

**ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN
DE HIERRO TOTAL, HIERRO DISUELTO Y HIERRO FERROSO EN AGUA
NATURAL, POTABLE Y RESIDUAL (DOMÉSTICAS Y NO DOMÉSTICAS) EN
EL LABORATORIO DEL CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES
AMBIENTALES (CEIAM)**

DANIELA BÁEZ HERNÁNDEZ

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2017

**ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN
DE HIERRO TOTAL, HIERRO DISUELTO Y HIERRO FERROSO EN AGUA
NATURAL, POTABLE Y RESIDUAL (DOMÉSTICAS Y NO DOMÉSTICAS) EN
EL LABORATORIO DEL CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES
AMBIENTALES (CEIAM)**

DANIELA BÁEZ HERNÁNDEZ

Código: 2111842

Tesis De Proyecto De Grado

Directora:

MARIANNY YAJAIRA COMBARIZA MONTAÑEZ

Química, Ph. D

Codirectora:

YANETH QUINTERO LÓPEZ

M. Sc. Química Ambiental

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2017

Agradecimientos

A Dios por darme la sabiduría y fortaleza durante todo el proceso de aprendizaje, por guiarme hacia personas dispuestas a ayudar y a compartir los conocimientos que me permiten alcanzar este logro.

A mis padres Orlando y María que lo hicieron posible.

A mi hermana por ser el mejor ejemplo de mujer y profesional.

A la Universidad Industrial de Santander.

Al laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM) por los recursos disponibles para realizar el proyecto.

A la Dra. Marianny Yajaira Combariza Montañez por su completa dedicación, entrega y orientación.

A la M.Sc. Yaneth Quintero López, Espec. Patricia Pico Díaz y Qco. Diego López Arroyo por la colaboración diaria en el laboratorio.

A Jesús Alberto Zambrano Rodríguez, Erika Y. Tarazona, Mauricio Valencia U. y a Tania Ceballos Toscano por hacer mis días más alegres ♥

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	22
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
2. JUSTIFICACIÓN	28
3. MARCO TEÓRICO	30
3.1. CONTAMINACIÓN DEL AGUA	30
3.2. HIERRO	31
3.3. ANTECEDENTES	37
4. OBJETIVOS	42
4.1. GENERAL:	42
4.2. ESPECÍFICOS	42

5.	DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	44
5.1.	EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	44
5.1.1.	Equipos y materiales del laboratorio	44
5.1.2.	Lavado del material de vidrio	44
5.1.3.	Reactivos.....	44
5.1.4.	Soluciones preparadas de reactivos	45
5.1.5.	Disposición final de residuos	45
5.2.	TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO	45
5.2.1.	Hierro total/disuelto.....	46
5.2.2.	Hierro ferroso	46
5.3.	ESTADO DE LAS MUESTRAS	46
5.4.	VERIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS	47
5.4.1.	Determinación de hierro total.....	47

5.4.2.	Determinación de hierro disuelto	47
5.4.3.	Determinación de hierro ferroso	48
5.5.	METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO TOTAL, DISUELTO Y FERROSO EN AGUAS POTABLES, NATURALES Y RESIDUALES (NO DOMÉSTICAS)	48
5.5.1.	Análisis instrumental.....	49
5.5.2.	Verificación de las variables literarias	50
5.5.2.2.	Tiempo de lectura.....	51
5.5.3.	Determinación de las cifras analíticas de mérito	51
5.5.3.1.	Rango.....	51
5.5.3.2.	Linealidad	52
5.5.3.3.	LDM.....	52
5.5.3.4.	LCM.....	52
5.5.3.5.	Precisión.....	53
5.5.3.5.1.	Precisión del sistema instrumental.....	53

5.5.3.5.2.	Precisión del método	53
5.5.3.6.	Gráficos de control	54
5.5.3.7.	Exactitud.....	54
5.5.3.8.	Estimación de la incertidumbre.....	55
5.5.3.8.1.	Especificación	56
5.5.3.8.2.	Identificación	56
5.5.3.8.3.	Cuantificación.....	57
5.5.3.8.4.	Combinación	57
6.	ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO TOTAL.....	58
6.1.	VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS	58
6.2.	DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO.....	59
6.3.	ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	63

7. ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO DISUELTO	65
7.1. VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS	65
7.2. DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO	66
7.3. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	70
8. ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO FERROSO.....	72
8.1. VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS	72
8.2. DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO	74
8.3. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	78
9. CONCLUSIONES.....	79
10. RECOMENDACIONES.....	82
BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXOS	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama general de la metodología empleada durante el desarrollo y estandarización de los métodos espectrofotométricos.	49
Figura 2. Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300.	50
Figura 3. Metodología para calcular la incertidumbre.	56
Figura 4. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro total (0,2 mg/L).	58
Figura 5. Curva de calibración promedio para el método hierro total.....	60
Figura 6. Gráfico de control para el método hierro total (0,5 mg/L).....	62
Figura 7. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro disuelto (0,2 mg/L).	65
Figura 8. Curva de calibración promedio para el método hierro disuelto.	67
Figura 9. Gráfico de control para el método hierro disuelto (0,5 mg/L).	69
Figura 10. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro ferroso (0,2 mg/L).	72
Figura 11. Curva de calibración para el método hierro ferroso.	75
Figura 12. Gráfico de control del método hierro ferroso (0,5 mg/L).	76

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro total.	59
Tabla 2. Evaluación del intervalo de respuesta lineal del método hierro total.....	60
Tabla 3. Evaluación de la exactitud para el método hierro total.....	63
Tabla 4. Incertidumbre expandida del método hierro total.....	64
Tabla 5. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro disuelto.....	66
Tabla 6. Evaluación del intervalo de respuesta lineal del método hierro disuelto. .	67
Tabla 7. Evaluación de la exactitud para el método hierro disuelto.	70
Tabla 8. Incertidumbre expandida del método hierro disuelto.	71
Tabla 9. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro ferroso.	73
Tabla 10. Evaluación del intervalo de respuesta lineal del método hierro ferroso. .	74
Tabla 11. Evaluación de la exactitud para el método hierro ferroso.	77
Tabla 12. Incertidumbre expandida del método hierro ferroso.....	78

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Lavado del material de vidrio.	90
Anexo 2. Soluciones preparadas de reactivos.	91
Anexo 3. Determinación de la linealidad.	91
Anexo 4. Determinación del coeficiente de variación.	92
Anexo 5. Determinación del límite de detección del método.	93
Anexo 6. Determinación del límite de cuantificación del método.	93
Anexo 7. Evaluación de los gráficos de control.	93
Anexo 8. Evaluación de la exactitud.	94
Anexo 9. Estimación de las posibles fuentes de incertidumbre.	95
Anexo 10. Estimación de la incertidumbre combinada/expandida.	97
Anexo 11. Curvas de calibración para el método hierro total.	98
Anexo 12. Evaluación de la linealidad y sensibilidad para el método hierro total.	99
Anexo 13. Blancos de reactivo para el método hierro total.	100

Anexo 14. Precisión del sistema instrumental para el método hierro total.....	100
Anexo 15. Valores de gráfico de control para el método hierro total.....	101
Anexo 16. Precisión de método y exactitud para el método hierro total.	101
Anexo 17. Incertidumbre por repetibilidad para el método hierro total.....	103
Anexo 18. Incertidumbre por curva de calibración para el método hierro total. ...	103
Anexo 19. Incertidumbre por material certificado para el método hierro total.	103
Anexo 20. Curvas de calibración para el método hierro disuelto.	104
Anexo 21. Evaluación de la linealidad y sensibilidad para el método hierro disuelto.	105
Anexo 22. Blancos de reactivo para el método hierro disuelto.	106
Anexo 23. Precisión del sistema para el método hierro disuelto.....	106
Anexo 24. Valores de gráfico de control para el método hierro disuelto.	107
Anexo 25. Precisión de método y exactitud para el método hierro disuelto.	107
Anexo 26. Incertidumbre por repetibilidad para el método hierro disuelto.	109
Anexo 27. Incertidumbre por curva de calibración para el método hierro disuelto.	109

Anexo 28. Incertidumbre por material de referencia para el método hierro disuelto.	110
Anexo 29. Curvas de calibración para el método hierro ferroso.	110
Anexo 30. Evaluación de la linealidad y sensibilidad del método hierro ferroso. .	111
Anexo 31. Blancos de reactivo para el método hierro ferroso.	112
Anexo 32. Precisión del sistema instrumental para el método hierro ferroso.	112
Anexo 33. Valores de gráfico de control para el método hierro ferroso.	113
Anexo 34. Precisión de método y exactitud para el método hierro ferroso.	113
Anexo 35. Incertidumbre por repetibilidad para el método hierro ferroso.	115
Anexo 36. Incertidumbre por curva de calibración para el método hierro ferroso.	115
Anexo 37. Incertidumbre por material de referencia para el método hierro ferroso.	115

ABREVIATURAS

a	Pendiente
b	Intercepto
CEIAM	Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales
CV	Coeficiente de variación
DPPS	4,7-difenyl- 1,10-fenantrolinadisulfonada
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
IDEAM	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
ISO	Organización Internacional de Normalización
k	Factor de cobertura (k=2; 95% confianza)
LDM	Límite de detección del método
LCM	Límite de cuantificación del método
LAS	Límite de aviso superior

LAI	Límite de aviso inferior
LCS	Límite de control superior
LCI	Límite de control inferior
min	Minuto
MRC	Material de referencia certificado
Ph	Molécula de fenantrolina
PhH ⁺	Ion fenantrolina
ppm	Partes por millón
%R	Porcentaje de recuperación
r	Coefficiente de correlación
r ²	Coefficiente de determinación
s	Desviación estándar
U	Incertidumbre expandida
UV-Vis	Ultravioleta Visible

RESUMEN

TÍTULO: ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL, HIERRO DISUELTO Y HIERRO FERROSO EN AGUA NATURAL, POTABLE Y RESIDUAL (DOMÉSTICA Y NO DOMÉSTICA) EN EL LABORATORIO DEL CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES (CEIAM)*

AUTOR: DANIELA BÁEZ HERNÁNDEZ**

PALABRAS CLAVE: Hierro Total, Hierro Disuelto, Hierro Ferroso, CEIAM.

DESCRIPCIÓN:

Evaluar la calidad del agua representa un tema de interés global. La determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso utilizando una metodología analítica basada en colorimetría por medio de espectroscopia de absorción molecular UV-Vis, indica el grado de afectación del líquido por la presencia del metal. Cuando hay presencia de contaminantes en concentraciones superiores a las máximas establecidas por las leyes colombianas (Resolución 2115 del 2007 de Ministerio de la Protección Social-Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial), los procesos químicos y biológicos del agua y del medio ambiente se ven afectados negativamente. Por lo tanto, resulta necesario ejecutar procesos de estandarización y acreditación de diversos métodos analíticos para la medición de hierro en agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) por técnicas establecidas.

Siguiendo el Método de la Fenantrolina presentado en el libro *Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater* y la Norma Técnica Colombiana NTC-ISO/IEC 17025 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios

de ensayo y calibración”; se desarrolló la estandarización de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso bajo las condiciones ambientales del laboratorio de Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM), con el fin de establecer criterios de calidad que aseguren resultados confiables. Cada uno de los procedimientos encontrados en la literatura, fueron corroborados en la práctica y analizados estadísticamente para asegurar la precisión y exactitud requerida.

* Trabajo de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química.

Directora: Marianny Yajaira Combariza Montañez. Codirectora: Yaneth Quintero López.

ABSTRACT

TITLE: STANDARDIZATION OF ANALYTICAL METHODS FOR THE DETERMINATION OF TOTAL IRON, DISSOLVED IRON AND FERROUS IRON IN NATURAL, POTABLE AND RESIDUAL WATER (DOMESTIC AND NON-DOMESTIC) ON THE LABORATORY OF CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES (CEIAM)*

AUTHOR: DANIELA BÁEZ HERNÁNDEZ**

KEYWORDS: Total Iron, Dissolved Iron, Ferrous Iron, CEIAM.

DESCRIPTION:

Water quality assessing is a global concern issue. The determination of total, dissolved and ferrous iron using an analytical methodology based on colorimetry through ultraviolet-visible molecular absorption spectroscopy, indicates the liquid level of affectation by the metal presence. When pollutants are present at concentrations higher than the maximum levels established by colombian law (Resolution 2115 of 2007 of Ministry of Social Protection-Ministry of Environment, Housing and Territorial Development) the chemical and biological processes of both, water and the environment are adversely affected. Therefore, it gets necessary to carry out standardization and accreditation processes of analytical methods in order to quantifying the iron in natural, potable and residual water (domestic and non-domestic) by established techniques.

Following the Phenantroline Method presented by the book *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* and the Colombian Technical Standard: NTC-ISO/IEC 17025 "General requirements for the competence of the test and

calibration laboratories"; the total iron, dissolved iron and ferrous iron standardization were developed under the Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM) environmental conditions, in order to establish quality criteria to ensure reliable results. Each of the procedures found in the literature, were corroborated in practice and statistically analyzed to ensure the accuracy required.

* Bachelor Thesis.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química.

Directora: Marianny Yajaira Combariza Montañez. Codirectora: Yaneth Quintero López.

INTRODUCCIÓN

El principal componente de la biosfera es el agua, el cual es un compuesto con características únicas y de gran importancia para la vida en el planeta. A lo largo de la historia, la contaminación y el manejo inadecuado de los residuos peligrosos, ha traído efectos negativos sobre los recursos hídricos y en consecuencia sobre el medio ambiente y la salud de los seres vivos. La contaminación del agua es un problema a nivel mundial que requiere atención inmediata con el fin de adoptar medidas que conduzcan a su protección y manejo racional.¹

Innumerables estrategias técnico-científicas se han desarrollado para mejorar las condiciones de las aguas contaminadas; la implementación y estandarización de técnicas analíticas, utilizando procedimientos y estrategias universales, han permitido determinar la calidad del líquido y, por consiguiente, los usos o tratamientos que deben ser aplicados para mejorarlo. Es por esto que el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM), se encuentra en proceso de estandarización y acreditación de los parámetros: hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en agua natural, potable y residual (domésticas y no domésticas), con base en los métodos establecidos por el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* y bajo la Norma ISO/NTC 17025 “Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración”.

¹ BAHAMÓN LEAL, Karol Vanessa. Estandarización de tres métodos de análisis para la determinación de nitrógeno amoniacal, acidez y flotantes utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales, potables y residuales industriales. Bucaramanga, 2014, 19-20p. Pasantía de investigación. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

Es de suma importancia reconocer el valor de los procesos de estandarización como métodos eficaces para evaluar la calidad del agua. Estos procesos ofrecen ventajas entre las que se encuentran: La observación de los cambios temporales detallados y la determinación precisa de un contaminante específico. Sin embargo, también poseen desventajas como la posible contaminación de las muestras, la falta de integración temporal y los costos elevados de los análisis.² El objetivo principal de la acreditación de parámetros analíticos, está en ampliar el portafolio de servicios del laboratorio y responder a las necesidades de los clientes. El proceso de acreditación de mediciones analíticas en aguas requiere de la validación de parámetros experimentales, equipos e interferencias en las mediciones.

En este estudio se reporta el proceso de estandarización de las técnicas analíticas de medición en los parámetros: Hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) mediante colorimetría por absorción molecular UV-Vis y bajo las condiciones del laboratorio CEIAM. El propósito de estandarizar es certificar el adecuado desarrollo en los ensayos y asegurar, por ende, la calidad de los resultados obtenidos.

² ROLDÁN PÉREZ, Gabriel. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia: Introducción. 1 Ed. Medellín: 2003. xv-xvip.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Raquel Santos, directiva europea de IPPC (Intergovernmental Panel on Climate Change) afirmó en el año 2002 que: *“Para proteger el medio ambiente de la contaminación que genera la actividad industrial hay que controlar las emisiones de las industrias, pero para ello es necesario conocer primero, y entre otras cosas, cómo y cuánto contaminan”*.³

El aumento rápido y acelerado de las industrias en el mundo ha deteriorado el medio ambiente a través de la emisión y disposición inadecuada de efluentes provenientes de las diversas actividades productivas que se realizan. Como consecuencia los recursos naturales han venido sufriendo un fuerte proceso de degradación. Algunos de los impactos más relevantes se encuentran principalmente en los recursos hídricos tales como ríos, quebradas, esteros, mantos acuíferos, arrecifes coralinos, además de la flora y fauna, el suelo y el aire.⁴ Conocer y cuantificar la presencia de contaminantes en los compartimientos ambientales y establecer sus efectos, resulta fundamental para la toma de decisiones, particularmente en el ámbito regulatorio.⁵

³ CALPE SANTOS, Raquel. Cómo y cuánto contamina la industria. En: *Ambienta* (2002); p.31.

⁴ MOLINA GUEVARA, Silvia Juliana. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitritos, compuestos fenólicos y, aceites y grasas utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Bucaramanga, 2010, 25p. Pasantía de investigación. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias.

⁵ GÓMEZ PEREIRA, July Paola. Estandarización de cuatro métodos de análisis para la determinación de la alcalinidad total, dureza total, dureza cálcica y cloruros utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales, potables y residuales industriales. Bucaramanga, 2013, 26-28p.

Existen muchas sustancias, de variada naturaleza química, que pueden impactar negativamente las fuentes de agua dulce. Los metales de transición, en particular el hierro, se pueden convertir en un contaminante que afecta no solo la calidad de las aguas naturales sino también la biota que depende de ellas para su supervivencia. La importancia del hierro radica principalmente en que es el cuarto elemento más abundante sobre la corteza terrestre; se halla en casi todas las rocas aportando coloraciones características (colores ocres a rojos oscuros) dependiendo del mineral. En condiciones reductoras, como en el caso de la cerámica arqueológica, el hierro da colores entre gris y negro.

