo que tiene gran influencia en el clima (las grandes masas de agua de los océanos tardan más tiempo en calentarse y enfriarse que el suelo terrestre). Sus calores latentes de vaporización y de fusión (540 y 80 cal/g, respectivamente) son también excepcionalmente elevados ^[3]

Si bien el agua pura es incolora, inodora e insípida, en el medio natural el agua incorpora una gran variedad de compuestos que alteran significativamente estas propiedades que afectan a los sentidos. Las propiedades del agua que afectan a los sentidos son, básicamente: el color, el olor y el sabor.

Respecto al color, el agua puede llevar en su seno diversas sustancias que lo pueden alterar. Por ejemplo, un agua natural puede llevar disueltos compuestos orgánicos, como ácidos húmicos y fúlvicos que le imparten una coloración que va desde el amarillo al negro. Normalmente, el color verde de algunos reservorios se debe a la presencia de sales de calcio o cobre disueltas, aparte de la presencia de ciertos microorganismos; mientras que los compuestos de hierro imparten una coloración al agua, desde amarilla a rojiza, dependiendo de la forma química del compuesto de hierro ^[4].

El agua natural, normalmente, tiene un sabor refrescante gracias a la presencia de ciertas sales o gases, como el CO₂ en concentraciones moderadas. No obstante, en presencia de un exceso de CO₂ el agua adquiere un sabor ácido. La presencia de otras sustancias o elemento también puede alterar su sabor. Así elevadas concentraciones de hierro y manganeso dan un sabor metálico al agua, o bien altas proporcione de sulfato de manganeso le confieren un sabor amargo ^[4].

Los compuestos orgánicos también suelen impartir sabores característicos al agua. Muchas veces el sabor desagradable aparece en concentraciones inferiores al límite de toxicidad. Los fenoles y los correspondientes compuestos clorados generados en procesos de depuración con cloro imprimen al agua gustos muy característicos ^[4]. Por su parte los detergentes provocan la disminución de la solubilidad del oxígeno disuelto en el agua con lo cual se dificulta la vida acuática.

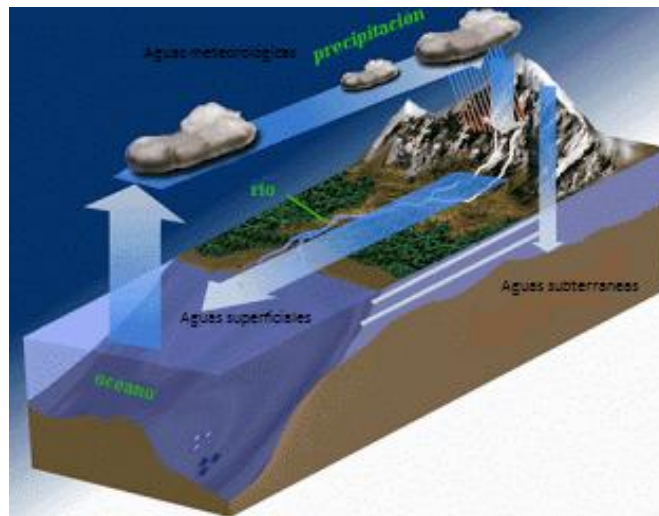
Dentro de las múltiples facetas en la que el hombre utiliza el agua en su vida cotidiana se encuentran actividades como:

- bebida y preparación de alimentos
- riegos agrícolas y explotaciones ganaderas
- industrias: refrigeración
- navegación, comercio fluvial y/o marítimo
- usos deportivos y lúdicos.
- Evacuación de vertidos y residuos variados
- producción hidroeléctrica, termoeléctrica, etc. ^[5].

1.2. EL AGUA Y SUS CONTAMINANTES

De acuerdo con su origen, los suministros de agua se clasifican en tres categorías: (1) aguas superficiales, (2) aguas subterráneas y (3) agua meteorológicas. Las aguas superficiales comprenden lo causes (ríos), océanos, lagos y aguas embalsamadas. Los cauces del agua sometidos a contaminación presentan una cantidad variable a lo largo del curso del cauce. Las aguas subterráneas muestran en general menos turbidez que las aguas superficiales, en cuanto a las aguas de lluvia, son de mucha mayor pureza física y química que las aguas superficiales o subterráneas. Ver Figura 2.

Figura 2. Representación de aguas superficiales, subterráneas y meteorológicas.



Fuente: <http://encimadelmar.blogspot.com/2008/04/las-aguas-superficiales.html>

Los contaminantes del agua se clasifican en tres categorías: (1) químicos, (2) físicos y (3) biológicos.

Los contaminantes químicos comprenden tanto productos químicos orgánicos como inorgánicos. El aspecto fundamental resultante de la contaminación por compuestos orgánicos es la disminución de oxígeno como resultante de la utilización del existente en el proceso de degradación biológica de dichos compuestos. Esta disminución de oxígeno disuelto lleva a perturbaciones indeseables del medio y de la biota en ella asentada. En el caso de la contaminación derivada de la presencia de compuestos inorgánicos el resultado más importante es su posible efecto tóxico, más que la disminución en oxígeno. Sin embargo, hay casos en los cuales los compuestos inorgánicos presentan una demanda de oxígeno, contribuyendo a la disminución del mismo como los sulfitos y los nitritos ^[6].

Los iones de metales pesados, tóxicos para los seres humanos, son importantes contaminantes de este grupo. Se presentan en las aguas residuales industriales resultado de las operaciones de tratamiento de superficies, así como de las industrias de fabricación de pigmentos y pinturas.

Incluyen mercurio, arsénico, cobre, zinc, níquel, cromo, plomo, cadmio. Su presencia, aun en pequeñas cantidades puede causar serios problemas ^[6].

Algunos contaminantes físicos incluyen (1) cambios térmicos. Es el caso procedente de plantas industriales, relativamente calientes después de haber sido utilizadas con los intercambiadores (enfriadores); (2) el color (por ejemplo, los licores negros que se descargan procedentes de las plantas de fabricación de pasta química); (3) turbidez (originada por la descarga de aguas que contienen sólidos en suspensión); (4) espumas [detergentes tales como sulfonato de alquilbenceno (SAB) constituyen una causa importante de formación de espumas]; y (5) radiactividad ^[6].

Los contaminantes biológicos son los responsables de la transmisión de enfermedades en las aguas de abastecimiento. Algunas de las enfermedades que se transmiten por contaminación biológica con el cólera, las tifoideas y paratifoideas [6].

Figura 3. Diferentes fuentes de contaminación de agua.



Fuente: <http://www.ikonet.com/es/diccionariovisual/tierra/ambiente/contaminacion-del-agua.php>

1.3. CALIDAD DEL AGUA.

La calidad de cualquier masa de agua, superficial o subterránea depende tanto de factores naturales como de la acción humana.

Sin la acción humana, la calidad del agua vendría determinada por la erosión del substrato mineral, los procesos atmosféricos de evapotranspiración y sedimentación de lodos y sales, la lixiviación

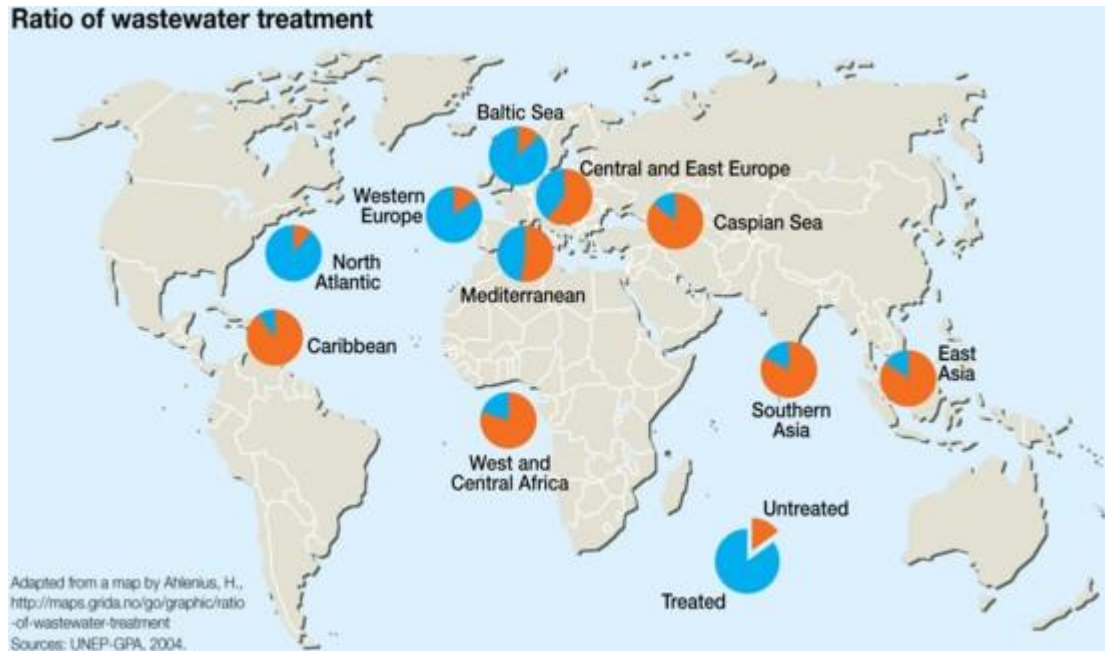
natural de la materia orgánica y los nutrientes del suelo por los factores hidrológicos, y los procesos biológicos en el medio acuático que pueden alterar la composición física y química del agua.^[7]

Por lo general, la calidad del agua se determina comparando las características físicas y químicas de una muestra de agua con unas directrices de calidad del agua o estándares estas normas se basan normalmente en unos niveles de toxicidad científicamente aceptables tanto para los humanos como para los organismos acuáticos^[7].

El deterioro de la calidad del agua se ha convertido en motivo de preocupación a nivel mundial con el crecimiento de la población humana, la expansión de la actividad industrial y agrícola y la amenaza del cambio climático como causa de importantes alteraciones en el ciclo hidrológico.

La baja calidad del agua afecta directamente sobre la cantidad de agua de diversas maneras. El agua contaminada que no puede utilizarse para consumo, para baño, para la industria o la agricultura reduce de forma efectiva la cantidad de agua disponible en una determinada zona.

Figura 4. Relación de tratamiento de aguas residuales.



Fuente: http://www.grida.no/graphicslib/detail/ratio-of-wastewater-treatment_9d38#

1.4. CRITERIO DE CALIDAD DEL CUERPO DE AGUA SEGÚN LOS USOS PREVISTOS.

Para clasificar las aguas es necesario establecer en forma previa los límites aceptables de calidad, según los usos. Los criterios de calidad se refieren a las máximas concentraciones permisibles de contaminantes que no interfieran con el uso de las aguas.

Su cálculo es el resultado de estudios e investigaciones técnicas y científicas y, por lo tanto no depende exclusivamente de decisiones administrativas o económicas. Agua con concentraciones excesivas

de contaminantes ocasiona riesgos a la salud humana y al ambiente y solo un estudio técnico previo puede establecer con una aceptable aproximación los niveles permisibles.

Para estimar los criterios de calidad pueden utilizarse diferentes métodos: uno de estos determina los criterios de calidad a partir de métodos que establecen los efectos nocivos de químico específico (chemical specific approach). Los estudios correspondientes se realizan a partir de ensayos de campo y laboratorio con el propósito de obtener criterios destinados a proteger la vida acuática de efectos crónicos o agudos y a la salud humana de intoxicaciones agudas, de enfermedades transmitidas por el agua.

En Colombia el decreto 1594 de 1984, adopta el método de químicos específicos en el artículo 45, el cual fija criterios de calidad para preservaciones de flora y fauna a partir de la realización de bioensayos para determinar los correspondientes CL96/50¹. Las concentraciones letales y subletales se obtienen sometiendo los organismos a diferentes concentraciones de un químico específico, a partir de los datos obtenidos y utilizando métodos estadísticos, se obtiene una cifra que representa la concentración a la cual perece el 50% de los organismos, a un determinado tiempo de exposición. (Para efectos del Decreto 1594, 96 horas)^[8].

¹ CL96/50: Concentración de una sustancia, elemento o compuesto, solos o en combinación, que produce la muerte al cincuenta por ciento (50%) de los organismos sometidos a bioensayos en un período de noventa y seis (96) horas.

1.5. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS AGUAS

Una vez conocidos los contaminantes del agua vale la pena mencionar los parámetros fisicoquímicos que permiten evaluar la calidad de está, entre ellos se encuentran:

- Parámetros físicos
- Parámetros biológicos
- Parámetros bacteriológicos
- Parámetros químicos: entre estos parámetros se encuentran los compuestos fenólicos y los surfactantes aniónicos.

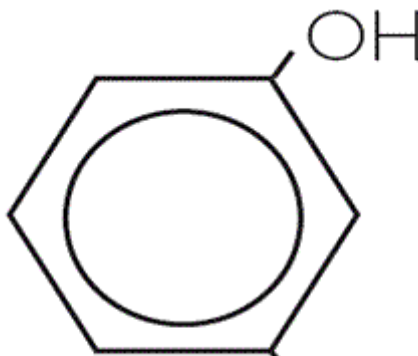
1.5.1. Compuesto fenólicos

1.5.1.1. Química del fenol

Son compuestos orgánicos que presentan uno o varios grupos OH ligados a un anillo bencénico. Son típicamente compuestos aromáticos, el más sencillo es el fenol, muchas de sus propiedades químicas con comunes a la de los alcoholes. Las diferencias estructurales entre fenoles y alcoholes se deben a que el OH está unido a un C sp^2 en los fenoles, mientras que en los alcoholes alifáticos, el oxhidrilo está ligado a un C sp^3 . Este hecho marca diferencias, primero, en los hidrógenos unidos al oxígeno; el H en un fenol es de carácter ácido ($K_a \sim 10^{-10}$), mientras que en los alcoholes es de carácter ácido mucho más débil ($K_a \sim 10^{-16}$ a 10^{-18}); segundo, el grupo OH está más fuertemente ligado al anillo bencénico que al C de los alcoholes

Estas diferencias hacen que los fenoles tengan propiedades químicas (reactividad) específicas y que se los agrupe como una clase de compuestos aparte de los alcoholes.

Figura 5. Estructura del fenol.



