

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Verificación de métodos fisicoquímicos para análisis de fenoles totales en matrices de agua superficial y residual (doméstica y no doméstica) en la empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S.

Andrés Fernando Ardila Galvis

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Química

Control y Gestión Ambiental S.A.S.

Bucaramanga

2022

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Verificación de métodos fisicoquímicos para análisis de fenoles totales en matrices de agua superficial y residual (doméstica y no doméstica) en la empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S.

Andrés Fernando Ardila Galvis

Trabajo de grado para optar el título de Químico

Directora

Luz Yolanda Vargas Fiallo

Química, MSc. Escuela de Química

Co-Director

Alfredo Granados Sanabria

Químico. Control y Gestión Ambiental S.A.S

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Química

Control y Gestión Ambiental S.A.S.

Bucaramanga

2022

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Dedicatoria

A mi madre, mi cómplice, mi amiga, mi apoyo, la arquitecta de mi vida, quien lo ha dado todo para que yo pueda llegar hoy hasta aquí; a ella y para ella este logro con todo mi amor y dedicación. Gracias por ser siempre mi más grande motivación.

A mi padre, que desde la distancia ha sabido darme siempre el consejo correcto en los momentos donde más lo he necesitado. Modelo de temple, fuerza, honor y rectitud. Mi más grande y profundo cariño, respeto y admiración.

A mis hermanos, que estoy seguro que me han empujado a no bajar nunca los brazos a pesar de todo lo que pudiese presentarse. A ellos gran parte de lo que soy, pues siento que llevo conmigo un pedacito de lo que cada uno en vida llegó a ser.

A mi pareja, por llenarme de amor y de ánimos para, inclusive en los momentos más oscuros, levantar la mirada y seguir adelante. Feliz y agradecido de compartir este logro de mi vida contigo, que espero que sea uno de muchos proyectos y éxitos que vengan a futuro, juntos.

A Danilo y Carolina, mis mejores amigos, por todas aquellas sonrisas y palabras de apoyo en momentos donde puedo asegurar que más lo necesitaba.

A Tommy y a Lía, mis adorados hijos, porque me han acompañado durante toda mi etapa universitaria, y aquellos días en los que puedo decir que he estado a punto de rendirme, me han dado una patita de aliento y una muestra de felicidad para seguir adelante.

A Dios, por llenarme de fuerza, sabiduría e ilusión. Por permitirme encontrar paz con la oración en momentos de caos e incertidumbre. A Él toda la gloria.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Agradecimientos

A la profesora Myriam Chacón, maestra de química que tuve en mis últimos dos años del colegio, pues fue ella quien un día despertó en mi la curiosidad por la ciencia, y más en concreto por la química.

A la Universidad Industrial de Santander, institución donde ingresé como un joven y salgo como un adulto, el lugar donde forjé los valores que me representan hoy día en lo personal y profesional. Gracias por abrirme las puertas para poder vivir una etapa increíble de mi vida en donde conocí personas maravillosas.

A la empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S, por darme la oportunidad de crecer en mi desarrollo profesional, por permitirme tener la experiencia de adentrarme en el mundo laboral y prepararme para un pedacito de lo que se viene. Especial mención para Julieth Uribe por todo el apoyo, todas las sonrisas, por todos los bonitos momentos, y a Óscar González, por la amistad sincera y la ayuda cuando más difícil se pusieron las cosas.

A mi viejo computador y a mi bicicleta, que, aunque pueda sonar ridículo, fueron dos instrumentos muy importantes para que yo esté hoy aquí sentado escribiendo estas líneas.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Tabla de Contenido

Introducción	11
1. Planteamiento del Problema	13
2. Justificación	14
3. Objetivos.....	15
3.1 Objetivo General.....	15
3.2 Objetivos Específicos.....	15
4. Marco Teórico.....	16
4.1 Agua.....	16
4.2 Matrices de agua	17
4.2.1 Agua potable	18
4.2.2 Agua residual	19
4.2.3 Agua superficial.....	20
4.2.4 Agua subterránea	20
4.3 Calidad del agua.....	21
4.4 Contaminantes.....	22
4.4.1 Contaminantes orgánicos.	22
4.4.2 Contaminantes Inorgánicos.....	23
4.5 Fenoles.....	23
4.5.1 Propiedades Físicas.....	23
4.5.2 Propiedades Químicas.....	24
4.5.3 Síntesis del fenol	25
4.5.4 Usos y aplicaciones.....	25
4.5.5 Fenol como contaminante de fuentes hídricas.	26
4.6 Procesos de eliminación de Fenoles.	27
4.6.1 Cloración-adsorción.....	27
4.6.2 Ozonación	28
4.7 Procedimiento analítico de cuantificación.	29
4.7.1 Interferencias.....	29
4.7.2 Proceso de limpieza y/o purificación de la muestra.....	30
4.7.3 Métodos instrumentales de cuantificación.....	31
4.8 Verificación y validación de un método.	32

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.8.1 Exactitud y precisión.....	33
4.8.2 Selectividad.....	33
4.8.3 Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)	33
4.8.4 Intervalo de trabajo.	34
4.8.5 Curva de calibración.	36
4.8.6 Demostración inicial de la capacidad (IDC).	41
4.8.7 Cartas de control (CC).	42
4.8.8 Blanco y matriz fortificados de laboratorio.	44
4.8.9 Incertidumbre.	45
4.8.10 Curva de Ringbom.	49
5. Metodología	51
5.1 Equipos, materiales y reactivos.....	51
5.1.1 Equipos... ..	51
5.1.2 Materiales.....	51
5.1.3 Reactivos.....	52
5.2 Estandarización de la solución stock de fenol.	54
5.2.1 Estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	54
5.2.2 Estandarización solución stock de fenol.	55
5.3 Curva de calibración.	56
5.4 Procedimiento experimental.	57
5.4.1 Procedimiento de limpieza:.....	57
5.4.2 Generación de color.	58
5.4.3 Cuantificación.	58
5.5 Controles de calidad.....	58
5.5.1 LOD y LOQ.....	58
5.5.2 Cartas de control.	59
5.6 Lotes de muestras.....	59
6. Resultados y Discusión.....	61
6.1 Estandarización de la solución stock de fenol.	61
6.1.1 Estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	61
6.1.2 Estandarización de la solución stock de fenol.	62
6.2 Curva de calibración.	63
6.3 Curva de trabajo.....	65
6.4 Confirmación de la linealidad.....	67

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.5 Estimación del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ)	69
6.6 Demostración de la capacidad inicial.	70
6.7 Lotes de muestras evaluados.....	71
6.8 Cartas de control.	72
6.8.1 Carta de control de medias.....	72
6.8.2 Carta de control de precisión para fenoles totales.	73
6.8.3 Cartas de control de medias para la preparación de la solución stock de fenol.....	74
6.9 Fuentes de incertidumbre.....	76
6.9.1 Incertidumbre de la curva de calibración (μMr).....	77
6.9.2 Incertidumbre del volumen de muestra (μVMr).....	78
6.9.3 Incertidumbre de la destilación de la muestra (μDr).....	78
6.9.4 Incertidumbre del reactivo peso (μRP).....	78
6.9.5 Incertidumbre de la estandarización de la solución stock de fenol. (μS).....	79
6.9.6 Incertidumbre del pHmetro (μcpH).....	82
6.9.7 Incertidumbre de la adición del reactivo de color (μcRC).....	83
6.9.8 Incertidumbre del equipo de medición (espectrofotómetro) (μEr).	83
6.9.9 Incertidumbre de la repetibilidad de las lecturas (μRMr).....	83
6.9.10 Incertidumbre combinada del método (μc).....	84
6.9.11 Incertidumbre expandida del método (μeM)	85
7. Conclusiones	87
8. Recomendaciones	89
Bibliografía	90
Anexos	98

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Lista de Figuras

Figura 1. Molécula de agua con sus cargas parciales representadas.	16
Figura 2. Representación ciclo del agua	17
Figura 3. Estructura del fenol	24
Figura 4. Ejemplos de análisis del intervalo de trabajo de un método.	35
Figura 5. Ejemplos de diferentes valores del coeficiente de correlación lineal de Pearson	38
Figura 6. Ejemplo de carta de control de medias.....	43
Figura 7. Ejemplo de carta de control de precisión.	44
Figura 8. Ejemplo de curva de Ringbom.	50
Figura 9. Gráfico de la curva de calibración preliminar para fenoles totales.	64
Figura 10. Gráfico para la curva de Ringbom para fenoles totales.....	65
Figura 11. Gráfico de la curva de calibración de trabajo para fenoles totales.	66
Figura 12. Carta de control de medias para fenoles totales.	73
Figura 13. Carta de control de precisión para fenoles totales	74
Figura 14. Carta de control de medias para la estandarización del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	75
Figura 15. Carta de control de medias para la estandarización de la solución de fenol.	76
Figura 16. Diagrama de causa-efecto para la determinación de fenoles totales.	77
Figura 17. Gráfico de la contribución de cada una de las componentes de la incertidumbre en la muestra M3.	84

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Lista de Tablas

Tabla 1. Propiedades físicas del fenol.....	24
Tabla 2. Resultados estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	61
Tabla 3. Resultados de la estandarización de la solución stock de fenoles.	62
Tabla 4. Valores de las concentraciones corregidas.	63
Tabla 5. Datos utilizados para la elaboración de la curva de Ringbom.	64
Tabla 6. Datos utilizados para la elaboración de la curva de trabajo.	66
Tabla 7. Criterios estadísticos para la confirmación de la linealidad.....	67
Tabla 8. Resultados de la prueba de homogeneidad de varianza Cochran.	68
Tabla 9. Resultados de la prueba t de Student.	68
Tabla 10. Resultados de la estimación del LOD y LOQ del método.....	69
Tabla 11. Resultados de la demostración de la capacidad inicial fenoles totales.	70
Tabla 12. Resultados obtenidos para los lotes de Bk, LFB, muestras y LFM realizados. ..	71

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Resumen

Título: Verificación de métodos fisicoquímicos para análisis de fenoles totales en matrices de agua superficial y residual (doméstica y no doméstica) en la empresa control y gestión ambiental S.A.S.*

Autor: Andrés Fernando Ardila Galvis**

Palabras clave: Verificación, fenoles totales, calidad de agua, análisis químico, estadística aplicada, medio ambiente, contaminación.

Descripción:

Con el objetivo de velar por el cuidado del medio ambiente, y más en concreto del agua como recurso esencial para la vida, se hace necesario implementar una serie de normas que permitan regular el vertimiento de contaminantes sobre la amplia variedad de cuerpos hídricos que existe. La calidad de una determinada matriz de agua se puede determinar mediante un análisis fisicoquímico que revele la cantidad en la que se pueden llegar a encontrar una serie de compuestos químicos en ella. Esta tarea es llevada a cabo por laboratorios que cuenten con la acreditación necesaria para emitir un resultado confiable; en Colombia el ente encargado de regular quién puede o no tener dichas acreditaciones es el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. La empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S. es uno de estos, ya que cuenta con una gama de parámetros acreditados para llevar a cabo el análisis de la calidad de diferentes matrices de agua (residual, superficial, potable, etc.). El ejercicio de buscar acreditar cada vez más parámetros es el objetivo a corto y mediano plazo de la empresa, razón por la cual surgió este trabajo de grado. En este documento se encuentra descrito el procedimiento realizado para la verificación del parámetro fenoles totales en las matrices de agua superficial y residual (doméstica y no doméstica) para la documentación de la empresa y el futuro uso de esta información en una próxima extensión de su acreditación ante IDEAM.

* Trabajo de grado en modalidad de práctica empresarial

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Química. Director: Luz Y. Vargas Fiallo. MSc. En Química. Codirector: Alfredo Granados Sanabria. Químico.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Abstract

Title: Verification of physicochemical methods for the analysis of total phenols in surface and waste water matrices (domestic and non-domestic) in the Control and Environmental Management S.A.S. company. *

Author: Andrés Fernando Ardila Galvis

Key Words: Verification, total phenols, water quality, chemical análisis, applied statistics, environment, pollution.

Description:

With the aim of ensuring the care of the environment, and more specifically of water as an essential resource for life, it's necessary to implement a series of rules to regulate the discharge of pollutants on the great variety of water matrices that exist. The quality of a given water matrix can be determined by means of a physicochemical analysis that reveals the quantity in which a series of chemical compounds can be found in it. This task is carried out by laboratories that have the necessary accreditation to issue a reliable result; in Colombia, the entity in charge of regulating who may or may not have such accreditations is the Institute of Hydrology, Meteorology and Environmental Studies IDEAM. Control and Environmental Management S.A.S company is one of these, since it has a range of accredited parameters to carry out the analysis of the quality of different water matrices (waste, surface, potable, etc.). The search to accredit more and more parameters is the short and medium term objective of the company, which is why this degree work arose. This document describes the procedure carried out for the verification of the total phenols parameter in the surface and waste water matrices (domestic and non-domestic) for the documentation of the company and use of this information in a future extension of its accreditation before IDEAM.

* Degree work in business practice mode.

** Science Faculty, Chemistry School. Director: Luz Y. Vargas Fiallo. Chemistry MSc. Co-director: Alfredo Granados Sanabria. Chemist.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Introducción

La calidad del agua, como medida de la condición de la misma en cuanto a sus características fisicoquímicas y biológicas (Diersing, 2009), ha venido adquiriendo con el paso de los años una relevancia cada vez mayor en el territorio nacional; por lo tanto, normativas que regulen el vertimiento de desechos a las fuentes hídricas naturales fueron implementados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM, el cual es responsable de la información científica, hidrológica, meteorológica y de todo lo relacionado con el medio ambiente en Colombia.

Dadas estas regulaciones, entidades que por consecuencia de sus actividades realizan estos vertimientos, deben solicitar una caracterización tanto fisicoquímica como microbiológica de dicho cuerpo de agua ante un laboratorio que cuente con los permisos y/o acreditaciones necesarias para que estos resultados sean válidos.

De entre una larga lista de parámetros que establece la norma que se deben analizar en un cuerpo de agua, dependiendo de cómo ésta se clasifique (residual, superficial, potable, subterránea, etc) (Min. Amb. y Des. Sost, 2015) (Min. Amb. Viv. y Des. Terr, 2007), se tiene el de Fenoles totales; estos, definidos como hidroxí derivados del benceno y sus núcleos condensados, se pueden encontrar en aguas de tipo residual doméstica e industriales, aguas potables, y cuerpos de aguas naturales.

Este proyecto se enfoca en la confirmación del método fotométrico directo 5530-D mediante el cual se cuantifican la cantidad total de fenoles en una muestra de agua dada, por parte del laboratorio Control y Gestión Ambiental S.A.S con el fin de documentarse y/o prepararse para

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

una posible extensión de la acreditación de la empresa ante IDEAM bajo la norma ISO/IEC 17025 DE 2017; para ser aplicado en muestras de agua superficial y residual.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

1. Planteamiento del Problema

El vertimiento de aguas residuales a cuerpos hídricos, ya sea en aguas superficiales, marinas, o al suelo, es un proceso que se da en la vida cotidiana de la gran mayoría de seres humanos. Las entidades de control ambiental tienen como función regular que dichos vertimientos realizados por la industria generen la menor contaminación posible con estos; en consecuencia, fue necesario que se establecieran una serie de límites para las concentraciones de estas sustancias contaminantes, las cuales pueden llegar a variar dependiendo de las normas de cada país y de la actividad a la cual la entidad que realiza el vertimiento se dedique.

Teniendo en cuenta que los recursos hídricos desempeñan un papel fundamental en variedad de sectores en la economía tales como la ganadería, la agricultura, el sector industrial, recreación, etc, el control de calidad de la misma, que como consecuencia de factores tales como el aumento de la población, la industrialización, la urbanización, entre otros, ha sufrido un deterioro progresivo y significativo, es un tema que adquiere gran relevancia; por lo tanto, es necesaria la participación de laboratorios que puedan realizar los respectivos análisis de calidad, y que brinden garantías en la fiabilidad de sus resultados. El Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM, en ejercicio de sus funciones, se encarga de llevar a cabo las evaluaciones pertinentes con el fin de determinar si otorgar o no la respectiva acreditación a quienes la soliciten, para realizar los respectivos ensayos y posterior reporte de resultados.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

2. Justificación

Los fenoles se definen como compuestos aromáticos que tienen como mínimo un grupo hidroxilo enlazado directamente al anillo aromático, y sus propiedades están sujetas también a la naturaleza de los demás sustituyentes que tenga el anillo de benceno (Amado, 2015). El hecho de que alrededor del 96% de los compuestos fenólicos que se conocen actualmente tengan un origen sintético (U.S. Env. Prot. Ag, 1998), permite deducir que la contaminación por estos es generada principalmente por la actividad del hombre; de entre los sectores que se encuentran involucrados está el farmacéutico, el petrolero, las industrias del plástico, los textiles, colorantes, entre otros.

Con base en lo anterior, la cuantificación y posterior proceso de remoción de compuestos fenólicos en el agua cobra importancia debido al alto grado de toxicidad de los mismos, haciendo así que entidades que como consecuencia de sus actividades producen sustancias contaminantes, deben someter estos residuos a un monitoreo constante con el fin de acogerse a lo establecido en la norma. Puntualmente hablando de Colombia, en la resolución 0631 de 2015 se dicta que la cantidad máxima de Fenoles totales que puede tener un cuerpo de agua de tipo residual, ya sea doméstica o industrial, es de 0,20 mg/L (Min. Amb. y Des. Sost, 2015).

Según lo expuesto anteriormente, el laboratorio Control y Gestión Ambiental S.A.S, en aras de ampliar su portafolio de servicios, busca la acreditación del parámetro Fenoles Totales ante el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM, siguiendo el procedimiento estipulado en el SM5530-D.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

- Implementar el método descrito en el SM5530-D para la cuantificación de Fenoles Totales en el laboratorio Control y Gestión Ambiental S.A.S.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar una preparación adecuada de la muestra, con el fin de minimizar al máximo los factores que puedan llegar a afectar la sensibilidad del método y la reproducibilidad de los resultados emitidos por la empresa Control y Gestión Ambiental.
- Demostrar, haciendo uso de las correspondientes figuras de método, que el procedimiento estipulado en el SM-5530-D es aplicable en el laboratorio de la empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S, y que los resultados expresados son confiables.
- Realizar una documentación y/o preparación adecuada del método SM-5530-D en la empresa Control y Gestión Ambiental S.A.S para su aplicación en una futura extensión de la acreditación ante el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM bajo la norma ISO/IEC 17025 DE 2017.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

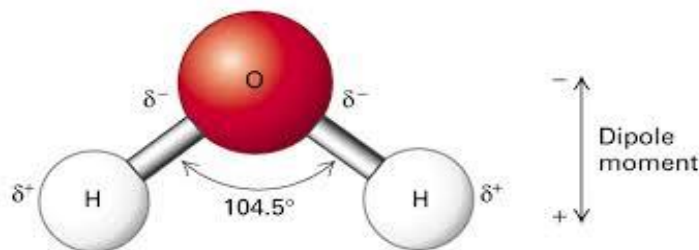
4. Marco Teórico

4.1 Agua

De entre la inmensa variedad de sustancias y/o compuestos que podemos encontrar en la naturaleza, algunas de estas tan complejas como fascinantes, destaca la molécula de agua; aquella que en su sencillez estructural esconde una amplia gama de propiedades que la hacen ser única, como, por ejemplo, tener la capacidad de encontrarse en cualquiera de los tres estados de agregación de la materia (sólido, líquido y gaseoso). Se le conoce como el solvente universal, debido a la facilidad que tiene para disolver una gran cantidad de compuestos.

Figura 1.

Molécula de agua con sus cargas parciales representadas.



Nota. Esferas rojas: átomos de oxígeno. Esferas blancas: átomos de hidrógeno. Tomado de:

<https://dbbf.ulpgc.es//medicina/bioquimicaI/agua.pdf>

Su fórmula química es H₂O, y como se puede observar en la figura 1, está compuesta por dos átomos de hidrógeno que se encuentran enlazados al átomo de oxígeno mediante un enlace covalente. El agua es considerada una molécula polar debido a la magnitud de su momento dipolar; esto se explica por la electronegatividad del oxígeno, el cual atrae con fuerza a los electrones que están haciendo el enlace con los dos átomos de hidrógeno, adquiriendo así una carga parcial

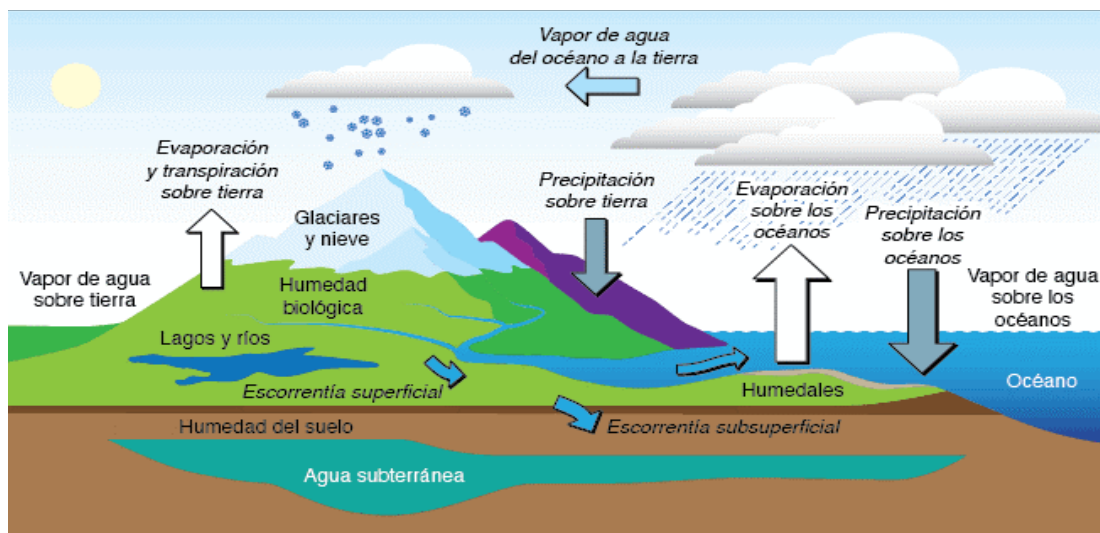
VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

positiva (δ^+) en estos, y una carga parcial negativa (δ^-) en el oxígeno. Estas cargas parciales le permiten formar un enlace especial llamado puente de hidrógeno; el cual se da entre la molécula de agua y, ya sea otra igual, o alguna otra especie que se encuentre en el medio y que tenga la capacidad de formarlo. La explicación detrás de este fenómeno no es más que la fuerza electrostática que el átomo de oxígeno del agua ejerce sobre el hidrógeno de la otra molécula involucrada en el enlace. Su capacidad de ser un excelente solvente también se explica con el momento dipolar de la molécula, la cual puede solvatar iones tanto positivos como negativos; dicho lo cual, toda sal, compuestos con una constante de disociación alta, o inclusive aquellos con una constante de disociación baja, pero con un carácter polar, serán solubles y/o parcialmente solubles en agua (Spellman, 2018), (Manahan, 2010), (Maréchal, 2006).