Cuando el hierro se encuentra presente en aguas naturales puede causar problemas en los sistemas de suministro de agua debido a que, en ocasiones, proporciona características organolépticas indeseables (mal sabor, olor y color) en el agua para el consumo humano. El hierro en aguas también causa manchas rojizas-cafés⁶ en las prendas, porcelana, platos, utensilios, concreto, entre otros. Por otro lado, también se puede acumular en los tubos de cañerías, tanques de presión y calentadores de agua, restringiendo de esta manera el flujo de agua y disminuyendo su presión; si esto último sucede se necesita de más energía para bombear el agua, por lo que aumentan los costos en los servicios de los hogares.

El hierro puede estar en el agua, ya sea debido a su abundancia en la superficie terrestre o porque se encuentre presente en desechos industriales. Independientemente de su origen, es necesario determinar su concentración en

⁶ DÍAZ DE SANTOS. Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales: 3500- Fe D. Método de la Fenantrolina. 17th Ed. 1992; 3-115 – 3-120p.

aguas potables, naturales y residuales (domésticas y no domésticas) y establecer los niveles indeseables del metal. Analíticamente los siguientes parámetros para medir hierro son los más conocidos y se encuentran incluidos en la legislación ambiental sobre la calidad de las aguas alrededor del mundo:

- Hierro total
- Hierro disuelto
- Hierro ferroso

Existe una gran variedad de métodos para el análisis cuantitativo de metales que se han ido desarrollando a través de los años. Los métodos colorimétricos son ampliamente conocidos y utilizados debido a que es posible crear soluciones coloreadas por medio de la adición de agentes formadores de complejos, que pueden a su vez, ser analizados con la ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis. La sencillez y precisión aceptable de estas técnicas son sus mayores ventajas a la hora de analizar aguas; con instrumentación moderna y un adecuado calibrado, los errores globales en la aplicación se mantienen en intervalos del $\pm 1-2\%$.⁷

Para cuantificar este analito, es preciso realizar una estandarización robusta del método de medición que les asegure a los clientes y a los organismos de control, resultados transparentes a través de procedimientos documentados y confiables. Con el fin de garantizar este proceso, resulta necesario implementar una serie de actividades sistemáticas y planificadas que involucren la validación de parámetros analíticos y demostrar experimentalmente las cifras analíticas de mérito como:

⁷ PICKERING, W.F. Química analítica moderna: Medición de la absorbancia, 1980. 171p.

El intervalo de respuesta lineal, linealidad, sensibilidad, límites de detección, límites de cuantificación, precisión, exactitud e incertidumbre, tal y como se indica en la Norma NTC-ISO/IEC 17025:2005 (Norma Técnica Colombiana). El CEIAM tiene la capacidad de validar métodos bajo las condiciones del laboratorio, demostrando que los procesos bien ejecutados pueden producir resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos analíticos requeridos por el método.

2. JUSTIFICACIÓN

Los principales problemas medioambientales asociados con la contaminación en los ecosistemas acuáticos han causado efectos perjudiciales sobre la salud humana. El uso de criterios analíticos para evaluar la calidad del agua resulta fundamental para prevenir consecuencias dramáticas sobre el bienestar de las personas, además de proteger la biota silvestre y permitir que tanto los procesos de industrialización como los agrícolas a nivel mundial, continúen en constante desarrollo. Determinar la concentración de un metal en agua, puede prevenir serios problemas de salud en áreas donde los recursos hídricos son escasos.⁸

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con la calidad adecuada es esencial para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales e intoxicación por ingesta de contaminantes. Por esta razón, es necesario desarrollar, estandarizar y acreditar metodologías analíticas que permitan determinar la presencia y cantidad de contaminantes en agua. De esta manera los entes gubernamentales pueden establecer límites permisibles de sustancias en agua, mediante leyes y decretos, y con base en estos límites, determinar la calidad del líquido y reglamentar sus usos o los tratamientos a los que debe someterse.⁹

⁸ CAMARGO, J.A.; ALONSO, A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. En: Revista científica de ecología y medio ambiente. (May.2007); p. 98.

⁹ PACHECO ÁVILA, Julia; CABRERA SANSORES, Armando y PÉREZ CEBALLOS, Rosela. Diagnóstico de la calidad del agua subterránea en los sistemas municipales de abastecimiento en el Estado de Yucatán, México. En: Ingeniería. (2004); p. 167.

Mediante el procedimiento, se genera un amplio conocimiento sobre la estandarización de métodos, debido a que se organizan los datos experimentales, se analizan estadísticamente y se establecen parámetros analíticos de calidad que permiten unificar criterios a nivel internacional con el fin de intercambiar información. La acreditación del laboratorio garantiza la calidad, confiabilidad y confidencialidad de los resultados y el adecuado funcionamiento de los métodos.

Durante el año 2017 se planea realizar el proceso de estandarización de métodos analíticos para la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en aguas naturales, potables y residuales industriales en el laboratorio CEIAM como parte del programa de nuevos análisis para el proceso de acreditación ante el IDEAM. Durante el desarrollo del proceso se establecen: Blancos del método, LDM, LCM, gráficos de control (para observar el comportamiento de los datos en función del tiempo) y estimación de la incertidumbre para identificar las posibles fuentes que tienen mayor influencia sobre el resultado final.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. CONTAMINACIÓN DEL AGUA

El constante deterioro de los recursos hídricos es considerado el problema ambiental más grande a nivel mundial; la vulnerabilidad de este recurso radica en su capacidad para disolver y transportar contaminantes. Estas sustancias llegan a los cuerpos de agua por diversas vías (atmósfera y suelo), alterando la composición química del líquido y generando procesos de contaminación. Este fenómeno ocurre a nivel global, y para su control los gobiernos emiten reglamentación orientada al buen uso y protección del recurso. En Colombia existen numerosos decretos y leyes que tienen como fin el cuidado y la protección del medio ambiente, por ejemplo:

Según el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente, Artículo 4º- *“Se entiende por contaminación la alteración del medio ambiente por sustancias o formas de energía puestas allí por actividad humana o de la naturaleza en cantidades, concentraciones o niveles capaces de interferir con el bienestar y la salud de las personas, atentar contra la flora y fauna, degradar la calidad del medio ambiente o afectar recursos de la Nación o de particulares”*.¹⁰

El Decreto 4741 del 2005, Artículo 3º- define como residuo o desecho peligroso a *“aquel que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas,*

¹⁰ CÓDIGO NACIONAL DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES Y DE PROTECCIÓN AL MEDIO AMBIENTE. {En línea}. {9 octubre de 2017}. Disponible en: (<http://www.eird.org/cdfororegional/pdf/spa/doc1535/doc1535-1.pdf>).

inflamables, infecciosas o radiactivas puede causar riesgo o daño para la salud humana y el ambiente". El Decreto presenta la problemática que se ha provocado a causa del inadecuado manejo y disposición de los residuos, así mismo los reconoce e identifica según su composición y características.¹¹

La Resolución 2115 del 2007 define valor aceptable de un contaminante como *"el establecido para la concentración o sustancia, garantiza que el agua para consumo humano no representa riesgos conocidos a la salud pública"*. Particularmente, en el Artículo 7º- de esta Resolución (Cuadro N° 4. Características químicas que tienen consecuencias económicas e indirectas sobre la salud humana), se encuentra en 0,3 mg/L el valor máximo aceptable para hierro total, expresado como Fe.¹²

3.2. HIERRO

El hierro es un elemento químico de número atómico 26, se encuentra situado en el grupo 8, periodo 4 de la tabla periódica, su símbolo es Fe y su masa atómica es de 55,847 u. Es el cuarto elemento más abundante sobre la corteza terrestre (6,22%); en suelos su concentración varía entre 0,5 a 4,3%; en aguas superficiales en

¹¹ ARDILA ANTONILES, Jhon Alexander y LÓPEZ ARROYO, Diego Andrés. Implementación y estandarización de los métodos para evaluar las características corrosivas e inflamables de residuos químicos peligrosos en el laboratorio del centro de estudios e investigaciones ambientales (CEIAM) de la Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, 2012, 19p. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

¹² MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. RESOLUCIÓN NÚMERO 2115. 2007.

promedio se encuentra sobre 0,7 mg/L y en aguas subterráneas de 0,1 a 10 mg/L; en forma se puede encontrar generalmente en rocas y minerales como Fe^{+2} y Fe^{+3} .¹³

El hierro juega un papel esencial en la fotosíntesis y actúa como un nutriente de crecimiento para el fitoplancton en algunas regiones del mar abierto como el Océano Pacífico, en donde recientemente se fertilizó una pequeña parte con Fe^{+3} y se observó un aumento en el crecimiento del mismo.¹⁴ También ejecuta un rol importante en la biosfera al comportarse como centro activo de una amplia variedad de enzimas como las oxidasas y reductasas.

La determinación del estado de oxidación del hierro en muestras de agua natural (mar, lagos, ríos y agua atmosférica) se logra por la formación de complejos a través de agentes quelantes específicos, seguido de la medición de las absorbancias con la ayuda de un espectrofotómetro. Existen equipos hechos para campo que permiten realizar mediciones *in situ* con el fin de determinar la concentración de Fe^{+2} y Fe^{+3} en el analito de interés. Cuando se utiliza un agente quelante para la determinación de los estados de oxidación de un metal, se deben tener en cuenta los cambios en el potencial redox entre los diferentes estados de oxidación.¹⁵

¹³ RICE, Eugene, *et al.* Standard Methods For the Examinations of Water and Wastewater: 3500-Fe IRON*. 22nd Ed. 2012.3-78-3-80p.

¹⁴ HULBURT, E. M. y RODMAN, I. 5. Minor Nutrients. En: Advances in Ecological Research. Vol. 3, (1996); p 138-140.

¹⁵ PEHKONEN, Simo. Determination of the oxidation states of iron in Natural Waters. A review. En: Royal Society of Chemistry. Vol. 120, (Nov.1995); p. 2655-2663.

En espectrofotometría, el Método de la Fenantrolina es usado comúnmente para la determinación de Fe^{+2} ; el hierro es disuelto y reducido al estado ferroso por ebullición con ácido clorhídrico e hidroxilamina y tratado con 1,10-fenantrolina a pH entre 3,2 a 3,3. Tres moléculas de fenantrolina se unen a cada átomo de hierro, formando un complejo rojo-anaranjado el cual absorbe a una longitud de onda de 510 nm. La intensidad de la coloración es independiente del pH entre 3 y 9.¹⁶

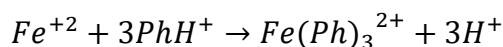
Las principales interferencias asociadas con esta medición las representan los agentes oxidantes fuertes debido a que cambian el estado de oxidación del hierro (Fe^{+2} a Fe^{+3}), entre ellos se encuentran: Cianuro, nitrito, fosfatos (más los polifosfatos que los ortofosfatos), cromo, zinc en concentración 10 veces superior a la del hierro, cobalto, cobre por encima de 5 mg/L y níquel por encima de 2 mg/L. El bismuto, cadmio, mercurio, molibdato y plata precipitan la fenantrolina. La adición de un exceso de solución de hidroxilamina (agente reductor) elimina los errores causados por concentraciones excesivas de reactivos oxidantes fuertes.

Al iniciar el procedimiento, es necesario asegurar que todos los iones hierro que se encuentran oxidados (Fe^{+3}) se reduzcan a estado ferroso (Fe^{+2}); para ello se emplea un exceso de solución de hidroxilamina (NH_2OH) para que ocurra la reacción:



¹⁶ AGUA. DETERMINACIÓN DE HIERRO. MÉTODO DE LA FENANTROLINA. Norma Venezolana. COVENIN 2120-84. {En línea}. {16 octubre de 2016}. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2120-84.pdf>.

La 1,10-fenantrolina es una molécula que contiene más de un grupo capaz de unirse al centro metálico, es decir, actúa como un ligando polidentado o agente quelante¹⁷; es una base débil y en disolución ácida, la principal especie es el ion fenantrolina (PhH⁺). Tres moléculas de fenantrolina se unen con un único átomo de hierro ferroso (Fe⁺²) y forman el complejo rojo-anaranjado Tris (1,10-fenantrolina hierro (II))¹⁸ de acuerdo con la siguiente reacción:



A valores de pH entre 2,9 y 3,5 se asegura el rápido desarrollo del color en presencia de un exceso de PhH⁺. Una vez formado el complejo se espera entre 10-15 minutos (puede ser estable hasta seis meses) para que se desarrolle la máxima intensidad del color. Esta reacción permite la detección directa de concentraciones entre 0,02 y 4,0 mg/L de hierro (total, disuelto y/o ferroso) y permite determinar concentraciones más altas a partir de diluciones. La mínima concentración detectable es de 50 µg/L usando una celda de 1 cm.

Cabe resaltar que el método de la 1,10-fenantrolina ha sido modificado con el fin de utilizarse para otras aplicaciones. En una de ellas se decidió utilizar un procedimiento automatizado para la determinación simultánea de Fe⁺² y Fe⁺³, este método involucra el uso de un reactor fotoquímico de flujo continuo de laboratorio con un sistema de inyección de flujo, basado en la fotorreducción del complejo Fe⁺³-

¹⁷ HOWARD, Alan. 4. Metal complexes in solution. En: Aquatic Environmental Chemistry. (1998); p. 37.

¹⁸ GUÍA DE ANÁLISIS MEDIANTE MÉTODOS DE ESPECTROMETRÍA MOLECULAR EN EL UV-VISIBLE: Determinación de hierro como complejo con o-fenantrolina. 2013. Universidad Central de Venezuela. Escuela de Química. p. 5-7.

1,10-fenantrolina. Una inyección de 100 μL de muestra dio intervalos de trabajo lineales de 0,1 a 120 ppm de Fe^{+2} y 0,2 a 120 ppm de hierro total. El método propuesto se aplica para la determinación de Fe^{+2} y Fe^{+3} en muestras acuosas.¹⁹

Otra técnica utiliza un derivado de la 1,10-fenantrolina, la 4,7-difenil-1,10-fenantrolinadisulfonada (DPPS) para mejorar el límite de detección del Fe^{+2} . Este método se aplica para la determinación en cantidades que van desde 1 a 10 μg en 100 mL de agua. Se forma un complejo molecular de ion ferroso tipo *tris*, cuya longitud de onda presenta su máxima absorción a 533 nm. Un procedimiento de extracción para aislar el complejo coloreado a partir de una solución acuosa aumenta la sensibilidad al menos 100 veces y extiende la especificidad al punto en el que no se presentan interferencias por cationes metálicos o aniones conocidos tales como cloruros, nitratos, acetatos, sulfatos o cloratos. Este análisis es usado para la determinación de Fe^{+2} en agua altamente purificada.²⁰

Otro método comúnmente utilizado para la determinación de hierro es el de la 2,2',2''-tripiridina que forma un complejo con Fe^{+2} . La absorbancia máxima de este complejo se registra a 555 nm. La etilendiamina se usa como regulador de pH para mantener la mezcla en un $\text{pH}=9,6$ y evitar la formación de complejos con otros metales pesados que se encuentren presentes en la muestra real, lo que de otro modo interferiría con la determinación del hierro ferroso. Los agentes oxidantes

¹⁹ LIU, Ren-Min; LIU, Dao-Jie y SUN, Ai-Ling. Studies on the application of photochemical reactions in a flow injection system. Part 2. Simultaneous determination of iron(II) and iron (III) based on the photoreduction of the iron(III)-phenanthroline complex. En: Royal Society of Chemistry. (1992), p. 1767-1770.

²⁰ HASE, Ushio y YOSHIMURA, Kazuhisa. Determination of trace amounts of iron in highly purified water by ion-exchanger phase absorptiometry combined with flow analysis. En: Royal Society of Chemistry. Vol. 117, (1992), p. 1501-1506.

fuerzas también afectan este procedimiento al igual que el de la 1,10-fenantrolina. El límite de detección es de 0,02 mg/L de Fe⁺².

Adicionalmente, un reactivo espectrofotométrico para la determinación de hierro es la sal disódica del ácido 3-(2-piridil)-5,6-bis(4-fenilsulfónico)-1,2,4-triazina, denominado ferrozina.²¹ La ferrozina reacciona con hierro divalente para formar un complejo estable de color magenta muy soluble en agua que se puede utilizar para la determinación directa de hierro. Según los resultados, metales como el cobre, cobalto, calcio, magnesio, plomo, plata, molibdeno, aluminio, níquel, zinc, arsénico, manganeso, cromo hexavalente y trivalente, cobalto divalente y cobre monovalente, son los únicos metales distintos del hierro que forman especies coloreadas con ferrozina; sin embargo, la adición un exceso de clorhidrato de hidroxilamina asegura la eliminación de interferencias en la determinación de hierro.²²

Las principales limitaciones en las técnicas espectrofotométricas se deben a interferencias por la formación de complejos del ion Fe⁺³ con ligandos naturales presentes en las muestras de agua real. Dependiendo del quelante utilizado y de la matriz de las muestras, estas técnicas pueden reportar concentraciones erróneas de Fe⁺³. Al utilizar agentes quelantes en concentraciones que son de órdenes de magnitud mayores que las de cualquier quelante natural se puede resolver el problema en cierta medida; sin embargo, si los ligandos naturales tienen grandes

²¹ STOOKEY, Stookey. Ferrozine---A new spectrophotometric reagent for iron. En: analytical chemistry. Vol. 42, (Jun.1970); p. 779-781.