Fenol

1.5.1.2. Usos del fenol en la industria

La utilización de los compuestos fenólicos para su uso como desinfectante proviene de principio de siglo, hoy en día la utilización de extractos fenólicos de fuentes naturales prácticamente ha desaparecido, y en su lugar son ampliamente utilizados los compuestos fenólicos-clorados sintetizados por la industria, ya que son mucho más baratos de producir, tienen mayor duración y la mayoría son menos tóxicos que los anteriores, así, por ejemplo, el hexaclorofenol fue un producto de amplia utilización hasta que sus propiedades neurotóxicas fueron reconocidas, prohibiéndose su utilización por la FDA²

entre os principales usos de los compuestos fenólicos podemos encontrar: conservantes de la madera, fabricación de papel,

² Agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, suplementos alimenticios, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos.

plásticos, colorantes, desinfectantes, fotografía, medicamentos, explosivos, torres de enfriamiento, tratamiento de caucho, taninos sintéticos y lubricantes^{[9][10]}.

1.

1.5.1.3. Efectos tóxicos de los compuestos fenólicos en el ambiente.

Los compuestos fenólicos en el agua pueden provocar daños a comunidades y poblaciones acuáticas como anélidos, moluscos, crustáceos, equinodermos y peces. Estos organismos concentran en sus tejidos los productos absorbidos a través de las branquias o de la piel; pero también pueden liberarlos por difusión a través de las agallas o por medio de una desintoxicación al formarse glucoronidos conjugados (fenil-glucoronido). Los organismos acuáticos acumulan los compuestos fenólicos cuando hay una administración continua al medio.

Los efectos crónicos se presentan a largo plazo y son producidos cuando los compuestos fenólicos permanecen en los organismos, donde actúan desacoplando la cadena de la fosforilación oxidativa, que es la última fase del proceso de la respiración; específicamente capturan los electrones del flavin-adenin-dinucleótido reducido (FADH₂), dando como resultado una menor producción del compuesto energético denominado ATP (adenosíntrifosfato); por lo tanto, los organismos experimentan una pérdida de energía que trastorna todas sus funciones

En el hombre los fenoles son corrosivos cutáneos y se absorben con facilidad por la piel y las mucosas. Su toxicidad está directamente relacionada con una gran variedad de órganos y tejidos, (pulmones, hígado, riñones, sistema genito-urinario). Sus efectos provocan un cuadro general caracterizado por fallo hepático y renal, así como

edema pulmonar y cerebral. La Agencia de Protección al Medio Ambiente de E.U. (USEPA), señala que los compuestos fenólicos afectan al hombre por vía de la ingestión y por el contacto con la piel. Reporta además efectos como irritación, necrosis, afecciones cardiovasculares, acidosis metabólica, efectos neurológicos y cianosis¹¹.

1.5.1.4. Legislación sobre compuestos fenólicos.

El empleo de fenoles en las diversas actividades industriales y agrícolas ya descritas ha hecho necesario su control debido a su toxicidad sobre el medio ambiente y la salud humana. En Colombia el decreto 1594 de 1984 es el encargado de reglamentar el uso del agua y residuos líquidos, para el caso del fenol en la Tabla 1. Se muestran las concentraciones máximas admisibles (en mg/L) de fenoles para sus diferentes usos según este decreto.

Tabla 1. Concentraciones máximas admisibles de fenoles.

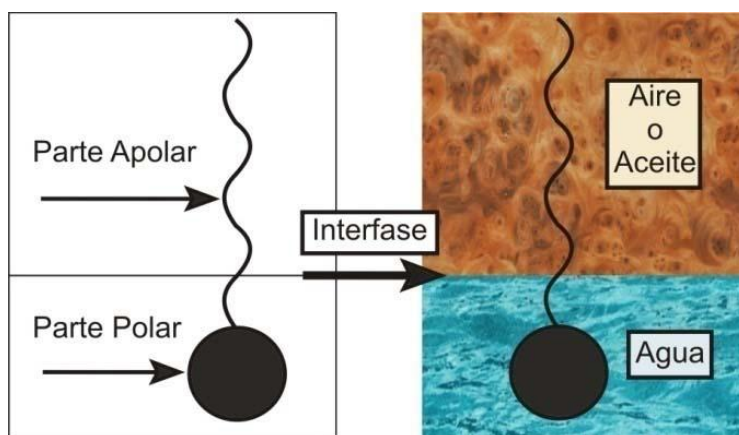
Usos	Concentración mg/L		
Consumo humano y domestico	0,002		
Fines recreativos (contacto primario)	0,002		
Vertimiento	0,2		
Preservación de flora y fauna	Agua fría dulce	Agua cálida dulce	Agua marina y estuaria
Clorofenoles	0,5	0,5	0,5
Fenoles monohídricos	1,0 CL ⁹⁶ ₅₀	1,0 CL ⁹⁶ ₅₀	1,0 CL ⁹⁶ ₅₀

1.5.2. Surfactantes aniónicos

1.5.2.1. Química de los surfactantes

La definición de lo que es un surfactante se encuentra en la palabra misma, que resulta de la contracción de tres palabras inglesas, SURFACE-ACTIVE-AGENT, las cuales, significan: agente que actúa en las superficies. En otras palabras, los surfactantes son sustancias que modifican la relación entre dos superficies o en las interfaces entre dos líquidos o entre un líquido y un gas o un sólido. Las relaciones que existen entre superficies incluyen un líquido con otro líquido, un líquido con un sólido, un líquido con el aire y un sólido con el aire y un sólido con el aire. Las moléculas de surfactantes tienen dos segmentos, uno lipofílico y uno hidrofílico.

Figura 6. Representación de la parte lipofílica e hidrofílica.



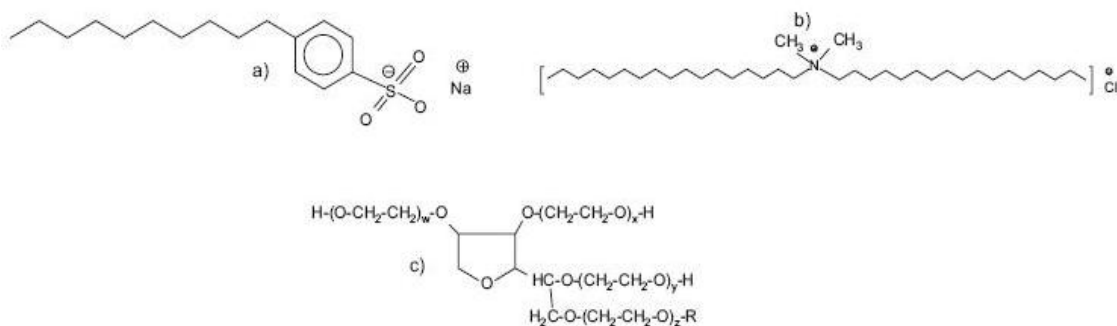
Fuente: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v9n3/riojas.html>

La parte lipofílica está generalmente formada por hidrocarburos de cadena larga o anillos del tipo del benceno con la baja solubilidad en

agua y alta en aceites. La parte hidrofílica tiene una gran afinidad por el agua.

Las principales clases de surfactantes son: aniónicos, catiónicos y no-iónicos. Esta descripción está basada en la estructura química de la fracción hidrofílica de la molécula. Surfactantes aniónicos ionizan en el agua dando una fracción hidrofílica cargada negativamente y los catiónicos ionizan dando una fracción hidrofílica positivamente cargada ^[12].

Figura 7. Moléculas representativas de los surfactantes a) aniónicos, b) catiónicos, c) no iónicos.



1.5.2.2. Usos de los surfactantes aniónicos en la industria

El mayor consumo de surfactantes corresponde a la categoría de los detergentes en polvo, de estructura química típica dodecil benceno sulfonato de sodio y semejantes. El benceno proviene de la reformación catalítica y de las plantas de BTX, mientras que el alquilato puede producirse de varias formas, bien sea por polimerización de etileno o de propileno, o a partir de un corte de refinación adecuado. Es preciso destacar que el tipo y el método de fabricación del alquilato influyen considerablemente la reacción de biodegradación del surfactante obtenido. En general se puede

decir que entre más ramificado el alquilato, menos biodegradable el detergente ^[13].

1.5.2.3. Efectos tóxicos de lo surfactantes aniónicos en el ambiente

El problema de los detergentes es que no son biodegradables y generan gran cantidad de espuma, y al permanecer provocan problemas de olor y sabor por largo tiempo.

Cuando se ha desechado un detergente fosfatado, los fosfatos son arrastrados por el drenaje; la mayor parte de las plantas de tratamiento de aguas no están diseñadas para eliminar fosfatos, por tanto, éstos pasan al agua a través del efluente.

Los fosfatos actúan como nutriente para las algas y plantas acuáticas, provocando la degradación de las aguas naturales.

En los lagos, al aumentar la cantidad de flora acuática, se dificulta o impide el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono. Se acumula, pues, gran cantidad de material vegetal en descomposición en el fondo que da lugar a hacer menos profundo el lago aumentando así su temperatura y cantidad de nutrientes. Puesto que la descomposición se da en ausencia de oxígeno, se obtienen productos secundarios como metano, amoníaco y sulfuro de hidrógeno que dan mal olor al agua. Los peces también requieren oxígeno disuelto para sobrevivir y, como se ha consumido, mueren. A largo plazo el lago se convierte en un pantano y más a largo plazo, en un prado o en un bosque. Este proceso natural se ve acelerado por la presencia de fosfatos.

Desde el punto de vista toxicológico, el alto contenido en detergentes de un agua puede provocar irritaciones en piel y órganos internos, así como efectos depresivos en el ser humano ^[14]

1.5.2.4. Legislación sobre surfactantes aniónicos

Al igual que con los fenoles el empleo de surfactantes aniónicos en las diversas actividades industriales y ha hecho necesario su control debido a su toxicidad sobre el medio ambiente y la salud humana. En Colombia el decreto 1594 de 1984 es el encargado de reglamentar el uso del agua y residuos líquidos, para el caso de los surfactante aniónicos en la Tabla 2. Se muestran las concentraciones máximas admisibles (en mg/L) expresadas como sustancias activas al azul de metileno para sus diferentes usos según este decreto.

Tabla 2. Concentraciones máximas admisibles de surfactantes aniónicos.

Usos	Concentración mg/L		
Consumo humano y domestico	0,5		
Fines recreativos (contacto primario)	0,5		
Fines recreativos (contacto secundario)	0,5		
Vertimiento	10		
Preservación de flora y fauna	Agua fría dulce	Agua cálida Dulce	Agua marina y estuaria
	0,143 CL ⁹⁶ 50	0,143 CL ⁹⁶ 50	0,143 CL ⁹⁶ 50

1.6. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO

Es el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Esta implica la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio ^[15].

La definición de la norma ISO/IEC 17025 es: la validación es la confirmación, a través del examen y al aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.

El alcance de la validación o la revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Siempre es apropiado algún grado de validación, aun cuando se usan métodos aparentemente bien caracterizados ya sean de referencia o publicados^[15].

En el caso específico de los laboratorio, el término estandarización se aplica a los ensayos analíticos, permitiendo que a través de un desarrollo sistemático, aplicación y actualización de patrones, así como especificaciones de la técnica, materiales y equipos, se pueda

establecer el grado de confianza que se tiene al implementar un método en dicho laboratorio teniendo en cuenta sus condiciones particulares^[16].

Para el caso del laboratorio de agua y suelos de la CDMB este cuenta en su sistema de calidad con un protocolo para la estandarización y validación de técnicas analíticas.

Este protocolo incluye las siguientes etapas:

1.6.1. Etapa preliminar a la estandarización

En esta etapa se selecciona el método, se realiza un procedimiento detallado del análisis y se realiza la verificación de equipos reactivos y elementos del laboratorio.

También se debe realizar un plan para la preparación y análisis de reactivos, estándares, muestras y muestras adicionadas de acuerdo con el tiempo de vida útil de cada uno y la estabilidad del analito.

1.6.2. Etapa de prevalidación

En esta etapa se establece mediante mediciones programadas los siguientes parámetros

- límite de detección (LoD): cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, como en el análisis de trazas, es importante saber cuál es la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método^[15].

La ISO utiliza como un término general “valor mínimo detectable de la variable de estado definida” el cual en química se traduce como la “concentración neta mínima detectable”^[17].

- límite de cuantificación: el límite de cuantificación estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad ^[15].
- intervalo lineal del método: para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. Los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación. En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento ^[15].
- En esta etapa también se determinan las variables instrumentales o metodológicas particulares del laboratorio que puedan afectar el proceso de medición en aquellos aspectos en que no se pueda seguir estrictamente del método.

1.6.3. Etapa de validación

La validación es un proceso netamente experimental, efectuado mediante estudios de laboratorio, que permiten evaluar o determinar la competencia o capacidad de un esquema analítico particular, cuyas características de diseño cumplen con los requerimientos metodológicos y de resultados para la aplicación analítica propuesta. En esta etapa se realizan las mediciones definitivas que implica la determinación de los siguientes parámetros

- exactitud: expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. La validación de un método busca cuantificar la

exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados.

- Precisión: La precisión describe la reproducibilidad de los resultados, es decir la concordancia entre los valores numérico de dos o más mediciones repetidas o que se han efectuado exactamente de la misma forma. En general, la precisión de un método analítico se obtiene con facilidad mediante la simple repetición de la medida, se utilizan tres términos para describir la precisión de un conjunto de datos repetidos. Desviación estándar, varianza y coeficiente de variación ^[18].
- Recuperaciones: los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en las muestras de las cuales no todas son de interés para el analista. El método debe entonces diseñarse deliberadamente para determinar solamente una forma específica del analito. No obstante la incapacidad de un método para determinar todo el analito presente puede reflejar un problema inherente. De cualquier forma es necesario evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente
- Incertidumbre de la medición: La incertidumbre de mediciones es un parámetro único que expresa el intervalo de posibles valores sobre la base de los resultados de medición. Una estimación de incertidumbre de medición considera todos los efectos reconocidos que influyen en el resultado; las

incertidumbres asociadas a cada efecto son combinadas de acuerdo a procedimientos bien establecidos.

En general, el resultado de una medición es sólo una aproximación o estimado de la cantidad específica que se está midiendo. Por lo tanto, el resultado de medición únicamente se considera completo si va acompañado de una expresión cuantitativa de su incertidumbre

La estimación de la incertidumbre de medición también hace parte de los requisitos exigidos por la norma ISO/IEC 17025:2005 en el numeral 5.4.6 por lo tanto es deber de los laboratorios tener y aplicar procedimientos para la estimación de esta.