4.2 Matrices de agua

Figura 2.

Representación ciclo del agua



Nota. Tomado de: <https://dbbf.ulpgc.es/medicina/bioquimicaI/agua.pdf>

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Como se mencionó en el apartado anterior, el agua se puede encontrar en la naturaleza en cualquiera de sus tres estados de agregación (sólido, líquido y gaseoso) dependiendo de las condiciones a las cuales esté sometida. En el ciclo natural del agua (figura 2) se puede evidenciar la transición que sucede del estado líquido al gaseoso, y viceversa.

Puntualmente hablando del estado líquido del agua, existen distintas formas de identificarla y/o categorizarla, ya que dependiendo de su procedencia o para qué vaya a ser utilizada, entrará dentro de alguna de las clasificaciones existentes. Estas son: agua potable, agua residual (doméstica y no doméstica), agua superficial y agua subterránea.

4.2.1 *Agua potable*

Representa menos del 0,1% de la cantidad total de agua que se encuentra disponible en el planeta tierra. Se define como el agua que es apta para ser consumida, y que no representa ningún riesgo para la salud. Proviene de cuerpos de agua cruda natural, superficiales o subterráneas, que posterior a ser sometidas a un proceso de potabilización, el cual se encarga de eliminar los contaminantes que estas puedan llegar a poseer, se puede llegar a considerar como agua potable, y que está disponible para su consumo (Mahindru, 2004), (Sobsey et al, 2003).

La problemática de la contaminación ambiental, es una de las mayores preocupaciones que ha venido enfrentando la humanidad con el paso de los años, y la contaminación del agua como recurso hídrico más importante no es la excepción. Debido a la creciente demanda ocasionada por el incremento poblacional, se han intensificado los estudios de los mecanismos de eliminación de contaminantes en el agua para su posterior consumo, esto con el fin de optimizarlos tanto en rendimiento como en costos; además se ha realizado una intensificación en la aplicación de la normativa que rige la disposición de los residuos de cada uno de los sectores industriales sobre los

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

cuerpos de agua superficiales y subterráneas con el fin de disminuir el impacto generado (Djoghlaif et al, 2010).

4.2.2 *Agua residual*

Se define como cuerpos de agua cuya calidad se encuentra afectada de manera negativa por influencia de una o varias actividades realizadas por el hombre. Los contaminantes presentes en estas aguas a menudo se encuentran en altas concentraciones categorizándolas como perjudiciales para la salud humana (García et al, 2005).

Las aguas residuales se clasifican en dos: las residuales domésticas y las no domésticas:

4.2.2.1 Agua residual doméstica:

Son aquellas que, como su nombre lo indica, provienen de actividades domésticas, y se caracterizan por ser aguas contaminadas con heces, orina, residuos de detergentes y/o jabones, restos alimenticios, grasas y aceites, entre otras más sustancias que puedan ser utilizadas en el día a día por el ser humano en el ejercicio de sus actividades domésticas.

4.2.2.2 Agua residual no doméstica:

Son aquellas que provienen de las actividades industriales del ser humano, y que dependiendo de a qué sector de la industria se esté refiriendo, tendrán una composición diferente (Zhou et al, 2002).

Con el fin de regular la cantidad de contaminantes que se vierten a diario en los cuerpos de agua receptores, ya sea superficial o subterránea, estas aguas deben ser sometidas a un proceso de tratamiento tanto físicoquímico como microbiológico, en el cual se pueda remover una cantidad significativa de estos contaminantes antes de que entren en contacto con el medio ambiente.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Por otra parte, el aumento progresivo de la población y la alta actividad industrial que se lleva a cabo actualmente, son una problemática para la salud ambiental debido a la cantidad de agua residual que se produce a diario, ya sea doméstica o no doméstica.

Por tal razón, las entidades de control encargadas establecen unos límites para la concentración que deben tener una larga lista de contaminantes en las aguas residuales antes de realizar su vertimiento sobre los diferentes cuerpos de agua receptores (Min. Amb. y Des. Sost, 2015).

4.2.3 *Agua superficial*

Su definición es fácilmente deducible de su mismo nombre, y es que este cuerpo de agua es todo aquel que se encuentra en la superficie terrestre, como ejemplo se tienen: los océanos, ríos, lagos, estanques, bahías, etc. El agua superficial puede tener procedencia tanto natural como artificial, y esta se puede ver afectada en su composición por diferentes variables tales como: el medio en el que se encuentra, las aguas subterráneas aledañas que puedan efluir, el agua de lluvia, los vertimientos realizados en ésta producto de actividades humanas, entre otras (Winter et al, 1998).

Si bien en algunas situaciones el agua superficial puede ser apta para el consumo humano, esto puede no ser así como consecuencia de las afectaciones y/o alteraciones que ésta pueda experimentar, las cuales ocurren por los escenarios que fueron mencionados en el párrafo anterior (Winter et al, 1998).

4.2.4 *Agua subterránea*

En la formación se pueden encontrar una gran cantidad de poros, fisuras, entre otros espacios vacíos, los cuales pueden albergar diferentes tipos de sustancias que se puedan llegar a

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

adentrar en ésta, desde aire hasta mezclas más complejas como el crudo. El agua que se encuentra en cualquiera de estos escenarios, o dicho de manera más general, por debajo de la superficie terrestre, se le conoce como agua subterránea (Winter et al, 1998).

Dichos cuerpos de agua fluyen de manera libre por las cavidades de la formación y pueden llegar a desembocar en pozos subterráneos, o también efluir hacia la superficie al suelo o a cuerpos de agua superficial (Agarwal, 2012).

Los acuíferos subterráneos son a menudo aprovechados para proporcionar agua para uso doméstico, industrial, comercial, entre otros, y las sustancias presentes en esta dependen directamente de la composición de la formación en la que se encuentre (Agarwal, 2012).

4.3 Calidad del agua.

Dependiendo del uso que se le vaya a dar a un determinado cuerpo de agua, se deben fijar previamente unos criterios para establecer la calidad de la misma según sus características fisicoquímicas y microbiológicas, y son las entidades competentes propias de cada país las que dictaminan los valores máximos en los cuales una serie de parámetros pueden estar presentes el agua.

En cumplimiento del deber en el territorio nacional, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) se encarga de llevar a cabo esta regulación mediante una serie de resoluciones y decretos que, dependiendo de para qué vaya a ser utilizado el recurso hídrico, o su procedencia, establezcan los ya mencionados valores máximos en los parámetros correspondientes.

Puntualmente hablando del parámetro Fenoles Totales, para los vertimientos de agua residual doméstica y no doméstica, y cuerpos de agua superficial, se tiene un valor máximo de 0,20 mg/L (Min. Amb. y Des. Sost, 2015), (Min. Amb. Viv. y Des. Terr, 2007).

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.4 Contaminantes

Se definen como las sustancias o energías que, al interactuar con el medio ambiente, tienen una serie de efectos negativos sobre este, constituyendo un peligro para la vida. Un agente contaminante puede llegar a causar daños a largo o a corto plazo dependiendo de en qué medida afecte a las especies con las cuales tiene contacto. Algunos de estos pueden ser biodegradables, y dependiendo de dichos subproductos de degradación, se podrá decir que generan o no un impacto a largo plazo sobre su ecosistema.

De entre los tipos de contaminantes se tienen los primarios y los secundarios. Un contaminante primario se define como aquel que es emitido directamente al medio ambiente, contrario al secundario que se forman en el medio de manera indirecta mediante reacciones químicas entre los contaminantes primarios (Carrasco et al, 2014). Ejemplos de contaminantes primarios podrían ser tanto los óxidos de nitrógeno, azufre y carbono, como los compuestos clorofluorocarbonados; y de contaminantes secundarios, se tiene el metano, el ácido sulfúrico, los fertilizantes, entre otros (Carrasco et al, 2014).

4.4.1 Contaminantes orgánicos.

Son aquellos que provienen de fuentes tales como: desechos de seres vivos, actividades de procesamiento de alimentos, vertimientos, productos químicos industriales naturales (aceites, grasas, breas, etc) y/o sintéticos (pinturas, herbicidas, insecticidas, etc), entre otros, destacándose los compuestos orgánicos persistentes (COPs) tales como: pesticidas, insecticidas organoclorados, herbicidas y PCB, los cuales son considerados como tóxicos y que en su gran mayoría tiene procedencia sintética (Ritter et al, 1995). Su peligrosidad radica en su alta resistencia a la degradación tanto biológica como química debido a la estabilidad de dichos compuestos.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.4.2 *Contaminantes Inorgánicos.*

Este tipo de compuestos, los cuales se caracterizan por tener una estructura en la cual el carbono no se encuentra presente, suelen encontrarse como contaminantes principalmente en fuentes hídricas, producto de los desechos de la actividad humana que a diario son arrojados a estas, y en pequeñas proporciones por causas naturales. Los compuestos inorgánicos que tienen la capacidad de disolverse en agua, y las concentraciones máximas a las cuales, en cuanto al territorio nacional se refiere, pueden estar presentes en la misma, se encuentran reguladas por los entes de control responsables, y dichos valores están directamente relacionados con el nivel de toxicidad y/o peligrosidad que estos compuestos representan (Min. Amb. y Des. Sost, 2015), (Min. Amb. Viv. y Des. Terr, 2007).

4.5 **Fenoles.**

4.5.1 *Propiedades Físicas*

De las sustancias contaminantes anteriormente mencionadas, el presente trabajo se enfoca en los compuestos fenólicos. El fenol se describe, en su estado puro, como un sólido incoloro o de una tonalidad ligeramente rosada y un olor característico dulce (ATSDR, 2008). Sus demás propiedades físicas se encuentran condensadas en la tabla 1.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Tabla 1.

Propiedades físicas del fenol.

Descripción	Valor
Masa molar	94,11 g/mol
Densidad	1,071 g/mL
Punto de fusión	40,9 °C a 1 atm de presión
Punto de ebullición	181,8 °C a 1 atm de presión
Solubilidad	82,8 g/L a 25 °C
pH	≈ 6,0 en solución acuosa

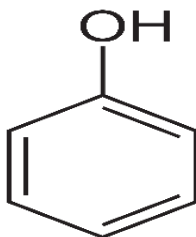
Nota. Fuente: Autor. Información tomada de: (ATSDR, 2008), (Othmer et al, 1991), (Southworth et al, 1986), (O'Neil, 2001).

4.5.2 Propiedades Químicas

En la figura 3 se observa la estructura del fenol, la cual es un anillo bencénico con un sustituyente OH en cualquiera de las posiciones del mismo. La estructura de dicho anillo aromático permite que el fenol sea un compuesto estable; adicionalmente se comporta como un ácido débil que puede en ciertas situaciones de reacción ceder el hidrógeno del OH (Morrison et al, 1998).

Figura 3.

Estructura del fenol



Nota. Fuente: Autor

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Mediante una sustitución electrofílica aromática, el fenol puede reaccionar fácilmente con agentes oxidantes y llevar a cabo reacciones tales como la halogenación, la sulfonación, entre otras, para dar subproductos de sustitución. Adicionalmente, se le atribuye la capacidad de reaccionar, ya sea en medio ácido o básico, con compuestos carbonílicos (Morrison et al, 1998).

4.5.3 *Síntesis del fenol*

Es una sustancia que puede ser obtenida de manera natural o mediante un proceso, en donde por medio de destilación fraccionada de alquitrán de hulla y/o cresoles, se concentra el fenol para posteriormente, por adición de una solución de NaOH, extraerlo como fenolato de sodio el cual es soluble en agua; acto seguido, se regenera el fenol por adición de ácido para finalmente ser llevado a la etapa de purificación y/o cristalización (ATSDR, 2008).

Dicho lo anterior, también se produce en cantidades más que significativas de manera sintética. Existen distintas rutas sintéticas para la obtención de fenoles tales como:

- a) La descomposición del hidroperóxido de cumeno con ácido sulfúrico o fosfórico, para la obtención por destilación de fenol y acetona (Morrison et al, 1998), (Hawkins et al, 1950).
- b) A partir de una solución de clorobenceno en HCl, se adiciona NaOH para la obtención de NaCl y la sal fenólica de sodio, la cual, al volver a reaccionar con otra molécula de HCl del medio, dará lugar a la formación del fenol y NaCl (Hale et al, 1928).
- c) El proceso de Dow también es ampliamente conocido, y se lleva a cabo por la reacción de clorobenceno con una solución acuosa de NaOH a 360°C (Morrison et al, 1998).

4.5.4 *Usos y aplicaciones.*

El fenol, como materia prima, es ampliamente utilizado en la industria para la preparación de gran variedad de productos; entre los más relevantes se encuentran: los colorantes,

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

desinfectantes, resinas sintéticas, agentes microbianos, o por supuesto, también como reactivo analítico (Kanekar et al, 1998).

4.5.5 *Fenol como contaminante de fuentes hídricas.*

Los compuestos fenólicos son encontrados con frecuencia en efluentes y/o vertimientos del sector productor industrial, de entre estos algunos son: las refinerías, las plantas petroquímicas, manufacturación de textiles, preparación de fungicidas y herbicidas, preparación de productos farmacéuticos, producción de plásticos, madera, pinturas, etc (Busca et al, 2008), (Rigo et al, 2004), (Tziotzios et al, 2005).

De las industrias mencionadas anteriormente, alrededor del 26,3% de los desechos con compuestos fenólicos que son emitidos por estas son al aire, cerca del 73,3% a cuerpos hídricos y aproximadamente un 0,4% al suelo y/o sedimentos acuáticos (Cserhati et al, 2004).

Haciendo énfasis en el medio marino, los problemas de contaminación se le atribuyen, principalmente, a descargas de agua residual provenientes de actividades industriales. De los compuestos fenólicos sintéticos, se considera que los clorofenoles, junto a los nitrofenoles, los cuales tienen un nivel de toxicidad considerablemente alto, son los más comunes en este tipo de descargas (Busca et al, 2008).

Los compuestos de clorofenol comienzan a ser tenidos en cuenta como tóxicos a concentraciones mínimas de 1 $\mu\text{g/L}$, cantidad suficiente para inhibir las funciones vitales de las células, proceso que sucede en primera instancia por la adsorción de estos a la pared celular mediante puentes de hidrógeno, y su posterior entrada en la célula donde ejerce la desnaturalización de las proteínas que se encuentren en ella (Wen et al, 2013). Adicionalmente, tienen una incidencia significativa en la disminución de la producción de ATP y el

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (Park et al, 2012). Tienen un efecto corrosivo importante, debido a la facilidad con la que se pueden adherir en la superficie cutánea. En caso de tener contacto directo con esta sustancia, ya sea ingestión o contacto con la piel, el individuo corre el riesgo de ver afectado el funcionamiento de órganos vitales tales como los pulmones, el hígado y los riñones, provocando un cuadro general que se caracteriza por evidenciar, tanto un fallo hepático y renal, como en algunos casos edemas pulmonares y/o cerebrales. Según estudios realizados se tiene documentado que la dosis mínima que puede provocar la muerte con este tipo de sustancias es de 140 mg/kg peso corporal, pero que a cantidades menores tiene también efectos tales como irritación, acidosis metabólica, cianosis, problemas cardiovasculares, entre otros (U.S. EPA, 2002).

La presencia de los compuestos fenólicos en cuerpos hídricos representa no solo un peligro para el ser humano, sino también para el medio en el cual se encuentre, con un tiempo de evaporación en el agua de aproximadamente 88 días a condiciones normales (Rey B., 2010).

4.6 Procesos de eliminación de Fenoles.

De los métodos existentes, se destacan dos que además de ser ampliamente utilizadas, tienen una documentación y/o material bibliográfico importante que permiten su estudio y análisis de manera detallada.

4.6.1 Cloración-adsorción.

La adición de compuestos de cloro a cuerpos de agua de tipo residual, es uno de los métodos de purificación que más se ha utilizado a través de los años. Consiste en la adición de cloro al cuerpo hídrico que se desea purificar, para que los compuestos orgánicos que en él se hallen, reaccionen con el cloro y se dé la formación de sustancias organocloradas para su posterior adsorción con carbón activado, teniendo como punto a favor que es un proceso que no altera las

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

propiedades de la muestra, ya que su mecanismo de funcionamiento es básicamente la concentración del analito en la superficie del carbón, el cuál puede ser posteriormente regenerado por diferentes vías y extraído del cuerpo hídrico (Sotelo et al, 2003).

4.6.2 *Ozonación*

Es un procedimiento mediante el cual se pueden eliminar gran variedad de contaminantes en el agua; su mecanismo de acción es la oxidación del compuesto que se desea eliminar, favoreciendo su proceso de biodegradabilidad. En esencia, el agente oxidante es el radical hidroxilo, el cual proviene de la interacción del ozono con el agua; el fenol, como contaminante de interés en el presente estudio, es oxidado por el radical OH^* , el cual en la mayoría de los casos conduce finalmente a la mineralización del mismo produciendo $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (Heredia et al, 2004). Debido a la reactividad del radical OH^* , la velocidad de reacción entre las dos especies involucradas es considerablemente alta, haciendo así que la eficiencia de eliminación del contaminante sea proporcional a la concentración de ozono en solución.

El proceso de oxidación de compuestos fenólicos es no solo uno de los más empleados para la eliminación de este contaminante, sino también es de los más estudiados, ya que los subproductos de oxidación de estos son más tóxicos y perjudiciales que el mismo fenol, por tanto, la completa eliminación también de dichos subproductos juega un papel fundamental en el mecanismo a plantear (Santos et al, 2001), (Santos et al, 2007), (Esplugas et al, 2002), (Zazo et al, 2005), (Bautista et al, 2008).

Se puede encontrar en la bibliografía variedad de trabajos dedicados a estudiar métodos de oxidación de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos, por lo que esta línea de investigación ha sido cada vez más utilizada en diferentes áreas de la industria que buscan dar solución a esta problemática de contaminación de sus respectivos vertimientos.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.7 Procedimiento analítico de cuantificación.

En el presente trabajo se va a emplear un método colorimétrico con 4-aminoantipirina, el cual permite cuantificar compuestos fenólicos simples, *orto*-sustituidos, *meta*-sustituidos, y bajo condiciones apropiadas, *para*-sustituidos que tengan como sustituyente ya sea: un grupo halógeno, carboxilo, metoxilo o ácido sulfónico; otro tipo de sustituyentes tales como: nitro, alquilo, arilo, aldehídos, nitroso o benzoílo, no se pueden cuantificar empleando dicho procedimiento (E.W. Rice et al, 2017), (Mohler et al, 1957).

Este método se puede realizar de dos maneras, cuya diferencia radica en el límite de cuantificación de estos. El primero, en donde se concentra el analito en una solución no acuosa, se tiene una sensibilidad significativamente alta, teniendo un rango de detección desde 1,0 $\mu\text{g/L}$ a más de 250 $\mu\text{g/L}$ con una sensibilidad de 1 $\mu\text{g/L}$. Por otra parte, con el otro procedimiento, el cual corresponde al que se va a desarrollar en el presente trabajo, la concentración del analito a cuantificar se realiza en una solución acuosa, y su límite de cuantificación es, dependiendo de las condiciones de análisis, desde 0,10 mg/L en adelante (E.W. Rice et al, 2017), (Mohler et al, 1957), (Ettinger et al, 1951).

4.7.1 Interferencias.

Se le atribuye este calificativo a los componentes de la matriz que puedan generar una variación apreciable en la señal del analito de interés, generando así problemas para su identificación y por ende un error sistemático en el método que se esté empleando; por tanto, es necesario que la muestra pase por un determinado proceso de limpieza y/o purificación que permita reducir la concentración de posibles interferencias, las cuales deben ser previamente identificadas, al mínimo. Adicionalmente, cabe resaltar que una interferencia no necesariamente está arraigada

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

a la composición de la muestra, sino también puede llegar a presentarse por la interacción de la misma con los reactivos empleados durante la realización del ensayo.