²² CARTER, Paul. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). En: Analytical Biochemistry. Vol. 40, (Abr.1971); p. 450-458.

constantes de estabilidad con el Fe^{+3} (como las del EDTA), entonces los resultados que se obtienen con este método arrojan valores inútiles.

3.3. ANTECEDENTES

La “calidad”, característica esencial en todo laboratorio, se define como un balance exacto entre las necesidades del cliente y la capacidad de una organización para satisfacerlas; es decir, abarca todas las áreas en un sistema de gestión.²³ La acreditación les permite a los laboratorios demostrar la calidad de su trabajo de acuerdo con normas establecidas, de manera que se mantengan competitivos en el mercado. Adicionalmente, esta acreditación es una forma de asegurar a los clientes resultados confiables según criterios de valoración de la competencia técnica.

El amplio uso de los sistemas de gestión de calidad en los laboratorios de medición resultó en la necesidad de crear una Norma Internacional que facilitara no solo la cooperación entre laboratorios de diferentes países y otros organismos, sino también el intercambio de información y experiencia, así como la armonización de procedimientos. La norma técnica NTC-ISO/IEC 17025 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, fue emitida por el *Comité de ISO para la evaluación de la conformidad* (CASCO). La primera edición (1999) fue producto de la alta experiencia adquirida de la Guía ISO/IEC 25 y de la Norma Europea EN 45001, las cuales hacían referencia a las Normas ISO 9001:1994 e ISO 9002:1994; estas normas fueron reemplazadas por la ISO 9001:2000, lo que finalmente hizo necesaria la mejora de la Norma ISO 17025.

²³ MOLINA ULLOA, Sebastián y PÉREZ CORRALES, Cristian. Evaluación del cumplimiento de los requisitos de gestión de la norma INTE-ISO/IEC 17025:2005 en la División de Biología Molecular Diagnóstica del Laboratorio Clínico del Hospital de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”. San José, 2009, 9p. Trabajo de grado. Instituto Centroamericano de administración pública ICAP.

El numeral 5.9 de la Norma ISO 17025, relacionado con el “Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración”, establece que el laboratorio debe contar con procedimientos en el control de calidad con el fin de realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y las calibraciones que se llevan a cabo. Los datos obtenidos deben registrarse de forma tal que sea posible detectar tendencias o si se considera necesario, revisar los resultados. Se puede realizar:

- Evaluación de ensayos de aptitud
- Repetición de métodos de ensayo/calibración
- Variabilidad de las mediciones e instrumentos
- Participación en comparaciones interlaboratorio
- Uso regular de materiales de referencia certificados²⁴

Las normas asociadas con el uso o potabilización del agua son reguladas por cada país según sus necesidades y desarrollo. En Colombia, el IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales) es el organismo encargado de controlar los resultados emitidos por los laboratorios en cuanto al análisis cuantitativo para el control de la calidad de los recursos hídricos mediante la emisión de resoluciones de acreditación. Estas resoluciones dependen en gran medida de la correcta implementación de la Norma NTC-ISO/IEC 17025:2005.²⁵

La determinación de hierro en varias matrices (líquidas y sólidas) es un área de activo desarrollo como se observa en abundantes reportes bibliográficos. En el año

²⁴ NORMA TÉCNICA COLOMBIANA 17025. REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y CALIBRACIÓN. Primera actualización. ICONTEC, 2005.

²⁵ VILLAMIZAR VILLABONA, María Paula. Estandarización de métodos analíticos usados para el análisis de aguas, en el Laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM). Bucaramanga, 2008, 19p. Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander. Facultad de ciencias.

1994 en East Lansing (Michigan), durante algunos experimentos de nutrición se determinó el hierro contenido en las raciones de claras y yemas de huevo por el método de o-fenantrolina. Durante este análisis las muestras fueron tratadas con ácido clorhídrico, acetato de sodio (para ajustar el pH a 3,5), 1 mL de hidroquinona para reducir el hierro a Fe^{+2} y 2 mL de o-fenantrolina para desarrollar la coloración rojo-anaranjado. Se dejó 30 minutos a una temperatura superior a los 20 °C, leyó la absorción en un fotómetro y se determinó las concentraciones utilizando una curva de calibración como referencia.²⁶

Entre los años de 1997 y 1999, se realizó un estudio de calidad de agua superficial del río San Pedro (México), en donde se realizaron mediciones de metales pesados como: Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn que presentaban valores elevados. Las concentraciones de estos metales fueron superiores a los máximos permitidos por los Criterios Ecológicos de Calidad de Agua; a su vez se encontró que las principales fuentes de contaminación eran las explotaciones mineras y descargas de aguas negras sin tratamiento provenientes de la ciudad de Cananea.²⁷

En el 2005 en la universidad Okayama (Japón), fue desarrollado un método espectrofotométrico por inyección de flujo para la determinación de hierro total y disuelto en muestras de agua natural. El análisis emplea la acidificación de una muestra con el fin de descomponer hidróxidos de hierro y complejos de hierro en hierro libre Fe^{+3} y Fe^{+2} . Estas cantidades fueron detectadas usando una acción

²⁶ BANDEMER, Selma y SCHAIBLE, P. J. Determination of iron. A study of the o-phenanthroline method. En: Analytical Chemistry. Vol. 16, (May.1944); p. 317-319.

²⁷ ÁLVAREZ GÓMEZ, Agustín, *et al.* Metales pesados en el agua superficial del río San Pedro durante 1997 y 1999. En: Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Vol. 20, (2004); p. 2-3.

catalítica de Fe^{+3} y Fe^{+2} en la oxidación de *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamina en presencia de peróxido de hidrógeno. Los valores de absorbancia de los productos oxidados fueron determinados usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 514 nm. La exactitud y precisión del método fueron evaluadas en agua de río, desarrollándose satisfactoriamente para ser aplicado a muestras reales de agua.²⁸

En el 2011 en la universidad El Salvador (Argentina), se validó el método espectrofotométrico de la fenantrolina para la determinación de hierro total en agua potable. Durante este procedimiento se realizaron análisis en el laboratorio Fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de El Salvador, implementando la metodología recomendada por el libro oficial Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Edición 17a. Capítulo 3500-Fe D: Método de Fenantrolina. Se realizaron soluciones estándar de hierro a concentraciones conocidas (0,2 a 2,0 mg/L). Con base a los resultados se estableció como un método confiable, con la capacidad de ser utilizado en actividades de proyecto social ya que resulta ser práctico y económico.²⁹

En la actualidad el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales se encuentra en proceso de validación de métodos analíticos (hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso). Para alcanzar este objetivo es necesario establecer, implementar y mantener un sistema de gestión apropiado que incluya: la

²⁸ LUNVONGSA, S.; OSHIMA, M. y MOTOMIZU, S. Determination of total and dissolved amount of iron in water samples using catalytic spectrophotometric flow injection analysis. En: Talanta. (Ene.2006); p. 969-973.

²⁹ MENÉNDEZ GARCÍA, Diana Virginia; MENÉNDEZ GARCÍA, Melgar Santiago y MENÉNDEZ GARCÍA, Guillermo Ernesto. Validación del método espectrofotométrico (3500 Fe-D) de la fenantrolina para la determinación de hierro total en agua potable. El Salvador, 2012, 49-84p. Trabajo de grado. Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia.

documentación de sus procedimientos e instrucciones para asegurar la calidad de los resultados y la satisfacción, las necesidades de los clientes, autoridades reglamentarias y organizaciones encargadas de otorgar la acreditación (IDEAM).

4. OBJETIVOS

4.1. GENERAL:

Estandarizar métodos analíticos para la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) en el laboratorio de Centro de Estudios en Investigaciones Ambientales (CEIAM).

4.2. ESPECÍFICOS:

4.2.1. Elaborar protocolos de trabajo para la acreditación de nuevos parámetros.

4.2.2. Definir el alcance de los métodos teniendo en cuenta aspectos como el analito, la matriz, la técnica analítica a desarrollar y el propósito.

4.2.3. Determinar las cifras analíticas de mérito en las mediciones como rango, linealidad, límite de detección del método, límite de cuantificación del método, gráficos de control, exactitud, precisión, porcentajes de recuperación y estimación de incertidumbre.

4.2.4. Analizar los posibles factores que pueden llegar a influir cualitativa y/o cuantitativamente en los parámetros estandarizados.

4.2.5. Interpretar los resultados obtenidos en cada parámetro bajo estudio a través de técnicas estadísticas que permitan establecer el cumplimiento de criterios de aceptación.

4.2.6. Elaborar un reporte de validación con los resultados obtenidos.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

5.1.1. Equipos y materiales del laboratorio: Los equipos y materiales utilizados en el laboratorio para la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso fueron: Material de vidrio volumétrico clase A, espectrofotómetro de absorción molecular UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300, balanza analítica 770-14 marca Kern, planchas de calentamiento, bomba de vacío, pera de succión, cabina de extracción, embudo Buchner y filtros de membrana de 0,45 µm.

5.1.2. Lavado del material de vidrio: La limpieza del material de vidrio utilizado (pipetas, probetas, erlenmeyeres, balones aforados, vasos de precipitado), se realiza según el procedimiento del laboratorio (Anexo 1).

5.1.3. Reactivos: Para el proceso de determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en aguas potables, naturales y residuales (no domésticas) se empleó: Iron standard solution 1000 mg Fe/L MERCK, Iron (II) ammonium sulphate CARLO ERBA, Hydroxylammonium chloride pure MERCK, 1,10-phenanthroline monohydrate MERCK, Ammonium acetate MERCK, Ácido acético glacial J.T. BAKER, Hydrochloric acid fuming 37% MERCK. Todos los reactivos de grado analítico.

5.1.4. Soluciones preparadas de reactivos: Las soluciones preparadas para la estandarización de hierros, se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento establecido por el *Standard Methods for the Examination of Water*. (Anexo 2). En el proceso de determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en aguas potables, naturales y residuales (no domésticas) se preparó: Solución patrón 5 mg/L Fe, patrón 1000 mg/L sulfato de hierro (II), solución patrón 5 mg/L sulfato de Fe⁺², solución de hidroxilamina (NH₂OH.HCl), solución de 1,10-fenantrolina (C₁₂H₈N₂) y solución tampón de acetato de amonio (NH₄C₂H₃O₂).

5.1.5. Disposición final de residuos: Los residuos generados en el proceso de validación se almacenan en recipientes de plástico debidamente rotulados. El CEIAM cuenta con procesos de tratamiento, recolección, almacenamiento, transporte y disposición final de residuos, de acuerdo con los protocolos del Sistema de Gestión Ambiental UIS, que buscan minimizar el impacto de estos residuos sobre el medio ambiente.³⁰

5.2. TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

Los recipientes usados para la toma de las muestras se limpian con ácido y se enjuagan con agua destilada según el procedimiento establecido en el *Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater*. El valor en la determinación depende del cuidado puesto en la obtención de la muestra representativa debido a que las aguas de pozo o de grifo pueden variar sus

³⁰ Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Management of Chemical Hazards. Washington, D.C: 2001. 2-6p.

concentraciones con la duración antes y durante la recolección. Resulta necesario sacudir vigorosamente la botella antes de cualquier análisis para obtener una suspensión uniforme del hierro que se encuentra precipitado o adherido a la botella. Este problema puede agudizarse en gran medida al utilizar botellas de plástico.

5.2.1. Hierro total/disuelto: El hierro disuelto pasa a través de un filtro de membrana de 0,45 μm . Las muestras son tratadas con ácido nítrico (HNO_3) en el momento de la toma hasta alcanzar $\text{pH} \leq 2$, con el propósito de disolver el hierro. La adición del ácido en la muestra elimina la necesidad de agregarlo antes de la digestión (Método de la Fenantrolina).

5.2.2. Hierro ferroso: Las muestras se acidifican con 2 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado por cada 100 mL en el momento de la recolección para prevenir la oxidación. Se llena la botella directamente de la fuente.

Las muestras son colectadas y preservadas, se refrigeran a 2 ± 4 °C hasta realizar el análisis (24 horas después). El volumen de muestra en todos los casos fue 2 L.

5.3. ESTADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de agua natural, potable y residual recolectadas para la determinación de hierros se encontraban libres de color y turbiedad. En el método hierro disuelto las muestras se filtran a través de filtros de membranas de 0,45 μm .

5.4. VERIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos realizados para la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso se encuentran en el *Standard Methods for the Examination of Water* DETERMINACIÓN DE METALES (3500-Fe D. Método de la Fenantrolina).

5.4.1. Determinación de hierro total: Agitar la muestra cuidadosamente y medir 50 mL en un erlenmeyer de 125 mL, añadir 2 mL de HCl concentrado y 1 mL de solución de hidroxilamina. Agregar perlas de ebullición y calentar en planchas hasta que el volumen se reduzca a 15-20 mL. Añadir 10 mL de una solución tampón de acetato de amonio y 4 mL de una solución de fenantrolina. Transferir a un balón aforado de 50 mL y aforar con agua destilada hasta la señal. Esperar 10-15 minutos hasta alcanzar el máximo desarrollo del color y leer en el espectrofotómetro a 510 nm.

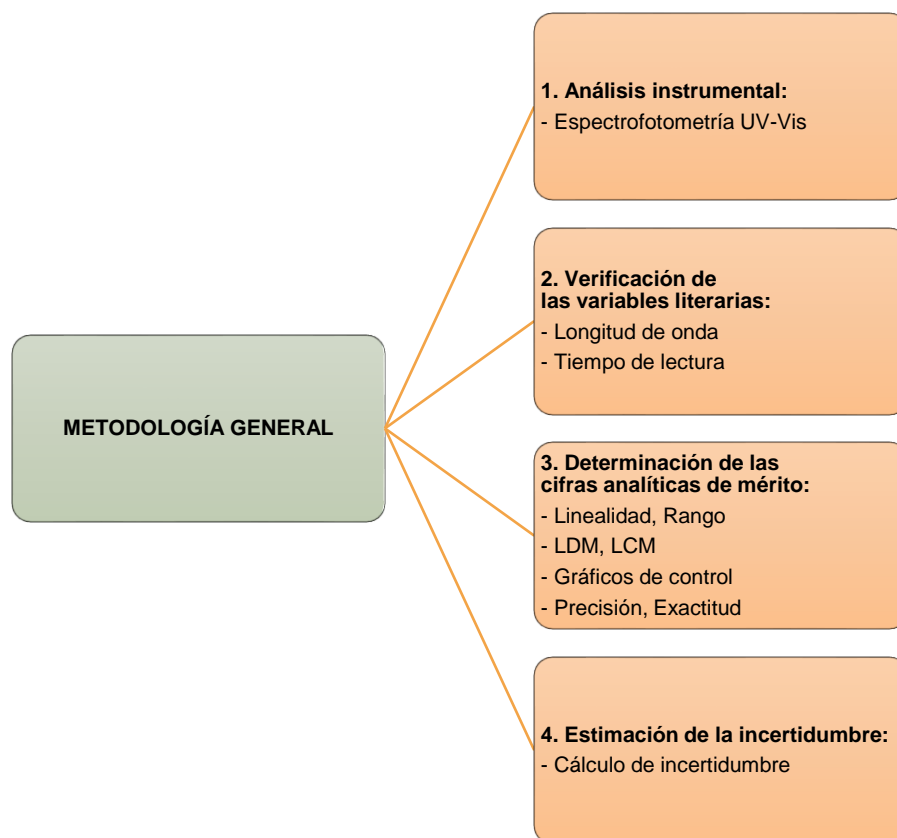
5.4.2. Determinación de hierro disuelto: Agitar la muestra cuidadosamente y filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45 μm . Medir 50 mL en un erlenmeyer de 125 mL, añadir 2 mL de HCl concentrado y 1 mL de solución de hidroxilamina. Agregar perlas de ebullición y calentar en planchas hasta que el volumen se reduzca a 15-20 mL. Añadir 10 mL de una solución tampón de acetato de amonio y 4 mL de una solución de fenantrolina. Transferir a un balón aforado de 50 mL y aforar con agua destilada hasta la señal. Esperar 10-15 minutos hasta alcanzar el máximo desarrollo del color y leer en el espectrofotómetro a 510 nm.

5.4.3. Determinación de hierro ferroso: Agitar la muestra cuidadosamente y tomar 50 mL en un balón de 100 mL, añadir 10 mL de una solución tampón de acetato de amonio y 20 mL de solución de fenantrolina. Aforar con agua destilada la señal y medir la intensidad del color dentro de los 5 a 10 minutos en el espectrofotómetro a 510 nm. No exponer a la luz solar.

5.5. METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO TOTAL, DISUELTO Y FERROSO EN AGUAS POTABLES, NATURALES Y RESIDUALES (NO DOMÉSTICAS)

En la Figura 1 se observa el diagrama general empleado para el proceso de estandarización de los métodos espectrofotométricos hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso. Todas las muestras analizadas y soluciones preparadas se encuentran bajo las condiciones propias del laboratorio CEIAM. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente.

Figura 1. Diagrama general de la metodología empleada durante el desarrollo y estandarización de los métodos espectrofotométricos.



5.5.1. Análisis instrumental: Durante el proceso de estandarización, se utilizó un espectrofotómetro de absorción molecular UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300 (Figura 2) con un rango de trabajo de 190 a 1100 nm para determinar hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso.

Figura 2. Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300.