La estimación de la incertidumbre en química analítica debe considerar:

- la precisión total del método es un periodo largo de tiempo;
- el sesgo y su incertidumbre, incluyendo la incertidumbre estadística asociada a las mediciones del sesgo y la incertidumbre del material de referencia o del método.
- incertidumbres de calibración. Siendo que la mayoría de las incertidumbres de calibración de equipos eran despreciablemente pequeñas en comparación con la precisión total y la incertidumbre en el sesgo, esto necesitara solamente ser verificado.
- debe adicionarse cualquier otro efecto significativo que actúa además de los anteriores y que pudo no haberse aplicado totalmente en un estudio de validación, por ejemplo, la temperatura o los intervalos de tiempo permitidos por el método ^[15].

- Cartas de control: Es importante contar con algún método sistemático para detectar desviaciones serias de un estado de control estadístico cuando ocurren y si es posible antes de que ocurran. Esta es la principal razón por la cual se utilizan las cartas de control. Estas cartas proporcionan una base para el control de los resultados obtenidos y en cada caso se debe definir a que actividades dentro del laboratorio se deben aplicar dependiendo de las especificidades de cada laboratorio.

Los gráficos de control son un método gráfico sencillo para evaluar si el proceso ha alcanzado o no, o si continúa en "estado de control estadístico". Las determinaciones se hacen comparando los valores de algunas mediciones estadísticas para una serie ordenada de muestras, o de subgrupos, con límites de control. Existen diversos gráficos de control específicos, dependiendo de los tipos de decisiones por tomar y la naturaleza de los datos.

El gráfico es un indicador del "estado de control estadístico" para el técnico operativo, responsable de calidad, responsable técnico y el coordinador del laboratorio. El gráfico puede sugerir cuando ha entrado en el proceso una causa asignable, pero se requiere un estudio independiente para determinar la naturaleza de esa causa y la acción correctiva que se necesita.

2. METODOLOGÍA

2.1. ESTANDARIZACIÓN DE PARÁMETROS

2.1.1. Determinación de fenoles

La determinación de fenoles se llevó a cabo siguiendo el método fotométrico directo, de acuerdo con el procedimiento establecido en el Standard Methods; Procedimiento de limpiado 5530 B y método fotométrico directo 5530 D.

Los fenoles por su reactividad química pueden tener una gran variedad de reacciones de interés para su análisis por espectrofotometría. En general, mediante la espectrofotometría se determina la cantidad total de compuestos fenólicos presentes en la muestra, pero sin hacer distinción entre los diferentes tipos de fenoles.

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

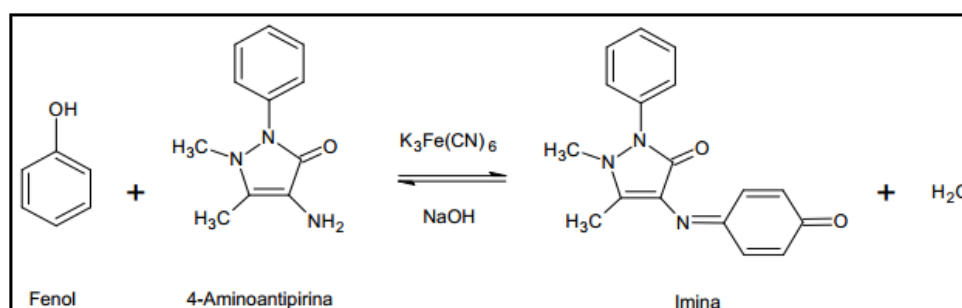
Los cinco métodos espectrofotométricos para la determinación de bajas concentraciones de fenoles en aguas residuales y potables son: Gibbs. Nitrosfenol, 4-aminoantipirina (4-AAP), ultravioleta e infrarrojo. El método de la 4- AAP es el más rápido, preciso y exacto. El método colorimétrico de la 4-AAP está basado en la destilación de los fenoles y la subsecuente reacción de estos con 4-aminoantipirina a un pH de $7,9 \pm 0.1$ en presencia de ferrocianuro de potasio, formando compuestos de un color amarillo intenso a rojo, midiendo su absorbancia a una longitud de onda de 500 nm. Se utiliza para determinar fenol, fenoles orto- y meta- sustituidos, y bajo adecuadas condiciones de pH, fenoles para- sustituidos en los cuales la sustitución es un grupo carboxil, metoxil, un halógeno o un ácido sulfónico. El método de la 4-aminoantipirina no determina aquellos fenoles para sustituidos cuando la sustitución es un grupo alquil, aril, nitro, benzoil, nitroso o aldehído.

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

La estandarización de compuestos fenólicos en aguas residuales fue uno de los objetivos del presente trabajo, lográndose a partir del desarrollo del método estándar de la 4-aminoantipirina (4-AAT). Dicho método fue propuesto por Emerson y Kelly en 1948 e implica la separación de los compuestos fenólicos respecto de la matriz de fondo mediante destilación con arrastre de vapor, con el fin de eliminar las impurezas no volátiles e incrementar la selectividad del método. Posteriormente ocurre la oxidación del fenol en medio alcalino con ferrocianuro de potasio $[K_3Fe(CN)_6]$ y la posterior

condensación con la 4-AATP para formar una imina coloreada (1,2-dihidro- 1,5-dimetil- 4 [(4-oxo-2,5-ciclohexadien-1-iliden) amino]- 2-fenil) que puede ser detectada por espectrofotometría UV/VIS a una λ de 500 nm. La reacción que tiene lugar es detallada a continuación.

Figura 8. Reacción de derivatización para la determinación espectrofotométrica de compuestos fenólicos.



2.1.1.1. Reactivos

Todos los reactivos se prepararon con agua destilada y fueron suministrados por el laboratorio de aguas y suelos de la Corporación Autónoma Regional para la defensa de la meseta de Bucaramanga (CDMB).

a) Reactivos para conservación y almacenamiento

Ácido sulfúrico concentrado

b) Reactivos para procedimiento de limpiado

Ácido fosfórico (H_3PO_4): se diluyeron 10 ml de ácido fosfórico del 85% a 100 ml con agua destilada

Hidróxido de sodio (NaOH) 2.5 N: disolvieron 10 gramos de NaOH en 100 ml de agua destilada

c) reactivos para preparación de soluciones patrón

Fenol (C₆H₆O)

Bromato-bromuro: se disolvieron 2,784 g de bromato de potasio (KBrO₃) anhidro y se diluyeron en agua, se adicionaron 10 g de bromuro de potasio KBr en cristales, finalmente se disolvieron y diluyeron a 1 L .

Ácido clorhídrico (HCl): concentrado

Yoduro de potasio (KI): cristales

Tiosulfato de sodio 0.025 M: Se pesaron aproximadamente y con precisión 6,205 g de tiosulfato de sodio pentahidratado en agua. Se añadieron 0,4 g de hidróxido de sodio y se diluyó a 1 L. Se valoró con disolución de biyodato de potasio.

Solución de almidón (2 % P/V): se pesaron 2,0 g de almidón soluble y 0,2 g de ácido salicílico, como preservante, y se disolvieron en 100 mL de agua caliente.

d) Reactivos para método directo espectrofotométrico

Solución tampón de fosfato: se disolvieron 104,5 g de K₂HPO₄ y 72,3 g de KH₂PO₄ en agua y se diluyeron hasta 1 L para obtener un pH de 6,8

Hidróxido de amonio (NH_4OH) 0,5 N: se diluyeron 35 ml de NH_4OH concentrado hasta 1 L con agua

4-aminantipirina (2% P/V): se pesaron 0,5 g de 4-aminoantipirina y se disolvieron en 25 mL de agua. Este reactivo se preparó diariamente.

Hexacianoferrato de potasio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$): se pesaron 2,0 g de ferrocianuro de potasio y se disolvieron en 25 ml de agua. Se almaceno en un frasco de vidrio ámbar. Este reactivo se preparó cada semana

2.1.1.2. Preparación de solución de reserva, Intermedia y de trabajo

a) Solución de reserva

Solución patrón de fenol (1000 mg/L) :(disolución es tóxica, manipular con extremo cuidado.) Se disolvió 1.0 gramo de fenol grado analítico, en agua

destilada para diluir a 1 litro. Ordinariamente esta pesada directa de fenol produce una solución valorada; sin embargo se requería una exactitud extrema por lo tanto se valoró como sigue:

Se añadieron 50,0 mL de la disolución patrón de fenol y 10,0 mL de la disolución de bromato-bromuro a 100 mL de agua en un matraz cónico de tapón de cristal de 500 mL. Inmediatamente se añadieron 5,0 mL de ácido clorhídrico concentrado agitando suavemente. Fue necesario agregar 3 porciones más de 10,0 ml de bromato-bromuro

hasta la persistencia de un color marrón. Se tapó el matraz y se dejó reposar en obscuridad durante 10 minutos; posteriormente se añadió 1 g de yoduro de potasio.

Se preparó un blanco exactamente de la misma manera, usando agua destilada y 10,0 mL de disolución de bromato-bromuro. Se valoró el blanco y la muestra anterior con tiosulfato de sodio 0.025 N utilizando como indicador la disolución de almidón.

La concentración de la solución de reserva se calculó como sigue:

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

A= ml de tiosulfato para el blanco

B= ml de la solución de bromato-bromuro utilizados para la muestra divididos por 10

C= ml de tiosulfato usados para la muestra.

b) Soluciones intermedias

Solución intermedia de fenol (100 mg/l): Se diluyeron 10.0 ml de solución reserva de fenol en agua destilada hasta 100 ml. Esta solución se preparó diariamente.

c) Soluciones de trabajo

Se prepararon dos soluciones de trabajo como sigue

Solución de trabajo de fenol (10 mg/l): Se diluyeron 10.0 ml de solución intermedia de fenol en agua destilada hasta 100 ml. Esta solución se preparó a diario

Solución de trabajo de fenol (1mg/L): Se diluyeron 10 ml de solución intermedia de fenol hasta 100 ml con agua destilada.

2.1.1.3. Procedimiento

a) Procedimiento de limpiado

Se tomaron 100 mL de la muestra a analizar, se ajustó el pH a un valor aproximado de 4,0 con la disolución de ácido fosfórico utilizando para ello el potenciómetro y se pasó por el equipo de destilación.

Se destiló la muestra y se recogieron un total de 100 ml de destilado.

b) Procedimiento método directo espectrofotométrico

Se tomaron 100 ml del destilado se transfirieron a un Erlenmeyer de 250, Se añadieron 2,5 mL de la disolución de hidróxido de amonio (NH_4OH) 0,5N inmediatamente se llevó el pH a $7,9 \pm 0,1$ con la solución tampón de fosfato. Se adiciono 1,0 mL de la disolución de 4-aminoantipirina se mezcló con agitación magnética y se añadió 1,0 mL de la disolución de hexacianoferrato de potasio y de nuevo se mezcló con agitación magnética.

Después de 15 min se transfirió a la celda, se leyó la absorbancia de la muestras a 500 nm.

Estos procedimientos se aplicaron a todos los patrones blancos y muestras.

2.1.1.4. Preparación de la curva de calibración de fenoles

Para realizar la curva de calibración y posterior análisis de las muestras. Se prepararon 9 patrones de 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 y su respectivo blanco como se muestras en la tabla 3.

Tabla 3. Preparación de patrones para curva de calibración de fenoles.

Patrón (mg/l)	Solución intermedia (1 mg/l) (ml)	Solución intermedia (10 mg/l) (ml)	Aforo con destilada (ml)
Blanco	---	---	100
0,1	10	---	100
0,2	20	---	100
0,5	50	---	100
1	---	10	100
2	---	20	100
3	---	30	100
4	---	40	100
5	---	50	100

2.1.1.5. Limpieza de vidriería

Todo el material fue lavado con extran alcalino y se pasó por solución de H₂SO₄ al 10%. Posteriormente se enjuago muy bien con agua destilada.

2.1.2. DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS

La determinación de surfactantes aniónicos se llevó a cabo siguiendo el método de surfactantes aniónicos como sustancias activas al azul de metileno (SAAM), de acuerdo con el procedimiento establecido en el Standart Methods; Procedimiento 5540 C con una modificación en los volúmenes, el volumen de muestra se redujo de 100 a 25 mL.

El azul de metileno (un colorante catiónico), reacciona con aniones orgánicos para formar sales hidrofóbicas de color azul intenso, que pueden extractarse fácilmente con un solvente orgánico y cuantificarse posteriormente por fotometría. Ya que la mayoría de los jabones y detergentes que se emplean habitualmente son de naturaleza aniónica, se utiliza esta propiedad del azul de metileno para valorar el contenido de surfactante aniónico en aguas limpias y residuales.

Figura 9. Estructura del azul de metileno.

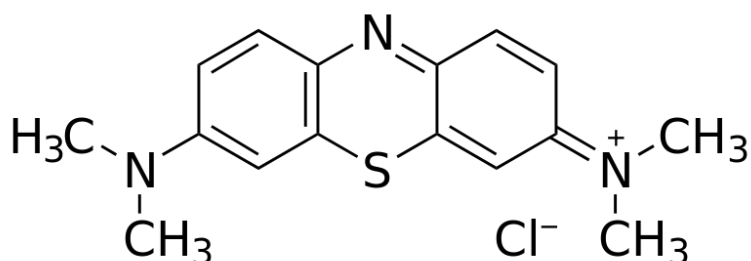
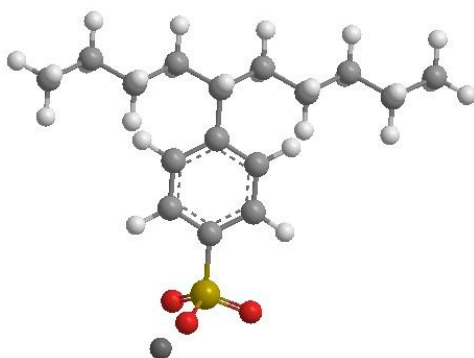


Figura 10. Sulfonato de alquilbenceno sódico lineal.



Los compuestos LAS son tensioactivos potentes por el carácter anfipático de sus moléculas, formadas por dos partes:

- Parte polar o hidrófila: La presencia de los grupos sulfonato, SO_3^- , ionizados y con carga negativa, hace que esta parte de la molécula sea soluble en agua.
- Parte apolar o hidrófoba: la cadena hidrocarbonada (alquílica) no es soluble en agua. Cuanto más larga sea la cadena, menos soluble es el compuesto.

Cuando disolvemos estos compuestos, se concentran en la superficie del agua, con sus colas hidrófobas hacia fuera y las cabezas hidrófilas disueltas en agua. Esto disminuye la tensión superficial y favorece la limpieza mediante el mecanismo de formación de micelas.