4.7.2 *Proceso de limpieza y/o purificación de la muestra.*

Acorde a lo tratado en el ítem anterior, y teniendo pleno conocimiento del método que se está aplicando para la identificación y/o cuantificación de un analito particular, se debe decidir si la realización de un proceso de limpieza a la muestra es o no necesaria. En el presente trabajo se le realizará una destilación a la muestra con el fin de eliminar interferencias asociadas al color aparente, la turbiedad, la presencia de iones metálicos, entre otros factores (E.W. Rice et al, 2017), (Mohler et al, 1957).

Teniendo en cuenta que cada muestra, dependiendo de su origen tiene una composición característica, toda información que se pueda tener sobre la misma tal como; la actividad llevada a cabo por la entidad que realiza el vertimiento del cuerpo de agua analizado, o los tratamientos que hayan sido aplicados a éste previamente, tienen un papel relevante para poder plantear un plan de purificación.

Las interferencias asociadas a la identificación de fenoles datan desde el muestreo mismo, pues tanto desde el punto de vista biológico con las bacterias, como del químico con variedad de agentes oxidantes y reductores, entre otros factores, se puede ver alterada la concentración del analito en la muestra (E.W. Rice et al, 2017), (Ettinger et al, 1943), (Carter et al, 1978).

A continuación, se desglosa de manera breve y concisa tres ejemplos de eliminación de las principales interferencias que se puedan presentar en una muestra para la identificación y posterior cuantificación de compuestos fenólicos:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

- a) **Agentes Oxidantes:** Siendo el cloro uno de los más comunes, se deben retirar de manera inmediata a la toma de la muestra, mediante la adición de un exceso de FeSO_4 el cual actuará como agente reductor, ya que la no eliminación de estos compuestos puede acarrear que los fenoles presentes en la muestra se oxiden de manera parcial (E.W. Rice et al, 2017), (Ettinger et al, 1943).
- b) **Compuestos de azufre:** Su eliminación se logra fácilmente mediante la acidificación in-situ de la muestra con una solución de H_3PO_4 con aireación leve y constante. Este proceso inhibe la participación como posibles interferencias de compuestos tales como el H_2S o el SO_2 (E.W. Rice et al, 2017), (Ettinger et al, 1943).
- c) **Aceites y alquitranes:** Ya en el laboratorio, se sugiere realizar una extracción alcalina de este tipo de compuestos, iniciando con un ajuste del pH a 12, para posteriormente retirar con varias porciones de CH_2Cl_2 tanto los aceites como los alquitranes que se puedan encontrar en la muestra (E.W. Rice et al, 2017), (Ettinger et al, 1943).

4.7.3 *Métodos instrumentales de cuantificación.*

La química analítica, con el transcurrir de los años, se ha visto sometida a una serie de cambios y avances que le han permitido establecerse cada vez más tanto en áreas del saber, como en variedad de campos de la industria. El desarrollo tecnológico y la innovación han ido de la mano con la evolución del pensamiento crítico y las necesidades que, como consecuencia de las actividades del hombre, han ido emergiendo. Si bien las técnicas analíticas empleadas hoy día para realizar variedad de ensayos, tanto cualitativos como cuantitativos, han ido reemplazando las prácticas más tradicionales de la química húmeda, la cual hace referencia a que la gran mayoría de sus análisis se hacen en fase líquida, su aplicación, por cuestión de practicidad y eficiencia, sigue teniendo gran relevancia tanto a nivel industrial como académico, especialmente como métodos

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

de cuantificación de sustancias. Con base en lo anterior, se justifica el desarrollo de técnicas que permitan que la química húmeda se vea complementada con la química instrumental actual; tal es el caso de los métodos espectrofotométricos los cuales tienen un rol importante en este tipo de prácticas.

4.7.3.1 Espectroscopia UV-VIS

En la espectroscopia UV-Vis convencional, se da que la radiación incidente es absorbida por los electrones de la capa más externa de la molécula haciendo que estos alcancen niveles energéticos más altos, permitiendo así, la obtención de información característica del analito en estudio al analizar la magnitud de la radiación que traspasa la muestra y llega al detector.

La espectroscopía UV-Vis es utilizada tanto para obtener información estructural de una determinada molécula, como para cuantificar una sustancia en una matriz dada. Este último corresponde al uso que se le dará a esta herramienta en el presente trabajo de investigación.

4.8 Verificación y validación de un método.

Partiendo de la definición de estos conceptos, se puede distinguir entre validación y verificación; se considera que se está realizando una validación cuando se lleva a cabo un procedimiento que hasta el momento no ha sido normalizado, por otra parte, una verificación es la confirmación de un método haciendo uso de una serie de datos/evidencias que permitan demostrar que los requisitos impuestos en la norma se cumplen adecuadamente (VIM, 2004).

En función de lo establecido por la norma ISO/TEC 17025, todo laboratorio que desee prestar el servicio de uno o más ensayos, deberá verificar que cada uno de sus métodos son aplicables en sus instalaciones, y que tanto los procedimientos realizados como los resultados obtenidos, cumplen adecuadamente con lo exigido en la normatividad (ICONTEC, 2017).

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Dicho esto, a continuación, se encuentran desglosadas a detalle las figuras de método que serán tenidas en cuenta para la verificación realizada en este trabajo (Morillas, 2016).

4.8.1 *Exactitud y precisión.*

Tanto la exactitud como la precisión tienen un papel fundamental a la hora de medir la calidad de una medición. Por definición, la exactitud es la cercanía que tiene el promedio de los resultados obtenidos con respecto a un valor de referencia, y se calcula mediante el sesgo y el porcentaje de recuperación. Por otra parte, la precisión es, por definición, la medida de cercanía que tienen los resultados obtenidos entre sí y bajo las mismas condiciones (VIM, 2004).

4.8.2 *Selectividad.*

La selectividad en un procedimiento analítico que se relaciona con la capacidad que tiene el método para identificar y cuantificar un analito en particular de entre una mezcla/matriz compleja, y que no presente interferencias de propiedades similares al analito que puedan generar un falso positivo (Vessman et al, 2001).

A la hora de realizar una verificación se cuenta con una ventaja enorme de partida, y es que esta propiedad ya ha sido estudiada en el momento que se normalizó la técnica, por lo cual la selectividad no suele ser una variable a identificar en procesos como el realizado en este trabajo, pero que no obstante tiene un valor significativo el tener el concepto claramente entendido.

4.8.3 *Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)*

Una vez se ha escogido un método selectivo, el cual arroje resultados que sean tanto precisos como exactos, es importante establecer tanto la cantidad límite de analito detectable por dicho método, como la cuantificable.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

El límite de detección se define como la cantidad mínima de analito detectable por un método bajo un nivel de confianza establecido, y el límite de cuantificación es la cantidad mínima de analito que puede ser cuantificada bajo unos criterios de reproducibilidad aceptables con operaciones de rutina, es decir, que la precisión de los resultados tenga un desempeño satisfactorio (Morillas, 2016).

Experimentalmente el LOD y el LOQ se determinan de la siguiente manera (Morillas, 2016):

$$LOD = \bar{Y}_B + 3 S'_0 \quad (1)$$

$$LOQ = \bar{Y}_B + 10 S'_0 \quad (2)$$

Dónde:

\bar{Y}_B : Promedio de los valores obtenidos para el blanco de reactivos. (10 repeticiones)

S'_0 : Desviación estándar de los valores del blanco de reactivos. (10 repeticiones)

Si bien las 10 repeticiones realizadas para calcular el LOD y el LOQ pueden arrojar un resultado con un grado de confiabilidad significativo, en caso de que el laboratorio tenga sospechas de que las muestras que van a ser evaluadas con este método tendrán bajas concentraciones del analito, tanto el LOD como el LOQ deberán ser monitoreados con cierta regularidad (Morillas, 2016).

4.8.4 Intervalo de trabajo.

El intervalo de trabajo permite tener idea de en qué rango de concentración se puede trabajar para realizar la cuantificación de un analito, por lo cual tiene un papel importante en todo

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

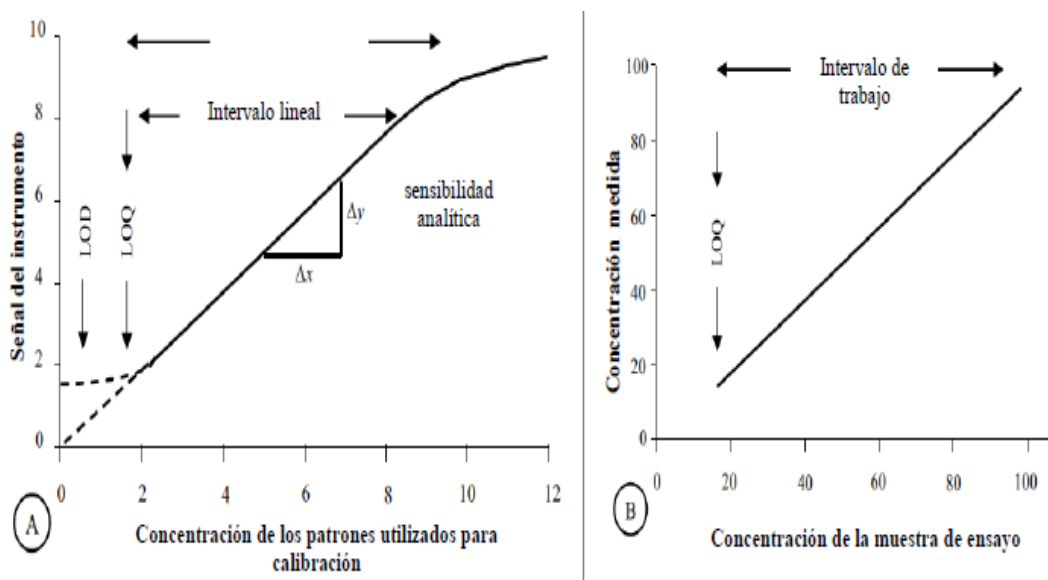
proceso de verificación de un método. Dicho intervalo corresponde al rango en donde la curva de calibración se comporta de manera lineal, es decir, donde se cumple la ley de Lambert-Beer.

Los límites de dicho intervalo están demarcados por, en la parte inferior, el LOQ, el cual como ya se mencionó en el inciso anterior, indica la cantidad mínima cuantificable de un analito por el método que se está desarrollando; y en la parte superior, el valor máximo en el cual se conserva la linealidad de la curva está definido por los valores de concentración que, al ser cada vez más altos, pueden llegar a presentar anomalías en la sensibilidad del método.

En la figura 4 se puede observar un ejemplo de análisis del intervalo de trabajo de un método, y qué forma debe tener finalmente el rango lineal en la curva de calibración.

Figura 4.

Ejemplos de análisis del intervalo de trabajo de un método.



Nota. A) Ejemplo de una curva de respuesta para identificar el rango lineal de trabajo de un método analítico. B) Ejemplo de una curva de calibración de un método analítico (Morillas, 2016).

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.8.5 Curva de calibración.

Una curva de calibración es una función que se emplea para relacionar dos variables entre sí, y así poder determinar si existe una proporcionalidad entre estas. Las variables involucradas generalmente hacen referencia a la cantidad de una sustancia, y a la señal respuesta de un equipo frente a esta. Su estructura se evidencia en la ecuación 3.

$$y = bx \pm a \quad (3)$$

Donde:

b = pendiente de la recta

a = intercepto de la recta con el eje x.

Con la intención de estudiar la ya mencionada relación entre una variable y la otra, se realiza un proceso de regresión lineal simple. Su objetivo es explicar el comportamiento de la variable dependiente y, respecto a otra variable x denominada independiente (Laguna, 2014).

El método de mínimos cuadrados es uno de los más utilizados para realizar una regresión lineal simple. Siguiendo la forma descrita en la ecuación 3, se tiene que los valores de a y b son (Laguna, 2014):

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4)$$

$$b = \frac{S_{XY}}{S_X^2} \quad (5)$$

Siendo:

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (6)$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

$$S_{XY} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \quad (7)$$

$$S_X^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (8)$$

Dónde:

\bar{x} y \bar{y} : promedio de los valores de x y y .

S_{XY} : covarianza muestral.

S_X^2 : varianza muestral de x .

Por medio de la técnica de regresión lineal se llega a un valor de y esperado (\hat{y}), y la diferencia entre dicho valor y el y experimental se le conoce como residuo o error, el cual se desea que sea lo más pequeño posible. Matemáticamente se expresa de la siguiente manera (Laguna, 2014):

$$e = y - \hat{y} \quad (9)$$

El método de los mínimos cuadrados consiste en tratar de encontrar valores de a y b tales que al realizar la suma de los cuadrados de los residuos en cada medición (ecuación 10), esta sea lo más pequeña posible (Laguna, 2014).

$$SC_{Residuos} = \sum_{i=1}^n e_i^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (10)$$

Todo proceso de verificación de un método analítico debe ser sometido a un tratamiento estadístico de sus resultados; esto con el fin de demostrar desde un punto de vista matemático todos los aspectos que ya antes se han mencionado respecto a la calidad, reproducibilidad y precisión de dichos resultados. Ya que la curva de calibración tiene un papel fundamental en el presente trabajo, se hace necesario que los valores que se emplean para elaborarla tengan dicho tratamiento.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

4.8.5.1 Coeficiente de correlación lineal de Pearson.

El grado de linealidad que existe entre una variable x y una variable y se puede determinar de manera eficiente mediante el cálculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson (r). Sus valores pueden oscilar entre -1 y 1, y entre más cercano a la unidad se encuentre el valor absoluto del coeficiente, se dice que la relación lineal entre ambas variables es alta (Laguna, 2014).

$$r = \frac{S_{XY}}{S_X S_Y} \quad (11)$$

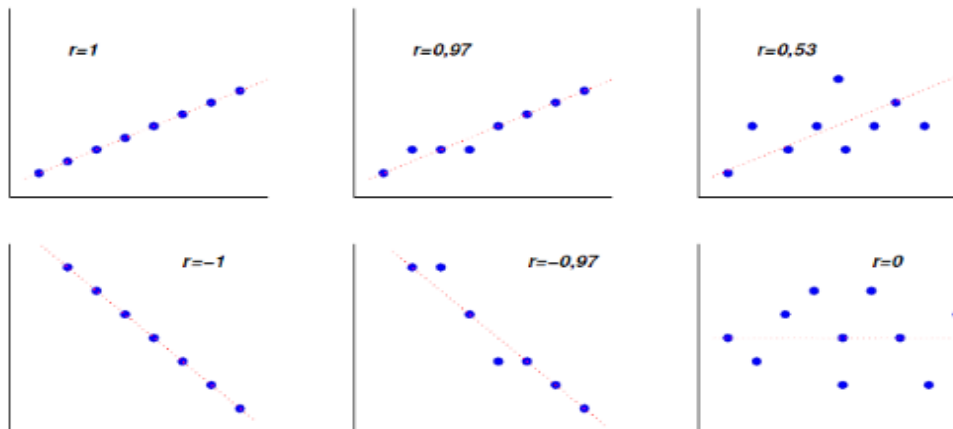
Dónde:

r : Coeficiente de correlación lineal de Pearson

Las expresiones matemáticas de S_{XY} , S_X y S_Y se encuentran desglosadas en las ecuaciones 7 y 8. Para el valor de S_X y S_Y se debe tomar la ecuación 8 y sacarle la raíz cuadrada, y en el caso de S_Y , es exactamente la misma ecuación, pero cambiando la variable x por y .

Figura 5.

Ejemplos de diferentes valores del coeficiente de correlación lineal de Pearson



VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Nota. En esta imagen se puede observar cómo es el comportamiento de las variables involucradas.

Tomado de: (Laguna, 2014).

4.8.5.2 Coeficiente de determinación.

La diferencia entre el coeficiente de correlación lineal de Pearson (r) y el coeficiente de determinación (R^2) es tan simple como concreta; en el caso de r se mide el grado de asociación que tienen dos variables, y en el del R^2 se mide qué tanto varía la variable dependiente a partir de la variable independiente (Laguna, 2014).

Adicionalmente, se tiene que r brinda más información del sistema que R^2 , pues además de describir qué tanto se asocian las variables involucradas, permite conocer si dicha relación es positiva o negativa dependiendo del signo que posea (Laguna, 2014).

El coeficiente R^2 indica el grado de ajuste que posee la recta de regresión con los valores experimentales encontrados y su valor corresponde al cuadrado del coeficiente de correlación lineal de Pearson, y de igual manera que este, entre más cercano sea su valor a la unidad, se considera que el ajuste realizado con respecto a lo encontrado experimentalmente, es mejor (Williams, 2008).

4.8.5.3 Prueba t de Student.

Mediante este ensayo estadístico se relacionan los valores de r y R^2 para comprobar la linealidad de la curva. Con estos dos datos se procede a calcular el valor de t empleando la ecuación 12. El valor calculado se compara con el valor de t tabulado para el nivel de confianza deseado, y utilizando un contraste de t de dos colas y $n-2$ grados de libertad. Si el t calculado es mayor al valor de t tabulado para el correspondiente número de mediciones, se considera que existe una correlación lineal entre x e y . La ecuación utilizada para el cálculo de t se encuentra a continuación:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

$$t_{calc} = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-R^2}} \quad (12)$$

4.8.5.4 Prueba de Grubbs.

Esta prueba permite, mediante un análisis del promedio y la desviación estándar de los datos, determinar si existe o no un dato que pueda ser catalogado como anómalo. Partiendo de un conjunto de datos x_1 hasta x_n ordenados de manera ascendente, se calcula el promedio de estos y su desviación estándar; seguidamente, empleando la ecuación 13 se procede a calcular el valor de T tanto para el punto mínimo como para el máximo de los datos.

$$T_{cal} = \frac{x - \bar{x}}{s'_x} \quad (13)$$

Dónde:

x : valor mínimo o máximo de los datos.

Al igual que se hizo en el inciso 4.8.5.3, los valores de T calculado se comparan con los valores de T tabulados para el nivel de confianza deseado y con un n número de mediciones. Si el T calculado es mayor que el T tabulado, se considera que el dato es anómalo.

4.8.5.5 Prueba de Cochran (C).

Con el fin de analizar la homogeneidad de los valores analizados se realiza la prueba C de Cochran, la cual asume un diseño equilibrado en el cual se examina una serie de datos individuales en grupos de igual tamaño (k) y una serie de repeticiones (p) (W. Horwitz, 1988). Se considera que los resultados obtenidos son homogéneos entre sí cuando el valor de C tabulado sea mayor al C calculado en función de los valores de k y p establecidos. La ecuación empleada para hallar el C calculado se encuentra a continuación:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISCOQUÍMICOS

$$C_{calc} = \frac{s_{max}^2}{\sum_{i=1}^n (s_i^2)^2} \quad (14)$$

4.8.6 Demostración inicial de la capacidad (IDC).

Con el fin de demostrar que el analista tiene las competencias necesarias para aplicar una determinada técnica analítica, este debe realizar un IDC antes de llevar a cabo un ensayo con una muestra real. Un buen IDC no solo indica que en efecto el analista aplica correctamente el método, sino también demuestra que el procedimiento que ejecuta el laboratorio puede brindar resultados con un grado de exactitud y precisión acordes a lo estipulado en el método de referencia. Si bien en el inciso 4.8.1. ya se definió de manera breve y concisa qué son la exactitud y la precisión, a continuación, se encuentran las ecuaciones que deben emplearse en cada uno de estos casos para cuantificar estas variables.

4.8.6.1 Precisión.

La precisión se expresa mediante el coeficiente de variación (CV) el cual representa la desviación estándar relativa de las mediciones, y sus unidades son el porcentaje (Baird et al, 2017).

$$CV = \%RSD = \frac{s}{\bar{x}} * 100\% \quad (15)$$

Sea:

$$s = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad (16)$$

Dónde:

n: número de mediciones realizadas.

s: desviación estándar de los resultados de las mediciones.

\bar{x} : promedio del resultado de las mediciones.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

4.8.6.2 Exactitud.

La exactitud se determina calculando el sesgo entre el resultado producto de la medición experimental y el valor de referencia ya sea de una solución patrón o de una muestra de concentración conocida. El sesgo se expresa en %error y se halla de la siguiente manera:

$$\%error = \left| \frac{\text{valor experimental} - \text{valor referencia}}{\text{valor referencia}} \right| * 100\% \quad (17)$$

Para que el resultado obtenido experimentalmente se considere aceptable, el valor del porcentaje de error debe ser menor al 10%.

4.8.7 Cartas de control (CC).

Las cartas de control son unas herramientas que representan gran utilidad a la hora de probar que tanto la exactitud como la precisión de las mediciones que se están realizando es aceptable. Permiten que se demuestre estadísticamente la veracidad de los datos y en caso de que se presenten irregularidades en los resultados, poder detectarlos de manera eficiente (Baird et al, 2017).

Las dos cartas de control que se van a emplear en la presente confirmación son las más comúnmente utilizadas; la carta de control de medias y la carta de control de precisión.