5.5.2. Verificación de las variables literarias: Es necesario conocer y comprobar experimentalmente los procedimientos establecidos por la literatura, por esta razón los análisis se someten a un proceso de ensayo con el fin de documentar sus características en el laboratorio. En ocasiones, los métodos pueden estar sujetos a errores sistemáticos que dan lugar a resultados incorrectos. Para evitarlo, durante el proceso de validación se realiza detalladamente un estudio en las variables propias del método como: Longitud de onda analítica de máxima absorción y la estabilidad del complejo con respecto al tiempo de operación.

5.5.2.1. Longitud de onda: Con objeto de establecer la longitud de onda en la cual el complejo rojo-anaranjado absorbe, se preparan y analizan soluciones estándar de 0,2 mg/L para los métodos de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso. A cada estándar se le realiza un barrido espectral en un rango que comprende de 340 a 600 nm. El máximo establecido por la literatura y obtenido experimentalmente (510 nm), se emplea para leer la absorción durante todo el proceso de estandarización.

5.5.2.2. Tiempo de lectura: Para establecer la estabilidad del complejo con respecto al tiempo, se preparan y analizan soluciones estándar de 0,2 mg/L para los métodos de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso. A partir de los resultados obtenidos experimentalmente y teniendo en cuenta las condiciones establecidas por la literatura, se registra el tiempo óptimo de lectura de absorción de la muestra y se emplea de esta manera durante todo el proceso de estandarización.

5.5.3. Determinación de las cifras analíticas de mérito: Durante el proceso de acreditación de los métodos analíticos, es necesario determinar los valores numéricos que representan las medidas de la eficiencia como: Rango, linealidad, LDM, LCM, gráficos de control, precisión y exactitud.

5.5.3.1. Rango: Intervalo comprendido entre la concentración superior e inferior para el que se ha demostrado que el analito se cuantifica con un nivel satisfactorio de repetibilidad, recuperación y linealidad.³¹ Para la determinación de hierro total y hierro disuelto se analizan concentraciones de 0,2 a 3,0 mg/L, mientras que para hierro ferroso concentraciones de 0,1 a 4,0 mg/L a la longitud de onda de máxima absorción (510 nm).

³¹ Vega Rodríguez, Guillermo. COMISIÓN DE CONTROL ANALÍTICO Y AMPLIACIÓN DE COBERTURA. CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS. Secretaría de Salud, 2011.

5.5.3.2. Linealidad: Capacidad de un método para proporcionar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido.³² Durante el proceso de estandarización se preparan y analizan una serie de patrones en un rango establecido para cada parámetro. Para la determinación de hierro total y hierro disuelto se realizan diez curvas de calibración, mientras que para hierro ferroso se realizan siete bajo las condiciones ambientales del laboratorio CEIAM. La linealidad es evaluada de acuerdo con el Anexo 3. El coeficiente de variación es evaluado de acuerdo con el Anexo 4.

5.5.3.3. LDM: Concentración mínima de un compuesto que puede ser detectada en una matriz real siguiendo el procedimiento del método. Produce una señal detectable diferente a la de un blanco analítico.³³ Para la estimación de LDM en hierros, se preparan y analizan blancos de reactivos (n=20) frente a una de las réplicas utilizada como referencia; se evalúa de acuerdo con el Anexo 5.

5.5.3.4. LCM: Mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar con fiabilidad bajo las condiciones del laboratorio con adecuada precisión y exactitud.³⁴ Para la estimación de LCM en hierros,

³² THOMAS, Robert. How to Select and ICP-Mass Spectrometer: Some Important Analytical Considerations. En: Scientific Solutions. Vol. 28, (Nov.2013); 266p.

³³ BARRY, Carly. Accuracy Versus Precision: What's the difference. En: NOAA. (Jul.2012).

³⁴ VESSMAN, Jörgen, et al. Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations 2001). En: The Scientific Journal of IUPAC. Vol. 73, (Ago.2001); p. 1381-1386.

se preparan y analizan blancos de reactivos (n=20) frente a una de las réplicas utilizada como referencia; se evalúa de acuerdo al Anexo 6.

5.5.3.5. Precisión: Proximidad entre dos o más mediciones.³⁵ Los errores aleatorios son aquellos que provocan que los resultados individuales difieran uno del otro de forma que caen a ambos lados del valor y afectan la reproducibilidad de los ensayos.³⁶ La determinación de la precisión incluye: Precisión del sistema instrumental y precisión del método.

5.5.3.5.1. Precisión del sistema instrumental: Para los métodos de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso se preparan estándares de concentración 0,2 mg/L, la cual se encuentra dentro del rango de trabajo desarrollado experimentalmente. El procedimiento es realizado (n=20) para cada parámetro y se efectúa la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis. El estudio de repetibilidad se realiza bajo las condiciones del laboratorio CEIAM durante 20 días.

5.5.3.5.2. Precisión del método: Para determinar la repetibilidad y precisión en los métodos de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso, se realizan

³⁵Accuracy and Precision. {En línea}. {24 marzo de 2017}. Disponible en: <https://www.ncsu.edu/labwrite/Experimental%20Design/accuracyprecision.htm>.

³⁶ MILLER, James y MILLER, Jane. Estadística y Quimiometría para Química Analítica: 1.3.Tipos de Error. 4ta Ed. España: 2002. 3-4p.

análisis (n=20) en muestras de agua potable, agua natural y agua residual. A cada muestra se le determina el contenido de analito y se enriquece con soluciones estándar de concentraciones medias (0,5 mg/L) y altas (2,0 mg/L). El estudio es realizado bajo las condiciones del laboratorio CEIAM. Las muestras de 50 mL son enriquecidas con 2,5 mL de soluciones estándar.

5.5.3.6. Gráficos de control: Llevan el control interno sobre el método espectrofotométrico, indicando la consistencia elevada día a día (n=20) y de esta forma establecer la tendencia que depende del tiempo. Para los métodos hierro total, disuelto y ferroso se construyen gráficos de control con concentraciones de 0,5 mg/L. La determinación de los límites de confianza, límites de aviso y de acción se calculan según el Anexo 7.

5.5.3.7. Exactitud: Medición que estima cuán cerca se encuentra el valor obtenido del valor real.³⁷ Los errores sistemáticos, son aquellos que provocan que todos los resultados sean erróneos en el mismo sentido y afectan la exactitud. Este proceso se valora a partir del porcentaje de recuperación de las muestras de agua potable, natural y residual para los métodos estudiados. El límite de aceptación para muestras duplicadas y adiciones conocidas sobre aguas limpias y residuales, indica que para

³⁷ LÓPEZ VALENCIA, Juan Pablo. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. Pereira, 2008, 18-19p. Trabajo de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Programa de Tecnología Química.

metales el porcentaje de recuperación de adiciones conocidas se encuentra entre el 80-120%³⁸ y se evalúa según el Anexo 8.

5.5.3.8. Estimación de la incertidumbre: Una medida sin una indicación cuantitativa de la calidad del resultado es inservible. La incertidumbre es la duda sobre la validez del resultado, refleja la imposibilidad de conocer el valor exacto del mensurado.³⁹ La ISO/IEC 17025:1999 establece que los laboratorios acreditados deben cumplir con una serie de requisitos, entre ellos uno de los más importantes: La estimación de la incertidumbre.⁴⁰ Esta aproximación se basa en identificar, cuantificar y combinar todas las fuentes de incertidumbre de los procedimientos analíticos.⁴¹ En la Figura 3 se describe en cuatro etapas la metodología utilizada para calcular la incertidumbre en la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en muestras de agua natural, potable y residual.

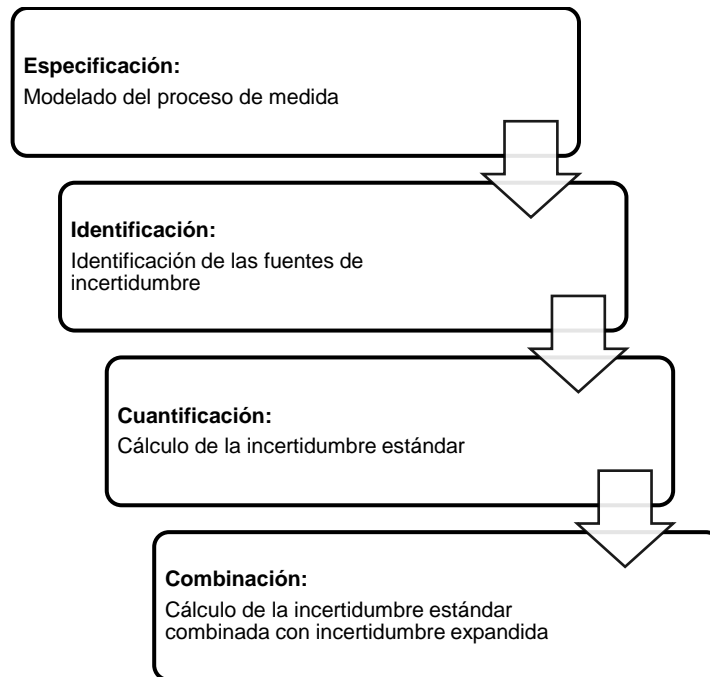
³⁸ DÍAZ DE SANTOS. Introducción General. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES: LÍMITES DE ACEPTACIÓN PARA MUESTRAS DUPLICADAS Y ADICIONES CONOCIDAS SOBRE AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES. 17th Ed. 1992. 1-9p.

³⁹ PÉREZ HERNÁNDEZ, María Mar. Estimación de incertidumbres. Guía GUM. En: Revista Española de Metrología. (Dic.2012); p. 114.

⁴⁰ DELGADO ALAMILLA, Horacio, *et al.* ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN MÉTODOS DE ENSAYOS DE CONSTRUCCIÓN. Marco normativo para la estimación de la incertidumbre, en laboratorios de ensayo. Publicación Técnica, 2005; p 7.

⁴¹ MAROTO, Alicia, *et al.* ESTRATEGIAS PARA EL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE. {En línea}. {11 abril de 2017}. 1-3p. Disponible en: <http://www.quimica.urv.cat/quimio/general/estinc.pdf>.

Figura 3. Metodología para calcular la incertidumbre.



5.5.3.8.1. Especificación: Describe la relación que existe entre el resultado analítico (concentración) obtenido de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso y los parámetros de los cuales depende como: Curvas de calibración, material volumétrico certificado, respuesta del instrumento, lectura del complejo.

5.5.3.8.2. Identificación: Proviene de diversos factores involucrados en la medición como: Calibración del instrumento, incertidumbre en el patrón de referencia, repetibilidad en las lecturas, características propias del instrumento, variación en las condiciones ambientales, la

definición del propio mensurado.⁴² Teniendo en cuenta estos aspectos, este parámetro se evalúa de acuerdo con el Anexo 9.

5.5.3.8.3. Cuantificación: Análisis estadístico de una serie de valores; se estima utilizando mediciones repetidas de absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis, obtenidas bajo las mismas condiciones.

5.5.3.8.4. Combinación: Una vez identificadas todas las posibles fuentes de incertidumbre, se combinan para contener toda la información sobre las fuentes de incertidumbre en la medición. Esta combinación se realiza de acuerdo con la ley de propagación de errores, de manera independiente hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso. Anexo 10.

⁴² SCHMID, Wolfgang y LAZOS, Ruben. GUÍA PARA ESTIMAR LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN: Identificación de las fuentes de incertidumbre. México, 2002. 7p.

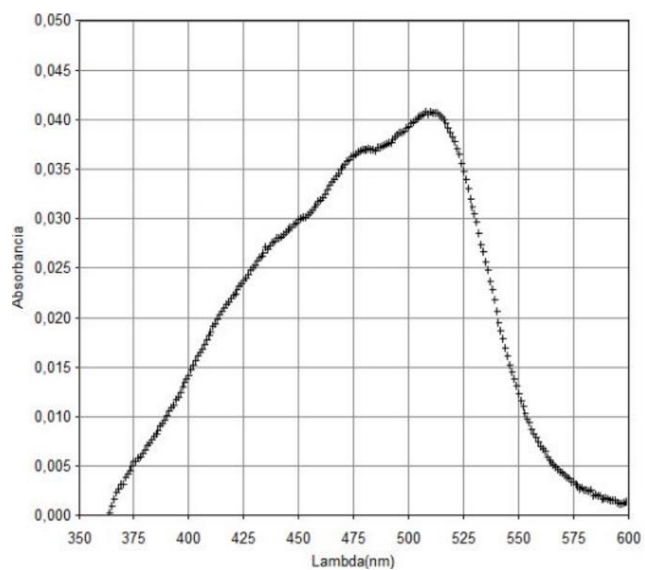
6. ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO TOTAL

6.1. VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS

La determinación de las variables literarias para hierro total se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.2. Se verifican experimentalmente: Longitud de onda de máxima absorción y estabilidad del complejo en función del tiempo para la lectura.

6.1.1. Longitud de onda: Se realiza un barrido (340 nm a 600 nm) en el espectrofotómetro UV-Vis, en donde se observa un máximo de absorción en 510 nm (Figura 4), valor que corresponde con la literatura.¹³

Figura 4. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro total (0,2 mg/L).



6.1.2. Tiempo de lectura: La estabilidad del complejo con respecto al tiempo se observa en la Tabla 1, la absorbancia se mantiene constante desde los minutos 10-13, por lo que se considera el tiempo óptimo de respuesta.

Tabla 1. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro total.

Tiempo (min)	Absorción
8	0,040
9	0,041
10	0,040
11	0,040
12	0,040
13	0,040
14	0,041
15	0,041
16	0,041
17	0,040
18	0,040
19	0,040
20	0,041

6.2. DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO

6.2.1. Rango de trabajo: El rango para hierro total se realiza según el Apartado 5.5.3.1.; las concentraciones comprenden de 0,2 a 3,0 mg/L.

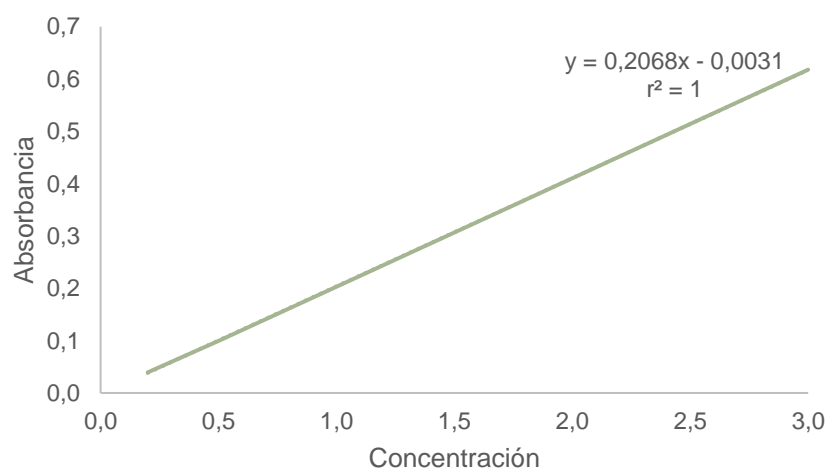
6.2.2. Linealidad: La determinación de la linealidad del método se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.2. En la Tabla 2 se observa el promedio de las absorbancias obtenidas (Anexos 11 y 12), con las cuales se construye la curva de calibración mediante regresión de mínimos

cuadrados (Figura 5). La ecuación resultante $y=0,2068x-0,0031$ con $r^2=1$, expresa linealidad en el rango evaluado, es decir, existe una relación directamente proporcional entre la concentración y la absorbancia.

Tabla 2. Evaluación del intervalo de respuesta lineal de hierro total.

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10^{-2})	Coefficiente de variación (%)	Factor de respuesta (y/x)
0,2	0,039	0,272	6,974	0,195
0,5	0,100	0,422	4,220	0,200
1,0	0,203	0,761	3,749	0,203
2,0	0,410	0,897	2,188	0,205
3,0	0,618	1,075	1,739	0,206

Figura 5. Curva de calibración promedio para el método hierro total.



6.2.3. LDM: La determinación del LDM para hierro total se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.3. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 13) proporciona una desviación estándar igual a 0,009. Aplicando la ecuación del Anexo 5, el valor de LDM es 0,046 mg/L para la determinación de hierro en agua natural, potable y residual.

$$\text{LDM} = 0,018 + 3(0,009) = 0,046$$

6.2.4. LCM: La determinación del LCM para hierro total se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.4. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 13) proporciona una desviación estándar igual a 0,009. Aplicando la ecuación del Anexo 6, el valor de LCM es 0,110 mg/L para su medición en agua natural, potable y residual. Sin embargo, el LCM experimentalmente aceptable para el laboratorio es 0,2 mg/L.