2.1.2.1. Reactivos

Todos los reactivos se prepararon con agua destilada y fueron suministrados por el laboratorio de aguas y suelos de la Corporación Autónoma Regional para la defensa de la meseta de Bucaramanga (CDMB).

LAS (sulfonato de dodecibenceno sódico)

Solución indicadora de fenolftaleína alcohólica.

Hidróxido de sodio (NaOH), 1N

Ácido sulfúrico (H_2SO_4), 1N y 6N

Cloroformo (CHCl_3)

Nota: el cloroformo es tóxico y un probable carcinógeno. Adoptar las precauciones apropiadas contra la inhalación y la exposición a la piel.

Azul de metileno: se disolvieron 100 mg de azul de metileno en 100 ml de agua. Se pesaron 30 ml a un matraz de 1000 ml, Añadiendo 500 ml de agua. 41 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 6N y 50 gramos de fosfato de sodio, monobásico, monohidratado, ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) se agito hasta disolución total. Para finalmente diluir hasta 1000 ml.

Solución de lavado: se añadió 41 ml de H_2SO_4 6N a 500 ml de agua en un matraz de 1000 ml luego se agregaron 50 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y se agitó hasta que se disolvió. Finalmente se diluyo a 1000 ml.

Alcohol isopropílico

Lana de vidrio: Extraída previamente con CHCl_3 hasta eliminar las interferencias.

2.1.2.2. Preparación de soluciones de reserva y de trabajo

a) Preparación de solución de reserva

Solución LAS de reserva (1000 ppm): se pesó una cantidad de material de referencia igual a 1,00 g de LAS en una base activa de 100 por 100. Se disolvió en agua destilada y se diluyó hasta 1000 ml. Esta solución se almaceno bajo refrigeración para minimizar la biodegradación.

b) Preparación de solución de intermedia

Solución LAS patrón (100 mg/L): se diluyeron 10,0 ml de la solución anterior hasta 100 ml con agua destilada. Esta solución de preparo a diario.

c) Preparaciones de soluciones de trabajo

Solución LAS patrón (10 mg/L): se diluyeron 10,00 ml de la solución anterior hasta 100 ml con agua destilada. Esta solución se preparó a diario

Solución LAS patrón (1 mg/L): Se diluyeron 10 ml de solución intermedia hasta 100 ml con agua destilada.

2.1.2.3. Procedimiento

Se añadieron 25 ml de la muestra a un embudo de separación. Se alcalinizo añadiendo gotas de NaOH 1N, utilizando como indicador fenolftaleína. El color rosa se eliminó añadiendo gotas de H₂SO₄ 1N. Se añadieron 2,5 ml de CHCl₃ y 6,5 ml de azul de metileno. El embudo se agito vigorosamente durante 30 segundos y se esperó a que se separaran las fases.

NOTA: Excesiva agitación puede hacer que emulsione. Para romper las emulsiones persistentes añadir un volumen pequeño de alcohol isopropílico (<10 ml); añadir el mismo volumen de alcohol isopropílico a todos los patrones. Algunas muestras requieren un periodo más largo de separación de fases que otras. Antes de drenar la capa de CHCl₃, se movió suavemente y dejó reposar.

Se separó la capa de CHCl₃ en un segundo embudo de separación. Se enjuago el tubo del primer embudo de separación con una pequeña cantidad de CHCl₃. Y se repite la extracción dos veces más, utilizando 2.5 ml de CHCl₃ cada vez.

NOTA: Si el color azul de la fase acuosa se debilita o desaparece, desechar y repetir, utilizando una dilución de la muestra.

Se combinaron todos los extractos de CHCl_3 en el segundo embudo de separación. Se añadieron 12,5 ml de solución de lavado y se agitó vigorosamente durante 30 segundos. Se dejó reposar, una vez reposado se extrajo la capa de CHCl_3 a través del embudo que contiene un tapón de lana de vidrio en un balón aforado de 25 ml; el filtrado debe ser claro.

Se extrajo dos veces más la solución de lavado con 2,5 ml de CHCl_3 cada vez y se añadió al balón a través de la lana de vidrio. Se recogieron los lavados en el balón, se diluyeron hasta la marca con CHCl_3 y se mezcló bien.

La absorbancia se determinó a 652 nm frente a un blanco de CHCl_3 . Este procedimiento se aplicó a todos los patrones blancos y muestras.

2.1.2.4. Preparación de curvas de calibración

Para realizar la curva de calibración se preparan 5 patrones y su respectivo blanco como se muestran en la tabla 4

Tabla 4. Preparación de patrones para curva de calibración de surfactantes aniónicos.

Patrón (mg/l)	Solución de trabajo 1 mg/L (ml)	Solución de trabajo 10 mg/L (ml)	Aforo con destilada (ml)
Blanco	---	---	25
0,2	5	---	25
0,4	10	---	25

0,5	12,5	---	25
1	---	2,5	25
2	---	5	25

2.1.2.5. Limpieza de vidriería

Todo el material fue lavado con extran alcalino y se pasó por solución de H₂SO₄ al 10%. Para posteriormente ser enjuago muy bien con agua destilada.

2.1.3. Muestras analizadas

- 10 Blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno
- Se analizaron blancos de muestra con adición del analito en una gama de niveles de concentración, en cada nivel de concentración se midieron 10 réplicas independientes. La medición de las réplicas a los diferentes niveles se midió aleatoriamente
- Se corrieron 7 ensayos en días diferentes con una diferencia máxima de 3 días entre un ensayo y otro (viernes - lunes). Este grupo básico de "muestras" se corrió por duplicado para un total de 14 datos diarios. Cada grupo de muestras se analizó en el mismo día corriendo todas las muestras en forma paralela.
Grupo básico de muestras.
- Bk: Blanco de reactivos y procedimiento

- E.b: Estándar de concentración baja
- E.m Estándar de concentración media (Aprox. El 50% del rango)
- E.a Estándar de concentración alta (Aprox. El 90% del rango)
- Mb Muestra natural (Conc <50% del rango)
- Ma muestra natural (Conc >>Mb)
- Mb.A.b Mb adicionada con un nivel bajo (Máx el 30% del valor de Mb)
- Mb.A.a Mb adicionada con un nivel alto (Min el 50% del valor Mb)

2.1.4. Tratamiento estadístico

Una vez obtenidos los datos, es necesario realizar un tratamiento estadístico que permita obtener información de cada método, para lo cual se tienen en cuenta ciertos parámetros que sirven como criterios de confianza del método analítico.

Este estudio estadístico es una prueba que permite al laboratorio ofrecer resultados analíticos de calidad y con un alto grado de confianza.

2.1.4.1. Límite de detección

Podemos definir el límite de detección como la concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 95% de ser diferentes del blanco

LDM: Blanco de muestra + 3 s;

Donde s: desviación estándar de la muestra de blancos

2.1.4.2. Límite de cuantificación

El LoQ se puede expresar como la concentración del analito correspondiente a los valores del blanco de muestra más: 10 veces la desviación estándar de los mismos

2.1.4.3. Intervalo de trabajo o intervalo lineal

Para determinar el intervalo lineal se analiza blanco más blancos de muestra fortificados a varias concentraciones. A partir de estos se grafica la respuesta de medición (eje y) contra la concentración del mensurado (eje x) visualmente se examina para identifica el intervalo lineal aproximado y los límites superiores e inferiores del intervalo de trabajo.

Una vez hecho esto se calcula el coeficiente de regresión, los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de “Y” y el valor predicho por la línea recta para cada valor de “X”). La distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad. Tendencias sistemáticas indican no- Linealidad.

2.1.4.4. Precisión

Las mediciones para LoQ se realizaron bajo condiciones de repetibilidad de estos datos también se obtiene una medida de la precisión expresada como coeficiente de variación

$$CV = \frac{s}{x} * 100$$

Donde s: desviación estándar

X: promedio

2.1.4.5. Exactitud

La exactitud se expresa en términos de error relativo, de acuerdo con

$$\% \text{ error} = \frac{X_{\text{Teorico}} - X_{\text{Experimental}}}{X_{\text{Teorico}}} * 100$$

Este será determinado en base a las pruebas de intercalibración presentadas ante el IDEAM en marzo del 2013

2.1.4.6. Cartas de control

Las cartas de control hacen parte del control de calidad analítico y permiten llevar un control sobre el método realizado indicando consistencia día a día, para poder establecer de esta manera si existen o no tendencias dependientes del tiempo en los resultados, asociados a inevitables errores aleatorios; que mediante la determinación de ciertos límites de confianza. Límites de aviso y de acción, que se calculan de acuerdo con la siguiente formulación:

Línea de acción superior (LAS) = $X_{\text{prom}} + 3*s$
Línea de aviso superior (LAS) = $X_{\text{prom}} + 2*s$
Promedio
Línea de aviso inferior (LAI) = $X_{\text{prom}} - 2*s$
Línea de acción inferior (LAI) = $X_{\text{prom}} - 3*s$

2.1.4.7. Incertidumbre

Al estimar la incertidumbre de la medición, se debe tomar en cuenta todos los componentes de la incertidumbre que sean importantes en una situación dada, utilizando métodos de análisis aceptados.

Para la estimación de la incertidumbre se determinó según el texto Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. COMPUESTOS FENÓLICOS

3.1.1. Resultados etapa de prevalidación

3.1.1.1. Curva de calibración y linealidad

Se realizaron 5 curvas de calibración cada una con 8 estándares, obteniéndose los resultados presentados en la tabla 5.

Tabla 5. Datos de curvas de calibración para compuestos fenólicos.

Concentración mg/L	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
0,1	0,0025	0,0018	0,0090	0,0060	0,0055
0,2	0,0095	0,0174	0,0181	0,0158	0,0148
0,5	0,0439	0,0391	0,0433	0,0444	0,0425
1	0,084	0,094	0,0930	0,0997	0,0966
2	0,1946	0,1775	0,1884	0,2030	0,1872
3	0,2772	0,2757	0,2890	0,2852	0,2767
4	0,3706	0,3647	0,3782	0,3844	0,3671
5	0,4583	0,4602	0,4597	0,4835	0,4515

La curva de calibración definitiva se escogió teniendo en cuenta la que presenta mejor coeficiente de correlación R^2

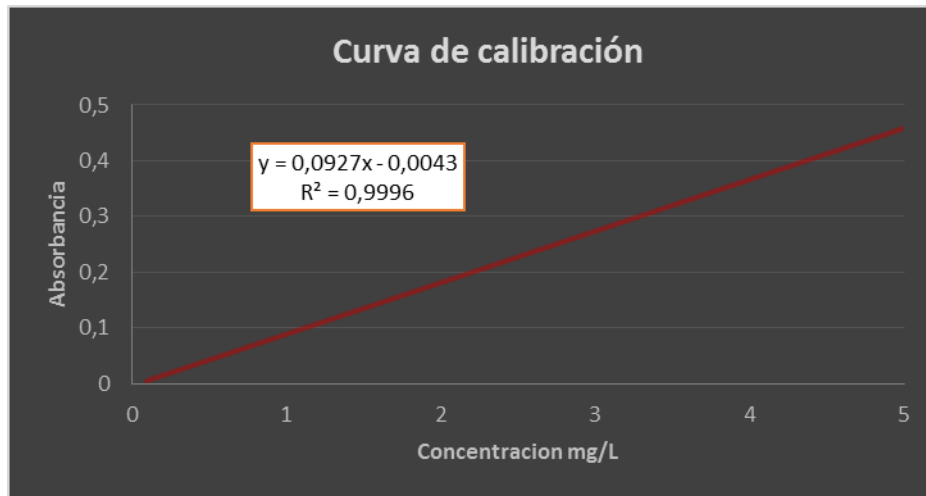
Tabla 6.

Tabla 6. Coeficientes de correlación de curvas de calibración para fenoles.

Curvas	R ²
Curva 1	0,9989
Curva 2	0,9996
Curva 3	0,9992
Curva 4	0,9993
Curva 5	0,9994

La relación permitió establecer una relación lineal entre la absorbancia y la concentración, definida por la ecuación presentada en la Figura 8 (absorbancias Vs. Concentraciones de las soluciones patrón).

Figura 11. Curva de calibración compuestos fenólicos.



La ecuación $y=0,0927x - 0,0043$, al presentar un coeficiente de correlación de 0,9996 indica que se presenta una fuerte asociación lineal entre las dos variables relacionadas, en este caso, entre la concentración y la absorbancia.

Los blancos de reactivo estudiados, contenían todos los componentes excepto que el desarrollaba la reacción coloreada. Es necesario medir la absorbancia del blanco, ya que generalmente presenta cierto color o alguna absorbancia, la cual no está relacionada con la reacción colorimétrica. Esta absorbancia “basal” se restó a la absorbancia de la reacción como tal en cada uno de los patrones y muestras leídas.

Como modo para confirmar la linealidad calculamos y graficamos los valores residuales los cuales se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Valores residuales para fenoles.

Concentración en	Concentración predicha por la	Error
------------------	-------------------------------	-------

mg/L	recta	residual
0,1	0,0658	0,0342
0,2	0,2341	-0,0341
0,5	0,4682	0,0318
1	1,0604	-0,0604
2	1,9612	0,0388
3	3,0205	-0,0205
4	3,9806	0,0194
5	5,0108	-0,0108

Figura 12. Gráfico de valores residuales para curva de fenoles.



Calculando y graficando los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de "Y" y el valor predicho por la línea recta, para

cada valor de “X” se puede apreciar una distribución aleatoria alrededor de la línea recta lo que confirma la linealidad

3.1.1.2. Límite de detección y cuantificación

Las concentraciones de cada una de los patrones preparados, se hallaron utilizando la ecuación descrita anteriormente y los datos obtenidos se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Concentraciones de blancos y patrones para hallar LoD y LoQ en compuestos fenólicos.

Patrón mg/L	Blancos	0,05	0,1	0,15	0,2
Concentración mg/L	0,0073	0,0565	0,1175	0,1507	0,2229
	0,0425	0,0275	0,1256	0,1901	0,2196
	0,0002	0,039	0,0741	0,1697	0,2145
	-0,005	0,1087	0,1217	0,1524	0,1953
	0,0267	0,075	0,0626	0,1371	0,2044
	0,0233	0,0709	0,1096	0,1392	0,1894
	0,0137	0,0777	0,0693	0,1496	0,1917
	-0,003	0,0569	0,1518	0,1799	0,1908
	0,0041	0,0372	0,0668	0,1434	0,1975
	0,0127	0,0613	0,1257	0,1633	0,2023

Una interpretación estadística de los datos, nos permite establecer los siguientes términos

Tabla 9. Criterios estadísticos para determinar LoD y LoQ en compuestos fenólicos.