4.8.7.1 Carta de control de medias (M).

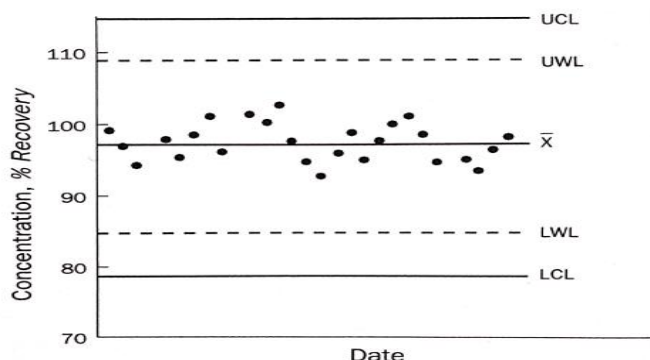
La carta de control de medias se puede utilizar para la gran mayoría de controles de calidad (Bk, LOQ, estándares de calibración, LFB, LFM, entre otros), y se construye a partir del promedio y la desviación estándar de un número específico de mediciones de dichos controles. Esta carta tiene dos elementos denominados límite de advertencia (LA) y límite de control (LC). Si el resultado obtenido para una muestra se encuentra dentro del rango establecido por el LA ($\pm 2s$), se considera que es una medición controlada y dicho resultado es aceptado. Por otra parte, si el

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

resultado obtenido para una muestra se encuentra en el rango comprendido entre el LA y el LC ($\pm 3s$), se considera que este resultado puede presentar irregularidades y por lo tanto se debe inspeccionar cuál puede ser la fuente de error asociada a dicha medición. Finalmente, si el resultado obtenido para una muestra se encuentra fuera del rango establecido por el LC, éste se debe rechazar ya que se considera como un dato fuera de control estadístico, lo cual tendrá como consecuencia la repetición de dicho lote de muestras (Baird et al, 2017). Un ejemplo de la carta de control de medias para el porcentaje de recuperación del analito se puede observar en la figura 6.

Figura 6.

Ejemplo de carta de control de medias.



Nota. Tomado de: (Baird et al, 2017).

4.8.7.2 Carta de control de precisión (R).

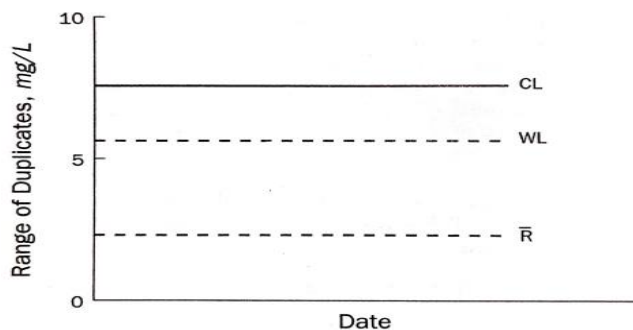
La carta de control de precisión es utilizada para, como su nombre lo indica, medir la precisión de las mediciones realizadas, y por tanto concluir si el método es o no reproducible en el tiempo. Esta carta de control, así como en la de medias, se construye a partir del promedio y la desviación estándar de una serie de mediciones, con la diferencia de que la variable que se va a someter al análisis estadístico será la diferencia porcentual relativa (RPD) de cada lote de muestras analizado. Teniendo en cuenta que el %RPD tiene su línea base en 0%, y que su magnitud siempre

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

tendrá valores positivos, solamente se tienen en cuenta los valores positivos del LA y el LC. Un ejemplo de la carta de control de precisión puede observar en la figura 7.

Figura 7.

Ejemplo de carta de control de precisión.



Nota: (En este caso se grafica el rango de variación de la concentración de los duplicados contra los datos). Tomado de: (Baird et al, 2017).

4.8.8 Blanco y matriz fortificados de laboratorio.

El blanco fortificado de laboratorio (LFB) y la matriz fortificada de laboratorio (LFM) son variables que permiten evaluar la eficiencia de extracción del analito con el procedimiento que se está llevando a cabo, ya sea en un blanco de reactivos o en una muestra de rutina. La adición del fortificante está limitada por el intervalo de trabajo del método, y será menor o igual al punto medio del mismo ($\leq 50\%$ del rango de trabajo de la curva de calibración). Adicionalmente se sugiere que se utilice las mismas concentraciones tanto para el LFB como el LFM, para así evaluar el efecto de la matriz sobre el analito (Baird et al, 2017).

Las ecuaciones utilizadas para calcular el porcentaje de recuperación (%R) tanto para el LFB como para la LFM respectivamente se encuentra a continuación:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

$$\%R_{LFB} = \frac{C_{\text{encontrada experimentalmente}}}{C_{\text{adicionada}}} * 100\% \quad (18)$$

$$\%R_{LFM} = \frac{[C_{LFM}*(V_A+V_M)]-(C_M*V_M)}{C_A*V_A} * 100\% \quad (19)$$

Dónde:

C_{LFM} : Concentración de la matriz fortificada de laboratorio

C_A, V_A : Concentración y volumen respectivamente de la solución utilizada para fortificar.

C_M, V_M : Concentración y volumen respectivamente de la muestra sin fortificar.

Para evaluar la precisión de los resultados obtenidos, ya sea para las muestras o para las LFM se realizan duplicados de las mismas, y a estas, se les calcula la diferencia porcentual relativa (%RDP) empleando la siguiente ecuación:

$$\%RPD = \frac{|C_M - C_{M-D}|}{(C_M + C_{M-D})/2} * 100\% \quad (20)$$

Dónde:

C_M : Concentración de la muestra o la LFM.

C_{M-D} : Concentración del duplicado de la muestra o la LFM.

4.8.9 Incertidumbre.

Toda medición realizada tiene asociada a ella una incertidumbre, la cual debe ser incluida en los resultados que se reporten ya sea para un trabajo de investigación o en la prestación de un servicio acreditado.

La incertidumbre se considera como un intervalo que tiene toda medición, la cual corresponde al rango de valores que se le pueden atribuir a la cantidad que se está midiendo. Una

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

aplicación correcta de este concepto incluirá todas las variables que intervienen directa e indirectamente en llegar al resultado final (Morillas, 2016); en el caso del trabajo aquí desarrollado se tiene como ejemplo el material volumétrico y de pesado, la calidad/pureza de los reactivos, el equipo espectrofotométrico, entre otros.

Para cuantificar de manera confiable el valor de la incertidumbre se debe tener en cuenta cada una de las fuentes de ésta y evaluarlas por separado, para que de esa manera se pueda saber qué tanto contribuye cada una en el observable.

La incertidumbre puede ser tipo A y tipo B. La incertidumbre A es, según el Vocabulario Internacional en Metrología, “la evaluación de un componente de la incertidumbre de medición mediante un análisis estadístico de los valores obtenidos a unas condiciones definidas” (Strickland et al, 1972). Un ejemplo de esto es la curva de calibración elaborada para la cuantificación de un analito, y las ecuaciones para calcular la incertidumbre estándar asociada a estas mediciones son las siguientes:

$$\mu(x) = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{S_{xx}}} \quad (21)$$

Sea:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (e_i)^2}{n-2}} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (22)$$

Dónde:

s: desviación estándar de los residuales de la regresión lineal

S_{xx} : suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones

e_i : Residuales ($y - \hat{y}$)

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

p : número de repeticiones en las que se hizo la curva de calibración

n : número de puntos que tiene la curva de calibración multiplicado por p

b : pendiente de la curva de calibración

Por otra parte, la incertidumbre de tipo B, según el Vocabulario Internacional en Metrología, es aquella que se determina por métodos diferentes a la evaluación estadística de una serie de observaciones realizadas directamente por el operario (ICONTEC, 2003).

Este tipo de incertidumbre proviene principalmente de, entre unas tantas, las siguientes fuentes:

- Certificados de calibración
- Manuales de fabricante
- Procedimientos técnicos
- Ensayos de aptitud de equipos

La incertidumbre estándar se obtiene según qué distribución de probabilidad se utilice para realizar el cálculo; de entre estas se encuentra la distribución normal, rectangular, triangular y la trapezoidal (CEM, 2008).

Para el presente trabajo, se va a emplear una distribución de tipo rectangular, la cual consiste en que la variable que se está expresando se puede encontrar entre un rango establecido de igual probabilidad, es decir, que los extremos se encuentran, en magnitud, a la misma distancia del resultado reportado. La incertidumbre estándar ($\mu(x)$) en la distribución rectangular se calcula de la siguiente manera (ICONTEC, 2003), (Pérez, 2012):

$$\mu(x) = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (23)$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Dónde:

a: magnitud del rango de probabilidad.

Para el cálculo de la incertidumbre estándar de una serie de n observaciones repetidas e independientes, la incertidumbre estándar es igual a (Pérez, 2012):

$$\mu(x) = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (24)$$

Dónde:

s: desviación estándar de los resultados

n: número de mediciones

Para calcular la incertidumbre estándar para una incertidumbre de tipo B, más específicamente un instrumento calibrado, se emplea la siguiente ecuación (Pérez, 2012):

$$\mu(x) = \frac{U}{k} \quad (25)$$

Dónde:

U: Incertidumbre expandida dada en el certificado de calibración del patrón utilizado.

k: factor de cobertura indicado.

Teniendo el valor de incertidumbre estándar, se puede calcular la incertidumbre estándar relativa (μ_r) de acuerdo a la siguiente ecuación (ICONTEC, 2003), (Pérez, 2012):

$$\mu_r = \frac{\mu(x)}{x} \quad (26)$$

Para el cálculo de la incertidumbre estándar combinada (μ_c) del método se debe sacar la raíz cuadrada de la sumatoria de los cuadrados de las incertidumbres estándar relativas de todas

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

las fuentes que intervienen en la medición. Esta operación se puede observar en la siguiente ecuación (ICONTEC, 2003), (Pérez, 2012), (Howarth, 2008):

$$\mu_c = \sqrt{\mu_1^2 + \mu_2^2 + \mu_3^2 + \dots + \mu_n^2} \quad (27)$$

Finalmente, el cálculo de la incertidumbre expandida del método (U), el cual representa, por definición, la cantidad que define un intervalo alrededor de una medición del que se puede esperar que abarque una fracción grande de la distribución de valores que razonablemente pudieran ser atribuidos al mensurando, se realiza de la siguiente manera (ICONTEC, 2003), (Pérez, 2012), (Howarth, 2008):

$$U = \mu_c * k \quad (28)$$

Dónde:

k : factor de cobertura. Para un nivel de confianza del 95%, dicho valor corresponde a 2.

4.8.10 Curva de Ringbom.

La curva de Ringbom es una herramienta de gran utilidad para determinar de manera confiable el intervalo lineal de la curva de calibración; en ella se establecen los puntos de la curva que satisfacen el requerimiento de exactitud y precisión que se necesita para tal propósito, y mediante su aplicación se pueden llegar a descartar aquellos puntos que se desvían del comportamiento lineal esperado.

Graficando el porcentaje de absorción contra el logaritmo de la concentración se obtiene una curva de tipo sigmoide, y la parte lineal de la misma corresponderá al rango lineal en el cual se podrá preparar la curva de calibración.

El porcentaje de absorción se calcula de la siguiente manera:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

$$\%Absortancia = 100 - \%T \quad (29)$$

Siendo

$$\%T = 10^{-A} * 100\% \quad (30)$$

Dónde:

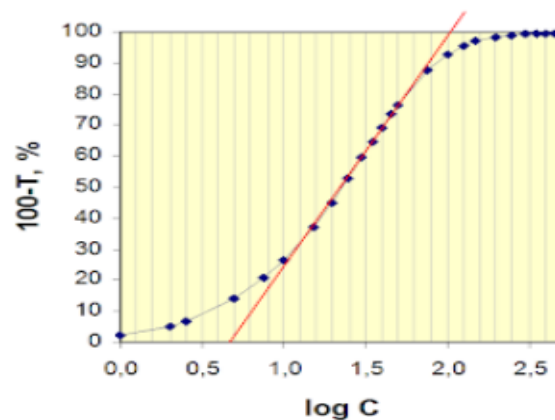
A: Absorbancia.

%T: Porcentaje de transmitancia.

En la figura 8 se puede observar un ejemplo de una curva de Ringbom en donde el rango lineal de trabajo se encuentra demarcado con una línea roja que intercepta los puntos que corresponden a la fracción lineal de la curva.

Figura 8.

Ejemplo de curva de Ringbom.



Nota. Tomado de: <https://qaqc2000.blogspot.com/2016/04/el-error-asociado-los-algoritmos-en.html>

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

5. Metodología

El método que se va a aplicar para la determinación de fenoles totales en el presente trabajo es el 5530D del Standard Methods, y se usará en las matrices de agua residual (doméstica y no doméstica) y superficial. Se empleará la espectroscopia UV-vis como técnica analítica.

Previa al análisis en el laboratorio, se encuentra la etapa del muestreo y la correspondiente preservación del analito. Para la recolección de muestras se pueden emplear tanto frascos de vidrio como de plástico, y se requiere un mínimo de 500 mL de agua para su análisis. Para la preservación de la muestra se emplean ácido sulfúrico concentrado para llevar a un pH inferior a 2,0 y refrigeración a temperaturas menores a 6°C; estas dos condiciones permitirán que la muestra sea analizable por un periodo máximo de 28 días desde la recolección de la misma (E.W. Rice et al, 2017).

5.1 Equipos, materiales y reactivos.

5.1.1 Equipos.

- Espectrofotómetro HACH, que tiene como fuente de luz un fototubo infrarrojo, y que emite un haz de luz de 880 nm, con un paso de 5,0 cm.
- Balanza analítica BEL Engineering, M124A
- Destilador Kjeldahl con tubos de digestión Kjeldahl.
- pHmetro HANNA HI 5522

5.1.2 Materiales.

- Pipetas aforadas clase A de 5, 10, 25 y 50 mL.
- Pipetas volumétricas clase A de 1 y 5 mL.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

- Balones aforados clase A de 100, 200, 250, 500 y 1000 mL.
- Probetas volumétricas clase A de 100 mL.
- Vasos de precipitados de 50 y 150 mL
- Frasco de vidrio ámbar de 250, 500 y 1000 mL.
- Celda de vidrio de 5 cm.
- Espátulas.
- Embudos.
- Vidrio-relojes
- Agitadores magnéticos.
- Pipetas Pasteur.
- Jabón neutro.

Todo el material de vidrio utilizado fue lavado previamente de acuerdo con el LB-P28 (Procedimiento para lavado de material) establecido en el laboratorio; el cual especifica que para la determinación de fenoles totales se debe emplear como solución de lavado H_2SO_4 al 10%. Este material se sometió a la revisión y/o control de calidad pertinente.

5.1.3 Reactivos.

- Solución de H_3PO_4 1:10: Diluir 10 mL de H_3PO_4 al 85% (Merck) a 100 mL con agua destilada.
- Solución de NaOH 2,5 N: Disolver 10 g de NaOH granular (Merck) en 100 mL de agua destilada.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

- Solución stock de fenol de 1000 ppm: Disolver 1,0000 g de cristales de fenol grado analítico (PanReac) en 1000 mL de agua destilada fresca. Preservada con H_2SO_4 concentrado.
- Solución de Bromato-Bromuro ($\text{KBrO}_3 - \text{KBr}$): Disolver 2,784 g de KBrO_3 anhidro grado analítico (PanReac) y 10 g de KBr grado analítico (PanReac) en 1000 mL de agua destilada.
- HCl concentrado. (PanReac).
- KI grado analítico. (Merck).
- Solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,025 M: Disolver 6,205 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ grado analítico (PanReac) y 0,4 g de NaOH granular (Merck) en 1000 mL de agua destilada
- H_2SO_4 concentrado. (PanReac).
- Solución de $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ 0,0021 M/0,025 N (Reactivo estándar primario): Disolver 0,8124 mg de $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ grado analítico (PanReac) en 1000 mL de agua destilada fresca.
- Solución indicadora de almidón: Disolver 2 g de almidón grado analítico (PanReac) y 0,2 g de ácido salicílico en 100 mL de agua destilada.
- Solución de NH_4OH 0,5 N: Diluir 35 mL de NH_4OH concentrado (Merck) a 1000 mL con agua destilada.
- Solución buffer de fosfatos ($\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{HPO}_4$): Disolver 104,5 g de K_2HPO_4 grado analítico (PanReac) y 72,3 g de KH_2PO_4 grado analítico (J.T. Baker) en 1000 mL de agua destilada. El pH de la solución debe ser de 6,8.
- Solución de 4-aminoantipirina: Disolver 2,0 g 4-aminoantipirina grado analítico (PanReac) en 100 mL de agua destilada. (preparar diaria).
- Solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: Disolver 8,0 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ grado analítico (PanReac) en 100 mL de agua destilada. (preparar diaria).

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

- Solución H₂SO₄ al 10%: Diluir 25 mL de H₂SO₄ concentrado (PanReac) a 250 mL con agua destilada.

5.2 Estandarización de la solución stock de fenol.

Teniendo en cuenta que el fenol cristalino no es un estándar primario, en el Standard Methods se sugiere la estandarización de la solución stock empleando Na₂S₂O₃ 0,025 M como agente titulante.

5.2.1 Estandarización de la solución de Na₂S₂O₃

Inicialmente se estandarizó la solución de Na₂S₂O₃ de la siguiente manera:

- a) Disolver 2g de KI libre de yodato en un balón aforado de 200 mL con 100 a 150 mL de agua destilada y mezclar bien.
- b) Adicionar a la solución unas gotas de H₂SO₄ concentrado y mezclar bien.
- c) Adicionar a la solución 20,0 mL de la solución estándar de KH(IO₃)₂ 0,0021 M, mezclar bien, y llevar a 200 mL con agua destilada.
- d) Transferir los 200 mL de solución a un Erlenmeyer de 500 mL y valorarla con la solución de Na₂S₂O₃ adicionando la solución indicadora de almidón hacia el final de la titulación (aparición de una coloración pajizo pálido). Continuar valorando la solución hasta la desaparición del color azul oscuro.
- e) Si las soluciones tienen la misma concentración se habrán gastado 20,0 mL de Na₂S₂O₃; en su defecto hacer el respectivo cálculo de la concentración del titulante empleando las siguientes ecuaciones:

$$N_{Na_2S_2O_3} = \frac{\#eq-g \text{ KH(IO}_3)_2}{mL \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \quad (31)$$

Dónde:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

$N_{Na_2S_2O_3}$: Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

$\#eq - g$ $KH(IO_3)_2$: Equivalentes-gramo de biyodato de potasio.

$mL Na_2S_2O_3$: Volumen de tiosulfato de sodio empleados en la estandarización.

Los equivalentes-gramo de biyodato de potasio se calculan de la siguiente manera:

$$0,025 N_{KH(IO_3)_2} * 20,0 * 10^{-3} L \text{ sln } KH(IO_3)_2 = \#eq - g KH(IO_3)_2 = 5 * 10^{-4} \quad (32)$$

5.2.2 Estandarización solución stock de fenol.

A continuación, una vez estandarizada la solución de $Na_2S_2O_3$, se procedió a estandarizar la solución de fenol de la siguiente manera:

- En un balón aforado de 500 mL (con tapa) adicionar 100 mL de agua destilada.
- Agregar al balón 50,0 mL de la solución stock de 1000 ppm de fenol y 1 porción de 10,0 mL de la solución de $KBrO_3 - KBr$.
- Agregar 5,0 mL de HCl concentrado y agitar suavemente. Se debe formar una coloración marrón del bromo libre.
- Si la coloración no se mantiene, agregar porciones de 10,0 mL de la solución de $KBrO_3 - KBr$ hasta que dicha coloración sea constante. Normalmente se necesitan 4 porciones de la solución de $KBrO_3 - KBr$ para que esto suceda.
- Dejar el balón tapado y reposando por 10 minutos.
- Agregar 1 g de KI a la solución y disolver.
- Transvasar la solución homogeneizada a un Erlenmeyer de 500 mL y valorar con la solución de $Na_2S_2O_3$ 0,025 M utilizando almidón como indicador hacia el final de la titulación, tal como se hizo en el inciso 5.2.1 numeral d.
- Preparar un blanco de reactivos siguiendo los mismos pasos anteriormente descritos.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

La concentración de fenol en la solución valorada se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$mg \frac{PhOH}{L} = 7,842 * [(A * B) - C] \quad (33)$$

Dónde:

A = mL de tiosulfato utilizados para la valoración del blanco.

B = porciones de solución $KBrO_3 - KBr$ utilizadas.

C = mL de tiosulfato utilizados para la valoración de la solución de fenol.

5.3 Curva de calibración.

A partir de la solución stock de fenol estandarizada se prepara la solución intermedia de la siguiente manera:

- **Solución intermedia de 50 ppm de fenol:** Diluir 5,0 mL de la solución stock de fenol estandarizada en agua destilada fresca y aforar a 100 mL. Preparar diariamente.

A partir de la solución intermedia de 50 ppm de fenol se prepara la solución de trabajo de la siguiente manera:

- **Solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol:** Diluir 5,0 o 10,0 mL de la solución intermedia de 50 ppm de fenol en agua destilada fresca y aforar a 250 o 500 mL (según se requiera). Preparar cada 2 horas.

Preparada la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol, se proceden a preparar de la siguiente manera las soluciones que se emplearán para elaboración de la curva de calibración:

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

- **Solución de 0,10 ppm de fenol:** Diluir 10,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 0,15 ppm de fenol:** Diluir 15,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 0,20 ppm de fenol:** Diluir 20,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 0,30 ppm de fenol:** Diluir 30,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 0,50 ppm de fenol:** Diluir 50,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 0,70 ppm de fenol:** Diluir 70,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol a 100 mL con agua destilada fresca en un balón aforado del mismo volumen.
- **Solución de 1,00 ppm de fenol:** Transferir 100,0 mL de la solución de trabajo de 1,00 ppm de fenol en un balón aforado del mismo volumen.

5.4 Procedimiento experimental.

5.4.1 Procedimiento de limpieza:

Medir 100 mL de muestra en una probeta de dicho volumen y transferir a un vaso de precipitados de 150 mL. Ajustar el pH de la misma hasta alrededor de 4,0 unidades. En el caso de que la muestra fuese preservada con H_2SO_4 , ajustar con NaOH 2,5 N, y en caso de que no, con H_3PO_4 1:10. Seguidamente transvasar el contenido al tubo de digestión Kjeldahl y, empleando el destilador Kjeldahl, someter a la muestra al proceso de destilación. Cuando se hayan destilado 100 mL, detener el calentamiento y proceder a purgar el equipo con agua destilada y unas gotas de H_2SO_4 1:1, para luego seguir con la destilación de la siguiente muestra.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

En caso de que el destilado presente turbidez, realizar el procedimiento de limpieza una vez más.