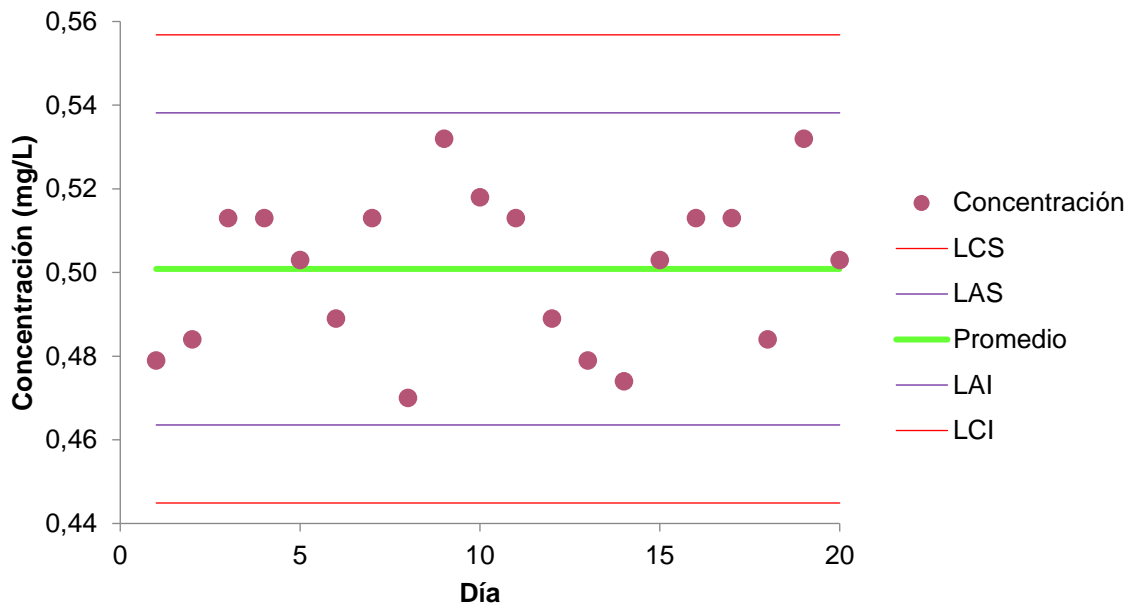
$$\text{LCM} = 0,018 + 10(0,009) = 0,110$$

6.2.5. Precisión: La determinación de la precisión o reproducibilidad para hierro total se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.5. La precisión del sistema instrumental (Anexo 14) corresponde a un porcentaje de error del 6,05%, es decir, existe una estrecha distribución en los valores medidos con errores aceptables para el laboratorio (<10%).

6.2.6. Gráficos de control: El gráfico de control para hierro total se construye teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.6. A partir de las mediciones

realizadas por un periodo de 20 días (Anexo 15) utilizando un patrón de 0,5 mg/L se obtiene la Figura 6. En el conjunto de medidas tomadas durante el proceso de análisis, no se observan variantes significativas, lo cual indica que el proceso se encuentra bajo control.

Figura 6. Gráfico de control para el método hierro total (0,5 mg/L).



6.2.7. Exactitud: La determinación de la exactitud para hierro total se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.7. Los resultados obtenidos (Anexo 16) con su respectivo porcentaje promedio de recuperación en muestras de agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) se observan en la Tabla 3. Los porcentajes de recuperación (98,52-105,3%) se encuentran dentro del criterio de aceptación, además presentan bajos

porcentajes en el coeficiente de variación (0,992-6,129%), es decir, hierro total es un método exacto y admisible para el laboratorio.

Tabla 3. Evaluación de la exactitud para el método hierro total.

Parámetro	Nivel de concentración		Criterio de aceptación
	Estándar 0,5 mg/L	Estándar 2,0 mg/L	
%R promedio agua potable	98,52	98,62	80-120
Desviación estándar	4,632	6,044	-
CV (%)	4,702	6,129	≤ 10
%R promedio agua natural	100,2	99,28	80-120
Desviación estándar	1,678	3,806	-
CV (%)	1,676	3,834	≤ 10
%R promedio agua residual	105,3	104,1	80-120
Desviación estándar	1,054	1,033	-
CV (%)	1,001	0,992	≤ 10

6.3. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

Hierro total es un método analítico colorimétrico, se deben tener en cuenta: La respuesta del instrumento (repetibilidad, curva de calibración) y el material de referencia certificado. La estimación de la incertidumbre se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.8. Los datos obtenidos (Anexos 17, 18 y 19) para las concentraciones de 0,2 y 1,0 mg/L permiten obtener los resultados de la Tabla 4:

Tabla 4. Incertidumbre expandida del método hierro total.

Concentración	0,2 mg/L	1,0 mg/L
IER $u_{(rep)}$	0,020	0,012
IER $u_{(ier Co)}$	0,065	0,012
IER (IER MRC)	0,003	0,003
IER	0,068	0,014
k	2	2
U (hierro total)	0,2 mg/L \pm 0,028	1,0 mg/L \pm 0,029

Para hierro total se obtiene una incertidumbre expandida de medición igual a 0,2 mg/L \pm 0,028 y 1,0 mg/L \pm 0,029 con un 95% de confianza (k=2). Lo anterior teniendo en cuenta las fuentes de incertidumbre combinadas para métodos colorimétricos.

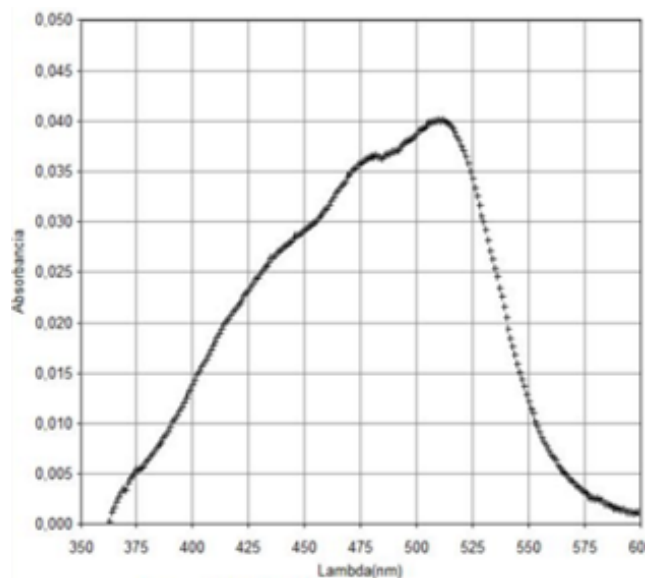
7. ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO DISUELTO

7.1. VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS

La determinación de las variables literarias para hierro disuelto se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.2. Se verifican experimentalmente: Longitud de onda de máxima absorción y estabilidad del complejo en función del tiempo para la lectura.

7.1.1. Longitud de onda: Se realiza un barrido (340 nm a 600 nm) en el espectrofotómetro UV-Vis, en donde se observa un máximo de absorción en 510 nm (Figura 7), valor que corresponde con la literatura.¹³

Figura 7. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro disuelto (0,2 mg/L).



7.1.2. Tiempo de lectura: La estabilidad del complejo con respecto al tiempo se observa en la Tabla 5, la absorbancia se mantiene constante desde los minutos 10-13, por lo que se considera el tiempo óptimo de respuesta.

Tabla 5. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro disuelto.

Tiempo (min)	Absorción
8	0,040
9	0,041
10	0,040
11	0,040
12	0,040
13	0,040
14	0,041
15	0,040
16	0,041
17	0,041
18	0,040
19	0,040
20	0,041

7.2. DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO

7.2.1. Rango de trabajo: El rango para hierro disuelto se realiza según el Apartado 5.5.3.1.; las concentraciones comprenden de 0,2 a 3,0 mg/L.

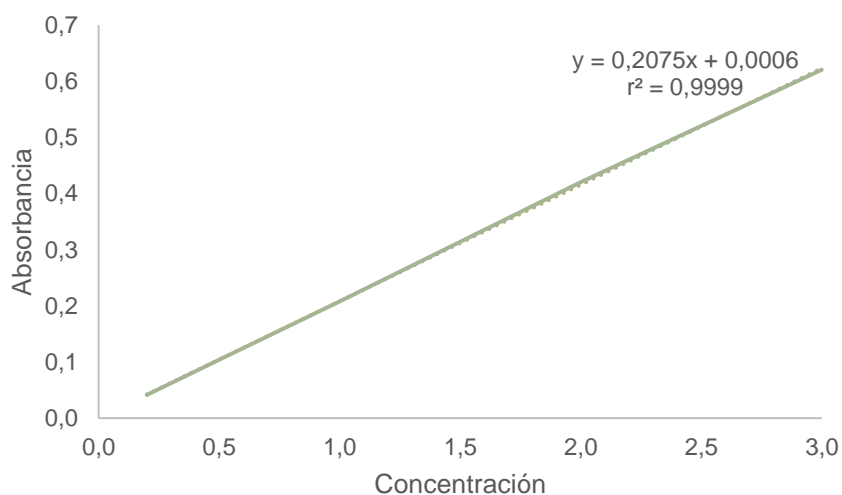
7.2.2. Linealidad: La determinación de la linealidad para el método se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.2. En la Tabla 6 se observa el

promedio de las absorbancias obtenidas (Anexos 20 y 21), con las cuales se construye la curva de calibración mediante regresión de mínimos cuadrados (Figura 8). La ecuación $y=0,2075x+0,0006$ con $r^2=0,9999$, expresa linealidad en el rango evaluado, es decir, existe una relación directamente proporcional entre la concentración y la absorbancia.

Tabla 6. Evaluación del intervalo de respuesta lineal de hierro disuelto.

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10 ⁻²)	Coficiente de variación (%)	Factor de respuesta (y/x)
0,2	0,041	0,438	1,068	0,205
0,5	0,104	0,388	3,731	0,208
1,0	0,208	0,971	4,668	0,208
2,0	0,420	0,985	2,345	0,210
3,0	0,620	1,296	2,090	0,207

Figura 8. Curva de calibración promedio para el método hierro disuelto.



7.2.3. LDM: La determinación del LDM para hierro disuelto se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.3. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 22) proporciona una desviación estándar igual a 0,010. Aplicando la ecuación del Anexo 5, el valor de LDM es 0,029 mg/L para la determinación de hierro en agua natural, potable y residual.

$$\text{LDM} = 0,001 + 3(0,010) = 0,029$$

7.2.4. LCM: La determinación del LCM para hierro disuelto se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.4. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 22) proporciona una desviación estándar igual a 0,010. Aplicando la ecuación del Anexo 6, el valor de LCM es 0,095 mg/L para su medición en agua natural, potable y residual. Sin embargo, el LCM experimentalmente aceptable para el laboratorio es 0,2 mg/L.

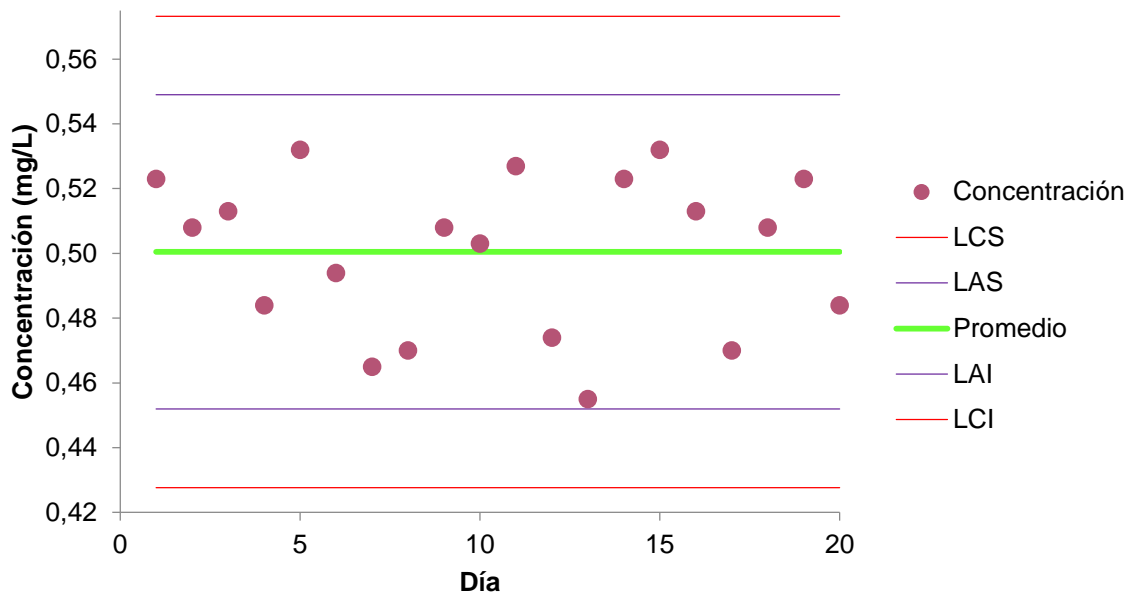
$$\text{LCM} = 0,001 + 10(0,010) = 0,095$$

7.2.5. Precisión: La determinación de la precisión o reproducibilidad para hierro disuelto se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.5. La precisión del sistema instrumental (Anexo 23) corresponde a un porcentaje de error del 2,53%, es decir, existe una estrecha distribución en los valores medidos con errores aceptables para el laboratorio (<10%).

7.2.6. Gráfico de control: El gráfico de control para hierro disuelto se construye teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.6. A partir de las mediciones

realizadas por un periodo de 20 días (Anexo 24) utilizando un patrón de 0,5 mg/L se obtiene la Figura 9. En el conjunto de medidas tomadas durante el proceso de análisis, no se observan variantes significativas, lo cual indica que el proceso se encuentra bajo control.

Figura 9. Gráfico de control para el método hierro disuelto (0,5 mg/L).



7.2.7. Exactitud: La determinación de la exactitud para hierro disuelto se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.7. Los resultados obtenidos (Anexo 25) con su respectivo porcentaje promedio de recuperación en muestras de agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) se observan en la Tabla 7. Los porcentajes de recuperación (93,79-107,4%) se encuentran dentro del criterio de aceptación, además presentan bajos

porcentajes en el coeficiente de variación (2,247-5,928%), es decir, hierro disuelto es un método exacto y admisible para el laboratorio.

Tabla 7. Evaluación de la exactitud para el método hierro disuelto.

Parámetro	Nivel de concentración		
	Estándar 0,5 mg/L	Estándar 2,0 mg/L	Criterio de aceptación
%R promedio agua potable	93,79	100,4	80-120
Desviación estándar	5,091	4,527	-
CV (%)	5,429	4,508	≤ 10
%R promedio agua natural	99,26	99,84	80-120
Desviación estándar	4,466	5,919	-
CV (%)	4,499	5,928	≤ 10
%R promedio agua residual	107,4	102,3	80-120
Desviación estándar	4,913	2,299	-
CV (%)	4,575	2,247	≤ 10

7.3. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

Hierro disuelto es un método analítico colorimétrico, se deben tener en cuenta: La respuesta del instrumento (repetibilidad, curva de calibración) y el material de referencia certificado. La estimación de la incertidumbre se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.8. Los datos obtenidos (Anexos 26, 27 y 28) para las concentraciones de 0,2 y 1,0 mg/L permiten obtener los resultados de la Tabla 8:

Tabla 8. Incertidumbre expandida del método hierro disuelto.

Concentración	0,2 mg/L	1,0 mg/L
IER $u_{(rep)}$	0,034	0,015
IER $u_{(ier Co)}$	0,083	0,015
IER (IER MRC)	0,003	0,003
IER	0,089	0,021
k	2	2
U (hierro disuelto)	0,2 mg/L \pm 0,035	1,0 mg/L \pm 0,042

Para hierro disuelto se obtiene una incertidumbre expandida de medición igual a 0,2 mg/L \pm 0,035 y 1,0 mg/L \pm 0,042 con un 95% de confianza (k=2). Lo anterior teniendo en cuenta las fuentes de incertidumbre combinadas para métodos colorimétricos.

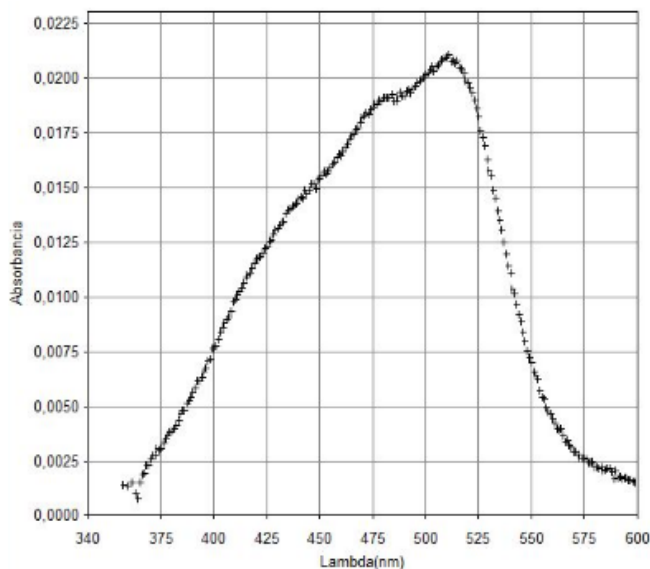
8. ESTANDARIZACIÓN DE HIERRO FERROSO

8.1. VERIFICACIÓN DE LAS VARIABLES LITERARIAS

La determinación de las variables literarias para hierro ferroso se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.2. Se verifican experimentalmente: Longitud de onda de máxima absorción y estabilidad del complejo en función del tiempo para la lectura.

8.1.1. Longitud de onda: Se realiza un barrido (340 nm a 600 nm) en el espectrofotómetro UV-Vis, en donde se observa un máximo de absorción en 510 nm (Figura 10), valor que corresponde con la literatura.¹³

Figura 10. Espectro de absorción en la región UV-Vis para hierro ferroso (0,2 mg/L).



8.1.2. Tiempo de lectura: La estabilidad del complejo con respecto al tiempo se observa en la Tabla 9, la absorbancia se mantiene constante desde los minutos 5-10, por lo que se considera el tiempo óptimo de respuesta.

Tabla 9. Estabilidad del complejo con respecto al tiempo para hierro ferroso.