Patrón mg/L	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente Variación %
Blancos	0,012	0,01	122,1
0,05	0,061	0,02	38,8
0,1	0,102	0,03	30,7
0,15	0,158	0,02	11,3
0,2	0,203	0,01	6,1

El límite de detección del método y de cuantificación respectivamente, están dados por:

$$\text{LoD} = y_{bl} + 3s = 0,082\text{mg/L}$$

$$\text{LoQ} = y_{bl} + 10s = 0,16 \text{ mg/L}$$

El LoD que indica la mínima cantidad analítica distinguible detectada por el espectrofotómetro para este método, es 0,08 mg de fenol en un litro de solución, hecho que se puede ver en el patrón de 0,1 mg/L, donde el coeficiente de variación es muy alto 30,7 %.

Por su parte, el LoQ es 0,16 mg de fenol en un litro de solución, concentración a partir de la cual los resultados generados son precisos y reproducibles, y se ven reflejados en el bajo porcentaje del coeficiente de variación reportado por el patrón de 0,2 que fue de

6,1 valor aceptable ya que el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB tiene establecido que los coeficientes de variación deben ser menores al 10% para que sean aceptables.

El establecimiento de estos límites indica que, valores por debajo de 0.08 no son detectables; concentraciones por encima de este valor proporcionan una señal en el espectrofotómetro significativamente diferentes de la señal del blanco o ruido de fondo, pero no son cualitativas, finalmente, concentraciones por encima de 0,16 mg/L de fenol son cuantitativas y reproducibles con un alto grado de confianza.

3.1.2. Resultados etapa de validación

En esta etapa se analizó el grupo básico de muestras las cuales de corrieron por duplicado para un total de 16 datos diarios. Los datos obtenidos se muestras en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados definitivos en la validación de fenoles.

RESULTADOS DEFINITIVOS								
Fenol mg/L								
DIA	Bk	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
1	0,0412	0,22	2,01	4,12	1,91	3,98	2,47	3,75
	0,0083	0,22	2,02	4,22	2,08	4,00	2,52	3,81
2	0,0138	0,21	2,10	4,24	2,06	3,93	2,44	3,83
	-0,0010	0,20	2,09	4,26	2,10	4,04	2,54	3,79
3	0,0193	0,20	2,09	4,25	2,08	3,97	2,56	3,90
	0,0211	0,19	2,09	4,09	2,02	4,04	2,48	3,75
4	0,0044	0,19	2,11	4,22	2,07	4,09	2,49	3,75
	-0,0160	0,19	2,12	4,14	2,06	3,99	2,47	3,92
5	-0,0100	0,20	2,12	4,07	2,02	4,01	2,52	3,84
	0,0191	0,20	2,03	4,18	2,10	3,94	2,52	3,72
6	-0,0030	0,20	2,12	4,06	1,93	3,90	2,47	3,75
	0,0158	0,21	2,10	4,21	2,06	3,94	2,45	3,82
7	-0,0020	0,20	2,12	2,21	2,09	4,01	2,50	3,76
	0,014	0,22	2,13	4,24	1,99	4,08	2,54	3,75

3.1.2.1. Rechazo de datos

Todos los datos fueron sometidos a la prueba T para evaluar si se debía rechazar algún dato

Para un valor alto:

$$T = \frac{X_{Máximo} - X_{Promedio}}{s}$$

Para un valor bajo:

$$T = \frac{X_{Promedio} - X_{Mínimo}}{s}$$

Si el T calculado es mayor que el T teórico de la tabla el dato se rechaza. Los valores de T calculados para cada grupo de datos se aprecian en la tabla 11.

Tabla 11. Valores calculados de T para rechazo de datos.

	Bk	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
Número de datos	14	14	14	14	14	14	14	14
Promedio	0,0090	0,20	2,09	4,18	2,04	3,99	2,50	3,81
Desviación estándar	0,0148	0,0117	0,0378	0,0673	0,0596	0,0568	0,0359	0,0616
Mínimo	-0,016	0,19	2,01	4,06	1,91	3,90	2,44	3,72
Máximo	0,0412	0,22	2,13	4,26	2,10	4,09	2,56	3,92
T bajo	1,68	1,26	2,04	1,76	2,18	1,72	1,49	1,46
T alto	2,17	1,59	1,04	1,14	1,01	1,70	1,75	1,92
T teórico	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37

Ningún valor de T calculado fue mayor que el T teórico por lo tanto ningún dato se rechaza.

3.1.2.2. Verificación de límite de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación que ya han sido determinados en la etapa de prevalidación se reafirman con los datos de los blancos del grupo básico de muestras de la validación Tomando el promedio de blancos y desviación estándar de la tabla 11 se calcula como sigue:

$$\text{LoD} = y_{bl} + 3s = 0,090 \text{ mg/L}$$

$$\text{LoQ} = y_{bl} + 10s = 0,16 \text{ mg/L}$$

3.1.2.3. Recuperaciones

El cálculo de recuperaciones se realizó como sigue:

Recuperación muestra con adición baja

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{MbAb - Mb}{0,5}$$

Recuperación muestra con adición alta

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{MbAb - Mb}{2,0}$$

En donde 0,5 y 2,0 mg/L fueron los estándares bajo y alto adicionados a la muestra natural

Obteniéndose recuperaciones de 91.4 % para la adición baja y 88,3 % para la adición alta. Porcentajes de recuperación satisfactorios ya que el laboratorio tiene como rango aceptable de recuperaciones del 85 al 115 por ciento.

3.1.2.4. Precisión

Tabla 12. Coeficientes de variación para fenoles.

	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
Promedio	0,20	2,09	4,18	2,04	3,99	2,50	3,81
Desviación estándar	0,0117	0,0378	0,0673	0,0596	0,0568	0,0359	0,0616
CV %	5,7	1,8	1,6	2,9	1,4	1,4	1,6

Los coeficientes de variación todos menores al 10% (valor máximo establecido por el laboratorio) nos indican una buena precisión en los resultados.

3.1.2.5. Exactitud

La exactitud se expresa en términos de error relativo, de acuerdo con

$$\%Error = \frac{X_{Teorico} - X_{Experimental}}{X_{Teorico}} * 100$$

Y se determinó en base a la prueba de intercalibración presentada ante el IDEAM en marzo de 2013

En esta prueba, se determinó el mismo parámetro a dos muestras de concentraciones diferentes, una con un alto contenido del analito y otra con una baja concentración.

Tabla 13. Prueba de desempeño del IDEAM para fenoles.

Valor reportado	Valor de referencia	Desviación estándar	Z score	Puntos asignados	Porcentaje completado	% error
0,57	0,528	0,0807	0,46	5	100	7,9
1,01	0,920	0,139	0,68	5	100	9,7

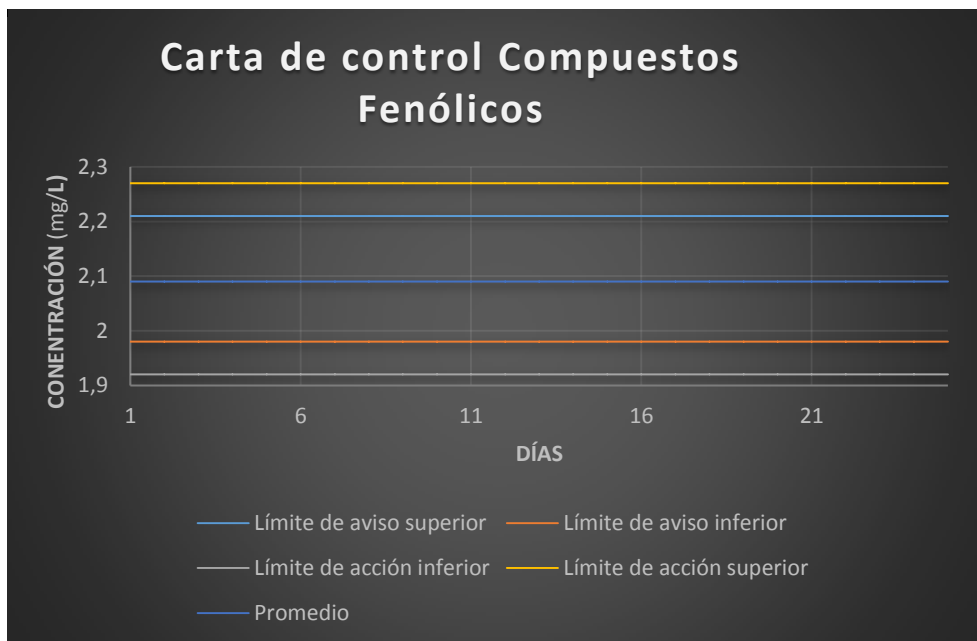
3.1.2.6. Cartas de control

Se realizó la respectiva carta de control con un patrón de 2 mg/L utilizando 25 datos obtenidos en 25 días diferentes

Tabla 14. Parámetros estadísticos para carta de control de compuestos fenólicos.

Parámetros de carta de control	Concentración (mg/L)
Promedio	2,09
Desviación estándar	0,06
Límite de acción superior	2,27
Límite de aviso superior	2,21
Límite de aviso inferior	1,98
Límite de acción inferior	1,92

Figura 13. Carta de control compuestos fenól



3.2. SURFACTANTES ANIÓNICOS

3.2.1. Resultados etapa de prevalidación

3.2.1.1. Curva de calibración y linealidad

Se realizaron 5 curvas de calibración cada una con 5 estándares, obteniéndose los resultados presentados en la tabla 15.

Tabla 15. Datos de curvas de calibración para surfactantes aniónicos.

Concentración mg/L	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
0,2	0,13575	0,053	0,0594	0,0899	0,0873
0,4	0,1454	0,1285	0,134	0,1413	0,1320
0,5	0,1693	0,1736	0,1497	0,177	0,1490
1	0,3779	0,2757	0,3551	0,3468	0,2929
2	0,6444	0,645	0,5893	0,667	0,5886

Al igual que con el método anterior La curva de calibración definitiva se escogió teniendo en cuenta la que presenta mejor coeficiente de correlación R^2

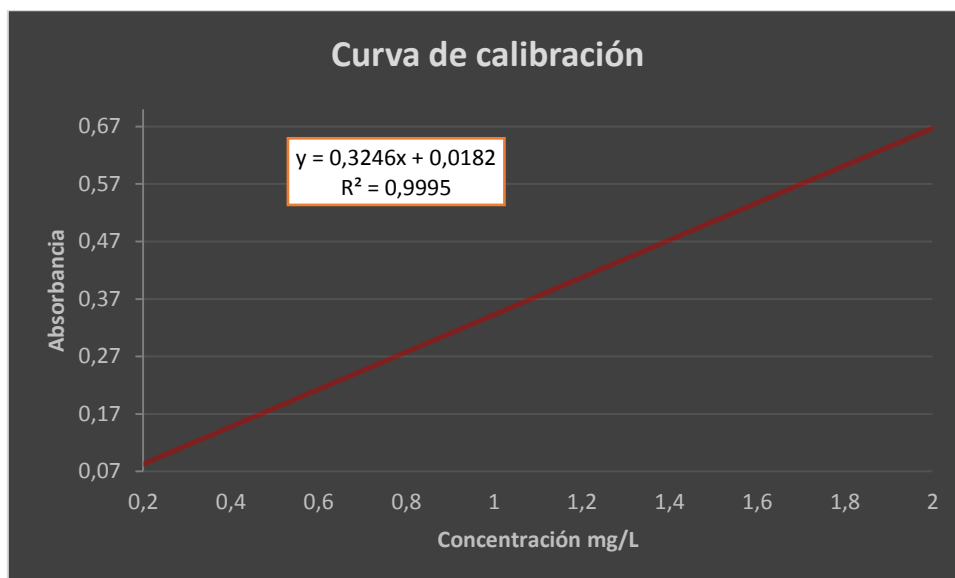
Tabla 16. Coeficientes de correlación de curvas de calibración para fenoles.

Curvas	R^2
Curva 1	0,9844
Curva 2	0,9906
Curva 3	0,9857
Curva 4	0,9995
Curva 5	0,9979

Esta relación permitió establecer una relación lineal entre la absorbancia y la concentración, definida por la ecuación presentada

en la Figura 14 (absorbancias Vs. Concentraciones de las soluciones patrón).

Figura 14. Curva de calibración surfactantes aniónicos.



La ecuación ($y=0,3246x + 0,0182$) al presentar un coeficiente de correlación de 0,9995 indica que se presenta una fuerte asociación lineal entre las dos variables relacionadas, en este caso, entre la concentración y la absorbancia.

Los blancos de reactivo estudiados, contenían todos los componentes excepto que el desarrollaba la reacción coloreada. Es necesario medir la absorbancia del blanco, ya que generalmente presenta cierto color o alguna absorbancia, la cual no está relacionada con la reacción colorimétrica. Esta absorbancia “basal” se restó a la absorbancia de la reacción como tal en cada uno de los patrones y muestras leídas.

Como modo para confirmar la linealidad calculamos y graficamos los valores residuales los cuales se muestran en la tabla 17.

Tabla 17. Valores residuales para surfactantes aniónicos.

Concentración en mg/L	Concentración predicha por la recta	Error residual
0,2	0,2219	-0,0219
0,4	0,3795	0,0205
0,5	0,4889	0,0110
1	1,0095	-0,0095
2	1,9911	0,0089

Figura 15. Gráfico de valores residuales para curva surfactantes aniónicos.



Calculando y graficando los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de “Y” y el valor predicho por la línea recta, para cada valor de “X” se puede apreciar una distribución aleatoria alrededor de la línea recta lo que confirma la linealidad

3.2.1.2. Límite de detección y cuantificación

Las concentraciones de cada una de los patrones preparados, se hallaron utilizando la ecuación descrita anteriormente y los datos obtenidos se presentan en la tabla 17.

Tabla 18. Concentraciones de blancos y patrones para hallar LoD y LoQ en surfactantes aniónicos.

Patrón mg/L	Blancos	0,05	0,1	0,2
Concentración mg/L	-0,005	-0,022	0,0742	0,1817
	-0,003	-0,004	0,0894	0,1908
	0,0002	-0,002	0,0999	0,1984
	0,0041	0,0099	0,1110	0,1987
	0,0073	0,011	0,1120	0,1993
	0,0127	0,0138	0,1127	0,1999
	0,0137	0,0145	0,1147	0,2008
	0,0233	0,0204	0,1194	0,2026
	0,0267	0,0304	0,1377	0,2242

	0,0425	0,0890	0,1468	0,2272
--	--------	--------	--------	--------

Una interpretación estadística de los datos, nos permite establecer los siguientes términos

Tabla 19. Criterios estadísticos para determinar LoD y LoQ en Surfactantes aniónicos.