5.4.2 *Generación de color.*

Tomar los 100 mL destilados y transferirlos a un vaso de precipitados de 150 mL y realizarle el tratamiento que se describe a continuación: Adicionar 2,5 mL de la solución de NH_4OH 0,5N e inmediatamente ajustar el pH a $7,9 \pm 0,1$ empleando la solución buffer de fosfatos. Adicionar 1,0 mL de la solución de 4-aminoantipirina y mezclar muy bien (1,5 minutos); luego, adicionar 1,0 mL de la solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y mezclar muy bien (1,5 minutos). Cabe mencionar que es necesaria la preparación de un blanco de reactivos con agua destilada fresca el cuál, junto a los patrones empleados para la elaboración de la curva de calibración, deberán ser sometidos a todo el procedimiento que se le realizó a la muestra.

Luego de 15 minutos de adicionada la solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ leer la absorbancia de la muestra/blanco/patrones en el espectrofotómetro a 500 nm.

5.4.3 *Cuantificación.*

Calcular la cantidad de fenol en la alícuota a partir de las mediciones fotométricas obtenidas empleando la ecuación de la curva de calibración construida, la cual tiene la forma que se evidencia en la ecuación 3.

5.5 **Controles de calidad.**

5.5.1 *LOD y LOQ*

El LOD y el LOQ del método se determinarán realizando 10 réplicas del blanco de reactivos con agua destilada fresca. El cálculo de estos se hará empleando las ecuaciones 1 y 2.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

5.5.2 *Cartas de control.*

Para la elaboración de las cartas de control se prepararon una serie de estándares LFB E₁ de 0,50 mg fenol/L (para la elaboración de la carta de control de medias) y LFB E₂ de 1,00 mg fenol/L (para la elaboración de la carta de control de precisión). La cantidad de estándares que se prepararán para este control de calidad dependerá del número resultados que estime el laboratorio para garantizar condiciones aptas de reproducibilidad.

Adicionalmente se harán cartas de control de medias para la estandarización de las soluciones de Na₂S₂O₃ y stock de fenoles con el fin de establecer los límites de advertencia y control para el cambio de dichas soluciones.

5.5.3 Blancos y matrices fortificadas

Con el fin de evaluar el porcentaje de recuperación del método y la reproducibilidad del mismo a diferentes valores de concentración dentro del rango de trabajo, se elaboran una serie de LFB y LFM. Los LFB se prepararán para un rango bajo, medio y alto de concentración, y la fortificación en los LFM se adicionará entre el 1 y 50% del rango de trabajo de la curva de calibración.

5.6 Lotes de muestras.

Cada uno de los lotes de muestra analizados, los cuales tendrán su correspondiente duplicado, constará de: el blanco de reactivos (BK), los blancos fortificados LFB 1 (0,15 mg fenol/L), LFB 2 (0,50 mg fenol/L) y LFB 3 (1,00 mg fenol/L), las muestras y el LFM de cada una de estas. El número de lotes realizados serán 6, cantidad que está establecida por el laboratorio para la confirmación de métodos.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Muestras de rutina y su fortificado:

Muestra M1: Agua natural superficial. GEOLOCALIZACIÓN: 7.00156, -73.05998 Comuna de Guatiguará. PIEDECUESTA, SANTANDER.

Muestra M2: Agua residual doméstica. ESCUELA DE CARABINEROS PROVINCIA DE VELEZ POLICIA NACIONAL. GEOLOCALIZACIÓN: 6.00979, -73.67183 VELEZ, SANTANDER

Muestra M3: Agua residual no doméstica. LAVADERO DE AUTOS MACROTIRES. GEOLOCALIZACIÓN: 7.13521, -73.12989 BUCARAMANGA, SANTANDER.

LFM1 (M1, 0,50 mg PhOH/L), LFM2 (M2, 0,50 mg PhOH/L), LFM3 (M3, 0,50 mg PhOH/L)

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6. Resultados y Discusión

6.1 Estandarización de la solución stock de fenol.

6.1.1 Estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Para realizar el cálculo de la concentración de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ se empleó las ecuaciones 31 y 32. Los resultados obtenidos se encuentran condensados en la tabla 2.

Tabla 2.

Resultados estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

# mediciones	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [mL]	Normalidad $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
1	19,85	0,0252
2	19,90	0,0251
3	19,85	0,0252
4	19,95	0,0251
5	19,90	0,0251
6	19,80	0,0253
7	19,85	0,0252
8	19,90	0,0251
9	19,95	0,0251
10	19,90	0,0251
Promedio		0,0251
s		0,0001
%CV		0,24%

Nota. Fuente: Autor

Teniendo en cuenta el valor del %CV se puede observar que hay un alto grado de precisión en las mediciones realizadas.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.1.2 Estandarización de la solución stock de fenol.

Para realizar el cálculo de la concentración de la solución stock de fenoles se utilizó la ecuación 33 y el resultado de la estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, en la cual se encontró una concentración promedio de 0,0251 N. Tener en cuenta que para todas las mediciones fueron necesarias 4 porciones de la solución de $\text{KBrO}_3 - \text{KBr}$, por lo cual en todos los casos $B = 4$. Los resultados se encuentran condensados en la tabla 3.

Tabla 3.

Resultados de la estandarización de la solución stock de fenoles.

# mediciones	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ Bk [mL]	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ PhOH [mL]	mg PhOH/L
1	39,95	31,90	1003,0
2	39,95	31,95	1002,6
3	39,90	31,90	1001,4
4	39,95	32,00	1002,2
5	39,90	32,00	1000,6
6	39,95	31,95	1002,6
7	39,95	31,90	1003,0
8	39,90	32,00	1000,6
9	39,90	32,00	1000,6
10	39,95	32,00	1002,2
Promedio			1001,9
s			0,9746
%CV			0,10%

Nota. Fuente: Autor

Teniendo en cuenta el valor del %CV se puede observar que hay un alto grado de precisión en las mediciones realizadas.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.2 Curva de calibración.

Tomando la concentración de la solución stock como 1001,9 ppm, el cuál fue el valor promedio encontrado, se realizó la corrección a las concentraciones de las soluciones: intermedia (50 ppm), de trabajo (1,00 ppm) y de calibración (patrones usados para la preparación de las curvas). Los volúmenes utilizados en dichas preparaciones son los especificados en la sección 5.3.

Tabla 4.

Valores de las concentraciones corregidas.

Patrón [mg/L]	Concentración corregida [mg/L]
50,0	50,1
1,00	1,00
0,15	0,15
0,20	0,20
0,30	0,30
0,50	0,50
0,70	0,70

Nota. Fuente: Autor

Como se puede observar en la tabla 4, la concentración corregida para los patrones utilizados en la elaboración de la curva de calibración no se ve afectada en las cifras significativas que se contemplan en el presente trabajo; solo hasta en la tercera cifra, e inclusive en algunas en la cuarta cifra decimal, se evidencia una variación en dicho valor, por lo cual se puede seguir trabajando con los volúmenes descritos en la sección 5.3 y no es necesario hacer una modificación en la metodología.

Para la elaboración de la curva de calibración se trabajó con un rango de concentración entre 0,00 mg/L y 1,00 mg/L. Se establecieron 8 puntos iniciales a partir de los cuales se realizó

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

la curva de Ringbom, ver figura 10, para luego seleccionar 6 de estos y comenzar a realizar las curvas de trabajo.

Tabla 5.

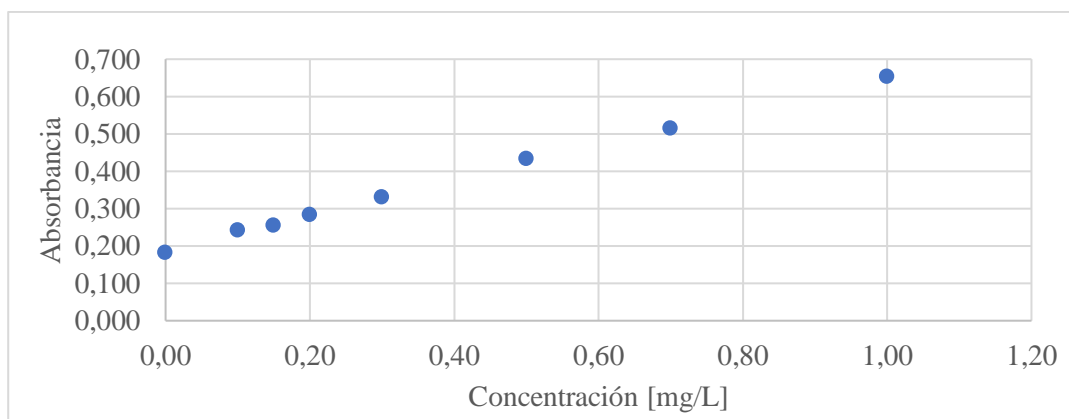
Datos utilizados para la elaboración de la curva de Ringbom.

Punto	Estándar [mg PhOH/L]	Absorbancias			A promedio	Log [mg PhOH/L]	T	%T	ABST [100 - %T]
		A1	A2	A3					
1	0,00	0,171	0,171	0,170	0,171	-	-	-	-
2	0,10	0,233	0,233	0,232	0,233	-1,000	0,57	57,10	42,9
3	0,15	0,260	0,259	0,259	0,259	-0,824	0,56	55,59	44,4
4	0,20	0,285	0,285	0,284	0,285	-0,699	0,52	51,92	48,1
5	0,30	0,332	0,332	0,331	0,332	-0,523	0,47	46,63	53,4
6	0,50	0,414	0,414	0,413	0,414	-0,301	0,37	36,78	63,2
7	0,70	0,520	0,520	0,519	0,520	-0,155	0,31	30,53	69,5
8	1,00	0,651	0,651	0,650	0,651	0,000	0,22	22,16	77,8

Nota. Fuente: Autor

Figura 9.

Gráfico de la curva de calibración preliminar para fenoles totales.

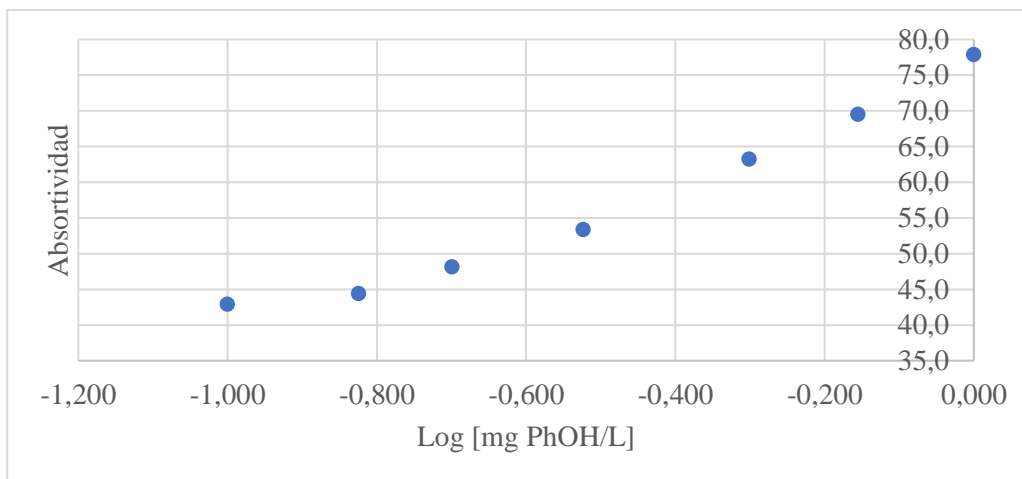


Nota. Fuente: Autor

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Figura 10.

Gráfico para la curva de Ringbom para fenoles totales.



Nota. Fuente: Autor

6.3 Curva de trabajo.

Una vez elegidos los 6 puntos se prepararon 3 curvas de calibración junto con su duplicado para la realización de la curva de trabajo. Cada lectura se hizo por triplicado y se calculó el promedio de las absorbancias. Durante dicha preparación no se realiza el ajuste del equipo en cero con el blanco de reactivos, por lo cual dicha concentración se incluye como un punto dentro de la curva de calibración.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Tabla 6.

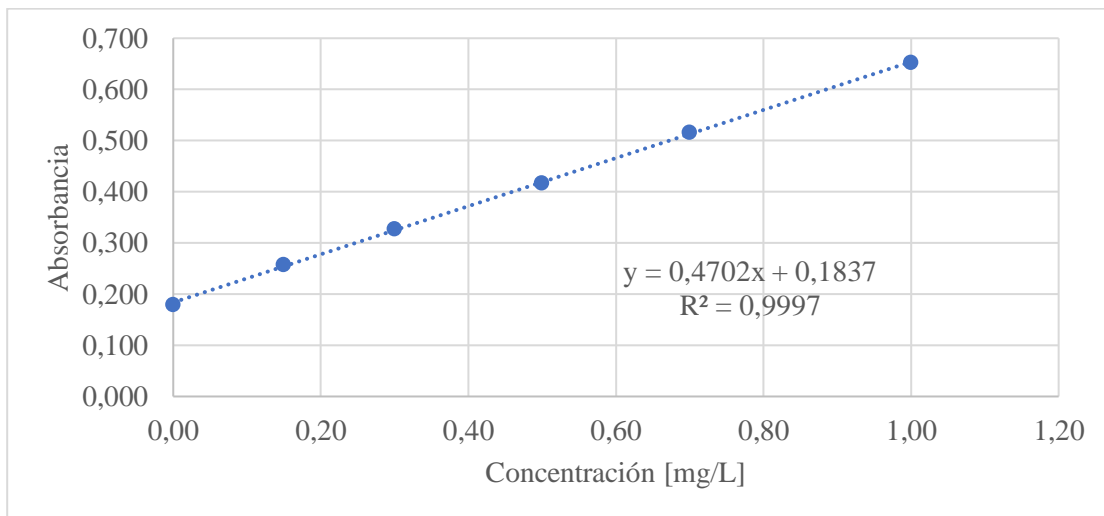
Datos utilizados para la elaboración de la curva de trabajo.

Punto	Estándar [mg PhOH/L]	Absorbancias			A Curva de trabajo
		Curva 1	Curva 2	Curva 3	
1	0,00	0,179	0,187	0,172	0,180
2	0,15	0,250	0,266	0,257	0,257
3	0,30	0,332	0,326	0,325	0,327
4	0,50	0,419	0,417	0,413	0,416
5	0,70	0,514	0,517	0,516	0,516
6	1,00	0,653	0,656	0,647	0,652

Nota. Fuente: Autor.

Figura 11.

Gráfico de la curva de calibración de trabajo para fenoles totales.



Nota. Fuente: Autor.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.4 Confirmación de la linealidad.

Empleando los datos con los que se construyó la curva de trabajo para la determinación de fenoles totales, se realizaron los cálculos estadísticos pertinentes y descritos en la sección 4.8. Los criterios estadísticos obtenidos se encuentran consignados en la tabla 7.

Tabla 7.

Criterios estadísticos para la confirmación de la linealidad.

Criterio	Valor	Criterio	Valor
Número de lecturas (p)	3	Coefficiente de correlación (r)	0,9995
Número de datos (n)	18	Pendiente (b)	0,4702
\bar{x}	0,4417	Ordenada en el origen (a)	0,1837
\bar{y}	0,3914	Sx	0,3372
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$	2,0463	Sy	0,1586
$\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$	0,4529	Sxy	0,0535
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	0,9622	SSresiduo	0,00048

Nota. Fuente: Autor.

Finalmente se tiene que la ecuación de la curva de calibración para la determinación de fenoles totales es:

$$y = 0,4702x + 0,1837 \quad (34)$$

Con el fin de analizar la desviación estándar entre las curvas de calibración realizadas para elaborar la curva de trabajo, se calculó el estadístico de Cochran para $k = 6$ y $p = 3$. Los valores obtenidos se encuentran condensados en la tabla 8.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Tabla 8.

Resultados de la prueba de homogeneidad de varianza Cochran.

Descripción	Valor
Máxima varianza	0,00006
Sumatoria de varianzas	0,00016
G calculado	0,3801
G Tabulado (95%) k = 6 y p = 3	0,6161
G calculado < G tabulado	VERDADERO

Nota. Fuente: Autor.

Analizando los resultados obtenidos en la tabla 8 (G calculado < G tabulado) se afirma que las varianzas entre las curvas de calibración empleadas para la elaboración de la curva de trabajo para la determinación de fenoles totales son comparables y homogéneas.

Para saber si existe una relación lineal entre las absorbancias medidas para la elaboración de la curva de trabajo y las concentraciones de los patrones preparados, se realizó la prueba del estadístico t . Los valores obtenidos se encuentran condensados en la tabla 9.

Tabla 9.

Resultados de la prueba t de Student.

Descripción	Valor
R	0,9995
R ²	0,9989
t calculado	122,79
t tabulado (95%) y n = 18-2	2,1199
t calculado > t tabulado	CUMPLE

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Nota. Fuente: Autor.

Al ser mayor el t calculado que el t tabulado se rechaza una hipótesis nula y se da constancia de la relación lineal entre las absorbancias medidas y la concentración de los patrones de fenol.

6.5 Estimación del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ)

Como se describió en el inciso 4.8.3, la estimación del LOD y el LOQ del método se realizó con los datos obtenidos de la concentración de 10 blancos de reactivos. Los resultados de dicho ejercicio se encuentran condensados en la tabla 10.

Tabla 10.

Resultados de la estimación del LOD y LOQ del método.

# Réplica	[mg PhOH/L]
1	-0,005
2	-0,003
3	-0,016
4	0,006
5	-0,021
6	0,023
7	-0,009
8	0,006
9	-0,018
10	-0,014
Valor teórico	0,000
Promedio	-0,005
T (calculado) para el valor alto (< 2,18)	2,04
T (calculado) para el valor bajo (< 2,18)	1,23
Desviación estándar (s)	0,014
LOD	0,038
LOQ	0,132

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Nota. Fuente: Autor.

Teniendo en cuenta que los valores de T calculados tanto para el valor máximo como para el mínimo de concentración son inferiores al T tabulado, no fue necesario aplicar la prueba estadística de Grubbs para la eliminación de datos anómalos. Con base en lo reportado en la tabla 10, se estableció 0,15 mg PhOH/L como el límite de cuantificación para el presente trabajo. Dicha concentración será evaluada en la demostración de la capacidad inicial.

6.6 Demostración de la capacidad inicial.

Tabla 11.

Resultados de la demostración de la capacidad inicial fenoles totales.

Identificación de la muestra	Absorbancia promedio	Concentración calculada	%error	Cumple meta < 10% error	% Recuperación	Cumple meta 70% < %R < 130%
LOQ (0,15 mg PhOH/L)	0,253	0,15	2,2	CUMPLE	97,8	CUMPLE
	0,259	0,16	7,2	CUMPLE	107,2	CUMPLE
	0,258	0,16	4,9	CUMPLE	104,9	CUMPLE
	0,260	0,16	8,7	CUMPLE	108,7	CUMPLE
Estándar de concentración media (0,50 mg PhOH/L)	0,431	0,53	5,3	CUMPLE	105,3	CUMPLE
	0,422	0,51	1,2	CUMPLE	101,2	CUMPLE
	0,414	0,49	2,2	CUMPLE	97,8	CUMPLE
	0,405	0,47	6,0	CUMPLE	94,0	CUMPLE
Estándar de concentración alta (1,00 mg PhOH/L)	0,649	0,99	1,0	CUMPLE	99,0	CUMPLE
	0,644	0,98	2,2	CUMPLE	97,8	CUMPLE
	0,651	0,99	0,5	CUMPLE	99,5	CUMPLE
	0,656	1,00	0,4	CUMPLE	100,4	CUMPLE

Nota. Fuente: Autor.

Según lo reportado en la tabla 11, se puede destacar el cumplimiento tanto en el apartado del sesgo de error (< 10% error) como en el del porcentaje de recuperación (70% < %R < 130%) del LOQ.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.7 Lotes de muestras evaluados.

Tabla 12.

Resultados obtenidos para los lotes de Bk, LFB, muestras y LFM realizados.

Lote	#	BK	LFB1	LFB2	LFB3	Muestras rutinarias			Matriz fortificada		
			0,15	0,50	1,00	M1	M2	M3	LFM1	LFM2	LFM3
1	1	-0,01	0,14	0,51	0,97	0,00	0,02	0,05	0,52	0,50	0,58
	2	0,00	0,14	0,50	0,98	0,00	0,02	0,05	0,52	0,52	0,57
2	1	-0,02	0,17	0,49	0,99	-0,01	0,01	0,07	0,51	0,53	0,57
	2	0,01	0,16	0,49	0,99	-0,01	0,01	0,07	0,51	0,54	0,56
3	1	-0,02	0,15	0,51	0,99	-0,01	0,02	0,06	0,53	0,56	0,57
	2	0,02	0,14	0,52	0,99	-0,01	0,02	0,06	0,53	0,55	0,57
4	1	-0,01	0,16	0,53	0,98	-0,01	0,01	0,06	0,53	0,54	0,59
	2	0,01	0,16	0,52	0,98	-0,01	0,01	0,06	0,53	0,54	0,58
5	1	-0,02	0,15	0,48	1,01	0,00	0,01	0,05	0,53	0,53	0,60
	2	-0,01	0,15	0,48	1,01	0,00	0,01	0,06	0,53	0,53	0,60
6	1	0,00	0,17	0,50	1,00	-0,01	0,02	0,05	0,52	0,55	0,59
	2	0,01	0,17	0,50	1,00	-0,01	0,02	0,05	0,52	0,56	0,60
Promedio		0,00	0,16	0,50	0,99	-0,01	0,02	0,06	0,52	0,54	0,58
Valor teórico		-	0,15	0,50	1,00	-	-	-	0,50	0,50	0,50
T calculado valor alto < 2,29		2,09	1,61	1,63	1,66	1,58	1,39	1,55	1,35	1,16	1,53
T calculado valor bajo < 2,29		1,39	1,70	1,48	1,77	1,09	1,59	1,45	1,81	2,20	1,25
s		0,013	0,012	0,016	0,012	0,007	0,005	0,007	0,007	0,016	0,014
%CV		-	7,4	3,3	1,3	-92,5	34,2	11,6	1,3	3,0	2,4
% Error		-	3,8	0,6	0,9	-	-	-	-	-	-
%R Mínimo		-	90,7	95,7	96,9	-	-	-	103,7	97,3	102,0
%R Máximo		-	116,2	105,9	101,2	-	-	-	108,0	108,2	109,8

Nota. Fuente: Autor.