Tiempo (min)	Absorción
2	0,018
3	0,018
4	0,018
5	0,019
6	0,019
7	0,019
8	0,019
9	0,019
10	0,019
11	0,020
12	0,020
13	0,020
14	0,020
15	0,021
16	0,021
17	0,021
18	0,021
19	0,021
20	0,022

8.2. DETERMINACIÓN DE LAS CIFRAS ANALÍTICAS DE MÉRITO

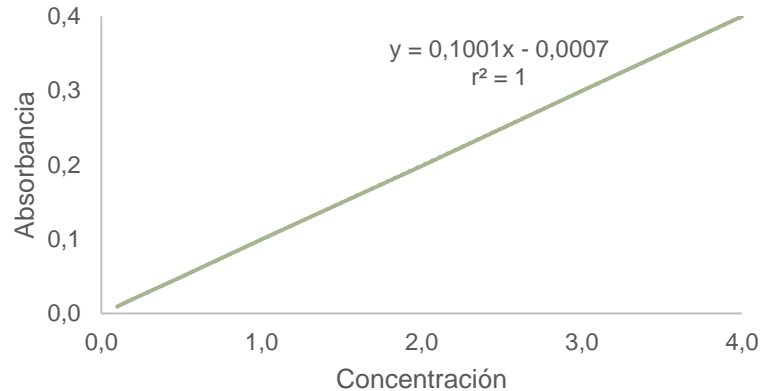
8.2.1. Rango de trabajo: El rango para hierro ferroso se realiza según el Apartado 5.5.3.1.; las concentraciones comprenden de 0,1 a 4,0 mg/L.

8.2.2. Linealidad: La determinación de la linealidad para el método se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.2. En la Tabla 10 se observa el promedio de las absorbancias obtenidas (Anexos 29 y 30), con las cuales se construye la curva de calibración mediante regresión de mínimos cuadrados (Figura 11). La ecuación resultante $y=0,1001x-0,0007$ con $r^2=1$, expresa linealidad en el rango evaluado, es decir, existe una relación directamente proporcional entre la concentración y la absorbancia.

Tabla 10. Evaluación del intervalo de respuesta lineal de hierro ferroso.

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10 ⁻³)	Coefficiente de variación (%)	Factor de respuesta (y/x)
0,1	0,009	0,535	5,944	0,090
0,2	0,020	0,535	2,675	0,100
0,5	0,049	0,378	0,771	0,098
1,0	0,100	0,756	0,756	0,100
2,0	0,198	2,289	1,156	0,099
3,0	0,300	3,101	1,034	0,100
4,0	0,400	2,410	0,603	0,100

Figura 11. Curva de calibración para el método hierro ferroso.



8.2.3. LDM: La determinación del LDM para hierro ferroso se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.3. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 31) proporciona una desviación estándar igual a 0,008. Aplicando la ecuación del Anexo 5, el valor de LDM es 0,033 mg/L para la determinación de hierro en agua natural, potable y residual.

$$\text{LDM} = 0,008 + 3(0,008) = 0,033$$

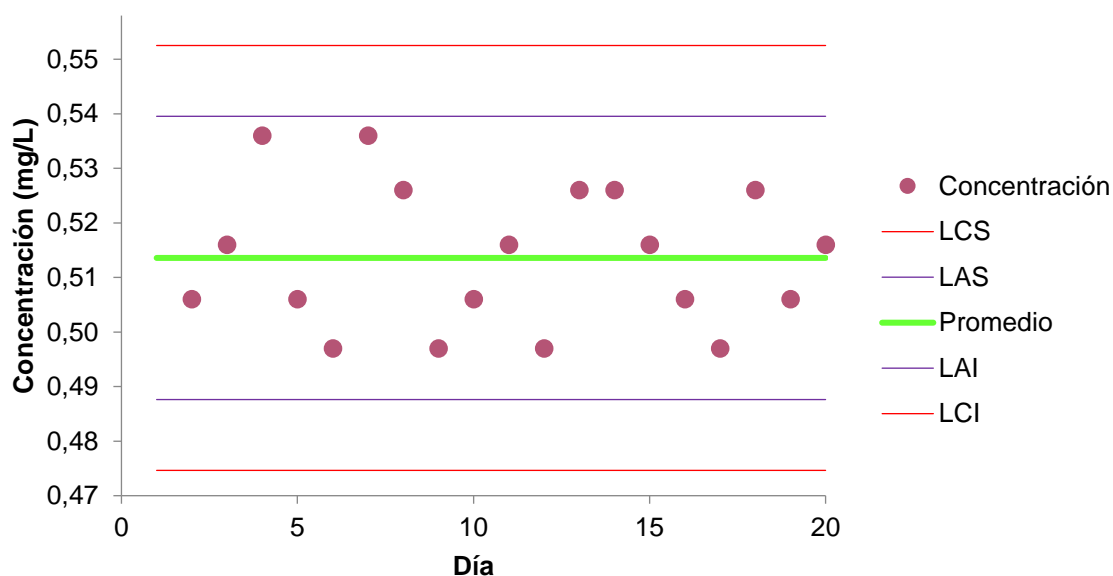
8.2.4. LCM: La determinación del LCM para hierro ferroso se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.4. La concentración de los blancos de reactivo (Anexo 31) proporciona una desviación estándar igual a 0,008. Según la ecuación del Anexo 6, el valor de LCM es 0,091 mg/L para su medición en agua natural, potable y residual. Sin embargo, el LCM experimentalmente aceptable para el laboratorio es 0,2 mg/L.

$$\text{LCM} = 0,008 + 10(0,008) = 0,091$$

8.2.5. Precisión: La determinación de la precisión o reproducibilidad para hierro ferroso se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.5. La precisión del sistema instrumental (Anexo 32) corresponde a un porcentaje de error del 1,00%, es decir, existe una estrecha distribución en los valores medidos con errores aceptables para el laboratorio (<10%).

8.2.6. Gráficos de control: El gráfico de control para hierro ferroso se construye teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.6. A partir de las mediciones realizadas por un periodo de 20 días (Anexo 33) utilizando un patrón de 0,5 mg/L se obtiene la Figura 12. En el conjunto de medidas tomadas durante el proceso de análisis, no se observan variantes significativas, lo cual indica que el proceso se encuentra bajo control.

Figura 12. Gráfico de control del método hierro ferroso (0,5 mg/L).



8.2.7. Exactitud: La determinación de la exactitud para hierro ferroso se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.7. Los resultados obtenidos (Anexo 34) con su respectivo porcentaje de recuperación en muestras de agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica) se observan en la Tabla 11. Los porcentajes de recuperación (89,69-109,2%) se encuentran dentro del criterio de aceptación, además presentan bajos porcentajes en el coeficiente de variación (1,958-5,997%), es decir, hierro ferroso es un método exacto y admisible para el laboratorio.

Tabla 11. Evaluación de la exactitud para el método hierro ferroso.

Parámetro	Nivel de concentración		
	Estándar 0,5 mg/L	Estándar 2,0 mg/L	Criterio de aceptación
%R promedio agua potable	89,69	92,16	80-120
Desviación estándar	5,379	4,523	-
CV (%)	5,997	4,908	≤ 10
%R promedio agua natural	97,75	100,1	80-120
Desviación estándar	1,914	3,417	-
CV (%)	1,958	3,413	≤ 10
%R promedio agua residual	106,0	109,2	80-120
Desviación estándar	4,537	3,974	-
CV (%)	4,279	3,639	≤ 10

8.3. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

Hierro ferroso es un método analítico colorimétrico, se deben tener en cuenta: La respuesta del instrumento (repetibilidad, curva de calibración) y el material de referencia certificado. La estimación de la incertidumbre se realiza teniendo en cuenta el Apartado 5.5.3.8. Los datos obtenidos (Anexos 35, 36 y 37) para las concentraciones de 0,2 y 1,0 mg/L permiten obtener los resultados de la Tabla 12:

Tabla 12. Incertidumbre expandida del método hierro ferroso.

Concentración	0,2 mg/L	1,0 mg/L
IER $u_{(rep)}$	0,010	0,003
IER $u_{(ier Co)}$	0,037	0,007
IER (IER MRC)	0,013	0,012
IER	0,040	0,014
k	2	2
U (hierro ferroso)	0,2 mg/L \pm 0,016	1,0 mg/L \pm 0,029

Para hierro ferroso se obtiene una incertidumbre expandida de medición igual a 0,2 mg/L \pm 0,016 y 1,0 mg/L \pm 0,029 con un 95% de confianza (k=2). Lo anterior teniendo en cuenta las fuentes de incertidumbre combinadas para métodos colorimétricos.

9. CONCLUSIONES

1. Las técnicas analíticas para la determinación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso se estandarizaron en el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM) utilizando una metodología analítica basada en colorimetría por absorción molecular UV-Vis (Método de la Fenantrolina). Durante este proceso se determinaron las cifras analíticas de mérito y estimó la incertidumbre asociada a la medición de estos parámetros.

2. Durante el proceso de estandarización, se confirmó que las variables literarias (longitud de onda de máxima absorción y estabilidad de la señal con respecto al tiempo) coinciden con las reportadas y corresponden a:

Longitud de onda de máxima absorción: 510 nm.

Estabilidad de la señal con respecto al tiempo para hierro total: 10-13 min.

Estabilidad de la señal con respecto al tiempo para hierro disuelto: 10-13 min.

Estabilidad de la señal con respecto al tiempo para hierro ferroso: 5-10 min.

3. Se determinaron las cifras analíticas de mérito para los parámetros bajo estudio y se estableció que los métodos cumplen con los valores de calidad establecidos por la literatura. En otras palabras, los métodos para la identificación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso son lineales, precisos y exactos en los intervalos de concentración valorados.

4. Para la cuantificación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso se obtuvieron coeficientes de correlación y determinación superiores a 0,990 y 0,980 respectivamente; lo cual se traduce en una relación lineal entre las variables cuantitativas estudiadas (Concentración vs. Respuesta del instrumento) para los métodos estandarizados.
5. Se determinaron teóricamente los LDM y LCM y se demostró que las mínimas concentraciones detectables y cuantificables para los métodos hierro total son 0,046 mg/L y 0,110 mg/L; hierro disuelto 0,029 mg/L y 0,095 mg/L; hierro ferroso 0,033 mg/L y 0,091 mg/L). El LCM experimental para los parámetros bajo estudio es de 0,2 mg/L debido a la alta precisión del patrón.
6. Se realizaron procedimientos de estandarización con porcentajes de error y coeficientes de variación menores al 10%, es decir, los métodos resultan precisos y adecuados para el proceso de acreditación de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso en el laboratorio CEIAM.
7. Las recuperaciones alcanzadas con patrones de concentración conocida (0,5 y 2,0 mg/L), en los métodos espectrofotométricos estandarizados se encuentran entre el 80-120%, es decir, cumplen con los criterios establecidos por la literatura y son adecuados para la determinación de hierro total (98,52-105,3%), hierro disuelto (93,79-107,4%) y hierro ferroso (89,69-109,2%) en agua natural, potable y residual (doméstica y no doméstica).

8. Se estimaron las incertidumbres para los métodos estandarizados con patrones de concentración 0,2 y 1,0 mg/L, necesarias para reportar el grado de certeza en los resultados de medición y de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana NTC-ISO/IEC 17025, Capítulo 5.4.6. Estimación de la incertidumbre de la medición.

9. El método analítico hierro ferroso presenta porcentajes de error y coeficientes de variación menores con respecto a los métodos de hierro total y hierro disuelto; esto puede ser debido a que en el proceso para su determinación no es necesario realizar digestión, lo que a su vez disminuye errores aleatorios durante el procedimiento. Por tal razón, también se consideró oportuno realizar siete curvas de calibración.

10. RECOMENDACIONES

1. Implementar nuevos parámetros en el laboratorio de Centro de Estudios Investigaciones Ambientales (CEIAM) con objeto de caracterizar nuevos contaminantes de aguas y obtener más cobertura de clientes.
2. Evaluar para los métodos hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso la máxima longitud de onda y la estabilidad del complejo con respecto al tiempo para todos los estándares establecidos en la curva de calibración.
3. Realizar los métodos analíticos hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso por el método de absorción atómica con el fin de determinar y comparar el elemento metálico en precisión, exactitud, sensibilidad e incertidumbre.

BIBLIOGRAFÍA

Accuracy and Precision. {En línea}. {24 marzo de 2017}. Disponible en: <https://www.ncsu.edu/labwrite/Experimental%20Design/accuracyprecision.htm>.

AGUA. DETERMINACIÓN DE HIERRO. MÉTODO DE LA FENANTROLINA. Norma Venezolana. COVENIN 2120-84. {En línea}. {16 octubre de 2016}. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2120-84.pdf>.

ÁLVAREZ GÓMEZ, Agustín, *et al.* Metales pesados en el agua superficial del río San Pedro durante 1997 y 1999. En: Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Vol. 20, (2004); p. 2-3.

ARDILA ANTONILES, Jhon Alexander y LÓPEZ ARROYO, Diego Andrés. Implementación y estandarización de los métodos para evaluar las características corrosivas e inflamables de residuos químicos peligrosos en el laboratorio del centro de estudios e investigaciones ambientales (CEIAM) de la Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, 2012, 19p. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

BAHAMÓN LEAL, Karol Vanessa. Estandarización de tres métodos de análisis para la determinación de nitrógeno amoniacal, acidez y flotantes utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales, potables y residuales industriales. Bucaramanga, 2014, 19-20p. Pasantía de investigación. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

BANDEMER, Selma y SCHAIBLE, P. J. Determination of iron. A study of the o-phenanthroline method. En: Analytical Chemistry. Vol. 16, (May.1944); p. 317-319.

BARRY, Carly. Accuracy Versus Precision: What's the difference. En: NOAA. (Jul.2012).

CALPE SANTOS, Raquel. Cómo y cuánto contamina la industria. En: Ambienta (2002); p.31.

CAMARGO, J.A.; ALONSO, A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. En: Revista científica de ecología y medio ambiente. (May.2007); p. 98.

CARTER, Paul. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). En: Analytical Biochemistry. Vol. 40, (Abr.1971); p. 450-458.

CÓDIGO NACIONAL DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES Y DE PROTECCIÓN AL MEDIO AMBIENTE. {En línea}. {9 octubre de 2017}. Disponible en: (<http://www.eird.org/cdforo regional/pdf/spa/doc1535/doc1535-1.pdf>).

DELGADO ALAMILLA, Horacio, *et al.* ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN MÉTODOS DE ENSAYOS DE CONSTRUCCIÓN. Marco normativo para la

estimación de la incertidumbre, en laboratorios de ensayo. Publicación Técnica, 2005; p 7.

DÍAZ DE SANTOS. Introducción General. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES: LÍMITES DE ACEPTACIÓN PARA MUESTRAS DUPLICADAS Y ADICIONES CONOCIDAS SOBRE AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES. 17th Ed. 1992. 1-9p.

DÍAZ DE SANTOS. Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales: 3500- Fe D. Método de la Fenantrolina. 17th Ed. 1992; 3-115 – 3-120p.

GÓMEZ PEREIRA, July Paola. Estandarización de cuatro métodos de análisis para la determinación de la alcalinidad total, dureza total, dureza cálcica y cloruros utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales, potables y residuales industriales. Bucaramanga, 2013, 26-28p. Pasantía de investigación. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias.

GUÍA DE ANÁLISIS MEDIANTE MÉTODOS DE ESPECTROMETRÍA MOLECULAR EN EL UV-VISIBLE: Determinación de hierro como complejo con o-fenantrolina. 2013. Universidad Central de Venezuela. Escuela de Química. p. 5-7.

HASE, Ushio y YOSHIMURA, Kazuhisa. Determination of trace amounts of iron in highly purified water by ion-exchanger phase absorptiometry combined with flow analysis. En: Royal Society of Chemistry. Vol. 117, (1992), p. 1501-1506.

HOWARD, Alan. 4. Metal complexes in solution. En: Aquatic Environmental Chemistry. (1998); p. 37.

HULBURT, E. M. y RODMAN, I. 5. Minor Nutrients. En: *Advances in Ecological Research*. Vol. 3, (1996); p 138-140.

LIU, Ren-Min; LIU, Dao-Jie y SUN, Ai-Ling. Studies on the application of photochemical reactions in a flow injection system. Part 2. Simultaneous determination of iron(II) and iron (III) based on the photoreduction of the iron(III)-phenanthroline complex. En: *Royal Society of Chemistry*. (1992), p. 1767-1770.

LÓPEZ VALENCIA, Juan Pablo. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. Pereira, 2008, 18-19p. Trabajo de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Programa de Tecnología Química.

LUNVONGSA, S.; OSHIMA, M. y MOTOMIZU, S. Determination of total and dissolved amount of iron in water samples using catalytic spectrophotometric flow injection analysis. En: *Talanta*. (Ene.2006); p. 969-973.

MAROTO, Alicia, *et al.* ESTRATEGIAS PARA EL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE. {En línea}. {11 abril de 2017}. 1-3p. Disponible en: <http://www.quimica.urv.cat/quimio/general/estinc.pdf>.

MENÉNDEZ GARCÍA, Diana Virginia; MENÉNDEZ GARCÍA, Melgar Santiago y MENÉNDEZ GARCÍA, Guillermo Ernesto. Validación del método espectrofotométrico (3500 Fe-D) de la fenantrolina para la determinación de hierro

total en agua potable. El Salvador, 2012, 49-84p. Trabajo de grado. Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia.

MILLER, James y MILLER, Jane. Estadística y Quimiometría para Química Analítica: 1.3. Tipos de Error. 4ta Ed. España: 2002. 3-4p.

MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. RESOLUCIÓN NÚMERO 2115. 2007.

MOLINA GUEVARA, Silvia Juliana. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitritos, compuestos fenólicos y, aceites y grasas utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Bucaramanga, 2010, 25p. Pasantía de investigación. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias.