Patrón mg/L	Promedio	Desviación. Estándar	Coefficiente Variación %
Blancos	0,0123	0,01	122,1
0,05	0,0161	0,03	182,8
0,1	0,1118	0,02	18,9
0,2	0,2024	0,01	6,8

El límite de detección del método y de cuantificación respectivamente, están dados por:

$$\text{LoD} = y_{bl} + 3 s = 0,1 \text{ mg/L}$$

$$\text{LoQ} = y_{bl} + 10 s = 0,20 \text{ mg/L}$$

El LoD que indica la mínima cantidad analítica distinguible detectada por el espectrofotómetro para este método, es 0,1 mg de fenol en un litro de solución, hecho que se puede ver en el patrón de 0,1 mg/L, donde el coeficiente de variación es muy alto 18,9 %.

Por su parte, el LoQ es 0,20 mg de fenol en un litro de solución, concentración a partir de la cual los resultados generados son precisos y reproducibles, y se ven reflejados en el bajo porcentaje del coeficiente de variación reportado por el patrón de 0,2 que fue de 6,8. Valor aceptable ya que el laboratorio de aguas y suelos de la

CDMB tiene establecido que los coeficientes de variación deben ser menores al 10% para que sean aceptables.

El establecimiento de estos límites indica que, valores por debajo de 0.1 no son detectables; concentraciones por encima de este valor proporcionan una señal en el espectrofotómetro significativamente diferentes de la señal del blanco o ruido de fondo, pero no son cualitativas, finalmente, concentraciones por encima de 0,20 mg/L de fenol son cuantitativas y reproducibles con un alto grado de confianza.

3.2.2. Resultados etapa de validación

En esta etapa se analizó el grupo básico de muestras las cuales de corrieron por duplicado para un total de 14 datos diarios. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 19.

Tabla 20. Resultados definitivos en la validación de surfactantes aniónicos.

RESULTADOS DEFINITIVOS								
Surfactantes aniónicos								
DIA	Bk	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
1	-0,019	0,20	1,01	2,21	0,62	1,59	0,90	1,59
	0,0192	0,22	1,01	1,96	0,63	1,46	0,89	1,59
2	-0,001	0,20	0,97	1,97	0,62	1,55	0,89	1,48
	0,0099	0,22	0,97	1,98	0,57	1,59	0,90	1,47
3	0,0224	0,20	1,04	1,98	0,61	1,57	0,88	1,47
	-0,016	0,22	0,97	2,15	0,62	1,47	0,90	1,47
4	0,0181	0,22	1,04	2,18	0,60	1,59	0,89	1,54
	-0,033	0,22	1,01	2,00	0,62	1,54	0,90	1,48
5	-0,023	0,20	1,01	2,15	0,55	1,53	0,86	1,53
	0,0071	0,21	0,91	2,17	0,57	1,48	0,87	1,49
6	0,0137	0,21	0,92	2,00	0,62	1,52	0,88	1,50
	-0,024	0,21	0,94	1,95	0,60	1,50	0,88	1,59
7	-0,022	0,21	0,82	2,06	0,57	1,53	0,89	1,46
	0,0147	0,20	1,04	1,94	0,62	1,44	0,89	1,47

3.2.2.1. Rechazo de datos

Todos los datos fueron sometidos a la prueba T de igual forma que se hizo con el método anterior.

Los valores de T calculado para cada grupo de datos se aprecian en la tabla 20.

Tabla 21. Valores calculados de T para rechazo de datos.

	Bk	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
Número de datos	14	14	14	14	14	14	14	14
Promedio	-0,002	0,21	0,98	2,05	0,60	1,52	0,89	1,51
Desviación estándar	0,0196	0,0092	0,0604	0,1001	0,0250	0,0508	0,0103	0,0487
Mínimo	-0,033	0,20	0,83	1,94	0,55	1,44	0,87	1,46
Máximo	0,02	0,22	1,04	2,21	0,63	1,59	0,90	1,59
T bajo	1,57	1,64	2,49	1,10	1,98	1,75	2,24	0,91
T alto	1,27	1,44	1,03	1,61	1,18	1,37	1,10	1,74
T teórico	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37	2,37

El valor de T bajo para la muestra Em es mayor que el T teórico por que tanto ese dato se debe rechazar.

3.2.2.2. Verificación de límite de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación que ya han sido determinados en la etapa de prevalidación se reafirman con los datos de los blancos del grupo básico de muestras de la validación Tomando el promedio de blancos y desviación estándar de la tabla 20 se calculan como sigue:

$$\text{LoD} = y_{bl} + 3 s = 0,08 \text{ mg/L}$$

$$\text{LoQ} = y_{bl} + 10 s = 0,19 \text{ mg/L}$$

3.2.2.3. Recuperaciones

El cálculo de recuperaciones se realizó como sigue:

Recuperación muestra con adición baja

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{MbAb - Mb}{0,3}$$

Recuperación muestra con adición alta

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{MbAa - Mb}{1,0}$$

En donde 0,3 y 1,0 mg/L fueron los estándares bajo y alto adicionados a la muestra natural

Obteniéndose recuperaciones promedio de 95.4 % para la adición baja y 90,37% para la adición alta. Que como ya se mencionó estos valores entran en el rango de aceptación del laboratorio

3.2.2.4. Precisión

Tabla 22. Coeficientes de variación en surfactantes aniónicos.

	Eb	Em	Ea	Mb	Ma	MbAb	MbAa
Promedio	0,21	0,98	2,05	0,60	1,52	0,89	1,51
Desviación estándar	0,0092	0,0604	0,1001	0,0250	0,0508	0,0103	0,0487
CV %	4,37	6,19	4,88	4,16	3,33	1,15	3,23

El coeficiente de variación todos menores al 10% (valor máximo establecido por el laboratorio) nos indican una buena precisión en los resultados.

3.2.2.5. Exactitud

Tabla 23. Pruebas de desempeño del IDEAM para surfactantes aniónicos

Valor reportado	Valor de referencia	Desviación estándar	Z score	Puntos asignados	Porcentaje completado	% error
1,60	1,56	0,203	0,20	5	100	2,5
3,05	3,55	0,618	-0,81	5	100	14

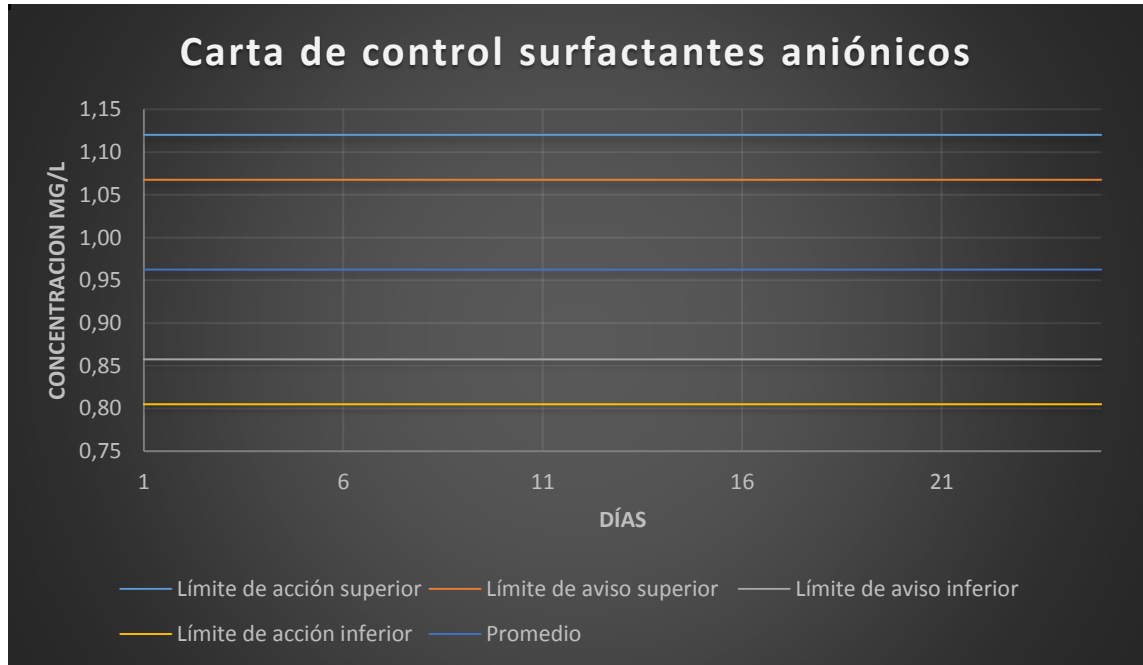
3.2.2.6. Cartas de control

Se realizó la respectiva carta de control con un patrón de 1 mg/L utilizando 25 datos obtenidos en 25 días diferentes.

Tabla 24. Parámetros estadísticos para carta de control de surfactantes aniónicos.

Parámetros de carta de control	Concentración (mg/L)
Promedio	0,96
Desviación estándar	0,05
Límite de acción superior	1,12
Límite de aviso superior	1,07
Límite de aviso inferior	0,86
Límite de acción inferior	0,81

Figura 16. Carta de control surfactantes aniónicos



4. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LOS MÉTODOS

4.1. COMPUESTOS FENÓLICO

El método se basa en la reacción de un compuesto fenólico con ferrocianuro de potasio y aminoantipirina para dar un color entre amarillo y rojo, color que se lee espectrofotométricamente a 500 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración del compuesto fenólico en la muestra.

El cálculo involucrado en la medición de la concentraciones empleando la técnica de espectrofotometría de ultravioleta visible está dado por la ecuación 1

$$\gamma_m = \gamma_{(x-B)} \quad (1)$$

Donde:

γ_m = Concentración del mensurando

$\gamma_{(x-B)}$ = Concentración del mesurando que se mide en el instrumento

4.1.1. Fuentes de incertidumbre

- Incertidumbre asociada a la curva de calibración

- Incertidumbre asociada a los patrones preparados
 - Incertidumbre asociada a la preparación del fenol de reserva: incluye la incertidumbre asociada a la masa molar, al volumen preparado, a la pesada del reactivo y a la pureza

- Incertidumbre asociada a cada una de las diluciones realizadas para llegar a las concentraciones de los patrones de la curva

4.1.2. Cálculo de incertidumbre

4.1.2.1. Concentración de masa (mg/L) de fenoles medidos en el instrumento a través de la curva de calibración $\gamma_{(x-B)}$

La curva de calibración. Se basa en el algoritmo matemático de mínimos cuadrados. La incertidumbre debida a la curva de calibración se calculó de acuerdo al apéndice E.4 de Eurachem (CITAC guide Third edition 2012.)

La ecuación típica de una curva de calibración está dada por

$$\alpha = b_1\gamma + b_0$$

Despejando la componente que corresponde a la concentración

$$\gamma = \frac{\alpha - b_0}{b_1}$$

Donde:

γ = Concentración de masa (mg/L) de fenol

α = Absorbancia.

b_0 = Ordenada al origen

b_1 = Pendiente

Concentración (mg/L)	1	2	3	Promedio
0,1	0,0019	0,0017	0,0018	0,0018
0,2	0,0178	0,0181	0,0163	0,0174
0,5	0,0391	0,039	0,0392	0,0391
1	0,0946	0,0942	0,0932	0,094
2	0,1776	0,178	0,1769	0,1775
3	0,276	0,2756	0,2755	0,2757
4	0,3652	0,3646	0,3643	0,3647
5	0,4594	0,4605	0,4607	0,4602

b ₁	0,0927
b ₀	0,0043

$$\mu_{Y(m-B)} = \frac{S}{b_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(Y(m-B) - \bar{Y}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Donde:

$\mu_{Y(m-B)}$ = Incertidumbre del mensurando obtenida por el instrumento

S = Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal

b₁ = Pendiente calculada

P = Número de réplicas de la muestra

n = Número de puntos de la curva de calibración multiplicado por el número de réplicas de cada punto (Total de datos)

$Y(m-B)$ = Concentración en estudio

\bar{Y}_{MRC} = Promedio de concentraciones calculadas

S_{xx} = Suma de cuadrado de los residuales de las concentraciones obtenidas

La desviación estándar de los residuales “S” está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [\alpha - (b_0 + b_1 * \gamma_j)]^2}{n - 2}}$$

La suma de cuadrado de los residuales de las concentraciones obtenidas está dada por:

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\gamma_j - \bar{\gamma})^2$$

S= desviación estándar residual del cálculo de la regresión lineal

α = Las lecturas observadas correspondientes a las concentraciones conocidas de los patrones con los que se calibro el instrumento

$\bar{\gamma}$ = promedio de las concentraciones de masa de las disoluciones de referencia empleadas en cada uno de los puntos de la curva de calibración

b_0 = Ordenada al origen de la curva de calibración

b_1 =Pendiente calculada de la curva de calibración

n= Número total de datos

γ_j = concentración de masa de cada patrón de referencia que se utilizó en la curva de calibración

Tabla 25. Datos para el cálculo de incertidumbre estándar de la concentración de fenoles.

S	0,0044
S _{XX}	72,34
P	3
N	24
b ₁	0,0927
Y _(m-B)	0,2 - 2 - 5 mg/L
\bar{Y}_{MRC}	1,975 mg/L

La incertidumbre se calculó para los rangos bajo (0,2 mg/L), medio (2 mg/L) y alto (5 mg/L)

Tabla 26. Incertidumbre estándar de la concentración de fenoles.

Concentración (mg/L)	0,2	2	5
μ_Y (mg/l)	0,0294	0,0296	0,0367

La incertidumbre estándar relativa por calibración

$$\mu_{IER(\text{curva de calibración})} = \frac{\mu_Y}{\text{Concentración}}$$

Tabla 27. Incertidumbre estándar relativa de la concentración de fenoles.