Como se puede observar en la tabla 12, no fue necesario eliminar ningún dato atípico mediante la prueba de Grubbs, ya que todas las muestras tienen un $T_{cal} < T_{tab}$.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Analizando los blancos fortificados de laboratorio (LFB) se puede observar que los tres cumplen con los criterios de calidad del %CV y el porcentaje de error, teniendo valores $< 20\%$ y $< 10\%$ respectivamente, evidenciando así un alto grado de precisión y exactitud en los resultados.

En el caso de las muestras, se observa tanto en M1 como M2 que el %CV es significativamente alto, esto sucede porque la concentración de analito en dichas matrices es demasiado baja (cercana a cero), y por lo tanto se encuentra dentro del rango no cuantificable por el método. Para M3 sucede que, si bien se encuentra una cantidad de fenol mayor a M1 y M2, dicho valor también se encuentra por debajo del LOQ, por lo cual el reporte del resultado para las tres muestras corresponde a $< 0,15$ mg PhOH/L.

En las matrices fortificadas (LFM) se observan %CV y %R aceptables que cumplen con los criterios de calidad establecidos de $< 20\%$ para el %CV y de $70\% < \%R < 130\%$.

6.8 Cartas de control.

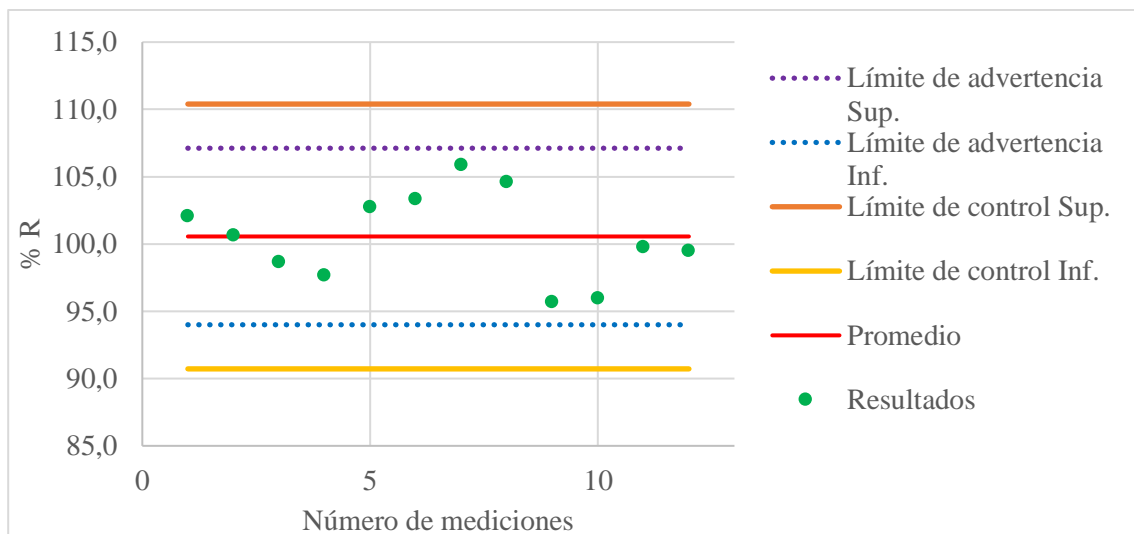
6.8.1 Carta de control de medias.

Esta carta de control fue elaborada con el LFB de 0,50 mg PhOH/L denominado como E1, y se puede observar en la figura 12.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Figura 12.

Carta de control de medias para fenoles totales.



Nota. Fuente: Autor.

Como se puede observar en la figura 12, todos los %R de los E1 se encuentran dentro de los límites de advertencia inferior y superior; esto evidencia que no se presenta error sistemático durante el procedimiento y no es necesario repetir ninguno de los lotes.

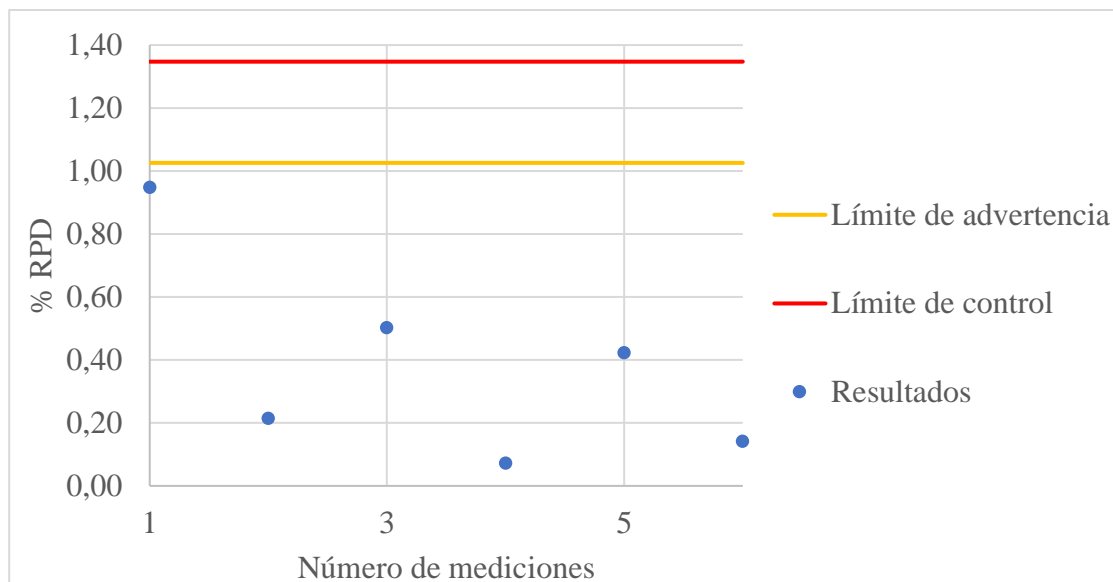
6.8.2 Carta de control de precisión para fenoles totales.

Esta carta de control fue elaborada con el LFB de 1,00 mg PhOH/L denominado como E2, y se puede observar en la figura 13.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Figura 13.

Carta de control de precisión para fenoles totales



Nota. Fuente: Autor.

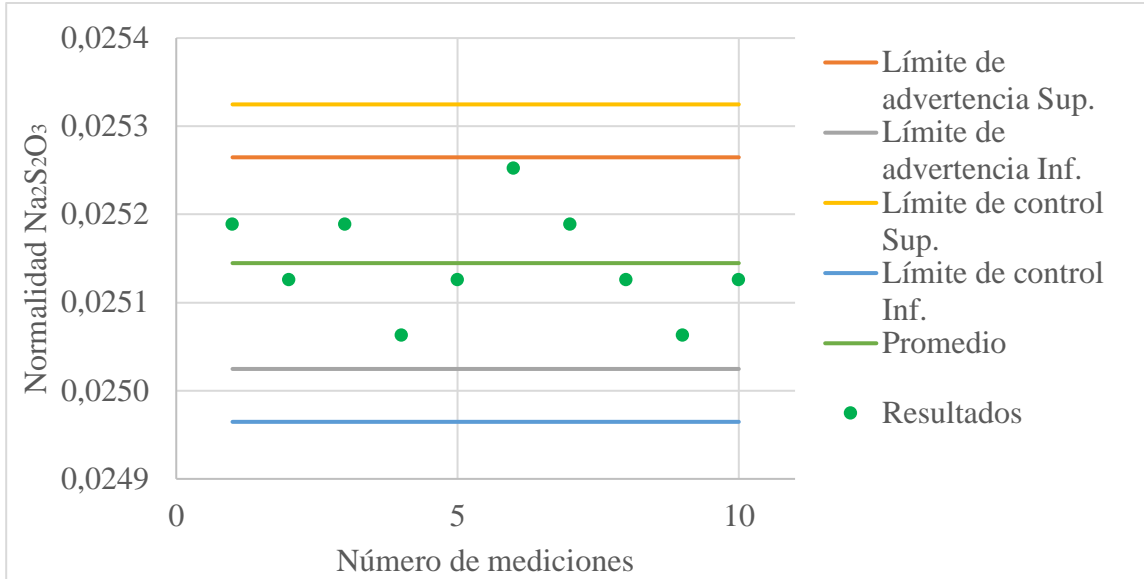
Como se puede observar en la figura 13, todos los %RPD de los E2 se encuentran dentro de los límites de advertencia inferior y superior, evidenciando así un alto grado de precisión en cada uno de los lotes. Con base en lo anterior, no se requiere repetición de ninguno de dichos lotes.

6.8.3 *Cartas de control de medias para la preparación de la solución stock de fenol.*

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Figura 14.

Carta de control de medias para la estandarización del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.



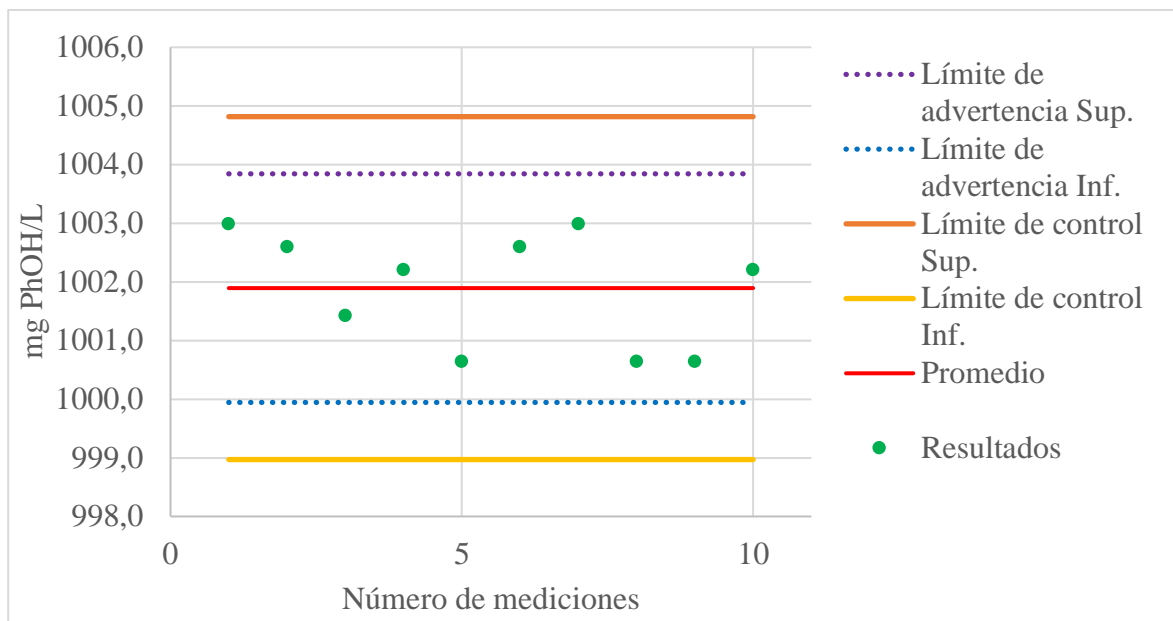
Nota. Fuente: Autor.

Como se puede observar en la figura 14 todos los valores calculados para la normalidad de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ se encuentran dentro de los límites de advertencia inferior y superior, evidenciando así un grado de precisión aceptable en las mediciones.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Figura 15.

Carta de control de medias para la estandarización de la solución de fenol.



Nota. Fuente: Autor.

Como se puede observar en la figura 15 todos los valores calculados para la concentración de la solución stock de fenoles se encuentran dentro de los límites de advertencia inferior y superior, evidenciando así un grado de precisión aceptable en las mediciones.

6.9 Fuentes de incertidumbre.

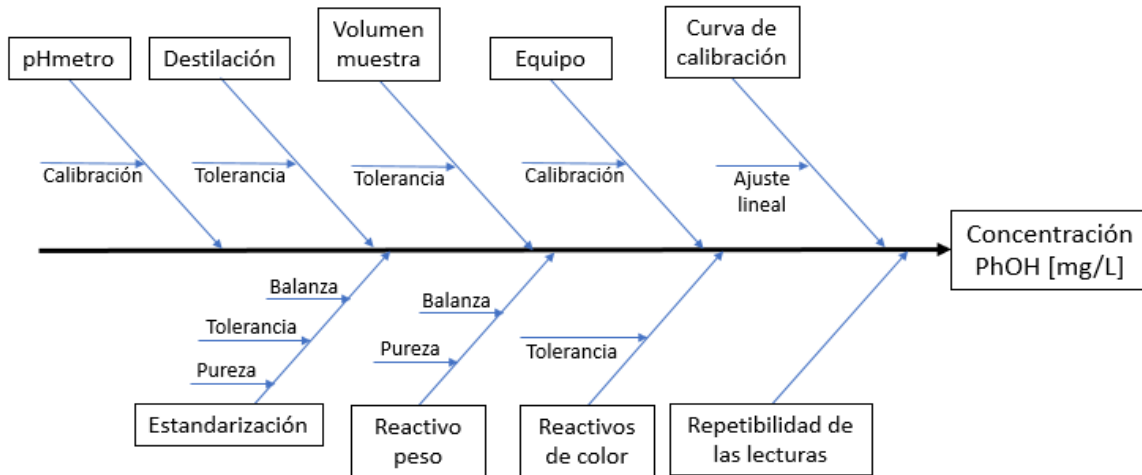
Para la determinación de la incertidumbre total asociada al método, primero se identificaron todas las fuentes individuales de incertidumbre tales como; volumen de muestra y la destilación de la misma, la preparación del reactivo estándar, la estandarización de la solución stock, el pHmetro, la adición de los reactivos de color, el equipo de lectura, la repetibilidad de las lecturas y el ajuste lineal de la curva de calibración. Los factores mencionados anteriormente se encuentran evidenciados en un diagrama de causa-efecto, el cual se puede observar en la figura

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

16. De acuerdo a esto, se procedió a hacer los respectivos cálculos para hallar la incertidumbre total del método.

Figura 16.

Diagrama de causa-efecto para la determinación de fenoles totales.



Nota. Fuente: Autor.

6.9.1 Incertidumbre de la curva de calibración (μ_{Mr}).

Haciendo uso de los datos de la tabla 7, se pueden observar los valores de $b = 0,4702$, $a = 0,1837$, $n = 18$ y $p = 3$ y el valor promedio de las concentraciones de la curva de calibración $\bar{x} = 0,4417$. Empleando la ecuación 22 se procedió a calcular el valor de $s = 0,00548$ y de $S_{xx} = 2,0463$. Teniendo los datos anteriormente mencionados, el valor de concentración promedio de la muestra M3 reportada en la tabla 12 (muestra seleccionada para el análisis de incertidumbre), y utilizando las ecuaciones 21 y 26, se calculó la incertidumbre estándar y la estándar relativa.

$$\mu_{M3} = \frac{5,48 \cdot 10^{-3}}{0,4702} * \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{18} + \frac{(0,0551 - 0,4417)^2}{2,0463}} = 7,92 * 10^{-3} \text{ mg PhOH/L.} \quad (35)$$

$$\mu_{M3r} = \frac{7,92 \cdot 10^{-3} \text{ mg PhOH}}{0,0551 \text{ mg PhOH}} = 0,144 \quad (36)$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.9.2 Incertidumbre del volumen de muestra (μ_{VMr}).

Teniendo en cuenta que se tomaron 100 mL de muestra en una probeta de 100 mL con una tolerancia de $\pm 1,0$ mL, la incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon de la siguiente manera empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{VM} = \frac{1,0 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0,577 \text{ mL} \quad \mu_{VMr} = \frac{0,577 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 5,77 * 10^{-3} \quad (37)$$

6.9.3 Incertidumbre de la destilación de la muestra (μ_{Dr}).

En el proceso de destilación se utilizaron balones aforados de 100 mL para la recolección del destilado, y dicho material tiene una tolerancia de $\pm 0,10$ mL. La incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon de la siguiente manera empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_D = \frac{0,10 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0,0577 \text{ mL} \quad \mu_{Dr} = \frac{0,0577 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 5,77 * 10^{-4} \quad (38)$$

6.9.4 Incertidumbre del reactivo peso (μ_{RP}).

La incertidumbre asociada al reactivo peso fenol cristalino se compone de tres aportes, la pureza del reactivo, el pesaje, y el material volumétrico para el aforo de la misma.

La pureza del reactivo es de 100% con una tolerancia de $\pm 0,5\%$, por lo que su incertidumbre estándar y estándar relativa se calcula empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_P = \frac{0,5\%}{\sqrt{3}} = 0,289\% \quad \mu_{Pr} = \frac{0,289\%}{100\%} = 2,89 * 10^{-3} \quad (39)$$

Para determinar la incertidumbre estándar y estándar relativa asociada al pesaje se debe utilizar la división de la escala de la balanza (la cuál es de 4 dígitos) y una de las masas utilizadas como patrón, tomada del certificado de calibración de la misma. El cálculo se realiza utilizando las ecuaciones 23 y 26.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISCOQUÍMICOS

$$\mu_{B1} = \frac{1,00 \cdot 10^{-4} \text{ g}}{\sqrt{3}} = 5,77 \cdot 10^{-5} \text{ g} \quad \mu_{B1r} = \frac{5,77 \cdot 10^{-5} \text{ g}}{50 \text{ g}} = 1,15 \cdot 10^{-6} \quad (40)$$

La incertidumbre expandida reportada en el certificado de calibración emitido por la empresa Ingobar Metrología SAS tiene un valor de $u = 0,00015 \text{ g}$, y para el cálculo de la incertidumbre estándar y estándar relativa se emplearon las ecuaciones 25 y 26. Tener en cuenta que para una masa patrón de 50 g el factor de cobertura indicado en el certificado de calibración es de $k = 2$

$$\mu_{B2} = \frac{1,50 \cdot 10^{-4} \text{ g}}{2} = 7,50 \cdot 10^{-5} \text{ g} \quad \mu_{B2r} = \frac{7,50 \cdot 10^{-5} \text{ g}}{50 \text{ g}} = 1,50 \cdot 10^{-6} \quad (41)$$

En la preparación de la solución stock de fenol se utilizó un balón aforado de 1000 mL el cual tiene una tolerancia de $\pm 0,4 \text{ mL}$. La incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon de la siguiente manera empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{PV} = \frac{0,4 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0,231 \text{ mL} \quad \mu_{PVr} = \frac{0,231 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 2,31 \cdot 10^{-4} \quad (42)$$

La incertidumbre estándar combinada asociada al reactivo peso se calcula empleando la ecuación 27 en donde se tienen en cuenta cada una de las cuatro contribuciones.

$$\mu_{RP} = \sqrt{(\mu_{Pr})^2 + (\mu_{B1r})^2 + (\mu_{B2r})^2 + (\mu_{PVr})^2} = 2,90 \cdot 10^{-3} \quad (43)$$

6.9.5 Incertidumbre de la estandarización de la solución stock de fenol. (μ_S).

La incertidumbre asociada a la estandarización de la solución stock de fenol tiene las siguientes contribuciones: la pureza de los reactivos de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$, el pesaje de los mismos, la tolerancia de los balones utilizados para la preparación de las soluciones de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$, la tolerancia de la bureta utilizada para el titulante ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), y la tolerancia de las

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

pipetas aforadas usadas para la adición tanto del estándar $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$, como la de la solución stock de fenol. Dichas contribuciones se calcularon de la siguiente manera:

La pureza del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ es de 100% con una tolerancia de $\pm 1,0\%$, por lo que su incertidumbre estándar y estándar relativa se calcula empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{R1} = \frac{1,0\%}{\sqrt{3}} = 0,577\% \quad \mu_{R1r} = \frac{0,577\%}{100\%} = 5,77 * 10^{-3} \quad (44)$$

La pureza del $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ es de 100% con una tolerancia de $\pm 0,2\%$, por lo que su incertidumbre estándar y estándar relativa se calcula empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{R2} = \frac{0,2\%}{\sqrt{3}} = 0,115\% \quad \mu_{R2r} = \frac{0,115\%}{100\%} = 1,15 * 10^{-3} \quad (45)$$

Para la incertidumbre estándar relativa asociada al pesaje, el valor corresponde al calculado en la sección 6.8.4 en las ecuaciones 40 y 41 para el reactivo peso (μ_{B1r}) y (μ_{B2r}), solo que en esta ocasión no tiene una aportación a la incertidumbre sino dos porque fueron dos los reactivos pesados en esta sección

En la preparación de las soluciones de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ se emplearon dos balones aforados de 500 mL con una tolerancia de $\pm 0,25$ mL, por lo que su aportación a la incertidumbre combinada no será una sino dos, una por cada reactivo (μ_{V1r}) y (μ_{V2r}). La incertidumbre estándar y estándar relativa se calcularon empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_V = \frac{0,25\text{mL}}{\sqrt{3}} = 0,144 \text{ mL} \quad \mu_{Vr} = \frac{0,144 \text{ mL}}{500 \text{ mL}} = 2,89 * 10^{-4} \quad (46)$$

En la estandarización de las soluciones de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y la stock de Fenol se empleó una bureta de 25 mL con una tolerancia de $\pm 0,03$ mL. Teniendo en cuenta que se hicieron dos valoraciones, su aportación a la incertidumbre combinada no será una sino dos, una por cada

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

solución (μ_{T1}) y (μ_{T2}). La incertidumbre estándar y estándar relativa se calcularon empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_T = \frac{0,03mL}{\sqrt{3}} = 0,0173 \text{ mL} \quad \mu_{Tr} = \frac{0,0173 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 6,93 * 10^{-4} \quad (47)$$

Para la adición de los 50 mL de la solución stock en la estandarización de la misma, se empleó una pipeta aforada de 50 mL con una tolerancia de $\pm 0,05$ mL. La incertidumbre estándar y estándar relativa se calcularon empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{P50} = \frac{0,05mL}{\sqrt{3}} = 0,0289 \text{ mL} \quad \mu_{P50r} = \frac{0,0289mL}{50 \text{ mL}} = 5,77 * 10^{-4} \quad (48)$$

Para la adición de los 20 mL de la solución de $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ usados en la estandarización de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ se empleó una pipeta aforada de 10 mL con una tolerancia de $\pm 0,02$ mL. Teniendo en cuenta que se tuvieron que tomar dos porciones de 10 mL, su aportación a la incertidumbre combinada no será una sino dos, una por cada porción (μ_{P10A}) y (μ_{P10B}). La incertidumbre estándar y estándar relativa se calcularon empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{P10} = \frac{0,02mL}{\sqrt{3}} = 0,0115 \text{ mL} \quad \mu_{P10r} = \frac{0,0115 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 1,15 * 10^{-3} \quad (49)$$

La incertidumbre estándar combinada asociada a la estandarización de la solución stock de fenoles se calcula empleando la ecuación 27 en donde se tiene en cuenta cada una de las trece contribuciones.

$$\mu_S = \sqrt{\mu_{R1r}^2 + \mu_{R2r}^2 + \mu_{B1r}^2 + \mu_{B1r}^2 + \mu_{B2r}^2 + \mu_{B2r}^2 + \mu_{V1r}^2 + \mu_{V2r}^2 + \dots} \quad (50)$$

$$\mu_S = 6,23 * 10^{-3}$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.9.6 Incertidumbre del pHmetro (μ_{cpH}).