MOLINA ULLOA, Sebastián y PÉREZ CORRALES, Cristian. Evaluación del cumplimiento de los requisitos de gestión de la norma INTE-ISO/IEC 17025:2005 en la División de Biología Molecular Diagnóstica del Laboratorio Clínico del Hospital de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera". San José, 2009, 9p. Trabajo de grado. Instituto Centroamericano de administración pública ICAP.

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA 17025. REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y CALIBRACIÓN. Primera actualización. ICONTEC, 2005.

PACHECO ÁVILA, Julia; CABRERA SANSORES, Armando y PÉREZ CEBALLOS, Rosela. Diagnóstico de la calidad del agua subterránea en los sistemas municipales de abastecimiento en el Estado de Yucatán, México. En: Ingeniería. (2004); p. 167.

PEHKONEN, Simo. Determination of the oxidation states of iron in Natural Waters. A review. En: Royal Society of Chemistry. Vol. 120, (Nov.1995); p. 2655-2663.

PÉREZ HERNÁNDEZ, María Mar. Estimación de incertidumbres. Guía GUM. En: Revista Española de Metrología. (Dic.2012); p. 114.

PICKERING, W.F. Química analítica moderna: Medición de la absorbancia, 1980. 171p.

Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Management of Chemical Hazards. Washington, D.C: 2001. 2-6p.

RICE, Eugene, *et al.* Standard Methods For the Examinations of Water and Wastewater: 3500-Fe IRON*. 22nd Ed. 2012.3-78–3-80p.

ROLDÁN PÉREZ, Gabriel. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia: Introducción. 1 Ed. Medellín: 2003. xv-xvip.

SCHMID, Wolfgang y LAZOS, Ruben. GUÍA PARA ESTIMAR LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN: Identificación de las fuentes de incertidumbre. México, 2002. 7p.

STOOKEY, Stookey. Ferrozine---A new spectrophotometric reagent for iron. En: analytical chemistry. Vol. 42, (Jun.1970); p. 779-781.

THOMAS, Robert. How to Select and ICP-Mass Spectrometer: Some Important Analytical Considerations. En: Scientific Solutions. Vol. 28, (Nov.2013); 266p.

VEGA RODRÍGUEZ, Guillermo. COMISIÓN DE CONTROL ANALÍTICO Y AMPLIACIÓN DE COBERTURA. CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS. Secretaría de Salud, 2011.

VESSMAN, Jörgen, *et al.* Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations 2001). En: The Scientific Journal of IUPAC. Vol. 73, (Ago.2001); p. 1381-1386.

VILLAMIZAR VILLABONA, María Paula. Estandarización de métodos analíticos usados para el análisis de aguas, en el Laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM). Bucaramanga, 2008, 19p. Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander. Facultad de ciencias.

ANEXOS

Anexo 1. Lavado del material de vidrio.

El correcto lavado del material de laboratorio es indispensable para la realización de cualquier trabajo, por lo que se considera necesario mantenerlo limpio y seco antes de cada operación. Durante la estandarización de hierro total, hierro disuelto y hierro ferroso se llevó a cabo la limpieza teniendo en cuenta los siguientes pasos:

1. Lavar el material con abundante agua de grifo.
2. Preparar una solución de jabón Extran neutral al 5%.
3. Sumergir el material en la solución durante 30 minutos.
4. Remover la suciedad con ayuda de un churrusco.
5. Enjuagar con abundante agua de grifo.
6. Sumergir el material en una solución de HCl 10% durante 30 minutos.
7. Enjuagar con abundante agua de grifo.
8. Enjuagar con agua destilada.

Anexo 2. Soluciones preparadas de reactivos.

Parámetro	Reactivo	Preparación
Hierros	Hidroxilamina	Disolver 10 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 100 mL de agua destilada
	Fenantrolina	Disolver 100 mg de monohidrato de 1,10-fenantrolina $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, en 100 mL de agua destilada por agitación y calentamiento a 80 °C. No hervir. El calentamiento es innecesario si se añaden al agua dos gotas de HCl conc.
	Solución tampón de acetato de amonio	Disolver 250 g de $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ en 150 mL de agua destilada. Añadir 700 mL de ácido acético conc. (glacial)
Hierro total/disuelto	Solución patrón 5 mg/L	Disolver 5 mL de Iron standard solution 1000 mg/L Fe en 1000 mL de agua destilada
Hierro ferroso	Solución patrón 1000 mg/L	Disolver 7 g de Iron (II) ammonium sulphate en 1000 mL de agua destilada
	Solución patrón 5 mg/L	Disolver 5 mL de solución patrón 1000 mg/L en 1000 mL de agua destilada

Anexo 3. Determinación de la linealidad.

La linealidad del método define la aptitud para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito, se realiza a partir de la curva de calibración que se obtiene del promedio para cada uno de los parámetros y se expresa como:

$$y = ax + b$$

Donde:

y = Absorbancia obtenida por el espectrofotómetro.

a = Pendiente de la curva de calibración promedio.

x = Concentración del analito de interés.

b = Intercepto de la curva de calibración promedio.

La interpretación estadística de la regresión lineal se realiza a través de:

- Coeficiente de correlación (r): Establecen la relación que existe entre las variables evaluadas; 1 indica una recta perfectamente lineal, -1 indica una recta perfectamente lineal negativa, 0 indica que no hay correlación entre las variables.
- Coeficiente de determinación (r^2): Medida relativa del grado de asociación lineal.

Anexo 4. Determinación del coeficiente de variación.

El CV es una medida de la variabilidad de un conjunto de datos, conocido también como desviación estándar relativa (DER), se expresa en porcentaje (%) y se define como:

$$CV = \frac{s}{x_{\text{prom}}} * 100$$

Donde:

x_{prom} = Valor promedio de un conjunto de datos.

s = Desviación estándar del conjunto de datos.

Anexo 5. Determinación del límite de detección del método.

Para determinar el LDM se utiliza la ecuación:

$$\text{LDM} = y_1 + 3s$$

Donde:

y_1 = Concentración promedio de los blancos del método.

s = Desviación estándar de los blancos del método.

Anexo 6. Determinación del límite de cuantificación del método.

Para determinar el LCM se utiliza la ecuación:

$$\text{LCM} = y_1 + 10s$$

Donde:

y_1 = Concentración promedio de los blancos del método.

s = Desviación estándar de los blancos del método.

Anexo 7. Evaluación de los gráficos de control.

La identificación de una variante por causas especiales indica que el proceso no es estable o que necesita una acción correctiva, en consecuencia se determinan límites de control (superior e inferior) que se determinan de acuerdo a las ecuaciones:

- Promedio:

$$x_{prom} = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$$

Donde:

x_i = Valor independiente de cada observación.

n = número de observaciones.

- Límite de aviso (LA):
 $LA = x_{prom} \pm 2s$
- Límite de control (LC):
 $LC = x_{prom} \pm 3s$
- Límite de aviso superior (LAS):
 $LAS = x_{prom} + 2s$; 95% confianza.
- Límite de aviso inferior (LAI):
 $LAI = x_{prom} - 2s$; 95% confianza.
- Límite de control superior (LCS):
 $LCS = x_{prom} + 3s$; 99,7% confianza.
- Límite de control inferior (LCI):
 $LCI = x_{prom} - 3s$; 99,7% confianza.

Anexo 8. Evaluación de la exactitud.

La determinación de la exactitud se realiza a través del método de recuperación para cada uno de los parámetros bajo estudio, se evalúa por medio de los criterios estadísticos:

- Porcentaje de recuperación (%R):

Las concentraciones obtenidas experimentalmente de las muestras de aguas enriquecidas se comparan con sus respectivos valores teóricos y se calculan de acuerdo a las ecuaciones:

$$C_{teórica} = \frac{(C_m * V_m) + (C_a * V_a)}{V_T}$$

Donde:

$C_{teórica}$ = Concentración teórica.

C_m = Concentración de la muestra.

V_m = Volumen de la muestra.

C_a = Concentración del adicionado.

V_a = Volumen del adicionado.

V_T = Volumen total.

$$\%R = \frac{\text{Concentración experimental}}{\text{Concentración teórica}} * 100$$

Anexo 9. Estimación de las posibles fuentes de incertidumbre.

La incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mensurado. Las fuentes de incertidumbre para los métodos colorimétricos son principalmente:

- **Repetibilidad:** Posible fuente de incertidumbre que es calculada a partir de la desviación estándar, se obtiene por medio de la medición repetida del

material de referencia certificado empleado para la estandarización. La repetibilidad ($u_{(rep)}$) para un patrón de concentración conocida se determina por:

$$u_{(rep)} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Donde:

s = Desviación estándar.

n = Número de repeticiones.

- **Curvas de calibración:** Se realiza de acuerdo con el ajuste de mínimos cuadrados del sistema, se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$u(C_o) = \frac{s}{a} * \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_o - C)^2}{S_{xx}}}$$

Donde:

a = Pendiente de curva de calibración promedio.

p = Número de mediciones o curvas para determinar C_o .

n = Número total de mediciones realizadas para la curva de calibración.

C_o = Concentración medida.

C = Promedio de los patrones de calibración utilizados en la curva de calibración.

s = Desviación estándar de los residuales.

S_{xx} = Desviación estándar de la curva de calibración.

Se calculan como:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n A_j - (b + aC_j)^2}{n - 2}}$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (c_j - c)^2$$

Donde:

s = Desviación estándar de los residuales.

A = Absorbancia obtenida por el instrumento de los estándares.

b = Ordenada al origen de la recta ajustada del equipo.

j = Índice del número de mediciones para obtener la curva de calibración.

S_{xx} = suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas.

- **Material de referencia certificado:** Al preparar soluciones a partir de un material de referencia certificado (patrón 1000 mg/L), la fuente de incertidumbre se calcula a partir de la siguiente expresión donde se tiene en cuenta la incertidumbre reportada por el fabricante del material y la incertidumbre de las diluciones para preparar la curva de calibración.

$$u_{MRC} = c_0 \sqrt{IERMRC^2 + IERfd1^2 + IERfd2^2}$$

Anexo 10. Estimación de la incertidumbre combinada/expandida.

La incertidumbre combinada (u_c) se calcula teniendo en cuenta y después de determinar las incertidumbres estándar de forma independiente para cada parámetro bajo estudio.

$$u_c = \sqrt{u_A^2 + u_{B.EXACTITUD}^2 + u_{B.RESOLUCIÓN}^2 + \dots +}$$

Provee un intervalo dentro del cual se cree que el valor verdadero de la cantidad medida se encuentra ubicado, con un nivel de confianza más alto.²⁵ U se obtiene a partir de:

$$U = k * u_c$$

Donde:

k = Factor de cobertura, generalmente igual a 2 (95% confianza).

u_c = Incertidumbre estándar.

Anexo 11. Curvas de calibración para hierro total.

Conc.	Respuesta de instrumento (Absorbancia)									
(mg/L)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6	Curva 7	Curva 8	Curva 9	Curva 10
0,2	0,037	0,040	0,039	0,041	0,041	0,040	0,035	0,041	0,044	0,036
0,5	0,097	0,103	0,101	0,106	0,092	0,098	0,097	0,104	0,098	0,103
1,0	0,205	0,208	0,206	0,205	0,197	0,192	0,189	0,212	0,206	0,209
2,0	0,411	0,397	0,408	0,416	0,411	0,421	0,412	0,416	0,418	0,393
3,0	0,597	0,617	0,620	0,631	0,617	0,628	0,613	0,621	0,629	0,605
Pendiente	0,2012	0,2040	0,2069	0,2102	0,2079	0,2122	0,2078	0,2069	0,2104	0,2005
Intercepto	-0,0002	-0,0003	-0,0025	-0,0019	-0,0070	-0,0085	-0,0093	0,0015	-0,0029	0,0005
Coef. correlación	0,9996	0,9996	0,9999	0,9999	0,9998	0,9996	0,9997	0,9999	0,9999	0,9996
Coef. determinación	0,9993	0,9993	0,9999	0,9999	0,9996	0,9992	0,9994	0,9999	0,9998	0,9992

Anexo 12. Evaluación de la linealidad y sensibilidad para hierro total.

Intervalo de respuesta lineal				
Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10 ⁻²)	Coficiente de variación (%)	Factor respuesta (x/y)
0,2	0,039	0,272	0,069	0,195
0,5	0,100	0,422	0,042	0,200
1,0	0,203	0,761	0,037	0,203
2,0	0,410	0,897	0,022	0,205
3,0	0,618	1,075	0,017	0,206
Linealidad y sensibilidad				
Parámetro	Valor experimental	Criterio de aceptación		
Ecuación de recta	$y=0,2068x-0,0031$	$y=ax+b$		
Coef. correlación (r)	1,0000	$\geq 0,990$		
Coef. determinación (r ²)	1,0000	$\geq 0,980$		
Promedio de factores de rta	0,2018	-		
Desviación estándar de factores de rta	0,0044	-		
Pendiente (a)	0,2068	-		
Desviación estándar de a	0,0044	-		
Intercepto (b)	-0,0031	-		
Desviación estándar de b	0,0039	-		

Anexo 13. Blancos de reactivo para hierro total.

N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)	N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)
1	-0,002	0,005	11	0,001	0,020
2	0,000	0,015	12	0,000	0,015
3	-0,001	0,010	13	-0,001	0,010
4	0,000	0,015	14	0,005	0,039
5	0,000	0,015	15	0,001	0,020
6	0,005	0,039	16	-0,002	0,005
7	0,000	0,015	17	0,000	0,015
8	0,000	0,015	18	0,000	0,015
9	0,001	0,020	19	0,003	0,029
10	0,003	0,029	20	0,001	0,020
Promedio					0,018
Desviación estándar					0,009

Anexo 14. Precisión del sistema instrumental para hierro total.

N.	Concentración 0,2 mg/L	N.	Concentración 0,2 mg/L
1	0,213	11	0,194
2	0,218	12	0,204
3	0,228	13	0,213
4	0,213	14	0,179
5	0,223	15	0,233
6	0,199	16	0,223
7	0,237	17	0,204
8	0,233	18	0,199
9	0,208	19	0,194
10	0,199	20	0,228
Promedio			0,212
%error			6,050

Anexo 15. Valores de gráfico de control para hierro total.

N.	Concentración 0,5 mg/L	N.	Concentración 0,5 mg/L
1	0,479	11	0,513
2	0,484	12	0,489
3	0,513	13	0,479
4	0,513	14	0,474
5	0,503	15	0,503
6	0,489	16	0,513
7	0,513	17	0,513
8	0,470	18	0,484
9	0,532	19	0,532
10	0,518	20	0,503
Promedio			0,501
%error			0,170

Anexo 16. Precisión de método y exactitud para hierro total.

Agua Potable (mg/L)	0,121	0,107	0,131	0,126	0,121	0,117	0,107	0,126	0,131	0,107
	0,131	0,131	0,112	0,107	0,131	0,114	0,123	0,112	0,131	0,122
Potable + Patrón 0,5 mg/L	0,130	0,128	0,145	0,127	0,141	0,138	0,139	0,127	0,135	0,139
	0,141	0,130	0,133	0,138	0,149	0,135	0,127	0,135	0,139	0,143
%R	94,20	92,75	105,1	92,03	102,2	100,0	100,7	92,03	97,83	100,7
	102,2	94,20	96,38	100,0	108,0	97,83	92,03	97,83	100,7	103,6
Potable + Patrón 2,0 mg/L	0,198	0,211	0,219	0,197	0,199	0,186	0,212	0,215	0,197	0,197
	0,220	0,217	0,188	0,221	0,200	0,189	0,209	0,219	0,225	0,223

%R	94,29	100,5	104,3	93,81	94,76	88,57	101,0	102,4	93,81	93,81
	104,8	103,3	89,52	105,2	95,24	90,00	99,52	104,3	107,1	106,2
Agua Natural (mg/L)	1,417	1,427	1,461	1,383	1,398	1,388	1,427	1,427	1,398	1,437
	1,403	1,408	1,461	1,398	1,427	1,333	1,410	1,422	1,427	1,398
Natural + Patrón 0,5 mg/L	1,380	1,378	1,355	1,354	1,360	1,389	1,346	1,400	1,369	1,335
	1,381	1,379	1,344	1,391	1,403	1,406	1,333	1,399	1,355	1,364
%R	100,8	100,7	98,98	98,90	99,34	101,5	98,32	102,3	100,0	97,52
	100,9	100,7	98,17	101,6	102,5	102,7	97,37	102,2	98,98	99,63
Natural + Patrón 2,0 mg/L	1,471	1,488	1,425	1,391	1,388	1,444	1,499	1,363	1,335	1,399
	1,468	1,495	1,476	1,515	1,476	1,434	1,409	1,351	1,359	1,407
%R	102,2	103,3	98,96	96,60	96,39	100,3	104,1	94,65	92,71	97,15
	101,9	103,8	102,5	105,2	102,5	99,58	97,85	93,82	94,38	97,71
Agua Residual (mg/L)	1,202	1,216	1,232	1,218	1,214	1,217	1,227	1,205	1,229	1,213
	1,223	1,237	1,227	1,229	1,234	1,217	1,226	1,217	1,227	1,228
Residual + Patrón 0,5 mg/L	1,245	1,256	1,248	1,245	1,259	1,256	1,223	1,236	1,261	1,246
	1,261	1,256	1,245	1,261	1,265	1,281	1,256	1,248	1,236	1,245
%R	104,8	105,7	105,1	104,8	106,0	105,7	102,9	104,0	106,1	104,9
	106,1	105,7	104,8	106,1	106,5	107,8	105,7	105,1	104,0	104,8
Residual + Patrón 2,0 mg/L	1,291	1,309	1,295	1,313	1,318	1,328	1,305	1,327	1,295	1,311
	1,313	1,308	1,313	1,318	1,328	1,295	1,295	1,329	1,320	1,291
	102,5	104,0	102,9	104,3	104,7	105,5	103,7	105,4	102,9	104,1

%R	104,3	103,9	104,3	104,7	105,5	102,9	102,9	105,6	104,8	102,5
----	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Anexo 17. Incertidumbre por repetibilidad para hierro total.