Concentración (mg/L)	0,2	2	5
$\mu_{IER(\text{Curva de calibración})}$ (mg/l)	0,1469	0,0148	0,0073

4.1.2.2. Incertidumbre asociada a los patrones preparados

a) Incertidumbre debida a la pureza del reactivo

La pureza del fenol figura en el certificado como 99,7% ± 0,7 %. Debido a que no hay ninguna información adicional acerca de la incertidumbre, se supone una distribución rectangular.

$$\mu_{(Pureza)} = \frac{0,007}{\sqrt{3}} = 0,0040$$

La incertidumbre estándar relativa

$$\mu_{IER(Pureza)} = \frac{0,0040415}{0,997} = 0,0040$$

b) Incertidumbre asociada a la pesada del reactivo

El certificado de calibración de la balanza nos muestra un valor de incertidumbre estimado en ± 0,14 mg con un factor de cobertura k=2

$$\mu_{Balanza} = \frac{U_{certificado}}{k}$$

$$\mu_{Balanza} = \frac{0,033}{2} = 0,0165$$

Esta contribución se tiene en cuenta dos veces, una por tarar la balanza y la otra por el pesar el reactivo

La incertidumbre combinada está dada por

$$\mu_{(m_{fenol})} = \sqrt{(0,0165)^2 + (0,0165)^2} = 0,0233$$

La incertidumbre estándar relativa: para obtener la incertidumbre estándar relativa se divide sobre la cantidad de reactivo pesada.

$$\mu_{IER(mfenol)} = \frac{0,0233}{1000} = 2,333 \times 10^{-5}$$

c) Incertidumbre asociada a la masa molar del fenol

Esta contribución es obtenida a partir de la incertidumbre de los pesos atómicos de cada uno de los elementos reportados por la IUPAC, ver ANEXO 1.

Formula química del fenol: C_6H_5OH

La IUPAC sugiere que se calcule la incertidumbre estándar por medio de una distribución triangular

$$\mu_{Elemento} = \frac{\mu_{masa\ molar}}{\sqrt{3}}$$

Tabla 28. Incertidumbre estándar para cada elemento del Fenol.

Elemento	Peso atómico	Incertidumbre citada por la IUPAC	Incertidumbre estándar
C	12,0107	±0,0008	0,0004619
H	1,00794	±0,00007	0,0000404
O	15,9994	±0,0003	0,0001732

Tabla 29. Contribución a la incertidumbre de cada elemento del fenol.

Elemento	Calculo	Resultado	Incertidumbre estándar
C ₆	6* 12,0107	72,0642	0,0028
H ₅	5* 1,00794	5,0397	0,0002
O	15,9994	15,9994	0,00017

Calculando la masa molar del fenol: 93,1033 g mol⁻¹

Debido a que esta expresión es una suma de valores independientes, la incertidumbre estándar es la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las contribuciones

$$\mu_{(masa-fenol)} = \sqrt{(0,0028)^2 + (0,00020)^2 + (0,00017)^2} = 0,0028$$

La incertidumbre estándar relativa para el fenol

$$\mu_{IER(masa\ molar-fenol)} = \frac{0,0028}{93,1033} = 2,99 \times 10^{-5}$$

d) Incertidumbre asociada al volumen de reactivo preparado

El volumen tiene 3 fuentes de incertidumbre

Incertidumbre por calibración: la incertidumbre del material volumétrico utilizado para aforar la solución del reactivo fue de tipo A. el fabricante asegura un volumen para el balón de $1000 \pm 0,6$ mL. Se asume una distribución triangular para el cálculo de la incertidumbre estándar.

$$\mu_{calibracion} = \frac{0,6}{\sqrt{6}} = 0,245 \text{ ml}$$

Incertidumbre por temperatura: la incertidumbre debida a la falta de control de la temperatura se calcula teniendo en cuenta el coeficiente de expansión volumétrico para el agua y asumiendo una variación de temperatura posible.

El balón se calibro a una temperatura de 20°C , mientras que la temperatura del laboratorio varía entre $\pm 4^{\circ}\text{C}$. El coeficiente de expansión del volumen del líquido se considera mayor que el del balón, por lo que solo se considera del agua.

El coeficiente de expansión para el agua es $2,1 \times 10^{-4}$, la variación del volumen debida a la temperatura está dada por:

$$\text{Variación del volumen} = \pm(1000 * 4 * 2,1 \times 10^{-4}) = \pm 0,84 \text{ mL}$$

La incertidumbre estándar se calcula asumiendo la distribución rectangular para la variación de la temperatura

$$\mu_{Temperatura} = \frac{0,84}{\sqrt{3}} = 0,48 \text{ ml}$$

Incertidumbre por repetibilidad: la incertidumbre debida al llenado se estima por un experimento de repetividad efectuado del balón usado. Una serie de 10 llenadas y pesadas, se obtuvo una desviación estándar de 0,4115 mL.

$$\mu_{Repetibilidad} = \frac{0,1354}{\sqrt{3}}$$

$$\mu_{Repetibilidad} = 0,2376 \text{ mL}$$

Las 3 contribuciones se combinan para dar la incertidumbre estándar del volumen

$$\mu_{Volumen} = \sqrt{(0,245)^2 + (0,48)^2 + (0,2376)^2} = 0,5929 \text{ mL}$$

La incertidumbre estándar relativa del volumen del reactivo es

$$\mu_{IER(Volumen)} = \frac{0,5599}{1000} = 0,0006$$

La incertidumbre combinada estándar relativa para la preparación del reactivo de reserva preparado de 1000 mg/l está dada por

$$\mu_{IER(fenol \text{ de resera})}$$

$$= \left(\sqrt{(\mu_{IER(Volumen)})^2 + (\mu_{IER(masa \text{ molar-fenol})})^2 + (\mu_{IER(P)})^2 + (\mu_{IER(mfenol)})^2} \right)$$

$$\mu_{IER(fenol \text{ de resera})}$$

$$= \left(\sqrt{(0,0006)^2 + (2,99 \times 10^{-5})^2 + (0,0040)^2 + (2,333 \times 10^{-5})^2} \right)$$

$$\mu_{IER(fenol \text{ de resera})} = (0,0041)$$

$$\mu_{fenol \text{ de reserva}} = (0,0041) * C_o$$

$$\mu_{fenol\ de\ reserva} = (0,0041) * 1000$$

$$\mu_{fenol\ de\ reserva} = 4,0970$$

e) Incertidumbre asociada a las diluciones

La incertidumbre derivada de la dilución viene dada por:

$$\mu_{Dilución} = \sqrt{\left(\frac{\mu_v}{V}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{ali}}{V_{ali}}\right)^2}$$

Donde los términos de la raíz representan la incertidumbre debida a la medición del volumen del estándar y a la de las alícuotas, respectivas.

La incertidumbre generada por los patrones teniendo en cuenta las diluciones realizadas viene dada por:

$$\mu_{IER(Para\ cada\ patrón)} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{fenol\ de\ reserva}}{C_{fenol\ de\ reserva}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Dilución}}{f}\right)^2}$$

Donde:

$\mu_{Fenol\ de\ reserva}$ = Incertidumbre del patrón de reserva de partida

$C_{Fenol\ de\ reserva}$ = Concentración del patrón de reserva de partida

f=factor de dilución

Las diluciones realizadas para obtener las concentraciones de los patrones de 0,2, 2 y 5 mg/L fueron las siguientes:

Dilución 1: patrón de 1000 a 100 mg/L

Dilución 2: patrón de 100 a 10 mg/L

Dilución 3: patrón de 10 a 5 mg/L

Dilución 4: patrón de 10 a 2 mg/L

Dilución 5: patrón de 10 a 1 mg/L

Dilución 6: patrón de 1 a 0,2 mg/L

Las diluciones 1, 2 y 5 se realizaron de la misma forma: tomando alícuotas de 10 mL con pipetas volumétricas de $\pm 0,02$ y llevando a un volumen final de 100 mL en un matraz de $\pm 0,1$.

Las diluciones 4 y 6 se realizaron de la misma forma: tomando alícuotas de 20 mL con pipetas volumétricas de $\pm 0,03$ y llevando a un volumen final de 100 ml en un matraz de $\pm 0,1$

La dilución 3 se realizó tomando una alícuota de 50 mL con una pipeta volumétrica $\pm 0,05$ y llevando a un volumen final de 100 en un matraz de $\pm 0,1$

Para preparar el patrón de 0,2 mg/L de la curva de calibración se realizaron las diluciones 1, 2, 5 y 6.

Tabla 30. Datos de incertidumbre para la dilución 1, 2, 5.

Diluciones 1, 2, 5			
V	100	V _{ali}	10
Calibración		Calibración	
Balón	100	Pipeta	10
Tolerancia	0,1	Tolerancia	0,02
Incertidumbre	0,0408	Incertidumbre	0,0081
temperatura		Temperatura	
Variación de V	0,0840	Variación de V	0,0084
Incertidumbre	0,0485	Incertidumbre	0,0048
Repetibilidad		Repetibilidad	
Desviación estándar	0,0721	Desviación estándar	0,0092
Incertidumbre	0,0416	Incertidumbre	0,0053
μ_v	0,0758	μ_{ali}	0,0109
μ_v/V	0,0007	μ_{ali}/V_{ali}	0,0011
$\mu_{Dilución}$	0,0013		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0001		

Tabla 31. Datos de incertidumbre para la dilución 6.

Dilución 4 y 6			
Vf	100	Vi	20
Calibración		Calibración	
Balón	100	Pipeta	20
Tolerancia	0,1	Tolerancia	0,03
Incertidumbre	0,0408	Incertidumbre	0,0122
Temperatura		Temperatura	
Variación de V	0,084	Variación de V	0,0168
Incertidumbre	0,0485	Incertidumbre	0,0097
Repetibilidad		Repetibilidad	
Desviación estándar	0,0721	Desviación estándar	0,0121
Incertidumbre	0,0416	Incertidumbre	0,0070
μ_v	0,0758	μ_{ali}	0,0171
μ_v/V	0,0007	μ_{ali}/V_{ali}	0,0008
$\mu_{Dilución}$	0,0011		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0002		

La incertidumbre generada por el patrón de 0,2 se calcula teniendo en cuenta cada una de las diluciones.

$$\mu_{IER(0,2 \text{ mg/L})} = \sqrt{\left(\frac{4,097}{1000}\right)^2 + 3\left(\frac{0,0013}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,0011}{5}\right)^2}$$

$$\mu_{IER(0,2 \text{ mg/L})} = 0,0041$$

Para preparar el patrón de 2 mg/L de la curva de calibración se utilizaron las diluciones 1, 2 y 4

$$\mu_{IER(2\text{ mg/L})} = 0,0041$$

Para preparar el patrón de 5mg/L de la curva de calibración se realizaron las diluciones 1, 2 y 3

Tabla 32. Datos de incertidumbre para la dilución 3.

Dilución 3			
Vf	100	Vi	50
Calibración		Calibración	
Balón	100	Pipeta	50
Tolerancia	0,1	Tolerancia	0,05
Incertidumbre	0,0408	Incertidumbre	0,0204
Temperatura		Temperatura	
Variación de V	0,084	Variación de V	0,042
Incertidumbre	0,0485	Incertidumbre	0,0242
Repetibilidad		Repetibilidad	
Desviación estándar	0,0721	Desviación estándar	0,0711
Incertidumbre	0,04161552	Incertidumbre	0,0410465
μ_v	0,0758	μ_{ali}	0,0519
μ_v/V	0,0007	μ_{ali}/V_{ali}	0,0010
$\mu_{Dilución}$	0,0013		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0006		

$$\mu_{IER(5 \text{ mg/L})} = 0,0041$$

4.1.2.3. Combinación de las fuentes de incertidumbre, incertidumbre estándar y expandida

Combinamos los factores de incertidumbre estándar relativa de la concentración deseada, basándonos en el siguiente modelo matemático

$$\mu_{Y_{IER(TOTAL(0,2))}} = \mu_{IER(\text{Curva de calibración})} + \mu_{IER(\text{Cada patrón})}$$

Se combinan las fuentes de incertidumbre en forma relativa cuadrática para el patrón de 0,2

$$\mu_{Y_{IER(TOTAL(0,2))}} = \sqrt{(\mu_{IER(\text{Curva de calibración})})^2 + (\mu_{IER(\text{Cada patrón})})^2}$$

$$\mu_{Y_{IER(TOTAL(0,2))}} = \sqrt{(0,1469)^2 + (0,0041)^2}$$

$$\mu_{Y_{IER(TOTAL(0,2))}} = 0,1469$$

Esta incertidumbre obtenida es relativa, (adimensional) para asignarle unidades se multiplica por la concentración.

$$\mu_Y = \mu_{Y_{IER(TOTAL(0,2))}} * \gamma = 0,0294$$

Considerando un nivel de confianza del 95% y un factor de cobertura de K=2 se tiene:

$$U_{EXP(0,2)} = \mu_Y * K = 0,0587 \text{ mg/L}$$

La tabla 31 resume los valores de incertidumbre para las concentraciones alta media y baja

Tabla 33. Resumen de incertidumbre para concentración alta media y baja de compuestos fenólicos.

	0,2 mg/L	2 mg/L	5 mg/L	Unidades
Incertidumbre estándar relativa	0,1469	0,0154	0,0084	Adimensional
Incertidumbre estándar	0,0294	0,0307	0,0168	mg/L
K	2	2	2	Adimensional
Incertidumbre expandida	0,0587	0,0614	0,0336	mg/L

4.2. Surfactantes aniónicos

La determinación de la incertidumbre de este método se realizó de la misma forma del método anterior por lo que solo se muestran los datos y los resultados obtenidos.

4.2.1. Fuentes de incertidumbre

- Incertidumbre asociada a la curva de calibración
- Incertidumbre asociada a los patrones preparados
 - Incertidumbre asociada a la preparación de la solución LAS de reserva: incluye la incertidumbre asociada a la masa molar, al volumen preparado, a la pesada del reactivo y a la pureza

- Incertidumbre asociada a cada una de las diluciones realizadas para llegar a las concentraciones de los patrones de la curva

4.2.2. Cálculo de incertidumbre

4.2.2.1. Concentración de masa (mg/L) de surfactantes aniónicos medidos en el instrumento a través de la curva de calibración $\gamma_{(x-B)}$

Concentración (mg/L)	1	2	3	Promedio
0,2	0,0870	0,1250	0,0577	0,0899
0,4	0,1437	0,1374	0,1428	0,1413
0,5	0,1693	0,1824	0,1793	0,1770
1	0,3457	0,3428	0,3519	0,3468
2	0,6785	0,6616	0,6609	0,6670

b_1	0,3246
b_0	0,0182

Tabla 34. Datos para el cálculo de incertidumbre por calibración de surfactantes aniónicos.

S	0,0078
S _{XX}	6,29
P	3
N	15
b ₁	0,3246
Y _(m-B)	0,2 - 1 - 2 mg/L
\bar{Y}_{MRC}	0,82 mg/L

La incertidumbre se calculó para los rangos alto (2 mg/L), medio (1 mg/L) y bajo (0,2 mg/L)

Tabla 35. Incertidumbre estándar por calibración de surfactantes aniónicos.