Antes de hacer el desarrollo del color de la muestra, es necesario realizar el ajuste del pH de la solución a $7,90 \pm 0,1$ empleando una solución 0,5 N de NH_4OH y un buffer de fosfatos, razón por la cual la incertidumbre del equipo de medición de pH tiene una contribución a la incertidumbre del método. Para determinar la incertidumbre estándar y estándar relativa asociada a la lectura del pH se debe utilizar la división de la escala del pHmetro (la cuál es de 2 dígitos) y el valor de pH de uno de los buffers utilizados como patrón tomado del certificado de calibración del equipo. El cálculo se realiza utilizando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_{pH1} = \frac{0,01 \text{ u pH}}{\sqrt{3}} = 5,77 * 10^{-3} \text{ u pH} \quad \mu_{pH1r} = \frac{5,77 * 10^{-3} \text{ u pH}}{7,0 \text{ u pH}} = 8,25 * 10^{-4} \quad (51)$$

La incertidumbre expandida reportada en el certificado de calibración emitido por la empresa Ingobar Metrología SAS tiene un valor de $u = 0,025 \text{ u pH}$. La incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon empleando las ecuaciones 25 y 26. Tener en cuenta que para un buffer patrón de 7,0 u pH el factor de cobertura indicado en el certificado de calibración es de $k = 2,1$

$$\mu_{pH2} = \frac{0,025 \text{ u pH}}{2,1} = 0,0119 \text{ u pH} \quad \mu_{pH2r} = \frac{0,0119 \text{ u pH}}{7,0 \text{ u pH}} = 1,70 * 10^{-3} \quad (52)$$

La incertidumbre estándar combinada asociada al pHmetro se calcula empleando la ecuación 27 en donde se tienen en cuenta las dos contribuciones.

$$\mu_{cpH} = \sqrt{\mu_{pH1r}^2 + \mu_{pH2r}^2} = 1,89 * 10^{-3} \quad (53)$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.9.7 Incertidumbre de la adición del reactivo de color (μ_{cRC}).

En la adición del reactivo de color se tomaron dos pipetas de 1 mL, una para la 4-aminoantipirina y la otra para el ferricianuro de potasio; estas pipetas tienen una tolerancia de $\pm 0,007$ mL. La incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon de la siguiente manera empleando las ecuaciones 23 y 26. Cabe mencionar que como fueron utilizadas dos pipetas para las dos adiciones, que corresponden a la misma cantidad de reactivo adicionado, se debe calcular la incertidumbre combinada de dichas contribuciones empleando la ecuación 27.

$$\mu_{RC} = \frac{0,007 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 4,04 * 10^{-3} \text{ mL} \quad \mu_{RCr} = \frac{4,04 * 10^{-3} \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 4,04 * 10^{-3} \quad (54)$$

$$\mu_{cRC} = \sqrt{(\mu_{RCr})^2 + (\mu_{RCr})^2} = 5,72 * 10^{-3} \quad (55)$$

6.9.8 Incertidumbre del equipo de medición (espectrofotómetro) (μ_{Er}).

El espectrofotómetro empleado para realizar las mediciones es el HACH DR 2800, y tiene una tolerancia de ± 3 nm a una longitud de onda de 500 nm. La incertidumbre estándar y la estándar relativa se calcularon de la siguiente manera empleando las ecuaciones 23 y 26.

$$\mu_E = \frac{3 \text{ nm}}{\sqrt{3}} = 1,732 \text{ nm} \quad \mu_{Er} = \frac{1,732 \text{ nm}}{500 \text{ nm}} = 3,46 * 10^{-3} \quad (56)$$

6.9.9 Incertidumbre de la repetibilidad de las lecturas (μ_{RMr}).

La desviación estándar de la muestra M3 se obtiene de la tabla 12, valor con el cuál se procede a calcular la incertidumbre estándar relativa asociada a la repetibilidad de las mediciones de cada uno de los 6 lotes empleando las ecuaciones 24 y 26.

$$\mu_{RM3} = \frac{6,31 * 10^{-3} \text{ mg PhOH}}{\sqrt{12}} = 1,82 * 10^{-3} \text{ mg PhOH/L} \quad (57)$$

$$\mu_{RM3r} = \frac{1,82 * 10^{-3} \text{ mg PhOH/L}}{0,0551 \text{ mg PhOH/L}} = 0.0331 \quad (58)$$

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

6.9.10 Incertidumbre combinada del método (μ_c).

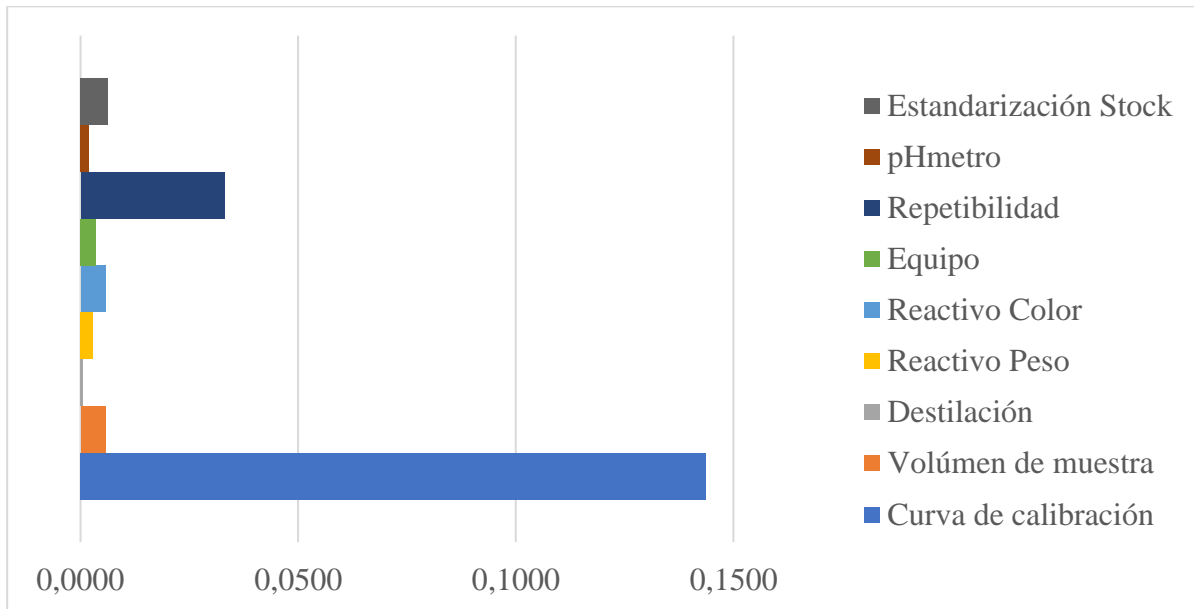
Tal cual se ha explicado en ítems anteriores, la incertidumbre combinada del método corresponde a la raíz del cuadrado cada una de las incertidumbres relativas que contribuyeron en la medición. El siguiente cálculo se realizó empleando la ecuación 27.

$$\mu_c = \sqrt{\mu_{M3r}^2 + \mu_{VMr}^2 + \mu_{Dr}^2 + \mu_{RP}^2 + \mu_S^2 + \mu_{cPH}^2 + \mu_{cRC}^2 + \mu_{Er}^2 + \mu_{RM3r}^2} = 0,148 \quad (59)$$

Con el fin de analizar cuál es la contribución de cada una de las componentes de la incertidumbre, se realizó un gráfico de barras el cuál se encuentra consignado en la figura 17.

Figura 17.

Gráfico de la contribución de cada una de las componentes de la incertidumbre en la muestra M3.



Nota. Fuente: Autor.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

De acuerdo con lo evidenciado en la figura 17, las componentes que más contribuyen a la incertidumbre del método son la repetibilidad y el ajuste lineal a la curva de calibración; Cabe mencionar que las tres muestras analizadas (M1, M2 y M3) presentaron valores de concentración inferiores al límite de cuantificación, razón por la cual las componentes de repetibilidad y ajuste de la curva de calibración a la matriz analizada, no son significativos ni deberían ser tenidos en cuenta para la determinación de la incertidumbre combinada del método puesto que sus concentraciones se encuentran fuera del rango de confiabilidad del mismo.

A pesar de no ser apta ninguna de las matrices (M1, M2 y M3) para el análisis de la incertidumbre del método, se realizaron los cálculos para la determinación de la misma con la finalidad de dejar descrito en el presente documento cuál es el procedimiento a seguir para su evaluación en una matriz dada que posea una concentración de fenoles totales igual o mayor del límite de cuantificación.

6.9.11 Incertidumbre expandida del método (μ_{eM})

La incertidumbre expandida se calcula empleando la ecuación 28. El valor de $k = 2$ para un nivel de confianza del 95%.

$$\mu_{eM3} = 0,148 * 2 = 0,296 \quad (60)$$

En la situación donde la incertidumbre fuese aplicable a una matriz con una concentración mayor al límite de cuantificación, el reporte se realizaría de la siguiente manera:

$$\text{mg PhOH/L} = C \pm (C * \text{Incertidumbre expandida calculada}) \text{ mg PhOH/L} \quad (61)$$

Dónde:

C: Concentración de fenoles totales determinada experimentalmente.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Si se quiere hacer un análisis más riguroso para la aplicación de la incertidumbre en diferentes rangos de concentración, se pueden tomar matrices que contengan una cantidad baja, media y alta del analito para así estudiar cómo se comporta la incertidumbre para cada uno de estos tres rangos.

Los resultados que se reportaron en los informes para cada una de las matrices fueron los siguientes:

M1: mg PhOH/L = <0,15 mg PhOH/L

M2: mg PhOH/L = <0,15 mg PhOH/L

M3: mg PhOH/L = <0,15 mg PhOH/L

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

7. Conclusiones

En el proceso de verificación del método SM5530-D para la determinación de fenoles totales en la empresa Control y Gestión Ambiental se obtuvo un rango lineal de trabajo desde 0,15 mg PhOH/L a 1,00 mg PhOH/L. haciendo una evaluación de la linealidad del método, de la correlación entre las variables analizadas, y de tanto la precisión como la exactitud de las mediciones realizadas.

El procedimiento para la determinación de fenoles totales en aguas cumple con los criterios establecidos por la empresa Control y Gestión Ambiental tanto en los LFB como en las LFM para las siguientes variables: porcentaje de error ($< 10\%$), porcentaje de variación ($< 20\%$), y porcentaje de recuperación del analito ($70\% < \%R < 130\%$).

Se realizó una robustez del método evaluando el efecto de variables tales como: la intensidad de agitación en la adición de la 4-aminoantipirina y el ferricianuro de potasio para la formación del complejo coloreado, el tiempo de agitación, la estabilidad de, tanto la solución stock, como de las soluciones estándares de fenol, y el tiempo de lectura post-destilación. Esta información quedó documentada en la empresa Control y Gestión Ambiental para ser aplicada en una futura extensión de su acreditación ante IDEAM.

No fue posible realizar el cálculo exacto de la incertidumbre para los diferentes rangos de concentración del analito (bajo, medio y alto) dado que las matrices analizadas tenían una cantidad de fenol menor al LOQ y por esto no se encontraban dentro del rango confiable de reporte. Sin embargo, el análisis realizado en la discusión de resultados es aplicable a una matriz la cual su concentración esté en el rango lineal del método.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

No fue posible aplicar la verificación aquí realizada a una prueba de desempeño certificada debido a la dificultad para importar este tipo de pruebas en el momento de la aplicación de este trabajo. La evaluación de la confiabilidad de los resultados aquí reportados se puede evidenciar tanto en la estandarización de la solución stock de fenol y su análisis de los resultados obtenidos, como en la evaluación del porcentaje de recuperación en las matrices fortificadas, teniendo una recuperación sobresaliente del analito.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

8. Recomendaciones

El lavado del material es importante realizarlo tal cuál se recomienda en el presente documento para así eliminar posibles trazas de fenol, puesto que pueden quedar cantidades pequeñas de analito de lotes anteriores, y así generar una variación en la medición.

La preparación de las soluciones de 4-aminoantipirina y ferricianuro de potasio se recomienda hacerlas para uso diario, que no se usen dentro de un tiempo mayor a 4 horas, y que durante dicho lapso estén expuestas a la menor cantidad de luz posible, puesto que ambos reactivos, y en especial la 4-aminoantipirina, son fotosensibles.

Antes de cada jornada de trabajo realizar una verificación del pHmetro con las soluciones de calibración disponibles, puesto que la exactitud en el pH indicado por el método para el destilado, tiene un papel importante en la medición.

Debido al grado de variabilidad en la absorbancia leída para, tanto los blancos de reactivos, como las soluciones con baja concentración de analito, se recomienda hacer una evaluación progresiva del límite de cuantificación del método.

Usar agua destilada desionizada en lugar de solo destilada para la preparación de los patrones de trabajo, ya que se encontró menor variabilidad en las mediciones con la primera de éstas.

Aplicar este procedimiento a una prueba de desempeño certificada, con el fin de confirmar la viabilidad del método bajo las condiciones del laboratorio Control y Gestión Ambiental S.A.S.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Bibliografía

- Agarwal, V.C. (2012). *GROUNDWATER HYDROLOGY*. New Delhi: PHI. p. 11-12. ISBN 978-81-203-4619-2.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). (2008). *Reseña Toxicológica de los Fenol (versión actualizada) (en inglés)*. Atlanta GA. Recuperado de https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts115.html.
- Amado Piña, D. (2015). *Degradación de fenol mediante un tratamiento electroquímico combinado con ozono y electrodos de diamante dopado con boro (DDB)* [Ebook]. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México. Recuperado de <http://ri.uaemex.mx/>
- Baird, R., Eaton, A., Rice, E., & Bridgewater, L. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [Ebook] (23rd ed., pp. p. 1-6 - 1-16). American Public Health Association.
- Bautista, P., Mohedano, A. F., Casas, J. A., Zazo, J. A., Rodriguez, J. J. (2008) *An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment*. J. Chem. Technol. Biotechnol. 83(10), 1323-1338. Recuperado de https://www.academia.edu/23046066/An_overview_of_the_application_of_Fenton_oxidation_to_industrial_wastewaters_treatment
- Busca, G., Berardinelli, S., Resini, C., & Arrighi, L. (2008). *Technologies for the removal of phenol from fluid streams: a short review of recent developments*. Journal of hazardous materials, 160(2-3), 265–288. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.04>

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

- Carrasco Venegas, L., Castañeda Perez, L., & Concepción Gamarra, L. (2014). *Simulación de las interacciones químicas y fotoquímicas de contaminantes troposféricos*. Revista UNFV , pag 41-53. Lima, Perú. Recuperado de: <https://revistas.unfv.edu.pe/RCV/article/view/35/35>.
- Carter, M.J. & M.T. Huston. (1978). *Preservation of phenolic compounds in wastewaters*. Environ. Sci. Technol. 12:309.
- Centro Español de Metrología. (2008). *Evaluación de datos de medición. Suplemento 1 de la Guía para la expresión de la incertidumbre de medida. Propagación de incertidumbres utilizando el método de Monte Carlo* [book] (1ª ed.). Recuperado de <http://www.cem.es/sites/default/files/suplemento20120de20gum.pdf>.
- Cserhati, E. & Frogacs, E. & Oros, Gyula. (2004). *Removal of synthetic dyes from wastewater: a review*. J. Environ. Int.. 953-971. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/304796434_Removal_of_synthetic_dyes_from_wastewater_a_review
- Diersing, N. (2009). *Water Quality: Frequently Asked Questions*. Nmsfloridakeys.blob.core.windows.net. Recuperado de <https://nmsfloridakeys.blob.core.windows.net/floridakeys-prod/media/archive/scisummaries/wqfaq.pdf>.
- Djoghlaif, A.; Tiega, A. (2010). *agua potable, diversidad biológica y desarrollo. Guía de buenas prácticas*, Convenio de diversidad biológica.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

E.W. Rice, R.B. Baird, A.D. Eaton, editors. (2017). *Standard Methods for the examination of water and wastewater, 23rd Edition*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.

Esplugas, S., Giménez, J., Contreras, S., Pascual, E., & Rodríguez, M. (2002). *Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation*. *Water research*, 36(4), 1034–1042. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(01\)00301-3](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(01)00301-3).

Ettinger, M.B., C.C. Ruchhoft & R.J. Lishka. (1951). *Sensitive 4-aminoantipyrine method for phenolic compounds*. *Anal. Chem.* 23:1783.

Ettinger, M.B., S. Schott & C.C. Ruchhoft. (1943). *Preservation of phenol content in polluted river water samples previous to analysis*. *J. Amer. Water Works Assoc.* 35:299.

García, M. Espigares; López, JA Pérez. (2005). *Aguas residuales. composición*. Repositorio Universidad de Salamanca, España.

Hale, W. J., and Britton, E. C. (1928), *Ind. Eng. Chem.*, 20, 114-24.

Hawkins, E. G. E., Quin, D. C., and Salt, F. E., (1950), *Brit. Pat.* 641,250 (para-Distillers Co.).

Heredia, J, Dominguez, J, Lopez R. (2004). *Advanced oxidation of cork-processing wastewater using Fenton's reagent: kinetics and stoichiometry*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79, 407–412. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/jctb.1002>

Howarth, P. (2008). *Metrología – abreviada* [Ebook] (3^a ed.). Centro Español de Metrología. Recuperado el 11 de febrero de 2022, de <https://www.cem.es/sites/default/files/metrologia20abreviada.pdf>.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Instituto Colombiano de Normas Técnicas -ICONTEC (2003). *Guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones*, GTC 51. vol. 51.A.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas -ICONTEC (2017). *Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. Norma Técnica. NTC-ISO/IEC 17025. Recuperado de <https://guiatramitesyservicios.bogota.gov.co/wp-content/uploads/2020/03/NTC-iso-17025-20050-1.pdf>

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2002). *Guía para el Monitoreo de Vertimientos, Aguas Superficiales y Aguas Subterráneas*.

J. Vessman et al. (2001). *Selectivity in analytical chemistry*, (IUPAC recommendations), Pure Appl. Chem., 2001, 73(8), 1381.

Kanekar, P. P., Sarnaik, S. S., & Kelkar, A. S. (1998). *Bioremediation of phenol by alkaliphilic bacteria isolated from alkaline lake of Lonar, India*. Journal of applied microbiology, 85 Suppl 1, 128S–133S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1998.tb05291.x>.

Laguna C. (2014). *Correlación y regresión lineal*. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, vol. 4, p. 1-18.

Mahindru, Som Nath. (2004). *Potable water* (p. 24-26) APH Publishing, ISBN 81-7648-725-2.

Manahan, S. (2010). *Water chemistry: green science and technology of nature's most renewable resource* (p. 25-34). CRC Press, ISBN 13-978-1-4398-9434-7.

Maréchal, Y. (2006). *The hydrogen bond and the water molecule: The physics and chemistry of water, aqueous and bio-media* (p. 3-23). ISBN-13 978-0-44-51-957-3.

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). *Por la cual se establecen los parámetros y los valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas*

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

superficiales ya los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones. (pp. Resolución 0631/2015). Colombia. Recuperado de <http://www.emserchia.gov.co/PDF/Resolucion631.pdf>.

Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (2007). *Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.* (pp. Resolución 2115/2007). Colombia.

Mohler, E., & Jacob, L. (1957). *Determination of Phenolic-Type Compounds in Water and Industrial Waste Waters Comparison of Analytical Methods.* *Analytical Chemistry*, 29, 1369-1374. Recuperado de <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60129a036>

Morrison, R. & Boyd, R. Zugazagoitia, R. Fiedler, P. & C. Rock (Eds.). (1998). *Química orgánica.* (p.981). México: Pearson.

O'Neil, M.J. (2001). (ed.). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.* 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co. p. 1299.

Othmer, K., Wiley J. (1991). *In Encyclopedia of Chemical Technology* (4th ed., p. volumen 1).

P.P. Morillas. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos –Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados* (1ª ed.). España. Recuperado de www.eurachem.org

Park, J. S., Brown, M. T., & Han, T. (2012). *Phenol toxicity to the aquatic macrophyte Lemna paucicostata.* *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 106-107, 182–188. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.10.004>.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Pérez, M. (2012). *Estimación de incertidumbre. Guía GUM. Revista Española De Metrología*, p 114-130. Recuperado de

https://www.uv.es/meliaj/Docencia/WebComplementarios/GuiaGUM_e_medida.pdf.

Rey Barroso, A. (2010). *Catalizadores de hierro soportado sobre carbón activo para la oxidación catalítica de fenol con peróxido de hidrógeno* [Tesis Doctoral]. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC). Madrid. Recuperado de

https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/4302/28845_rey_barroso_ana.pdf?sequence=1.

Rigo, M. & Alegre, R., (2004). *Isolation and Selection of Phenol-Degrading Microorganisms from Industrial Wastewaters and Kinetics of the Biodegradation*. Folia Microbiol. 49, 41–45.

Ritter, L., Solomon, K., & Forget, J. (1995). *A REVIEW OF SELECTED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS* [Ebook]. The International Programme on Chemical Safety (IPCS). Recuperado de https://www.who.int/ipcs/assessment/en/pcs_95_39_2004_05_13.pdf.

Santos, A & Yustos, P. & Durbán, B & Garcia F. (2001). *Oxidation of phenol in aqueous solution with copper catalysts*. Catalysis Today - CATAL TODAY. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920586100006234?via%3Dihub>

Santos, A & Yustos, P. & Rodríguez, & Garcia F. (2007). *Abatement of phenolic mixtures by catalytic wet oxidation enhanced by Fenton's pretreatment: Effect of H₂O₂ dosage and temperature*. Journal of hazardous materials. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030438940700550X?via%3Dihub>

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Sobsey, M. D.; Bartram, S. (2003) *Water quality and health in the new millennium: the role of the World Health Organization Guidelines for Drinking-Water Quality*. En Forum of nutrition. p. 396-405.

Sotelo, J.L., Ovejero, G., Delgado, J.A. y Martínez, I, (2003). *Eliminación de compuestos organoclorados para potabilización de aguas mediante un proceso de adsorción - regeneración en carbón activado*. Madrid. Recuperado de https://hispagua.cedex.es/sites/default/files/eliminacion_cloro.pdf

Southworth GR, Keller JL. (1986). *Water Air Soil Poll.* 28: 239-48.

Spellman, F. (2018). *The science of water*. (pp. p. 45-55). CRC press ISBN 1-420-05545-3.

Strickland, J., & Parsons, T. (1972). *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. [book] (2nd ed., pp. p. 57-60). FISHERIES RESEARCH BOARD OF CANADA. Recuperado de https://epic.awi.de/id/eprint/39262/1/Strickland-Parsons_1972.pdf

Tziotzios, G & Teliou, M. & K, V. & L, Dimitris (2005). *Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors*. Biochemical Engineering Journal. 26. 65-71. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/223810950_Biological_phenol_removal_using_suspended_growth_and_packed_bed_reactors

U.S. Environmental Protection Agency. (1998). *Guidelines for Ecological Risk Assessment* [Ebook]. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-11/documents/eco_risk_assessment1998.pdf.

USEPA, U.S. EPA, (2002). *TOXICOLOGICAL REVIEW Phenol*, 635, 1–97.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

- VIM, I. S. O. (2004). *International vocabulary of basic and general terms in metrology*. (VIM). International Organization, vol. 2004, p. 09-14. Recuperado de http://www.geste.mecanica.ufrgs.br/medterm/ISO_VEM.pdf
- W. Horwitz, (1988)- *Harmonized protocol for the design and interpretation of collaborative studies, Trends in Analytical Chemistry*. (p. 118–120, Pure & Appl. Chem., Vol. 60). Printed in Great Britain,
- Wen, Q., Yang, T., Wang, S., Chen, Y., Cong, L., & Qu, Y. (2013). *Dechlorination of 4-chlorophenol to phenol in bioelectrochemical systems. Journal of hazardous materials*. 244-245, 743–749. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.11.002>.
- Williams, A. (2008). *Use of uncertainty information in compliance assessment*". *Accreditation and quality assurance* [book] (1st ed., pp. Vol 13, p. 633-638). Eurachem/CITAC. Recuperado de https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MUC2021_P1_EN.pdf.
- Winter, T., Harvey, J., Franke, O., & Alley, W. (1998). *Ground water and surface water: a single resource* [Ebook]. Recuperado de <https://pubs.usgs.gov/circ/circ1139/pdf/circ1139.pdf>.
- Zazo, J. A., Casas, J. A., Mohedano, A. F., Gilarranz, M. A., & Rodríguez, J. J. (2005). *Chemical pathway and kinetics of phenol oxidation by Fenton's reagent. Environmental science & technology*. 39(23), 9295–9302. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/es050452h>
- Zhou, H.; Smith, Daniel W. (2002) *Advanced technologies in water and wastewater treatment*. *Journal of Environmental Engineering and Science*, vol. 1, no 4, p. 247-264. Recuperado de <https://doi.org/10.1139/s02-020>

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Anexos

Anexo 1. Datos de las tres curvas de calibración para la elaboración de la curva de trabajo fenoles totales junto con sus respectivos duplicados.

Curva 1					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,183	0,182	0,182	0,182
2	0,10	0,244	0,243	0,243	0,243
3	0,15	0,256	0,255	0,254	0,255
4	0,20	0,285	0,285	0,284	0,285
5	0,30	0,332	0,331	0,331	0,331
6	0,50	0,435	0,434	0,434	0,434
7	0,70	0,516	0,515	0,515	0,515
8	1,00	0,655	0,654	0,654	0,654

Duplicado Curva 1					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,177	0,176	0,176	0,176
2	0,10	0,226	0,225	0,225	0,225
3	0,15	0,246	0,245	0,244	0,245
4	0,20	0,284	0,283	0,283	0,283
5	0,30	0,333	0,332	0,332	0,332
6	0,50	0,404	0,404	0,403	0,404
7	0,70	0,513	0,513	0,512	0,513
8	1,00	0,652	0,652	0,652	0,652

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Curva 2					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,195	0,195	0,194	0,195
2	0,10	0,255	0,254	0,254	0,254
3	0,15	0,256	0,256	0,255	0,256
4	0,20	0,270	0,269	0,269	0,269
5	0,30	0,326	0,325	0,325	0,325
6	0,50	0,415	0,414	0,414	0,414
7	0,70	0,513	0,513	0,512	0,513
8	1,00	0,653	0,653	0,652	0,653

Duplicado Curva 2					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,180	0,180	0,179	0,180
2	0,10	0,248	0,248	0,247	0,248
3	0,15	0,276	0,276	0,275	0,276
4	0,20	0,280	0,280	0,279	0,280
5	0,30	0,327	0,326	0,326	0,326
6	0,50	0,421	0,420	0,420	0,420
7	0,70	0,522	0,521	0,521	0,521
8	1,00	0,659	0,658	0,658	0,658

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Curva 3					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,176	0,175	0,175	0,175
2	0,10	0,227	0,226	0,226	0,226
3	0,15	0,254	0,254	0,254	0,254
4	0,20	0,271	0,271	0,270	0,271
5	0,30	0,318	0,317	0,317	0,317
6	0,50	0,413	0,412	0,412	0,412
7	0,70	0,513	0,513	0,512	0,513
8	1,00	0,644	0,644	0,643	0,644

Duplicado Curva 3					
Punto	mg PhOH/L	Absorbancias			
		A1	A2	A3	Aprom
1	0,00	0,170	0,169	0,169	0,169
2	0,10	0,233	0,233	0,232	0,233
3	0,15	0,260	0,259	0,259	0,259
4	0,20	0,285	0,285	0,284	0,285
5	0,30	0,332	0,332	0,331	0,332
6	0,50	0,414	0,414	0,413	0,414
7	0,70	0,520	0,520	0,519	0,520
8	1,00	0,651	0,651	0,650	0,651

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Anexo 2. Cálculo de variables estadísticas utilizadas en la confirmación de la linealidad.

Punto	x_i	y_i	\hat{y}	$(y_i - \hat{y})$	$(y_i - \hat{y})^2$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(y_i - \bar{y})^2$	$\frac{(x_i - \bar{x}) * (y_i - \bar{y})}{(y_i - \bar{y})}$	Varianza (v)	Desv. Estand. (s)	%CV
1	0,00	0,179	0,184	-0,004	0,00002	0,195	0,045	0,094			
2	0,00	0,187	0,184	0,003	0,00001	0,195	0,042	0,090	0,00006	0,00742	4,13
3	0,00	0,172	0,184	-0,011	0,00013	0,195	0,048	0,097			
4	0,15	0,250	0,254	-0,004	0,00002	0,085	0,020	0,041			
5	0,15	0,266	0,254	0,011	0,00013	0,085	0,016	0,037	0,00006	0,00786	3,05
6	0,15	0,257	0,254	0,002	0,00001	0,085	0,018	0,039			
7	0,30	0,332	0,325	0,007	0,00005	0,020	0,004	0,008			
8	0,30	0,326	0,325	0,001	0,00000	0,020	0,004	0,009	0,00002	0,00391	1,19
9	0,30	0,325	0,325	0,000	0,00000	0,020	0,004	0,009			
10	0,50	0,419	0,419	0,000	0,00000	0,003	0,001	0,002			
11	0,50	0,417	0,419	-0,001	0,00000	0,003	0,001	0,002	0,00001	0,00310	0,74
12	0,50	0,413	0,419	-0,006	0,00003	0,003	0,000	0,001			
13	0,70	0,514	0,513	0,001	0,00000	0,067	0,015	0,032			
14	0,70	0,517	0,513	0,004	0,00002	0,067	0,016	0,032	0,00000	0,00155	0,30
15	0,70	0,516	0,513	0,003	0,00001	0,067	0,016	0,032			
16	1,00	0,653	0,654	-0,001	0,00000	0,312	0,069	0,146			
17	1,00	0,656	0,654	0,002	0,00000	0,312	0,070	0,147	0,00002	0,00430	0,66
18	1,00	0,647	0,654	-0,007	0,00005	0,312	0,065	0,143			
Σ	7,95	7,046	7,045	0,001	0,0005	2,046	0,453	0,962	0,00016	0,02813	10,08

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Anexo 3. Datos experimentales obtenidos de los Bk y LFB para cada lote.

Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
		A1	A2	A3	Aprom		
BK Blanco de reactivos	1	0,182	0,181	0,181	0,181	1	-0,01
	2	0,183	0,182	0,182	0,182	1	0,00
	3	0,177	0,176	0,176	0,176	1	-0,02
	4	0,187	0,186	0,186	0,186	1	0,01
	5	0,174	0,174	0,173	0,174	1	-0,02
	6	0,195	0,195	0,194	0,195	1	0,02
	7	0,180	0,180	0,179	0,180	1	-0,01
	8	0,187	0,187	0,186	0,187	1	0,01
	9	0,176	0,175	0,175	0,175	1	-0,02
	10	0,178	0,177	0,177	0,177	1	-0,01
	11	0,183	0,183	0,182	0,183	1	0,00
	12	0,187	0,187	0,186	0,187	1	0,01
Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
		A1	A2	A3	Aprom		
LFB 1 LOQ (0,15 mg PhOH/L)	1	0,252	0,251	0,251	0,251	1	0,14
	2	0,248	0,248	0,247	0,248	1	0,14
	3	0,262	0,261	0,261	0,261	1	0,17
	4	0,258	0,258	0,257	0,258	1	0,16
	5	0,256	0,256	0,255	0,256	1	0,15
	6	0,252	0,252	0,251	0,252	1	0,14
	7	0,257	0,257	0,256	0,257	1	0,16
	8	0,260	0,259	0,259	0,259	1	0,16
	9	0,255	0,254	0,254	0,254	1	0,15
	10	0,257	0,256	0,256	0,256	1	0,15
	11	0,266	0,265	0,265	0,265	1	0,17
	12	0,266	0,266	0,265	0,266	1	0,17

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
LFB 2 (0,50 mg PhOH/L)	1	1	0,424	0,424	0,423	0,424	1	0,51
		2	0,421	0,420	0,420	0,420	1	0,50
	2	3	0,416	0,416	0,415	0,416	1	0,49
		4	0,414	0,413	0,413	0,413	1	0,49
	3	5	0,426	0,425	0,425	0,425	1	0,51
		6	0,427	0,427	0,426	0,427	1	0,52
	4	7	0,433	0,433	0,432	0,433	1	0,53
		8	0,430	0,430	0,429	0,430	1	0,52
	5	9	0,409	0,409	0,408	0,409	1	0,48
		10	0,410	0,409	0,409	0,409	1	0,48
	6	11	0,419	0,418	0,418	0,418	1	0,50
		12	0,418	0,418	0,417	0,418	1	0,50
	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
LFB 3 (1,00 mg PhOH/L)	1	1	0,640	0,639	0,639	0,639	1	0,97
		2	0,644	0,644	0,643	0,644	1	0,98
	2	3	0,651	0,651	0,650	0,651	1	0,99
		4	0,650	0,650	0,649	0,650	1	0,99
	3	5	0,650	0,650	0,649	0,650	1	0,99
		6	0,648	0,647	0,647	0,647	1	0,99
	4	7	0,646	0,646	0,645	0,646	1	0,98
		8	0,646	0,645	0,645	0,645	1	0,98
	5	9	0,658	0,657	0,657	0,657	1	1,01
		10	0,660	0,659	0,659	0,659	1	1,01
	6	11	0,655	0,654	0,654	0,654	1	1,00
		12	0,654	0,654	0,653	0,654	1	1,00

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Anexo 4. Datos experimentales obtenidos de las muestras de agua superficial (M1), agua residual doméstica (M2) y agua residual no doméstica (M3).

	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
Muestra rutinaria M1	1	1	0,184	0,183	0,183	0,183	1	0,00
		2	0,184	0,184	0,183	0,184	1	0,00
	2	3	0,179	0,178	0,178	0,178	1	-0,01
		4	0,178	0,178	0,177	0,178	1	-0,01
	3	5	0,180	0,180	0,180	0,180	1	-0,01
		6	0,181	0,181	0,180	0,181	1	-0,01
	4	7	0,177	0,177	0,177	0,177	1	-0,01
		8	0,178	0,177	0,177	0,177	1	-0,01
	5	9	0,185	0,185	0,184	0,185	1	0,00
		10	0,186	0,185	0,185	0,185	1	0,00
	6	11	0,178	0,178	0,177	0,178	1	-0,01
		12	0,177	0,177	0,176	0,177	1	-0,01
Muestra rutinaria M2	1	1	0,195	0,194	0,194	0,194	1	0,02
		2	0,194	0,194	0,193	0,194	1	0,02
	2	3	0,189	0,189	0,188	0,189	1	0,01
		4	0,190	0,189	0,189	0,189	1	0,01
	3	5	0,193	0,193	0,192	0,193	1	0,02
		6	0,194	0,194	0,194	0,194	1	0,02
	4	7	0,190	0,190	0,190	0,190	1	0,01
		8	0,191	0,191	0,190	0,191	1	0,01
	5	9	0,188	0,188	0,187	0,188	1	0,01
		10	0,187	0,187	0,187	0,187	1	0,01
	6	11	0,192	0,192	0,191	0,192	1	0,02
		12	0,192	0,191	0,191	0,191	1	0,02

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
Muestra rutinaria M3	1	1	0,208	0,207	0,207	0,207	1	0,05
		2	0,206	0,206	0,206	0,206	1	0,05
	2	3	0,215	0,215	0,215	0,215	1	0,07
		4	0,216	0,215	0,215	0,215	1	0,07
	3	5	0,213	0,213	0,212	0,213	1	0,06
		6	0,214	0,214	0,213	0,214	1	0,06
	4	7	0,212	0,211	0,211	0,211	1	0,06
		8	0,210	0,210	0,210	0,210	1	0,06
	5	9	0,210	0,209	0,209	0,209	1	0,05
		10	0,210	0,210	0,209	0,210	1	0,06
	6	11	0,208	0,207	0,207	0,207	1	0,05
		12	0,209	0,208	0,208	0,208	1	0,05

Anexo 5. Datos experimentales obtenidos de los fortificados a las muestras de agua superficial (LFM1), agua residual doméstica (LFM2) y agua residual no doméstica (LFM3).

	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
Muestra rutinaria fortificada LFM1	1	1	0,426	0,425	0,425	0,425	1	0,52
		2	0,425	0,425	0,424	0,425	1	0,52
	2	3	0,424	0,423	0,423	0,423	1	0,51
		4	0,422	0,422	0,421	0,422	1	0,51
	3	5	0,431	0,431	0,430	0,431	1	0,53
		6	0,432	0,432	0,431	0,432	1	0,53
	4	7	0,430	0,430	0,429	0,430	1	0,53
		8	0,429	0,428	0,428	0,428	1	0,53
	5	9	0,430	0,429	0,429	0,429	1	0,53
		10	0,431	0,430	0,430	0,430	1	0,53
	6	11	0,426	0,426	0,426	0,426	1	0,52
		12	0,428	0,428	0,427	0,428	1	0,52

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

	Lote	Medición	Absorbancias				FD	mg PhOH/L
			A1	A2	A3	Aprom		
Muestra rutinaria fortificada LFM2	1	1	0,418	0,417	0,417	0,417	1	0,50
		2	0,427	0,426	0,426	0,426	1	0,52
	2	3	0,431	0,430	0,430	0,430	1	0,53
		4	0,434	0,434	0,433	0,434	1	0,54
	3	5	0,443	0,442	0,442	0,442	1	0,56
		6	0,440	0,440	0,439	0,440	1	0,55
	4	7	0,438	0,437	0,437	0,437	1	0,54
		8	0,436	0,436	0,436	0,436	1	0,54
	5	9	0,429	0,429	0,428	0,429	1	0,53
		10	0,432	0,432	0,431	0,432	1	0,53
	6	11	0,441	0,441	0,441	0,441	1	0,55
		12	0,443	0,443	0,442	0,443	1	0,56
Muestra rutinaria fortificada LFM3	1	1	0,453	0,453	0,452	0,453	1	0,58
		2	0,450	0,450	0,449	0,450	1	0,57
	2	3	0,449	0,448	0,448	0,448	1	0,57
		4	0,447	0,447	0,446	0,447	1	0,56
	3	5	0,452	0,451	0,451	0,451	1	0,57
		6	0,448	0,447	0,447	0,447	1	0,57
	4	7	0,460	0,460	0,460	0,460	1	0,59
		8	0,456	0,455	0,455	0,455	1	0,58
	5	9	0,465	0,464	0,464	0,464	1	0,60
		10	0,465	0,465	0,465	0,465	1	0,60
	6	11	0,457	0,457	0,456	0,457	1	0,59
		12	0,462	0,462	0,461	0,462	1	0,60

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Anexo 6. Detalle de las cantidades de analito adicionadas a los LFM1, LFM2 y LFM3.

		Concentración adicionada a M1		
		0,50	mg PhOH/L	
Muestra rutinaria fortificada LFM1	Descripción del adicionado			
	Concentración de solución intermedia [mg PhOH/L]	50		
	Volumen total muestra + patrón adicionado [mL]	101		
	Volumen patrón a adicionar [mL]	1,0		
	FD de la muestra debido al patrón adicionado	1,01		
	RANGO % Recuperación			
	Promedio de mg PhOH/L en M1	-0,01	70	130
	% Recuperación Min.	103,7	Cumple	Cumple
	% Recuperación Máx.	108,0	Cumple	Cumple
			Concentración adicionada a M2	
0,50			mg PhOH/L	
Muestra rutinaria fortificada LFM2	Descripción del adicionado			
	Concentración de solución intermedia [mg PhOH/L]	50		
	Volumen total muestra + patrón adicionado [mL]	101		
	Volumen patrón a adicionar [mL]	1,0		
	FD de la muestra debido al patrón adicionado	1,01		
	RANGO % Recuperación			
	Promedio de mg PhOH/L en M2	0,02	70	130
	% Recuperación Min.	97,3	Cumple	Cumple
	% Recuperación Máx.	108,2	Cumple	Cumple
			Concentración adicionada a M3	
0,50			mg PhOH/L	
Muestra rutinaria fortificada LFM3	Descripción del adicionado			
	Concentración de solución intermedia [mg PhOH/L]	50		
	Volumen total muestra + patrón adicionado [mL]	101		
	Volumen patrón a adicionar [mL]	1,0		
	FD de la muestra debido al patrón adicionado	1,01		
	RANGO % Recuperación			
	Promedio de mg PhOH/L en M3	0,06	70	130
	% Recuperación Min.	101,7	Cumple	Cumple
	% Recuperación Máx.	109,6	Cumple	Cumple