MRC lectura	0,2 mg/L	1,0 mg/L
1	0,194	1,006
2	0,208	1,021
3	0,204	1,011
4	0,213	1,006
5	0,213	0,968
6	0,208	0,943
7	0,184	0,929
8	0,213	1,040
9	0,228	1,011
10	0,189	1,026
Desviación estándar	0,013	0,037
$U_{(rep)}$	0,004	0,012
IER_{REP}	0,020	0,012

Anexo 18. Incertidumbre por curva de calibración para hierro total.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$U_{(Co)}$	0,013	0,012
$U_{(ier Co)}$	0,065	0,012

Anexo 19. Incertidumbre por material certificado para hierro total.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$U_{(MRC)}$	0,001	0,003
$U_{(IER MRC)}$	0,003	0,003

Anexo 20. Curvas de calibración para hierro disuelto.

Conc.	Respuesta de instrumento (Absorbancia)									
(mg/L)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6	Curva 7	Curva 8	Curva 9	Curva 10
0,2	0,041	0,040	0,043	0,047	0,045	0,043	0,045	0,037	0,032	0,041
0,5	0,108	0,106	0,110	0,101	0,097	0,104	0,105	0,102	0,100	0,105
1,0	0,208	0,184	0,209	0,205	0,219	0,214	0,217	0,209	0,207	0,203
2,0	0,428	0,418	0,425	0,430	0,402	0,404	0,426	0,428	0,421	0,420
3,0	0,600	0,594	0,620	0,630	0,625	0,622	0,632	0,624	0,630	0,627
Pendiente	0,2015	0,2004	0,2066	0,2111	0,2062	0,2052	0,2103	0,2107	0,2133	0,2097
Intercepto	0,0070	-0,0002	0,0046	-0,0003	0,0012	0,0024	0,0032	-0,0024	-0,0078	-0,0018
Coef. correlación	0,9988	0,9985	0,9998	0,9997	0,9992	0,9997	0,9999	0,9997	0,9999	0,9999
Coef. determinación	0,9977	0,9970	0,9996	0,9994	0,9984	0,9994	0,9999	0,9995	0,9999	0,9999

Anexo 21. Evaluación de la linealidad y sensibilidad para hierro disuelto.

Intervalo de respuesta lineal				
Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10 ⁻²)	Coefficiente de variación (%)	Factor respuesta (x/y)
0,2	0,041	0,438	0,106	0,205
0,5	0,104	0,388	0,037	0,208
1,0	0,208	0,971	0,047	0,208
2,0	0,420	0,985	0,023	0,210
3,0	0,620	1,296	0,021	0,207
Linealidad y sensibilidad				
Parámetro	Valor experimental	Criterio de aceptación		
Ecuación de recta	$y=0,2075x+0,0006$	$y=ax+b$		
Coef. correlación (r)	0,9999	$\geq 0,990$		
Coef. determinación (r ²)	0,9999	$\geq 0,980$		
Promedio de factores de rta	0,2076	-		
Desviación estándar de factores de rta	0,0018	-		
Pendiente (a)	0,2075	-		
Desviación estándar de a	0,0043	-		
Intercepto (b)	0,0006	-		
Desviación estándar de b	0,0041	-		

Anexo 22. Blancos de reactivo para hierro disuelto.

N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)	N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)
1	-0,001	-0,008	11	0,002	0,007
2	0,000	-0,003	12	0,000	-0,003
3	-0,002	-0,013	13	0,000	-0,003
4	0,000	-0,003	14	0,000	-0,003
5	0,001	0,002	15	-0,001	-0,008
6	0,000	-0,003	16	0,000	-0,003
7	0,007	0,031	17	0,003	0,012
8	0,000	-0,003	18	0,002	0,007
9	0,003	0,012	19	-0,001	-0,008
10	0,000	-0,003	20	0,001	0,002
Promedio					0,001
Desviación estándar					0,010

Anexo 23. Precisión del sistema para hierro disuelto.

N.	Concentración 0,2 mg/L	N.	Concentración 0,2 mg/L
1	0,204	11	0,151
2	0,185	12	0,190
3	0,195	13	0,200
4	0,190	14	0,185
5	0,175	15	0,195
6	0,171	16	0,219
7	0,224	17	0,190
8	0,214	18	0,195
9	0,209	19	0,204
10	0,204	20	0,200
Promedio			0,195
%error			2,530

Anexo 24. Valores de gráfico de control para hierro disuelto.

N.	Concentración 0,5 mg/L	N.	Concentración 0,5 mg/L
1	0,518	11	0,522
2	0,503	12	0,469
3	0,508	13	0,450
4	0,479	14	0,518
5	0,527	15	0,527
6	0,489	16	0,508
7	0,460	17	0,465
8	0,465	18	0,503
9	0,503	19	0,518
10	0,498	20	0,479
Promedio			0,496
%error			0,910

Anexo 25. Precisión de método y exactitud para hierro disuelto.

Agua Potable (mg/L)	0,045	0,012	0,026	0,031	0,045	0,026	0,021	0,021	0,012	0,055
	0,012	0,016	0,029	0,026	0,040	0,012	0,021	0,023	0,013	0,028
Potable + Patrón 0,5 mg/L	0,046	0,045	0,041	0,049	0,043	0,045	0,045	0,046	0,045	0,041
	0,048	0,047	0,045	0,041	0,049	0,045	0,043	0,045	0,042	0,045
%R	95,83	93,75	85,42	102,1	89,58	93,75	93,75	95,83	93,75	85,42
	100,0	97,92	93,75	85,42	102,1	93,75	98,58	93,75	87,50	93,75
Potable + Patrón 2,0 mg/L	0,130	0,126	0,122	0,126	0,117	0,122	0,116	0,115	0,116	0,121
	0,128	0,113	0,116	0,116	0,122	0,130	0,118	0,115	0,116	0,125

%R	108,3	105,0	101,7	105,0	97,50	101,7	96,67	95,83	96,67	100,8
	106,7	94,17	96,67	96,67	101,7	108,3	98,33	95,83	96,67	104,2
Agua Natural (mg/L)	0,122	0,113	0,118	0,118	0,113	0,113	0,122	0,108	0,137	0,127
	0,122	0,117	0,108	0,118	0,120	0,113	0,108	0,126	0,114	0,122
Natural + Patrón 0,5 mg/L	0,140	0,132	0,135	0,137	0,129	0,139	0,125	0,135	0,133	0,133
	0,138	0,141	0,144	0,133	0,130	0,132	0,146	0,125	0,144	0,129
%R	102,9	97,06	99,26	100,7	94,85	102,2	91,91	99,26	97,79	97,79
	101,5	103,7	105,9	97,79	95,59	97,06	107,35	91,91	105,9	94,85
Natural + Patrón 2,0 mg/L	0,220	0,220	0,199	0,200	0,199	0,197	0,196	0,226	0,201	0,200
	0,199	0,198	0,223	0,228	0,194	0,198	0,199	0,220	0,226	0,210
%R	105,8	105,8	95,67	96,15	95,67	94,71	94,23	108,7	96,63	96,15
	95,67	95,19	107,2	109,6	93,27	95,19	95,67	105,8	108,7	101,0
Agua Residual (mg/L)	0,050	0,050	0,049	0,050	0,050	0,058	0,060	0,036	0,045	0,045
	0,050	0,045	0,040	0,050	0,055	0,040	0,040	0,045	0,045	0,050
Residual + Patrón 0,5 mg/L	0,073	0,071	0,072	0,078	0,071	0,074	0,073	0,073	0,072	0,079
	0,070	0,071	0,079	0,080	0,071	0,077	0,074	0,073	0,080	0,071
%R	105,8	102,9	104,4	113,0	102,9	107,3	105,8	105,8	104,4	114,5
	101,5	102,9	114,5	115,9	102,9	111,6	107,3	105,8	115,9	102,9
Residual + Patrón 2,0 mg/L	0,144	0,150	0,140	0,146	0,141	0,140	0,144	0,145	0,145	0,148
	0,144	0,146	0,144	0,150	0,140	0,141	0,143	0,144	0,141	0,149
	102,1	106,4	99,29	103,6	100,0	99,29	102,1	102,8	102,8	105,0

%R	102,1	103,6	102,1	106,4	99,29	100,0	101,4	102,1	100,0	105,7
----	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Anexo 26. Incertidumbre por repetibilidad para hierro disuelto.

MRC lectura	0,2 mg/L	1,0 mg/L
1	0,195	1,000
2	0,190	0,884
3	0,204	1,004
4	0,224	0,985
5	0,214	1,053
6	0,204	1,028
7	0,214	1,043
8	0,175	1,004
9	0,151	0,995
10	0,195	0,975
Desviación estándar (s)	0,021	0,047
$u_{(rep)}$	0,007	0,015
IER_{REP}	0,034	0,015

Anexo 27. Incertidumbre por curva de calibración para hierro disuelto.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$u_{(Co)}$	0,016	0,015
$u_{(ier Co)}$	0,083	0,015

Anexo 28. Incertidumbre por material de referencia para hierro disuelto.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$u_{(MRC)}$	0,001	0,003
$u_{(IER MRC)}$	0,003	0,003

Anexo 29. Curvas de calibración para hierro ferroso.

Conc.	Respuesta del instrumento (Absorbancia)						
(mg/L)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6	Curva 7
0,1	0,010	0,010	0,010	0,009	0,009	0,009	0,009
0,2	0,020	0,019	0,020	0,020	0,020	0,019	0,019
0,5	0,049	0,049	0,050	0,049	0,049	0,049	0,049
1,0	0,101	0,099	0,100	0,099	0,100	0,099	0,100
2,0	0,200	0,195	0,196	0,201	0,199	0,197	0,200
3,0	0,302	0,299	0,296	0,303	0,303	0,296	0,298
4,0	0,398	0,399	0,400	0,402	0,399	0,404	0,397
Pendiente	0,0999	0,0998	0,0994	0,1009	0,1003	0,1005	0,0995
Intercepto	0,0002	-0,0011	-0,0003	-0,0010	-0,0006	-0,0018	-0,0004
Coef. correlación	0,9999	0,9999	0,9999	1,0000	0,9999	0,9999	1,0000
Coef. determinación	0,9999	0,9999	0,9999	1,0000	0,9999	0,9998	1,0000

Anexo 30. Evaluación de linealidad y sensibilidad para hierro ferroso.

Intervalo de respuesta lineal				
Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio	Desviación estándar (10 ⁻³)	Coficiente de variación (%)	Factor respuesta (x/y)
0,1	0,009	0,535	0,057	0,090
0,2	0,020	0,535	0,027	0,100
0,5	0,049	0,378	0,008	0,098
1,0	0,100	0,756	0,008	0,100
2,0	0,198	2,289	0,012	0,099
3,0	0,300	3,101	0,010	0,100
4,0	0,400	2,410	0,006	0,100

Linealidad y sensibilidad		
Parámetro	Valor experimental	Criterio de aceptación
Ecuación de recta	$y=0,1001x-0,0007$	$y=ax+b$
Coef. correlación (r)	1,0000	$\geq 0,990$
Coef. determinación (r ²)	1,0000	$\geq 0,980$
Promedio de factores de rta	0,0978	-
Desviación estándar de factores de rta	0,0039	-
Pendiente (a)	0,1001	-
Desviación estándar de a	0,0026	-
Intercepto (b)	-0,0007	-
Desviación estándar de b	0,0031	-

Anexo 31. Blancos de reactivo para hierro ferroso.

N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)	N.	Absorbancia	Concentración (mg/L)
1	0,000	0,007	11	0,001	0,017
2	0,000	0,007	12	0,000	0,007
3	0,001	0,017	13	-0,001	-0,003
4	0,000	0,007	14	0,000	0,007
5	0,002	0,027	15	0,000	0,007
6	0,000	0,007	16	0,002	0,027
7	-0,001	-0,003	17	0,000	0,007
8	0,000	0,007	18	-0,001	-0,003
9	0,000	0,007	19	-0,001	-0,003
10	0,000	0,007	20	0,000	0,007
Promedio					0,008
Desviación estándar					0,008

Anexo 32. Precisión del sistema instrumental para hierro ferroso.

N.	Concentración 0,2 mg/L	N.	Concentración 0,2 mg/L
1	0,197	11	0,207
2	0,207	12	0,187
3	0,197	13	0,207
4	0,187	14	0,197
5	0,207	15	0,197
6	0,197	16	0,207
7	0,207	17	0,217
8	0,217	18	0,197
9	0,197	19	0,217
10	0,207	20	0,187
Promedio			0,202
%error			1,000

Anexo 33. Valores de gráfico de control para hierro ferroso.

N.	Concentración 0,5 mg/L	N.	Concentración 0,5 mg/L
1	0,497	11	0,516
2	0,506	12	0,497
3	0,516	13	0,526
4	0,536	14	0,526
5	0,506	15	0,516
6	0,497	16	0,506
7	0,536	17	0,497
8	0,526	18	0,526
9	0,497	19	0,506
10	0,506	20	0,516
Promedio			0,513
%error			2,550

Anexo 34. Precisión de método y exactitud para hierro ferroso.

Agua Potable (mg/L)	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,017	0,007	0,007	0,007	0,007
	0,017	0,009	0,007	0,007	0,017	0,007	0,017	0,007	0,007	0,007
Potable + Patrón 0,5 mg/L	0,027	0,030	0,027	0,029	0,031	0,027	0,027	0,028	0,027	0,029
	0,030	0,031	0,027	0,028	0,027	0,031	0,032	0,027	0,029	0,030
%R	84,38	93,75	84,38	90,63	96,88	84,38	84,38	87,50	84,38	90,63
	93,75	96,88	84,38	87,50	84,38	96,88	100,0	84,28	90,63	93,75
Potable + Patrón 2,0 mg/L	0,100	0,098	0,099	0,094	0,098	0,088	0,088	0,091	0,099	0,100
	0,098	0,097	0,087	0,094	0,101	0,098	0,103	0,099	0,094	0,091

%R	96,15	94,23	95,19	90,38	94,23	84,62	84,62	87,50	95,19	96,15
	94,23	93,27	83,65	90,38	97,12	94,23	99,04	95,19	90,38	87,50
Agua Natural (mg/L)	0,337	0,337	0,347	0,347	0,347	0,367	0,327	0,347	0,347	0,347
	0,337	0,337	0,347	0,347	0,327	0,347	0,367	0,347	0,347	0,327
Natural + Patrón 0,5 mg/L	0,347	0,355	0,344	0,351	0,344	0,348	0,340	0,339	0,347	0,336
	0,337	0,333	0,347	0,347	0,344	0,331	0,352	0,333	0,347	0,340
%R	98,86	101,1	98,01	100,0	98,01	99,15	96,87	96,58	98,86	95,73
	96,01	94,87	98,86	98,86	98,01	94,30	100,3	94,87	98,86	96,87
Natural + Patrón 2,0 mg/L	0,431	0,409	0,453	0,428	0,428	0,435	0,406	0,411	0,424	0,409
	0,425	0,431	0,453	0,428	0,406	0,409	0,428	0,435	0,411	0,409
%R	101,9	96,69	107,1	101,2	101,2	102,8	95,98	97,16	100,2	96,69
	100,5	101,9	107,1	101,2	95,98	96,69	101,2	102,8	97,16	96,69
Agua Residual (mg/L)	0,237	0,267	0,257	0,227	0,217	0,237	0,207	0,207	0,227	0,207
	0,217	0,217	0,227	0,227	0,207	0,207	0,217	0,227	0,237	0,207
Residual + Patrón 0,5 mg/L	0,245	0,248	0,254	0,243	0,261	0,284	0,263	0,241	0,248	0,254
	0,249	0,248	0,241	0,250	0,248	0,260	0,263	0,240	0,239	0,247
%R	103,4	104,6	107,2	102,5	110,1	119,8	111,0	101,7	104,6	107,2
	105,1	104,6	101,7	105,5	104,6	109,7	111,0	101,3	100,8	104,2
Residual + Patrón 2,0 mg/L	0,323	0,343	0,339	0,338	0,329	0,350	0,365	0,327	0,323	0,323
	0,342	0,343	0,329	0,328	0,351	0,323	0,344	0,351	0,350	0,327
	104,5	111,0	109,7	109,4	106,5	113,3	118,1	105,8	104,5	104,5

%R	110,7	111,0	106,5	106,2	113,6	104,5	111,3	113,6	113,3	105,8
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Anexo 35. Incertidumbre por repetibilidad para hierro ferroso.

MRC lectura	0,2 mg/L	1,0 mg/L
1	0,207	1,016
2	0,197	0,996
3	0,207	1,006
4	0,207	0,996
5	0,207	1,006
6	0,197	0,996
7	0,797	1,006
Desviación estándar (s)	0,005	0,008
$U_{(rep)}$	0,002	0,003
IER_{REP}	0,010	0,003

Anexo 36. Incertidumbre por curva de calibración para hierro ferroso.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$U_{(Co)}$	0,007	0,007
$U_{(ier Co)}$	0,037	0,007

Anexo 37. Incertidumbre por material de referencia para hierro ferroso.

MRC	0,2 mg/L	1,0 mg/L
$U_{(MRC)}$	0,003	0,012
$U_{(IER MRC)}$	0,013	0,012