Concentración (mg/L)	0,2	1	2
μ_Y (mg/l)	0,0163	0,0153	0,0189

Tabla 36. Incertidumbre estándar relativa por calibración de surfactantes aniónicos.

Concentración (mg/L)	0,2	1	2
μ_{YER} (mg/l)	0,0816	0,0153	0,0095

4.2.2.2. Incertidumbre asociada a los patrones preparados

a) Incertidumbre debida a la pureza del reactivo

Tabla 37. Incertidumbre debida a la pureza del LAS.

Pureza	0,99
±	0,0001
Incertidumbre	5,77E-5
Incertidumbre estándar relativa	5,83E-5

b) Incertidumbre asociada a la pesada del reactivo

Tabla 38. Incertidumbre debida a la pesada del LAS.

Incertidumbre del certificado	0,033
Peso del reactivo	1000 mg
K	2
Incertidumbre	0,0165
Incertidumbre Combinada	0,0233
Incertidumbre estándar relativa	2,33E-5

c) Incertidumbre asociada a la masa molar del LAS.

Tabla 39. Incertidumbre estándar para cada elemento del LAS.

Elemento	Peso atómico	Incertidumbre citada por la IUPAC	Incertidumbre estándar
C	12,0107	$\pm 0,0008$	0,0004619
H	1,0079	$\pm 0,00007$	0,0000404
O	15,9994	$\pm 0,0003$	0,0001732
Na	22,9898	$\pm 0,000002$	0,0000012
S	32,0650	$\pm 0,005$	0,0028868

Tabla 40. Contribución a la incertidumbre de cada elemento del LAS.

Elemento	Calculo	Resultado	Incertidumbre estándar
C ₁₂	12* 12,0107	144,1284	0,0055
H ₂₅	25* 1,0079	25,1985	0,0010
O ₄	4*15,9994	63,9976	6,93E-4
Na	22,9898	22,9898	1,20E-6
S	32,0650	32,0650	0,0029
Masa molar LAS		288,3793	

Tabla 41. Incertidumbre debida a la masa molar del LAS.

Incertidumbre combinada	0,0064
Incertidumbre estándar relativa	2,2E-5

d) Incertidumbre asociada al volumen de reactivo preparado

Tabla 42. Incertidumbre asociada al volumen de LAS.

VOLUMEN	
Calibración	
Balón	1000
Tolerancia	0,6
Incertidumbre	0,2449
Temperatura	
Variación de V	0,84
Incertidumbre	0,4850
Repetibilidad	
Desviación estándar	0,4115
Incertidumbre	0,2376
Incertidumbre combinada	0,5930
Incertidumbre ER	0,0006

La incertidumbre combinada estándar relativa para la preparación del reactivo de reserva preparado de 1000 mg/l está dada por

$$\mu_{IER(LAS\ Reserva)}$$

$$= \left(\sqrt{(\mu_{IER(Volumen)})^2 + (\mu_{IER(masa\ molar-LAS)})^2 + (\mu_{IER(P)})^2 + (\mu_{IER(mLAS)})^2} \right)$$

$$\mu_{IER(LAS Resera)} = \left(\sqrt{(0,0006)^2 + (2,2E - 5)^2 + (0,0006)^2 + (2,33 \times 10^{-5})^2} \right)$$

$$\mu_{IER(LAS Resera)} = (0,0006)$$

$$\mu_{LAS de reserva} = (0,0006) * C_0$$

$$\mu_{LAS de reserva} = (0,0006) * 1000$$

$$\mu_{LAS de reserva} = 0,5841$$

e) Incertidumbre asociada a las diluciones

Las diluciones realizadas para obtener las concentraciones de los patrones de 0,2, 1 y 2 mg/L fueron las siguientes:

Dilución 1: patrón de 1000 a 100 mg/L

Dilución 2: patrón de 100 a 10 mg/L

Dilución 3: patrón de 10 a 2 mg/L

Dilución 4: patrón de 10 a 1 mg/L

Dilución 5: patrón de 1 a 0,2 mg/L

Las diluciones 1 y 2 se realizaron de la misma forma: tomando alícuotas de 10 mL con pipetas volumétricas de $\pm 0,02$ y llevando a un volumen final de 100 mL en un matraz de $\pm 0,1$.

Las diluciones 3 y 5 se realizaron tomando alícuotas de 5 mL con pipetas volumétrica $\pm 0,015$ y llevando a un volumen final de 25 en un matraz de $\pm 0,04$

La dilución 4 se realizó tomando alícuotas de 2,5 mL con una pipeta Eppendorf de $\pm 0,03$ y llevando a un volumen final de 25 ml en un matraz de 0,04

Para preparar el patrón de 0,2 mg/L de la curva de calibración se realizaron las diluciones 1, 2, 4 y 5.

Tabla 43. Datos de incertidumbre para la dilución 1 y 2 de LAS.

Diluciones 1, y 2			
V	100	V _{ali}	10
Calibración		Calibración	
Balón	100	Pipeta	10
Tolerancia	0,1	Tolerancia	0,02
Incertidumbre	0,0408	Incertidumbre	0,0082
Temperatura		Temperatura	
Variación de V	0,084	Variación de V	0,0084
Incertidumbre	0,0485	Incertidumbre	0,0048
Repetibilidad		Repetibilidad	
Desviación estándar	0,0721	Desviación estándar	0,0092
Incertidumbre	0,0416	Incertidumbre	0,0053
μ_v	0,0758	μ_{ali}	0,0109
μ_v/V	0,0007	μ_{ali}/V_{ali}	0,0011
$\mu_{Dilución}$	0,0013		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0001		

Tabla 44. Datos de incertidumbre para la dilución 4 de LAS.

Dilución 4			
V	25	Vali	2,5
Calibración		Calibración	
Balón	25	Pipeta	2,5
Tolerancia	0,04	Tolerancia	0,03
Incertidumbre	0,0163	Incertidumbre	0,0122
Temperatura			
Variación de V	0,021		
Incertidumbre	0,0121		
Repetibilidad		Repetibilidad	
desviación estándar	0,0379	desviación estándar	0,0026
Incertidumbre	0,0219	Incertidumbre	0,0015
μ_v	0,0299	μ_{ali}	0,0123
μ_v/V	0,0012	μ_{ali}/V_{ali}	0,0049
$\mu_{Dilución}$	0,0051		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0005		

Tabla 45. Datos de incertidumbre para la dilución 5 de LAS.

Dilución 3 y 5			
V	25	Vali	5
Calibración		Calibración	
Balón	25	Pipeta	5
Tolerancia	0,04	Tolerancia	0,015
Incertidumbre	0,0163	Incertidumbre	0,0061
Temperatura		Temperatura	
Variación de V	0,021	Variación de V	0,0042
Incertidumbre	0,0121	Incertidumbre	0,0024
Repetibilidad		Repetibilidad	
Desviación estándar	0,0379	Desviación estándar	0,0036
Incertidumbre	0,0219	Incertidumbre	0,0020
μ_v	0,0298	μ_{ali}	0,0065
μ_v/V	0,0012	μ_{ali}/V_{ali}	0,0013
$\mu_{Dilución}$	0,0017		
$\mu_{Dilución}/F$	0,0002		

Tabla 46. Incertidumbre por dilución patrón 0,2

	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 4	Dilución 5
Incertidumbre de la dilución	0,0013	0,0013	0,0005	0,0017
Factor de dilución	10	10	10	5
Incertidumbre Patrón 0,2	0,0026			

Para preparar el patrón de 1 mg/L de la curva de calibración se realizaron las diluciones 1, 2 y 4

Para llegar a la concentración del patrón de 1 mg/L se realizaron las diluciones 1, 2 y 4 obteniéndose una incertidumbre de:

Incertidumbre Patrón 1 mg/L = 0,0008

Diluciones para preparar el patrón de 2

Para llegar a la concentración del patrón de 2 mg/L se realizaron las diluciones 1, 2 y 3 la siguiente

Obteniéndose una incertidumbre de: 0,0006

4.2.2.3. Combinación de las fuentes de incertidumbre, incertidumbre estándar y expandida

Tabla 47. Resumen de incertidumbres para concentración alta media y baja de LAS

	0,2 mg/L	1 mg/L	2 mg/L	Unidades
Incertidumbre estándar relativa	0,0816	0,0153	0,0095	Adimensional
Incertidumbre estándar	0,0163	0,0153	0,0190	mg/L
K	2	2	2	Adimensional
Incertidumbre expandida	0,0327	0,0306	0,0380	mg/L

2.

CONCLUSIONES

Para los métodos de determinación de fenoles y surfactantes aniónicos cuyos coeficientes de correlación fueron muy cercanos a 1 $r=0,9996$ y $r=0,9995$, respectivamente la curva de calibración obtenida se estableció como modelo para hallar la concentración de las muestras que se analizan en el laboratorio. En estos métodos es indispensable preparar un blanco de reactivos por cada lote de muestras que se vayan a analizar, con el fin de hallar la concentración verdadera debido a que aún una muestra de agua destilada sin analito desarrolla una coloración.

Para el método de los surfactantes aniónicos que fue modificado reduciendo los volúmenes de muestra y de reactivo a un cuarto de los volúmenes originales se pudo ver que igualmente muestra buenas condiciones de linealidad, LoQ, Precisión y recuperación. Indicando que el método es funcional, y con esto se cumple con uno de los propósitos del laboratorio que bajo el concepto de química verde, busca minimizar el uso de reactivos altamente tóxicos como lo es el cloroformo.

Por medio de los límites de detección y cuantificación se puede establecer que entre estos límites no se puede obtener una concentración cuantificable, es decir que este rango es cualitativo.

La estimación de la incertidumbre encontrada para los métodos estandarizados es baja, lo que permite entregar resultados confiables.

El uso de cartas de control, es una buena práctica, ya que permite ver el comportamiento de los datos en función del tiempo, controlar el funcionamiento y realizar un seguimiento de los procesos analíticos. También permite la implementación de acciones correctivas en el momento en que los datos cambien su comportamiento o se presente un dato anómalo.

RECOMENDACIONES

Antes de iniciar la estandarización de los métodos analíticos, es de gran importancia establecer cuáles son las etapas críticas de los procedimientos, para así conocer Cuale son los pasos que influyen en gran medida al cálculo de la incertidumbre, con el fin de minimizar estos efectos mediante la proposición de soluciones o medidas preventivas. Lo que favorece y proporciona al analista adquirir un pensamiento crítico constructivo que aporte al crecimiento del laboratorio.

En la estandarización de los métodos analíticos es necesario contar con materiales de primera calidad, como material volumétrico clase A, equipos calibrados y reactivos grado analítico.

En cuanto al personal encargado de llevar a cabo los procedimientos, este debería recibir un corto entrenamiento previo, en el cual se le suministre información suficiente sobre el funcionamiento de los equipos y la aplicación del método en general

Para el método determinación de compuestos fenólicos es importante realizar una buena agitación al agregar los reactivos 4-aminoantipirina y hexacianoferrato de potasio y respetar el tiempo para la lectura de las muestras.

Para el método de determinación de surfactantes aniónicos es importante evitar cualquier tipo de goteo del embudo de decantación, antes de iniciar la extracción revisar el estado de las llaves para evitar fugas.

Al trabajar con el cloroformo tomar todas las medidas de seguridad recomendadas para la manipulación de este compuesto ya que es altamente toxico

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía Referenciada

1. VALVERDE, TERESA; MEAE, JORGE E.; CARABIAS, JULIA Y CANO-SANTANA, ZENÓN: Ecología y medio ambiente. Ed GUILLERMO TRUJANO MENDOZA. Pearson educación, Mexico. 2005, cap. 7.
2. ANTON, Danilo J. Diversidad, globalización y la sabiduría de la naturaleza, Montevideo, Piriguazú Ediciones/CIID, 1999.
3. MACARULLA-GOÑI, Bioquímica Humana, Ed REVERTÉ, S.A., Loreto, 13-15. Barcelona. 1994.
4. XAVIER DOMÉNECH, JOSÉ PERAL, Química Ambiental de Sistemas Terrestres, Ed REVERTÉ, S.A., Loreto Barcelona, 2006.
5. RAFAEL MARÍN GALVÍN, Físicoquímica y microbiología de los medios acuáticos tratamiento y control de calidad de aguas, Ed DÍAZ de SANTOS, S.A, Madrid, 2003.
6. RUBENS SETTE RAMALO, Tratamiento de aguas residuales, 2003.
7. Water Quality for Ecosystems and Human Health. 2ª edición. PNUMA, ERCE, UNESCO. 2008
8. LUÍS FERNANDO CASTRO HERNÁNDEZ, Guía metodológica para el establecimiento de objetivos de calidad de los cuerpos de agua en ausencia de los planes de ordenamiento del recurso hídrico – PORH Metodología MESOCA, Bogotá 2006.
9. Brewster, R. Q.; McEwen, W.E. 1966 Química Orgánica. Edición Revolucionaria (Cuarta Edición 1963).

10. Primo Yufera, E; Carrascón Dorrien, J.M. Química Agrícola II, Editorial Alhambra 1980.
11. <http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch10.pdf>
12. MEMORIA Curso internacional sobre tecnología de aplicación de agroquímicos, Ed. Alabí Armando, Gálvez Cecilia, 1985.
13. LOUIS SALAGER JEAN, FERNANDEZ ALVARO, Surfactantes I.generalidades II. Materios primas. Mérida-Venezuela. 2004.
14. MARÍN GALVÍN RAFAEL, Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos tratamiento y control de calidad de aguas, Ed DIAZ DE SANTOS, S.A. 2003.
15. EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to method Validation and Related Topics. First English Edition. 1998.
16. Instituto de Hidrológica, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. Protocolo- estandarización de métodos analíticos.
17. ISO 11843-1:1997. Capability of detection – Part 1 Terms and definitions.
18. DOUGLAS A. SKOOG, Principios de análisis instrumental, Ed. SERGIO CERVANTES GONZÁLES, Abril 2008.

Bibliografía no referenciada

Evaluation of mensurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement, JCGM 100:2008.

CENAM, Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de astrofotometría de ultravioleta-visible. México, mayo de 2004.

Eurachem / CITAC Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third Edition. 2012.

Angel de J, Morales-Ramirez, Elias Rangel-Salinas, Adan Ramirez-Lopez, Hector j. Dorantes-Rosales. Metodología para el cálculo de la incertidumbre en la determinación de cobre por espectroscopia de absorción atómica. Octubre/Diciembre 2012.

ANEXOS

ANEXOS A. Incertidumbre estándar de los pesos atómicos

